

QUÍMICA de los ALIMENTOS



Cuarta edición

Salvador Badui Dergal



Química de los alimentos

Cuarta edición

Química de los alimentos

Cuarta edición

Salvador Badui Dergal

Director Técnico

Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Con la colaboración de:

Capítulo 1

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 2

Dra. Sara Esther Valdés Martínez
*Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de
México*

Capítulo 3

Dra. Amanda Gálvez Mariscal
Dra. Idalia Flores Argüello
Dra. Amelia Farrés González Saravia
*Departamento de Alimentos y
Biotecnología
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de
México*

Capítulo 4

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 5

Dra. Maricarmen Quirasco Baruch
*Departamento de Alimentos y
Biotecnología
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de
México*

Dr. Agustín López-Munguía Canales

*Instituto de Biotecnología
Universidad Nacional Autónoma de
México*

Capítulo 6

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 7

Dra. Isabel Guerrero Legarreta
*Departamento de Biotecnología
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa*

Dra. Eloísa López Hernández

*División Académica de Ciencias
Agropecuarias
Universidad Juárez Autónoma de
Tabasco*

Dr. Roberto E. Armenta López

*Food Technology Centre
Charlottetown, Prince Edward Island,
Canadá*

Capítulo 8

Dra. Edith Ponce Alquicira
*Departamento de Biotecnología
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa*

Capítulo 9

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 10

Dr. José Gerardo Montejano Gaitán
*Instituto Tecnológico y de Estudios
Superiores de Monterrey
Campus Querétaro*

Capítulo 11

Dr. Pedro Valle Vega
*Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de
México*

Capítulo 12

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 13

Dr. Salvador Badui Dergal
Grupo Herdez, S.A. de C.V.

Capítulo 14

Dra. Amanda Gálvez Mariscal
M. en C. Alejandra Barrios Pérez
Q.A. Ana Berenice de la Barrera
Avilés
*Departamento de Alimentos y
Biotecnología
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de
México*

REVISIÓN TÉCNICA:

Héctor Cejudo Gómez

*Coordinador de la licenciatura en Ingeniería de Alimentos
Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas
Universidad Iberoamericana, campus Ciudad de México*



Datos de catalogación bibliográfica

BADUI DERGAL, SALVADOR

Química de los alimentos. Cuarta edición

PEARSON EDUCACIÓN, México, 2006

ISBN: 970-26-0670-5

Área: Química

Formato: 18.5 × 23.5 cm

Páginas: 736

Editor: Enrique Quintanar Duarte
e-mail: enrique.quintanar@pearsoned.com
Editor de desarrollo: Miguel B. Gutiérrez Hernández
Supervisor de Producción: José D. Hernández Garduño
Diseño de portada: Kariza, S.A. de C.V.

CUARTA EDICIÓN, 2006

D.R. © 2006 por Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
Atacomulco No. 500, 5° piso
Col. Industrial Atoto
53519, Naucalpan de Juárez, Edo. de México

Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana. Reg. Núm. 1031.

Addison Wesley es una marca registrada de Pearson Educación de México, S.A. de C.V.

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de esta publicación pueden reproducirse, registrarse o transmitirse, por un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni por ningún medio, sea electrónico, mecánico, fotoquímico, magnético o electroóptico, por fotocopia, grabación o cualquier otro, sin permiso previo por escrito del editor.

El préstamo, alquiler o cualquier otra forma de cesión de uso de este ejemplar requerirá también la autorización del editor o de sus representantes.

ISBN 970-26-0670-5

Impreso en México. *Printed in Mexico.*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 09 08 07 06



Contenido

Capítulo I Agua I

1.1	Introducción	1
1.2	Fuentes de agua para el ser humano	2
1.3	Propiedades del agua	3
1.3.1	<i>Propiedades fisicoquímicas</i>	6
1.4	Estados físicos del agua	9
1.5	Efecto de los solutos en el agua	11
1.6	Distribución del agua en los alimentos	13
1.7	Actividad del agua	15
1.8	Determinación de las curvas de adsorción y desorción	19
1.9	Actividad del agua y estabilidad de los alimentos	21
1.10	Alimentos de humedad intermedia	23
1.11	Congelamiento de los alimentos	25
1.12	El agua en la industria alimentaria	25
	Referencias bibliográficas	27

Capítulo 2 Hidratos de carbono 29

2.1	Introducción	29
2.2	Clasificación y nomenclatura	30
2.3	Monosacáridos	31
2.3.1	<i>Distribución en la naturaleza</i>	32
2.3.2	<i>Estructura química</i>	34
2.4	Aminoazúcares	37
2.5	Desoxiazúcares	39
2.6	Azúcares-alcoholes o polioles	40
2.7	Glucósidos	41
2.8	Oligosacáridos	47
2.8.1	<i>Sacarosa</i>	48
2.8.2	<i>Maltosa</i>	52
2.8.3	<i>Lactosa</i>	53
2.8.4	<i>Otros oligosacáridos</i>	53
2.9	Reacciones químicas de los monosacáridos	56
2.9.1	<i>Por álcalis</i>	56
2.9.2	<i>Por ácidos</i>	57
2.9.3	<i>Por altas temperaturas</i>	57

vi • Contenido

2.9.4	<i>Otras reacciones</i>	58
2.9.5	<i>Reacciones de oscurecimiento o de empardeamiento</i>	59
2.10	Tecnología de los azúcares	72
2.10.1	<i>Conservación</i>	72
2.10.2	<i>Cristalización</i>	72
2.10.3	<i>Hidratación</i>	73
2.10.4	<i>Poder edulcorante</i>	73
2.11	Polisacáridos	75
2.11.1	<i>Celulosa</i>	78
2.11.2	<i>Hemicelulosa</i>	80
2.11.3	<i>Almidón</i>	81
2.11.4	<i>Pectinas</i>	92
2.11.5	<i>Glucógeno</i>	97
2.11.6	<i>Gomas</i>	97
2.11.7	<i>Fructosanas</i>	106
2.11.8	<i>Otros polisacáridos</i>	106
2.12	Fibra	107
	Referencias bibliográficas	109

Capítulo 3 Proteínas 119

3.1	Introducción	119
3.2	Aminoácidos	121
3.2.1	<i>Del gen a la proteína</i>	124
3.2.2	<i>Esteroquímica de los α-Aminoácidos</i>	127
3.2.3	<i>Clasificación de los aminoácidos</i>	128
3.2.4	<i>Reactividad química</i>	129
3.2.5	<i>Propiedades ácido-base</i>	130
3.3	Péptidos y enlace peptídico	132
3.3.1	<i>Estabilidad y formación del enlace peptídico</i>	135
3.4	Detección y cuantificación de aminoácidos péptidos y proteínas	138
3.4.1	<i>Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas</i>	142
3.5	Organización estructural	153
3.5.1	<i>Estabilidad de la estructura proteínica</i>	153
3.5.2	<i>Estructura primaria</i>	154
3.5.3	<i>Estructura secundaria</i>	155
3.5.4	<i>Estructura terciaria</i>	161
3.5.5	<i>Estructura cuaternaria</i>	163
3.6	Desnaturalización	164
3.6.1	<i>Termodinámica de la desnaturalización</i>	165
3.6.2	<i>Desnaturalización por cambios de temperatura</i>	167
3.6.3	<i>Desnaturalización por cambios de pH</i>	170
3.6.4	<i>Desnaturalización por urea y cloruro de guanidinio</i>	170
3.6.5	<i>Desnaturalización con detergentes</i>	171
3.6.6	<i>Desnaturalización con disolventes orgánicos</i>	172
3.6.7	<i>Efecto de la adición de sales en la solubilidad de las proteínas</i>	173
3.6.8	<i>Inactivación mecánica</i>	176
3.6.9	<i>Proteólisis</i>	176

3.7	Modificaciones químicas	176
3.7.1	<i>Tratamientos térmicos moderados</i>	177
3.7.2	<i>Pirólisis</i>	177
3.7.3	<i>Racemización y formación de aminoácidos modificados</i>	178
3.7.4	<i>Entrecruzamientos</i>	180
3.7.5	<i>Reacciones de las proteínas con agentes oxidantes</i>	182
3.7.6	<i>Reacciones con nitritos</i>	184
3.7.7	<i>Reacciones con sulfitos</i>	184
3.7.8	<i>Reacciones carbonil amino</i>	184
3.7.9	<i>Formación de acrilamida en altas temperaturas</i>	185
3.7.10	<i>Pérdida de aminoácidos por fraccionamiento (fraccionación)</i>	186
3.8	Propiedades funcionales de las proteínas	187
3.8.1	<i>Propiedades de hidratación</i>	190
3.8.2	<i>Propiedades interfaciales de las proteínas</i>	194
3.8.3	<i>Unión de sabores</i>	201
3.8.4	<i>Viscosidad</i>	202
3.8.5	<i>Gelación</i>	203
3.9	Propiedades nutricionales	205
3.9.1	<i>Evaluación de la calidad proteínica</i>	206
3.10	Proteínas de algunos alimentos	209
3.10.1	<i>Proteínas del huevo</i>	210
3.10.2	<i>Proteínas de la carne</i>	213
3.10.3	<i>Gelatina</i>	217
3.10.4	<i>Proteínas de pescado: surimi, hidrolizados de pescado</i>	217
3.10.5	<i>Proteínas lácteas</i>	220
3.10.6	<i>Proteínas vegetales</i>	222
3.10.7	<i>Proteínas de cereales</i>	224
3.10.8	<i>Proteínas edulcorantes</i>	232
3.10.9	<i>Péptidos de importancia en el campo de alimentos</i>	233
3.10.10	<i>Proteína microbiana</i>	235
	Referencias bibliográficas	236

Capítulo 4 Lípidos 245

4.1	Introducción	245
4.2	Clasificación	246
4.2.1	<i>Ácidos grasos</i>	248
4.2.2	<i>Acilglicéridos</i>	253
4.2.3	<i>Fosfoglicéridos</i>	258
4.2.4	<i>Ceras</i>	260
4.2.5	<i>Esteroles</i>	260
4.3	Análisis físicos y químicos	262
4.3.1	<i>Índices</i>	262
4.3.2	<i>Otros análisis</i>	262
4.4	Manufactura de grasas y aceites	265
4.4.1	<i>Desgomado</i>	267
4.4.2	<i>Neutralización</i>	267

viii • Contenido

4.4.3	<i>Decoloración</i>	268
4.4.4	<i>Desodorización</i>	268
4.4.5	<i>Hibernación</i>	269
4.5	Procesos de modificación de grasas y aceites	269
4.5.1	<i>Hidrogenación</i>	269
4.5.2	<i>Interesterificación</i>	274
4.5.3	<i>Fraccionamiento</i>	276
4.6	Sistemas grasos en alimentos	277
4.6.1	<i>Margarina</i>	277
4.6.2	<i>Mantecas vegetales</i>	279
4.6.3	<i>Mantequilla</i>	279
4.6.4	<i>Grasas para alimentos infantiles</i>	279
4.6.5	<i>Helados</i>	279
4.6.6	<i>Mayonesa y aderezos</i>	280
4.6.7	<i>Sustitutos de la manteca de cacao</i>	281
4.6.8	<i>Freído</i>	281
4.7	Deterioro de los lípidos	282
4.7.1	<i>Lipólisis</i>	283
4.7.2	<i>Autoxidación</i>	283
4.7.3	<i>Reversión</i>	288
4.7.4	<i>Radiólisis</i>	289
4.7.5	<i>Antioxidantes</i>	289
4.8	Determinación de la oxidación	293
4.8.1	<i>Evaluación sensorial</i>	293
4.8.2	<i>Índice de peróxido</i>	294
4.8.3	<i>Método del ácido tiobarbitúrico (TBA)</i>	294
4.8.4	<i>Método del oxígeno activo (AOM, Active Oxygen Method)</i>	294
4.8.5	<i>Método de la bomba de oxígeno</i>	295
4.8.6	<i>Método de incubación en estufa</i>	295
4.8.7	<i>Otros métodos</i>	295
4.9	Aspectos nutricionales	295
	Referencias bibliográficas	297

Capítulo 5 Enzimas 301

5.1	Introducción	301
5.2	Nomenclatura	303
5.3	Las enzimas como catalizadores	304
5.4	Especificidad	306
5.5	Sitio activo	308
5.6	Factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas	310
5.6.1	<i>Efecto del pH</i>	310
5.6.2	<i>Efecto de la temperatura</i>	311
5.6.3	<i>Efecto de la concentración de sustrato</i>	314
5.6.4	<i>Efecto de la actividad del agua</i>	315
5.6.5	<i>Efecto de otros agentes en la actividad enzimática</i>	315
5.7	Cinética de las reacciones enzimáticas	316

5.8	Cuantificación de actividad enzimática	319
5.9	Uso industrial de las enzimas	320
5.10	Revisión de enzimas de importancia en alimentos	323
5.10.1	<i>Carbohidrasas</i>	323
5.10.2	<i>Proteasas</i>	335
5.10.3	<i>Lipasas</i>	339
5.10.4	<i>Oxidorreductasas</i>	341
5.10.5	<i>Transferasas</i>	349
5.10.6	<i>Isomerazas</i>	351
5.11	Procesos de interés en alimentos con enzimas o células inmovilizadas	353
5.12	Análisis químico con enzimas	355
5.13	Las enzimas como indicadores de calidad de alimentos	357
5.14	Tecnología de ADN recombinante aplicada a la producción y modificación de enzimas de interés en alimentos	357
	Referencias bibliográficas	361

Capítulo 6 Vitaminas y nutrientes inorgánicos 363

6.1	Introducción	363
6.2	Contenido de vitaminas en los alimentos	366
6.3	Vitaminas liposolubles	368
6.3.1	<i>Vitamina A</i>	370
6.3.2	<i>Vitamina D</i>	372
6.3.3	<i>Vitamina E</i>	373
6.3.4	<i>Vitamina K</i>	375
6.4	Vitaminas hidrosolubles	376
6.4.1	<i>Tiamina (B₁)</i>	377
6.4.2	<i>Riboflavina (B₂)</i>	379
6.4.3	<i>Vitamina B₆</i>	381
6.4.4	<i>Vitamina B₁₂</i>	382
6.4.5	<i>Biotina</i>	384
6.4.6	<i>Folatos</i>	385
6.4.7	<i>Niacina</i>	386
6.4.8	<i>Ácido pantoténico</i>	387
6.4.9	<i>Vitamina C</i>	387
6.5	Resumen de la estabilidad de las vitaminas	391
6.6	Nutrientes inorgánicos	395
6.6.1	<i>Calcio</i>	396
6.6.2	<i>Fósforo</i>	397
6.6.3	<i>Hierro</i>	397
6.6.4	<i>Otros elementos</i>	398
	Referencias bibliográficas	398

Capítulo 7 Pigmentos 401

7.1	Introducción	401
7.2	Pigmentos sintéticos y naturales	402

x • Contenido

7.3	Carotenoides	406
7.3.1	<i>Estructura y características químicas</i>	407
7.3.2	<i>Carotenoides en alimentos</i>	407
7.3.3	<i>Obtención</i>	410
7.3.4	<i>Estabilidad</i>	411
7.3.5	<i>Usos</i>	412
7.3.6	<i>Carotenoides en la salud humana</i>	412
7.4	Clorofilas	413
7.4.1	<i>Estructura</i>	414
7.4.2	<i>Efecto del procesamiento</i>	415
7.5	Pigmentos fenólicos	417
7.5.1	<i>Flavonoides</i>	417
7.5.2	<i>Antocianinas</i>	420
7.5.3	<i>Taninos</i>	427
7.6	Betalainas	429
7.6.1	<i>Estructura</i>	430
7.6.2	<i>Estabilidad</i>	431
7.7	Hemopigmentos	432
7.7.1	<i>Estructura</i>	433
7.7.2	<i>Color en carne fresca</i>	434
7.7.3	<i>Color de carne curada</i>	436
7.8	Otros pigmentos naturales	436
7.8.1	<i>Cúrcuma</i>	436
7.8.2	<i>Ácido carmínico</i>	436
7.8.3	<i>Quinonas</i>	436
7.8.4	<i>Xantonas</i>	437
7.8.5	<i>Color caramelo</i>	438
7.8.6	<i>Gluconato ferroso</i>	438
7.9	Análisis de pigmentos y de color	438
	Referencias bibliográficas	439

Capítulo 8 Aroma y sabor 445

8.1	Introducción	445
8.2	Sabor	446
8.2.1	<i>Sabor dulce</i>	448
8.2.2	<i>Sabor amargo</i>	452
8.2.3	<i>Sabor salado</i>	452
8.2.4	<i>Sabor ácido</i>	453
8.2.5	<i>Umami</i>	453
8.2.6	<i>Fenómenos de percepción asociados con los sabores básicos</i>	453
8.3	Aromas	454
8.4	Aspectos fisicoquímicos en la percepción del sabor y del aroma	457
8.4.1	<i>Proceso de masticación</i>	457
8.4.2	<i>Efecto de macromoléculas en la percepción del sabor</i>	459

8.5	Mecanismos de la generación de aromas y sabores	461
8.5.1	<i>Biosíntesis</i>	463
8.5.2	<i>Generación de aromas por el efecto de tratamiento térmico</i>	480
8.6	Precursores y desarrollo de aroma y sabor en alimentos	493
8.6.1	<i>Carne y productos cárnicos</i>	493
8.6.2	<i>Leche y productos lácteos</i>	494
8.6.3	<i>Bebidas alcohólicas</i>	495
8.7	Análisis de compuestos de aroma y sabor	496
8.7.1	<i>Extracción de compuestos del aroma y sabor</i>	498
8.7.2	<i>Identificación de compuestos del aroma y sabor</i>	499
	Referencias bibliográficas	503

Capítulo 9 Aditivos 507

9.1	Introducción	507
9.2	Aspectos legales	509
9.3	Conservadores	510
9.3.1	<i>Ácido benzoico y benzoatos</i>	511
9.3.2	<i>Ácido sórbico y sorbatos</i>	512
9.3.3	<i>Ácido acético y acetatos</i>	512
9.3.4	<i>Parabenos</i>	512
9.3.5	<i>Ácido propiónico y propionatos</i>	513
9.3.6	<i>Sulfitos y dióxido de azufre</i>	513
9.3.7	<i>Nitritos y nitratos</i>	514
9.3.8	<i>Antibióticos</i>	515
9.3.9	<i>Pirocarbonato de dietilo</i>	517
9.3.10	<i>Epóxidos</i>	517
9.3.11	<i>Otros conservadores</i>	518
9.4	Emulsionantes	518
9.5	Polioles o polialcoholes	521
9.6	Potenciadores del sabor	522
9.7	Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH	524
9.8	Secuestradores o quelantes	527
9.9	Edulcorantes	528
9.10	Gasificantes para panificación	532
9.11	Acondicionadores de panificación	533
9.12	Antiaglomerantes	535
9.13	Antiespumantes	535
9.14	Colorantes	536
9.15	Clarificantes	539
9.16	Sustancias para masticar	540
9.17	Humectantes	540
9.18	Sustitutos de grasas	540
9.19	Nutrimientos	541
9.20	Saborizantes, saboreadores o aromatizantes	542
9.21	Otros aditivos	543
	Referencias bibliográficas	543

Capítulo 10 Estado de dispersión 547

- 10.1 Introducción 547
 - 10.2 Clasificación de los coloides 549
 - 10.3 Estabilidad de los coloides 552
 - 10.4 Soles 553
 - 10.4.1 *Propiedades reológicas de los soles* 554
 - 10.5 Geles 556
 - 10.6 Espumas 558
 - 10.7 Emulsiones 560
- Referencias bibliográficas 563

Capítulo 11 Tóxicos presentes en los alimentos 565

- 11.1 Introducción 565
- 11.2 Leguminosas 566
 - 11.2.1 *Glucósidos cianogénicos* 567
 - 11.2.2 *Promotores de flatulencia* 568
 - 11.2.3 *Inhibidores de proteasas como la tripsina* 568
 - 11.2.4 *Fitohemaglutininas* 570
 - 11.2.5 *Saponinas* 570
 - 11.2.6 *Favismo* 570
- 11.3 Cereales 571
 - 11.3.1 *Toxinas producidas por hongos (micotoxinas)* 571
 - 11.3.2 *Ácido fítico* 577
- 11.4 Inhibidores de amilasas 578
- 11.5 Bebidas estimulantes 578
- 11.6 Péptidos, proteínas y aminoácidos tóxicos 579
 - 11.6.1 *Amatoxina y falotoxina* 579
 - 11.6.2 *Islanditoxina* 580
 - 11.6.3 *Toxina botulínica* 581
 - 11.6.4 *Toxinas de Staphilococcus sp.* 581
 - 11.6.5 *Selenoaminoácidos* 581
 - 11.6.6 *Canavanina* 582
 - 11.6.7 *Mimosina* 582
- 11.7 Gosipol 583
- 11.8 Capsaicina 583
- 11.9 Solanina y chaconina 583
- 11.10 Sustancias promotoras de bocio 584
- 11.11 Toxinas en mariscos y peces 586
 - 11.11.1 *Saxitoxina* 586
 - 11.11.2 *Tetradoxina* 586
- 11.12 Antivitaminas 587
- 11.13 Tóxicos presentes en la miel de abeja 588
- 11.14 Compuestos tóxicos generados por proceso 590
 - 11.14.1 *Compuestos producidos por altas temperaturas* 591

- 11.15 Racemización de aminoácidos y formación de isopéptidos 596
- 11.16 Formación de aminas biógenas 597
- 11.17 Fumigantes y disolventes 597
- 11.18 Comentarios 598
- Referencias bibliográficas 598

Capítulo 12 Leche 603

- 12.1 Introducción 603
- 12.2 Composición de la leche 604
 - 12.2.1 Lípidos 605
 - 12.2.2 Lactosa 608
 - 12.2.3 Proteínas 609
 - 12.2.4 Enzimas 615
 - 12.2.5 Vitaminas 616
 - 12.2.6 Sales y nutrientes inorgánicos 617
- 12.3 Propiedades físicas de la leche 617
- 12.4 Estado de dispersión de la leche 618
 - 12.4.1 Fase miscelar 619
 - 12.4.2 Fase lipídica 620
- 12.5 Productos lácteos 621
 - 12.5.1 Leche pasteurizada, ultrapasteurizada y esterilizada 621
 - 12.5.2 Quesos 626
 - 12.5.3 Yogurt 628
 - 12.5.4 Otros productos lácteos 628
- Referencias bibliográficas 629

Capítulo 13 Soya 633

- 13.1 Introducción 633
- 13.2 Proteínas de la soya 635
- 13.3 Formas comerciales de la soya 637
 - 13.3.1 Harinas 638
 - 13.3.2 Concentrados 640
 - 13.3.3 Aislados 642
- 13.4 Propiedades funcionales 644
 - 13.4.1 Modificaciones de las proteínas 646
- 13.5 Factores antifisiológicos 646
- 13.6 Soya y nutrición 647
- 13.7 Mejora genética de la soya 648
- Referencias bibliográficas 649

Capítulo 14 Alimentos transgénicos 651

- 14.1 Ingeniería genética y alimentos 651
- 14.2 Principales métodos para la transferencia de genes 657

xiv • Contenido

14.3	Modificaciones genéticas más utilizadas para la producción de alimentos	659
14.3.1	<i>Caracteres de interés más utilizados</i>	659
14.4	FlavrSavr® el primer alimento GM	662
14.5	Los OGMs comerciales para alimentación	663
14.5.1	<i>Granos a granel</i>	663
14.5.2	<i>Varietades comerciales de menor volumen y movimiento</i>	665
14.6	Microorganismos GM para la producción de enzimas auxiliares de proceso	666
14.7	OGMs de segunda generación	668
14.7.1	<i>Plantas que producen aceites modificados</i>	671
14.7.2	<i>Papas GM</i>	676
14.8	OGMs de tercera generación	679
14.9	Animales domésticos GM	682
14.9.1	<i>Peces</i>	682
14.9.2	<i>Ganado y aves de corral</i>	683
14.10	Modificaciones de interés para productores y para el consumidor	683
14.11	Posibles impactos en la salud humana y análisis de riesgo	684
	Referencias bibliográficas	688

Anexo I 693

Índice 703

Introducción

Desde sus inicios, la humanidad ha sustentado una lucha continua contra el hambre, que es y seguirá siendo uno de sus principales enemigos. Sin embargo, la importancia de la tecnología de los alimentos fue reconocida muy recientemente, y apenas hace unos 20 años se manifiesta en todo el mundo una verdadera preocupación por la implantación de nuevas metodologías para la producción, el procesamiento y la conservación de productos alimenticios. La ciencia y la tecnología de los alimentos surgen como una necesidad imperiosa de formar individuos calificados, capaces de entender y resolver los diferentes problemas que se presentan en esta área tan prioritaria de desarrollo; una característica común a todos ellos es su conocimiento de la química de los alimentos, que está de alguna manera relacionada con todos los productos que ingerimos.

Los orígenes de la química de los alimentos se pierden en la historia de la humanidad. No se podría definir con exactitud una fecha de sus comienzos debido a que están íntimamente ligados a los descubrimientos científicos y tecnológicos que se efectuaron en otras áreas.

Muchas de las técnicas de obtención y procesamiento de alimentos que actualmente se emplean provienen de civilizaciones como la egipcia, la griega, la romana, la azteca u otras más antiguas. El fuego y el humo, el aceite y el vinagre, la fermentación, la sal, la cera y la miel eran utilizados por estos pueblos para la preparación y la conservación de sus alimentos, y su uso fue transmitido de generación en generación hasta llegar a nuestros días. Aunque es probable que muchos de esos procesos hayan sido descubiertos por casualidad, o bien a través de continuas pruebas de ensayo y error, el hecho es que cada civilización ha contribuido en algo al desarrollo de nuestra actual tecnología alimentaria.

Mucho más recientemente, en el siglo XIX, se produjo una serie de cambios científicos muy importantes: la química se consolidó como ciencia y se hicieron distinciones entre los materiales inorgánicos y los orgánicos. La biología dio un paso decisivo al establecer los principios celulares que ayudarían a entender mejor los mecanismos de sobrevivencia de las células. En las últimas décadas han aumentado en forma muy considerable nuestros conocimientos sobre bioquímica; el descubrimiento de las rutas metabólicas utilizadas por las células, tanto de animales como de vegetales, ha hecho que con base en la bioquímica hayan nacido otras ciencias, como la enzimología, que tiene una gran importancia en alimentos.

Los conocimientos científicos y tecnológicos con los que actualmente contamos son extraordinariamente amplios y profundos comparados con los que tenían los técnicos en alimentos de hace tan sólo 20 o 30 años. Cada uno de los diferentes componentes de los alimentos ha creado toda una área especializada de estudios; así por ejemplo existe personal altamente calificado que trabaja sobre ciertos aspectos de las proteínas, de los hidratos de carbono, de los lípidos, o de los sabores de los alimentos. Cada vez la especialización es más necesaria, ya que el cúmulo de conocimientos aumenta diariamente.

La química de los alimentos está directamente relacionada con todas las transformaciones que sufren éstos a lo largo de las manipulaciones a las que están sujetos. Es una ciencia que cada día va adquiriendo mayor importancia puesto que representa la estructura básica del conocimiento en el que se apoyan todas las tecnologías relacionadas con los alimentos.

Prólogo

Desde 1993, año de la edición anterior del presente libro, han tenido lugar numerosos avances, tanto técnicos como científicos, en los distintos aspectos que se cubren en la tecnología de los alimentos y, particularmente, de la química. Durante este tiempo transcurrido se profundizó y se enriquecieron muchos de los conceptos clásicos, mientras que surgieron otros y unos más se eliminaron; se desarrolló una gama más amplia de aditivos para uso de la industria; y algunos, prohibidos en el pasado, ahora son aceptados; nacieron los alimentos funcionales, los prebióticos y los probióticos; se identificaron y aislaron nuevos componentes de los distintos productos de origen vegetal y animal; algunos estudios sobre toxicidad se revocaron y fueron reemplazados por otros efectuados con procedimientos más confiables; la ingeniería genética se consolidó y se establecieron formas novedosas de producir y modificar la composición química de diversos cultivos; la soya pasó de ser una semilla para la elaboración de piensos a un producto recomendado por la Food and Drug Administration, de los Estados Unidos, para la prevención de algunos problemas de salud; se generalizó la producción y aplicación de un mayor número de enzimas comerciales; se establecieron nuevas recomendaciones para una dieta más saludable; amén de muchos otros cambios debido a distintas necesidades y formas de preparar y consumir los alimentos, aunado a un mayor entendimiento y exigencia del consumidor sobre los productos que ingiere. Esto también se ha reflejado en la modificación y adecuación de diversas legislaciones en el mundo que promueven una mayor información al público.

En general, en la actualidad se cuenta con conocimientos más amplios y profundos sobre este tema que los que se tenían hace tan sólo un poco más de una década; e igual sucede con áreas afines, como la bioquímica y la microbiología, disciplinas estrechamente relacionadas con los temas de este texto.

Los diversos métodos de análisis instrumental cualitativo y cuantitativo se han perfeccionado y ahora se cuenta con una mayor sensibilidad y certeza en los resultados; esto ha provocado que varios postulados de hace algunos años hayan sido modificados al encontrarse nueva evidencia soportada por estudios más confiables; por lo que en ciertos casos, lo que ayer era aceptado por la comunidad científica, ahora solamente forma parte del pasado.

Todos estos motivos, obligaron a actualizar la presente obra, aun cuando se mantiene su estructura original basada en el estudio individual de cada uno de los componentes de los alimentos: agua, hidratos de carbono, proteínas, lípidos, enzimas, vitaminas, nutrimentos inorgánicos y los responsables del color y del sabor, así como el estado de dispersión en que se encuentran dichos componentes integrando los distintos alimentos. Se mantienen las secciones dedicadas al estudio de la leche y de la soya, como ejemplos de aplicación de los conceptos explicados en otros capítulos.

Como una aportación muy valiosa, y complementaria, se incluye un capítulo dedicado al tema de la toxicología de los compuestos inherentes a los alimentos, y los que se generan durante su procesamiento; así como otro relacionado con los alimentos transgénicos y la ingeniería genética aplicada a la modificación de diversos productos alimenticios. Este segundo tema es de gran relevancia puesto que en un futuro próximo se podrán “diseñar” alimentos para necesidades muy específicas, con lo cual se modificará la química tradicional de los mismos.

En la actualización de esta nueva edición participan prestigiosos investigadores-profesores de reconocidas instituciones de educación de nuestro país, sin cuyo esfuerzo no hubiera sido posible la integración de este nuevo texto.

Se han conservado varios cuadros y figuras, pero otros más novedosos se han incluido con el fin de facilitar la lectura y la comprensión del texto. En lo que se refiere a la bibliografía, se mantiene aquella que es válida hasta el día de hoy, pero también se incluye toda la que se empleó para actualizar esta obra.

Consideramos que el presente libro, diseñado para emplearse en las distintas licenciaturas relacionadas con la tecnología de los alimentos, contribuirá al mejor entendimiento de los aspectos que integran la química de los alimentos.

Salvador Badui Dergal



Agua

- 1.1 Introducción
 - 1.2 Fuentes de agua para el ser humano
 - 1.3 Propiedades del agua
 - 1.4 Estados físicos del agua
 - 1.5 Efecto de los solutos en el agua
 - 1.6 Distribución del agua en los alimentos
 - 1.7 Actividad del agua
 - 1.8 Determinación de las curvas de adsorción y de desorción
 - 1.9 Actividad del agua y estabilidad de los alimentos
 - 1.10 Alimentos de humedad intermedia
 - 1.11 Congelamiento de los alimentos
 - 1.12 El agua en la industria alimentaria
- Referencias bibliográficas



1.1 INTRODUCCIÓN

En muchas ocasiones, al agua no se le considera un nutrimento porque no sufre cambios químicos durante su aprovechamiento biológico; pero es un hecho que sin ella no pueden llevarse a cabo las innumerables transformaciones bioquímicas propias de todas las células activas: desde una sencilla bacteria hasta el complejo sistema del organismo del hombre. Esto es tan cierto que existen teorías que consideran que la vida en nuestro planeta se originó gracias a la presencia de este compuesto que permanece líquido en un intervalo de temperatura relativamente amplio.

Tiene un gran número de funciones biológicas basadas en su capacidad física para transportar sustancias, disolver otras y mantenerlas tanto en solución como en suspensión coloidal y también en su reactividad química, al intervenir en la fotosíntesis y en muchas reacciones

enzimáticas de hidrólisis; es decir, participa activamente en la síntesis de hidratos de carbono a partir de CO_2 , fundamental en la vida de este planeta, y en la conversión de diversos materiales complejos (polisacáridos, proteínas, grasas, etcétera) a formas más sencillas y asimilables para las plantas y los animales.²

Muchas de las macromoléculas de interés biológico, como las enzimas y los ácidos nucleicos, se vuelven activas sólo cuando adquieren sus correspondientes estructuras secundaria, terciaria, etcétera, gracias a la interacción que establecen con el agua. Es decir, las células animales y vegetales, así como los microorganismos, sólo pueden desarrollarse si encuentran las condiciones adecuadas en un medio en el que el contenido de agua es fundamental.

Es, por mucho, el principal constituyente de todos los tejidos vivos, ya que representa generalmente al menos el 60% de su composición. En los alimentos se encuentra hasta en un 96-97%, como es el caso de algunas frutas en las que es un factor fundamental de la frescura; incluso, muchos deshidratados que en apariencia son totalmente secos, contienen un 10-12% de ella y sólo en la sal común y en el azúcar de mesa no existe. El agua influye en las propiedades de los alimentos y, a su vez, los componentes de los alimentos influyen en las propiedades del agua que más adelante se mencionan.⁸

Para el tecnólogo es muy importante conocer su comportamiento en los tres estados físicos, líquido, hielo y vapor; desde el punto de vista de la ingeniería, sus propiedades fisicoquímicas (calor de vaporización, calor específico, etcétera) influyen en el diseño de los procesos para manejar y transformar los alimentos; su influencia es decisiva para obtener deshidratados con buena aceptación; en la rehidratación y el congelamiento es preciso comprender la manera como se comporta, tanto en su forma líquida como en el hielo, para evitar posibles daños. Para conservar los alimentos es necesario determinar su influencia en el crecimiento microbiano y en las distintas reacciones físicas, químicas y enzimáticas negativas que se estudian en otros capítulos de este texto; por mucho, el enemigo a vencer son los diversos microorganismos, hongos, levaduras y bacterias, los cuales son controlados si se les restringe el agua disponible (actividad del agua) para evitar su crecimiento, con procesos como concentración, deshidratación, congelamiento, liofilización, salado y azucarado (estos dos últimos por aumento de la presión osmótica).

1.2 FUENTES DE AGUA PARA EL SER HUMANO

Entre el 60 y 70% del cuerpo humano es agua, aun cuando hay ciertos tejidos como huesos, cabellos y dientes que la contienen escasamente. Es un disolvente líquido inerte, de pH neutro, que sirve de transporte en la sangre y la linfa, y que regula la temperatura corporal; el organismo la pierde continuamente por el sudor, la orina, la respiración y las heces, y requiere un mínimo aproximado de 2,500 mL diarios (depende de la edad, sexo, actividad física, etcétera) para llevar a cabo adecuadamente innumerables reacciones propias de las distintas funciones biológicas; el cuadro 1.1 muestra un balance aproximado del agua consumida y eliminada por un hombre durante un día.

La fuente más importante es la ingesta de líquidos, pero también se adquiere de diferentes alimentos, como los vegetales abundantes en agua, la leche, que tiene un 87%, de los huevos con un 74% y del pan, que con aproximadamente 40% es uno de los alimentos más comunes y con menor cantidad de ella (cuadro 1.2).

CUADRO 1.1 Balance de agua en el ser humano

<i>Agua ingerida</i> (mL/día)	<i>Fuente</i>	<i>Agua perdida</i> (mL/día)	<i>Medio</i>
850	Alimentos	1,400	Orina
1,300	Bebidas	400	Pulmones
350	Oxidación de nutrimentos	500	Piel
		200	Heces
2,500		2,500	

CUADRO 1.2 Contenido aproximado de agua de algunos alimentos (%)

Lechuga, espárrago, coliflor	95
Brócoli, zanahoria	90
Manzana, durazno, naranja	88
Leche	87
Papa, pera	80
Huevo, pollo	74
Carne de res	70
Carne de cerdo, helado	60
Pan	40
Queso	45
Mantequilla	16
Galletas	5
Chocolate	2

Otra fuente, de menor importancia, se origina en el propio cuerpo debido a reacciones metabólicas: la oxidación de una molécula de glucosa genera seis de H_2O , que equivalen a 0.6 g por gramo de monosacárido: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$. Además de los hidratos de carbono, también se obtienen 1.1 g y 0.4 g de agua por gramo de lípido y de proteína, respectivamente; una dieta cuya oxidación de glucosa y lípidos produzca 2,000 kcal por día, generará 300 mL de agua, aproximadamente.

1.3 PROPIEDADES DEL AGUA

Su molécula está constituida por dos átomos de hidrógeno unidos en forma covalente a uno de oxígeno, es altamente polar, no es lineal y crea estructuras tridimensionales debido a la hibridación de las órbitas moleculares *s* y *p* del oxígeno; las *1s* del hidrógeno comparten dos electrones con las hí-

4 • Agua

bridas sp^3 del oxígeno. A su vez, este elemento tiene un par de electrones libres considerados como dos fuerzas separadas, que junto con los dos enlaces covalentes, establece una molécula con una forma imaginaria de tetraedro (figura 1.1).

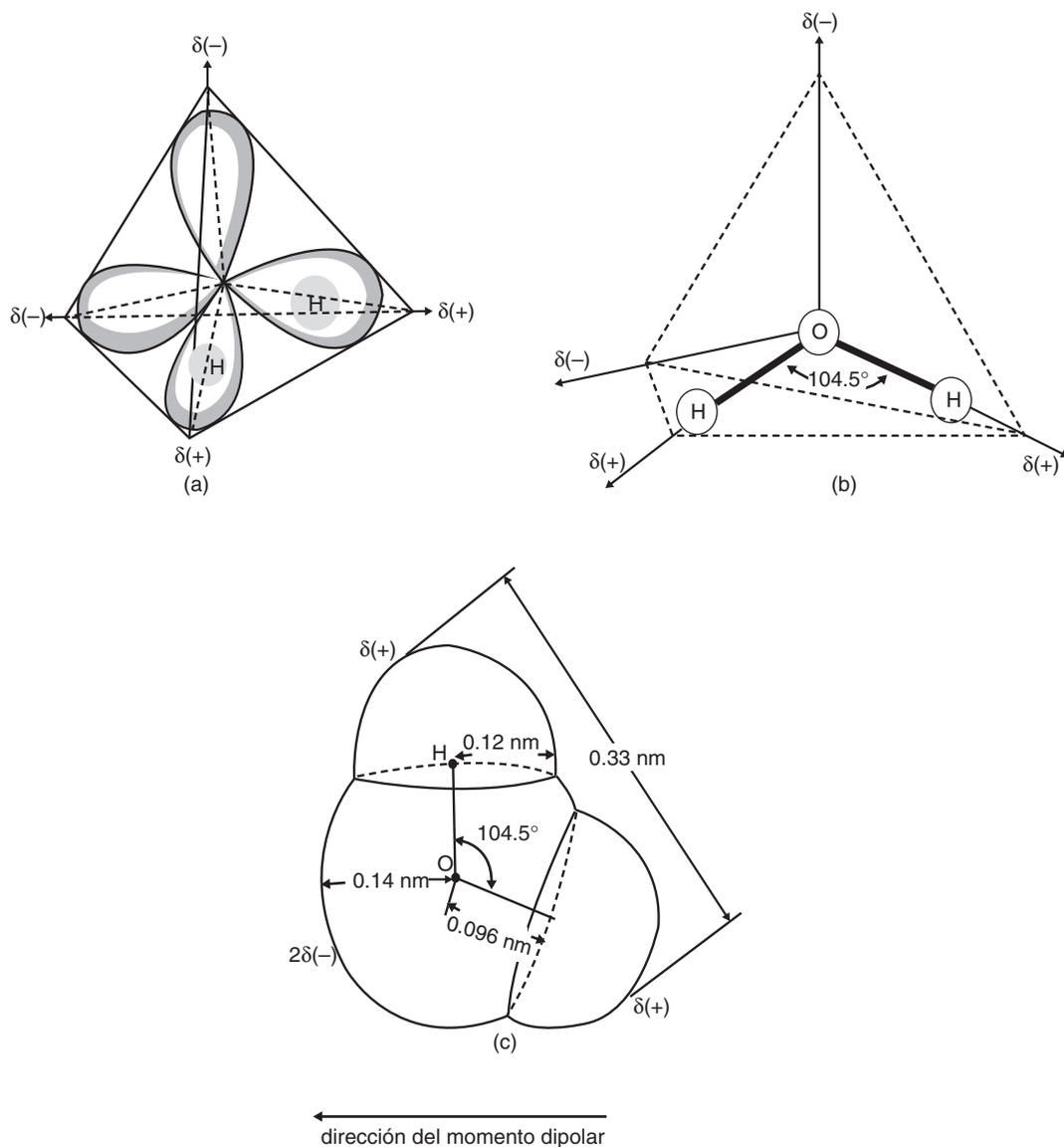


Figura 1.1 Representación esquemática de la molécula de agua: (a) y (b) estructura tetraédrica imaginaria formada por las orbitales sp^3 del oxígeno, y (c) dimensiones de la molécula de agua.¹¹

Mediante diversos estudios de espectroscopia, rayos X, resonancia magnética nuclear, difracción, infrarrojo, radiactividad, etcétera, se han determinado las dimensiones, así como algunas características de la molécula del agua. Por ejemplo, en la figura 1.1 se observa que los radios de Van der Waals del hidrógeno y del oxígeno son de 0.12 nm (1.2 Å) y 0.14 nm, respectivamente; que la longitud del enlace covalente es de 0.096 nm y que el ángulo formado es de 104.5°.

En el agua existe una diferencia de electronegatividades que se debe precisamente a que el oxígeno tiene un gran poder de atracción por los electrones de los dos hidrógenos, lo que ocasiona que éstos desarrollen una carga parcial positiva $\delta(+)$ temporal, y que el átomo de oxígeno desarrolle una carga parcial doble negativa $2\delta(-)$ temporal; esto hace que se produzca un momento dipolar muy fuerte, cuya dirección se observa en la figura 1.1. Es decir, esta molécula no tiene una carga determinada, pero sí un dipolo eléctrico potente que le permite crear puentes de hidrógeno estables con otras moléculas iguales o diferentes, pero de naturaleza polar. El momento dipolar que se establece, se observa como una orientación de la molécula en un campo eléctrico con la parte negativa hacia el ánodo y la positiva hacia el cátodo.

El puente de hidrógeno no es un enlace químico propiamente, sino una atracción electrostática que se produce cuando dos átomos negativos de compuestos polares se unen mediante uno de hidrógeno, de tal manera que solamente participan los elementos más electronegativos, como nitrógeno, flúor y oxígeno (figura 1.2). Esta atracción electrostática es muy débil (20 kJ/mol o 4.7 kcal/mol), comparada con el enlace covalente (400 kJ/mol o 95 kcal/mol), y su vida media es de 10^{-11} segundos; sin embargo, como todas las moléculas de agua tienen la capacidad de establecerla en un determinado momento, en conjunto representan una gran fuerza. Tanto el número de estas uniones como la longitud del puente de hidrógeno entre moléculas vecinas (p. ej. 0.276 nm o 2.76 Å, en la figura 1.2a) se ve afectado por la temperatura; esto se refleja, por ejemplo, en la densidad del agua que se incrementa a medida que interaccionan más moléculas a una menor distancia, y alcanza un máximo a 3.98°C.

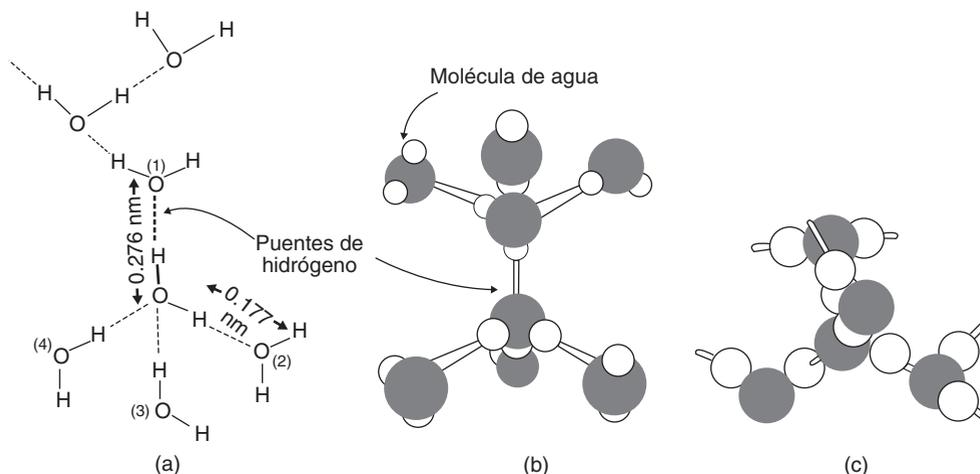


Figura 1.2 Puentes de hidrógeno entre moléculas de agua: (a) las moléculas 1, 2 y la central se hallan en el plano del papel; la 3 se encuentra por encima de él, y la 4 detrás del plano;²⁷ (b) interacción de moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno, y (c) los puentes de hidrógeno entre moléculas de agua producen una estructura imaginaria tetraédrica con el oxígeno al centro.

Debido a sus cargas parciales, la molécula de agua tiene dos sitios receptores y dos donadores de electrones, por lo que su interacción mediante puentes de hidrógeno crea grandes estructuras tridimensionales estables en el hielo y en el agua líquida, responsables de sus propiedades físicas tan peculiares que más adelante se mencionan. Las moléculas como NH_3 , que no tienen igual número de receptores y de donadores (1 y 3, respectivamente), sólo forman estructuras bidimensionales y no tridimensionales.

Cabe señalar que los puentes de hidrógeno no sólo se inducen en el agua, sino en cualquier sustancia que tenga características polares, como son las proteínas y los hidratos de carbono, gracias a sus diversos grupos hidrófilos (figura 1.3). Mediante este mecanismo, los polímeros y algunos compuestos de bajo peso molecular retienen agua y le confieren a los alimentos propiedades reológicas muy particulares. Las temperaturas bajas favorecen la formación de puentes de hidrógeno, mientras que las altas los destruyen; se considera que en el hielo, el 100% de las moléculas establecen puentes de hidrógeno, y que en el vapor este porcentaje es cero. La función biológica del hombre se efectúa alrededor de los 37°C , temperatura en la que se produce un 35-45% de los puentes de hidrógeno; por lo tanto, debe existir alguna relación entre la estructura del agua en estas condiciones y la facilidad para que se lleven a cabo las reacciones que sustentan la vida.

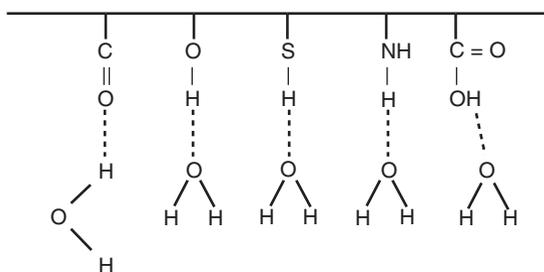


Figura 1.3 Formación de puentes de hidrógeno con diversos grupos funcionales de los hidratos de carbono, de las proteínas y de los ácidos grasos.

1.3.1 Propiedades fisicoquímicas

Debido a la formación de estructuras tridimensionales mediante puentes de hidrógeno, el agua muestra propiedades muy particulares que resaltan aún más al compararlas con hidruros del mismo grupo de la tabla periódica a la que pertenece el oxígeno. Por ejemplo, H_2O , H_2S , H_2Se y H_2Te , tienen puntos de ebullición de 100, -61 , -42 y -2 ($^\circ\text{C}$), respectivamente; el agua, con el menor peso molecular, presenta valores de puntos de fusión y de ebullición que no corresponden a la serie, y que son muy superiores a los del resto del grupo. Si se siguiera una relación matemática de acuerdo con los pesos moleculares, el agua tendría que fundir a -150°C y hervir a -80°C , por lo que en las condiciones ambientales normales sería un gas. No lo es, precisamente por una fuerte cohesión interna debida a los puentes de hidrógeno; de los cuatro hidruros, el del oxígeno es el único que se encuentra en estado líquido a la temperatura en que se desarrolla la vida (10 - 50°C , aproximadamente) en nuestro planeta.

El calor de vaporización, el calor específico, su conductividad, sus propiedades dieléctricas, etcétera, son por mucho muy peculiares y muy distintas a las de moléculas semejantes.

Por ejemplo, su elevado calor latente de vaporización (2,260 kJ/g o 539 kcal/g), representa la energía necesaria para transformar un kilogramo de agua líquida en vapor a 100°C, y la que se requiere para romper las fuerzas atractivas, de tal manera que las moléculas individualmente puedan escapar y pasar a la fase gaseosa. A manera de comparación y para entender mejor este valor, cabe señalar que el metanol, el etanol, la acetona y el cloroformo (todos disolventes orgánicos comunes), presentan calores de vaporización inferiores: 263, 205, 125 y 59 kcal/g, respectivamente. El alto valor indica que se necesita mucha energía para vaporizar un poco de agua (como en la deshidratación de alimentos), o que la vaporización de pequeñas cantidades de ella es suficiente para sustraer mucho calor; esto explica por qué la vaporización del sudor es responsable de la mayor parte del calor perdido por un organismo.

El proceso inverso al de la vaporización, la condensación, es exotérmico y libera una cantidad semejante de calor, característica que se aprovecha para calentar los alimentos en los procesos de esterilización de enlatados.

Por otra parte, es necesario disipar 333.7 kJ/g o 79.7 kcal/g (calor latente de fusión), para cambiar el agua líquida a hielo a 0°C; esta propiedad se hace patente cuando se enfrían las bebidas con hielo, ya que a medida que este se funde, sustrae mucha cantidad de energía del líquido.

Como vapor, el agua sigue la ley de los gases ideales, $PV = nRT$ (P, presión; V, volumen, n, número de moléculas, R, constante y T, temperatura), que muestra la relación de la presión y la temperatura; una aplicación de este principio es con el enlatado de los alimentos no ácidos, cuyo calentamiento externo causa que la presión interna se incremente y, en consecuencia, su temperatura alcance la esterilización comercial a 121°C (250°F).

El alto calor específico del agua (4.186 kJ/g°C o 1 cal/g°C a 20°C) indica la necesidad de aplicar mucha energía para incrementar su temperatura, ya que una buena proporción se consume en vibrar la molécula debido a su gran momento dipolar y a romper los puentes de hidrógeno, pero no a calentarla. Cuando se suministra energía térmica a los líquidos en los que no existen puentes de hidrógeno, la cinética de las moléculas aumenta fácilmente, y por tanto, la temperatura. Por esta razón, el agua es menos efectiva como medio de calentamiento que los aceites de cocina, que además de tener un calor específico menor de 1.97 kJ/g°C o 0.47 kcal/g°C, pueden alcanzar temperaturas superiores a los 100°C (necesarias para el freído), que es la máxima que se alcanza con el agua líquida a presión atmosférica. Otra implicación del alto valor de este parámetro se da en la regulación de la temperatura del cuerpo humano, ya que provoca que el agua absorba el calor cuando hay cambios bruscos externos, sin afectar la temperatura interna; en forma semejante, también hace que los mares y los océanos actúen como reguladores térmicos de nuestro planeta.

Su gran dipolo es fundamental para calentar los alimentos en microondas (915-2,450 MHz) ya que, al producir una oscilación y fricción permanente en las moléculas, se induce un aumento de la temperatura.

La ionización del agua pura es mínima, pero influye en la formación del H_3O^+ causada por la adición de ácidos, lo que a su vez repercute en la reducción del pH de la solución.

Como disolvente, el agua tiene una infinidad de aplicaciones en la naturaleza (existen disoluciones, como océanos, mares, lagos, ríos, etcétera), al igual que en los alimentos, en el plasma sanguíneo y en la orina, que desempeñan un papel vital para el cuerpo humano. Muchas sales y compuestos

iónicos y no iónicos, sólo se solubilizan en agua y nunca en disolventes apolares (cloroformo, benceno, etcétera) o en grasas.

Los cristales de NaCl son estables por las fuertes atracciones electrostáticas entre sus iones positivo y negativo; mientras más intensa sea la unión, más energía se requerirá para la separación. El agua es capaz de disolver los cristales debido a la intensa fuerza que se crea entre su dipolo y los iones sodio y cloro, lo que provoca la producción de Na^+ y Cl^- altamente hidratados; dicha interrelación es mayor que la tendencia a la unión de los dos iones para restablecer la sal. Esta hidratación depende de la densidad de carga, que es igual a la carga total dividida entre el radio iónico; para una misma carga, la retención de agua es mayor en los iones pequeños que en los grandes; la hidratación del K^+ es menor que la del Na^+ , ya que el radio del primero es mayor y, en consecuencia, su densidad de carga es menor.

El agua es un buen disolvente debido a su alta constante dieléctrica, “D”, que por definición es una medida de la tendencia del disolvente a oponerse a las fuerzas electrostáticas de atracción “F” entre iones con carga opuesta:

$$F = \frac{e_1 e_2}{D r^2}$$

donde e_1 y e_2 son los iones y r es la distancia entre ellos. El valor D para el agua es muy alto (80 a 20°C), comparado con el de otros disolventes: metanol, 33; etanol, 24; acetona, 21; benceno, 2; e indica que la fuerza de atracción entre Na^+ y Cl^- es solamente de 1/40 de la que existe con el benceno; por lo tanto, el agua favorece la disolución de la sal, pues evita que sus componentes se unan nuevamente, mientras que el benceno facilita su asociación.

El agua también disuelve sustancias no iónicas con carácter polar, como azúcares, alcoholes, aldehídos, cetonas, aminoácidos, etcétera, que contienen grupos carbonilo, amino, hidroxilo o carboxilo que fácilmente interaccionan con ella por medio de puentes de hidrógeno. Este mecanismo es el mismo que opera cuando se establecen dispersiones acuosas de polisacáridos, proteínas y otros polímeros, los cuales no producen soluciones verdaderas, sino suspensiones coloidales estabilizadas en el agua con dichas uniones (figura 1.3).

Cabe indicar que la disolución se efectúa cuando la concentración del agua es muy superior a la del soluto; sin embargo, cuando ésta es baja, las sustancias no se disuelven, solamente se hidratan, y forman fluidos muy viscosos o incluso geles, en los que el agua queda retenida también por puentes de hidrógeno en una red tridimensional.

Las moléculas de agua que están en contacto con el aire se comportan de una manera muy distinta de las que no lo están, ya que actúan como una película elástica, dando origen a los fenómenos de tensión superficial. En la figura 1.4 se observa que mientras las moléculas internas interactúan homogéneamente, aquellas en contacto con el aire sólo tienden puentes de hidrógeno hacia el interior (el agua), y no hacia el exterior (el aire). Este comportamiento dificulta la humectación de polvos, ya que hay que vencer una alta tensión superficial de la interfase agua/aire de 72.75 dinas/cm, a 20°C. Para formar nuevas superficies de interacción agua-partícula sólida, como en la hidratación, se recurre a los agentes tensoactivos, como en el caso de los aderezos y de otras emulsiones, o al suministro de energía mecánica (agitación, homogeneización), para formar dispersiones coloidales estables. La adición de sales y de compuestos polihidroxilados (sacarosa), incre-

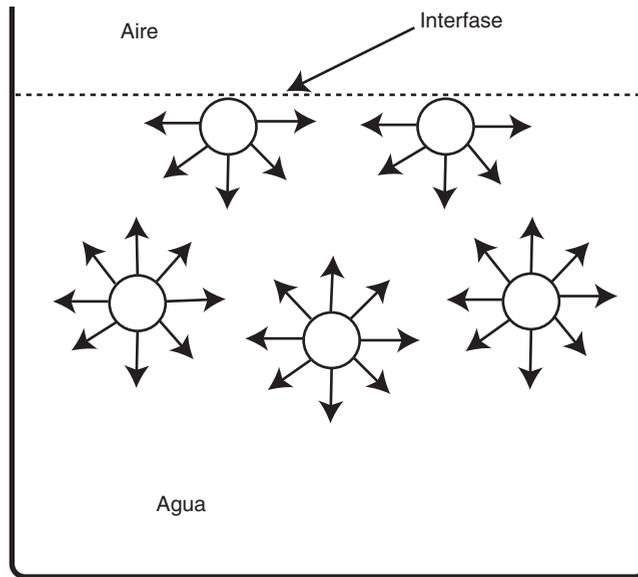


Figura I.4 Representación esquemática de la interacción agua:aire. Las flechas indican los puentes de hidrógeno.

menta la tensión superficial del agua, pero ésta se reduce al aumentar la temperatura, ya que las fuerzas atractivas interiores se inhiben.

I.4 ESTADOS FÍSICOS DEL AGUA

De acuerdo con la cantidad e intensidad de puentes de hidrógeno que contenga, el agua existirá en uno de los tres estados físicos conocidos: gas, líquido y sólido, propiedad que es exclusiva de esta sustancia en nuestro planeta. A una atmósfera de presión, estos estados dependen exclusivamente de la temperatura, por lo que a $\leq 0^{\circ}\text{C}$ se presenta como hielo y a $\geq 100^{\circ}\text{C}$, como vapor; sin embargo, a una presión de 4.579 mm de mercurio y a 0.0099°C (en el llamado punto triple), se considera que los tres estados se encuentran conjuntamente en equilibrio, como muestra la figura 1.5.

Las conversiones de un estado a otro se llevan a cabo modificando la presión y la temperatura; la evaporación sucede por la ruta “d” de la figura 1.5, y ocurre en la deshidratación convencional, como en charolas, por aspersión y en tambor rotatorio; debido al alto valor del calor de vaporización, en estos sistemas se requiere mucha energía, y esto puede ocasionar que los grupos hidrófilos hidratados de las proteínas y de los hidratos de carbono se deterioren térmicamente y pierdan su capacidad posterior de rehidratación. Por esta razón, muchos de los productos secados con estos procedimientos no son muy solubles y requieren de agua caliente y de una agitación violenta para disolverlos.

En la liofilización, el agua se elimina por sublimación (conversión de sólido a gas sin pasar por líquido), y no por evaporación, como en el caso anterior, y se representa en la figura 1.5 con la ruta “a-b-c”; el primer paso consiste en la congelación rápida del producto (p. ej. a -20°C) para producir

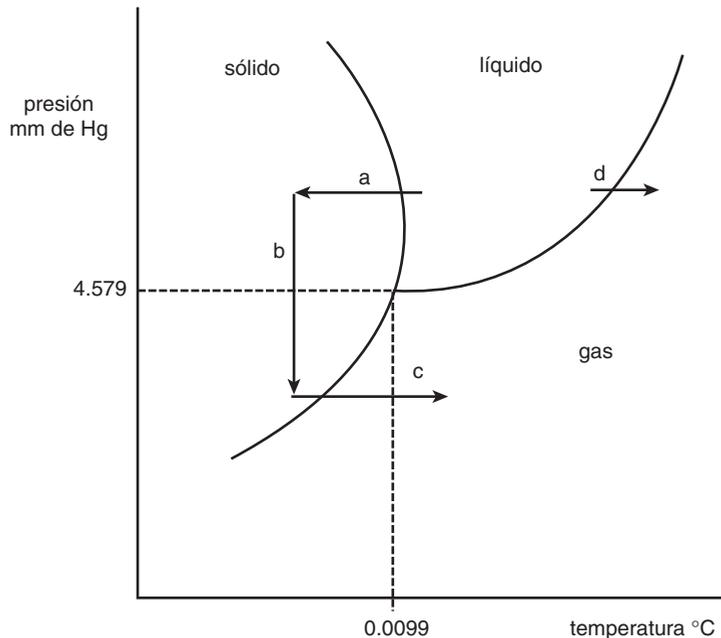


Figura 1.5 Diagrama de fases del agua. a) Congelación, b) Reducción de la presión, c) Sublimación, d) Evaporación. La ruta a-b-c muestra el proceso de liofilización.

hielo amorfo, sin redes estructuradas típicas de los cristales (a); le sigue una fuerte reducción de la presión por debajo del punto triple (b); y, por último, se aplica una pequeña cantidad de calor por radiación, (calor latente de sublimación, 2,825 kJ/g o 675 cal/g), que sólo es suficiente para la sublimación y no para la fusión del hielo (c). Ya que en la sublimación se emplean temperaturas bajas, el alimento no sufre daños térmicos, y los grupos hidrófilos que retienen agua no se ven afectados; la rehidratación de los liofilizados es muy sencilla, y con ella se obtienen alimentos con propiedades sensoriales (aroma, textura, sabor, etcétera) y contenido vitamínico muy semejantes a los de las materias primas. Sin embargo, debido al mayor costo del equipo y de la operación, este sistema sólo se emplea en té, café, algunos vegetales, carnes y otros, pero en la industria farmacéutica es el método de secado por excelencia.

En estado líquido, el agua establece puentes de hidrógeno y crea una estructura tridimensional que se ha explicado con varios modelos teóricos; en general, se considera que estas uniones están uniformemente distribuidas en todas las moléculas de agua, formando una red uniforme. Otros modelos suponen que hay agua agregada, de muy corta vida y en permanente formación, dispersa en un sistema de agua monomérica cuyas moléculas no están unidas; los agregados se forman y se disocian constantemente, lo que conduce a una movilidad y fluidez de las moléculas de agua.

Por otra parte, el hielo es una estructura más ordenada y simétrica de moléculas de agua unidas íntegramente por medio de puentes de hidrógeno, que trae consigo una reducción de la entropía del sistema líquido; cada molécula de agua interacciona con otras cuatro y establece enlaces de una distancia oxígeno-oxígeno de 2.76 Å y un ángulo de unión de 109°, muy cercano al del ángulo del te-

traedro perfecto de $109^{\circ}20'$, lo que evita tensiones en la estructura. Los oxígenos interaccionan de tal manera que generan planos paralelos de agua, según la figura 1.6, y hacen que el hielo adquiera un arreglo hexagonal simétrico en donde cada vértice está representado por un átomo de oxígeno. En el descongelamiento, la estructura cristalina desaparece y, a medida que el hielo se funde, una molécula de agua puede ligar más de cuatro de las mismas al reducirse la distancia entre ellas, lo que trae consigo una mayor fuerza de unión y un aumento de densidad máximo a 3.98°C ; si el calentamiento sobrepasa esta temperatura, la distancia entre moléculas se incrementa y la densidad se reduce. Se estima que cuando el hielo se derrite y produce agua líquida a 0°C , sólo se rompe el 10% de los puentes de hidrógeno. El aumento del volumen por la reducción de la densidad cuando se enfría y congela es la razón por la que el hielo flota en el agua; la densidad del hielo a 0°C es de 0.9168 g/cm^3 , mientras que la del agua a la misma temperatura es de 0.9998 , y a 20°C es de 0.9982 .

Las diferencias entre las estructuras del agua y del hielo se reflejan en diversas propiedades, como la conductividad térmica; el hielo es más conductor con un valor de $2,240\text{ J/m seg }^{\circ}\text{K}$ ($5.3\text{ cal/cm seg }^{\circ}\text{C}$), que es cuatro veces el del agua.

1.5 EFECTO DE LOS SOLUTOS EN EL AGUA

La presencia de los solutos iónicos, no iónico polar y apolar causa cambios importantes en la estructura del agua que se reflejan en sus propiedades coligativas, que incluye la depresión de la temperatura de congelamiento, el aumento de la de ebullición, la reducción de la presión de vapor, y el incremento de la presión osmótica.

La temperatura tiene una influencia muy distinta en la solubilidad de los distintos solutos. La sacarosa absorbe calor al disolverse en agua (valor negativo de disolución), en consecuencia, su solubilidad aumenta con la temperatura y de esta manera se preparan los jarabes de este azúcar usados

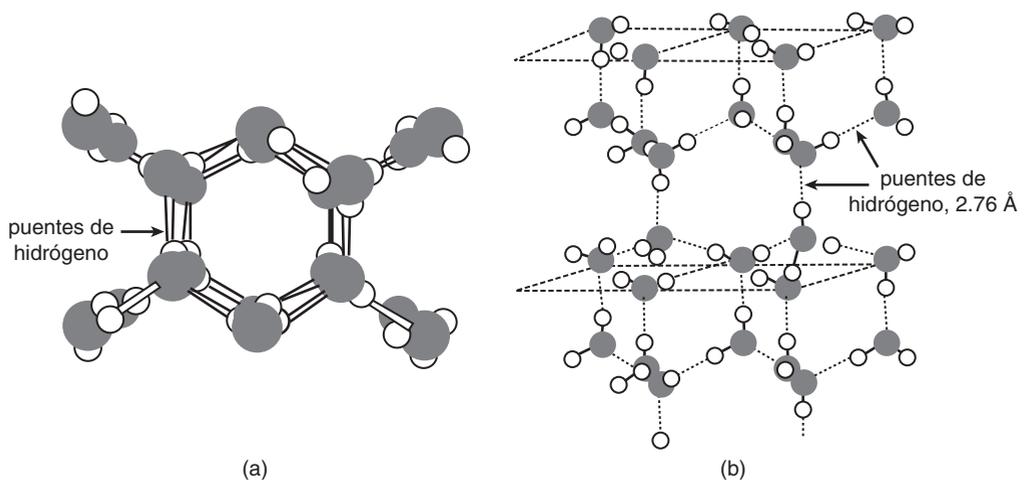


Figura 1.6 (a) Estructura hexagonal de los cristales de hielo formados mediante puentes de hidrógeno entre moléculas de agua, y (b) planos paralelos de las moléculas de hielo.

en la industria de la confitería; en este proceso, entre cuatro y seis moléculas de agua interactúan e hidratan el disacárido para mantenerlo en disolución. Por el contrario, el cloruro de sodio, al absorber una mínima cantidad de calor, su solubilidad se ve menos afectada por el incremento de la temperatura.

El estudio de las disoluciones acuosas parte de los modelos termodinámicos para sistemas ideales representados en la Ley de Raoult, que no pueden extrapolarse a los sistemas reales, excepto en concentraciones muy bajas de solutos y de los cuales no existen muchos en alimentos. Las desviaciones con respecto a la Ley de Raoult se deben a muchas causas, entre otras a que los solutos tienen interacciones y forman complejos con ellos mismos o con otros polímeros, haciendo que no todo esté en solución verdadera, además de que también influye el estado de dispersión, la estructura de capilares del alimento, etcétera.

En el caso de una solución ideal, la depresión de la temperatura de congelamiento del agua, Δt , es proporcional a la concentración del soluto:

$$\Delta t = \frac{K n}{p}$$

donde K , es una constante del disolvente, n son los moles de soluto (g/pm) y p , el peso del disolvente.

Se deduce que para la misma cantidad de un soluto, el de menor peso molecular provocará una mayor reducción, puesto que un mol es igual a la cantidad en gramos dividida entre el peso molecular. Por ejemplo, el pm efectivo de los compuestos responsables de este abatimiento en la leche descremada es de 342, que corresponde a la lactosa, mientras que en los jugos de uva y de jitomate es de 180, que es de la glucosa.⁵

Los solutos alteran el punto de congelamiento del agua debido a que rompen el arreglo tetraédrico de puentes de hidrógeno en el hielo al reducir la energía libre del sistema. En general, los no iónicos tienen un menor efecto que los iónicos, tanto en la reducción de la temperatura de congelación como en el aumento de la de ebullición: un mol de sacarosa (no iónico) disuelto en 1,000 g de agua reduce 1.86°C el congelamiento e incrementa 0.52°C la ebullición; para el NaCl (iónico), estas cifras se convierten en 3.72°C y 1.04°C, respectivamente; por este motivo, a grandes altitudes, se añade sal común al agua de cocción para contrarrestar el efecto de la reducción del punto de ebullición por la menor presión atmosférica. La solubilidad del NaCl se limita con el frío, por lo que la temperatura más baja que se alcanza con soluciones de sal es de -21°C , las cuales se emplean en el congelamiento industrial de helados y postres con alto contenido de sacarosa.

El aumento de la temperatura a la que normalmente hierve un líquido es directamente proporcional a la concentración del soluto añadido, e inversamente proporcional a su peso molecular.

La medición de la depresión de la temperatura de congelamiento se usa como control de calidad para la leche, ya que las sustancias de bajo peso molecular, como lactosa y algunas sales en una concentración constante, hacen que congele en un intervalo cerrado de alrededor de -0.54°C ; la determinación se efectúa en el crioscopio y se hace rutinariamente para cuantificar posibles adulteraciones, como se explica en el capítulo 12.

Al reducir la temperatura de congelamiento, los solutos producen también un efecto en la presión de vapor y por lo tanto en la actividad del agua; este hecho se ha aprovechado para relacionar ambos parámetros en soluciones acuosas binarias muy simples, de tal forma que con dicho punto de congelamiento se deduce el valor de la actividad del agua.^{4, 28}

Los grupos no iónicos polares como hidroxilos, carbonilos, enlaces peptídicos y otros similares, participan en la creación de puentes de hidrógeno y modifican las interacciones internas entre las propias moléculas de agua; los que tienen un momento dipolar muy grande, como la tirosina y la fenilalanina, inhiben la formación y la estabilización de las estructuras acuosas. Por el contrario, los solutos no polares, como hidrocarburos, ácidos grasos, algunos aminoácidos, etcétera, al no disolverse, favorecen las formas estables de agregados o clatratos en los que los solutos se localizan en los espacios vacíos, obligando a las moléculas de agua a interactuar más fuerte y ordenadamente.

Por otra parte, cuando el agua y una solución se separan por una membrana semipermeable (permeable al disolvente y no al soluto), la tendencia es que el agua pase a la solución hasta que el equilibrio de concentraciones se alcance en los dos sistemas. A la presión requerida para que esto suceda se le llama presión osmótica y aumenta con la concentración de los solutos disueltos. Gracias a esto las células de los vegetales, con sus respectivas membranas, mantienen su frescura cuando se remojan; su contenido de solutos, azúcares, ácidos y sales ocasiona la movilización del agua del entorno hacia el interior y aumenta la turgencia del tejido. Este efecto también se observa en los microorganismos, que se destruyen cuando se someten a una alta presión osmótica por algún tiempo, principio que se usa como medio de conservación de algunos alimentos.

I.6

DISTRIBUCIÓN DEL AGUA EN LOS ALIMENTOS

El término contenido de agua de un alimento se refiere, en general, a toda el agua de manera global. Sin embargo, en los tejidos animal y vegetal, el agua no está uniformemente distribuida por muchas razones, por ejemplo, debido a los complejos hidratados que se producen con proteínas, a los hidratos de carbono y otros, a las diversas estructuras internas propias de cada tejido, a los microcapilares que se forman, a su incompatibilidad con los lípidos que no permiten su presencia, etcétera; el citoplasma de las células presenta un alto porcentaje de polipéptidos capaces de retener más agua que los organelos que carecen de macromoléculas hidrófilas semejantes. Esta situación de heterogeneidad de la distribución del agua también se presenta en productos procesados debido a que sus componentes se encuentran en distintas formas de dispersión.

Por estas razones, en los alimentos existen diferentes estados energéticos en los que se encuentra el agua; es decir, no toda el agua de un producto tiene las mismas propiedades fisicoquímicas, y esto se puede comprobar fácilmente por las diversas temperaturas de congelamiento que se observan; en general, un alimento se congela a -20°C , pero aun en estas condiciones una fracción del agua permanece líquida y requiere de temperaturas más bajas, por ejemplo -40°C , para que solidifique completamente. En el cuadro 1.3 se observa que para el caso de la leche descremada con un 9.3% de sólidos, el 4% de su agua no congela aun a -24°C por la presencia de una solución con 72% de sólidos; por su parte, en la leche concentrada con un 26% de sólidos, el agua no congelada aumenta a 12%, ya que contiene una mayor cantidad de sólidos totales (26%), y en solución (74.5%).

Este tipo de consideraciones ha llevado a que se empleen términos como agua ligada y agua libre, para hacer referencia a la forma y al estado energético que dicho líquido guarda en un alimento. Aunque en realidad no hay una definición precisa para cada una de estas fracciones, se considera que el agua ligada es aquella porción que no congela a -20°C , por lo que también se le llama agua no congelable; su determinación se puede efectuar mediante el análisis térmico-diferencial, por resonancia magnética nuclear, etcétera. Por otra parte, el agua libre, también llamada agua congelable

y agua capilar, es la que se volatiliza fácilmente, se pierde en el calentamiento, se congela primero y es la principal responsable de la actividad del agua.

La relación de concentraciones entre la “libre” y la “ligada” se incrementa en la medida en que el producto contiene más agua, mientras que en los deshidratados, dicha relación se reduce considerablemente. Algunos investigadores consideran que el “agua ligada” está fuertemente unida al alimento por medio de puentes de hidrógeno, pero otros establecen que dicha agua sólo está físicamente atrapada en una matriz muy viscosa que no permite su movilidad y difusión y, por lo tanto, no está disponible.

CUADRO 1.3 Agua no congelable y su contenido de sólidos

<i>Temperatura</i> (°C)	<i>Leche descremada</i> (9.3% sólidos)		<i>Leche descremada concentrada</i> (26% sólidos)	
	<i>Agua no congelable</i> (%)	<i>Sólidos en solución</i> (%)	<i>Agua no congelable</i> (%)	<i>Sólidos en solución</i> (%)
-24	4.0	72.0	12.0	74.5
-20	4.5	69.5	14.0	71.5
-16	5.0	67.1	15.5	69.4
-12	5.5	65.2	19.0	64.8
-8	7.5	57.8	26.0	57.5
-4	12.5	45.1	47.0	42.8
-2	25.0	29.0	80.0	30.5

Para entender mejor estos conceptos, considérese una molécula de almidón completamente seca con un gran número de hidroxilos libres capaces de retener agua por medio de puentes de hidrógeno; si se cubriera con una sola capa del disolvente, se necesitaría 0.11 g de H₂O por gramo de sólido, cantidad suficiente para formar la llamada capa monomolecular BET (Brunawer, Emmett y Teller), la cual es diferente entre los distintos productos; por ejemplo, la gelatina, la lactosa amorfa y la leche en polvo presentan valores de 0.11, 0.06 y 0.03 g/g de sólido, respectivamente. Esta agua está fuertemente unida a la superficie seca, su fugacidad es baja y en consecuencia, su presión de vapor es reducida. Si se continúa añadiendo líquido, se construirán capas superiores sobre la monomolecular. En este esquema tan sencillo y expuesto sólo con fines didácticos, el agua de las capas más internas se consideraría como “ligada” (que corresponde hasta aproximadamente 0.5 g/g de sólido), mientras que la de las más externas, como “libre”.

Realmente no existe ninguno de estos tipos de agua, ya que aun la más fuertemente ligada, que incluye a la capa BET, tiene cierta movilidad, ya que ejerce una presión de vapor mensurable. De igual forma, no hay agua completamente libre debido a que también está unida a otras moléculas de su misma especie o con otros constituyentes que la estabilizan y la retienen en el alimento; no es libre puesto que no se libera del alimento (p. ej. frutas y hortalizas), cuando se somete a esfuerzos mecánicos ligeros y no fluye cuando se corta un trozo de carne fresca, aun en tamaños minúsculos.

Estos conceptos se relacionan con la capacidad de retención de agua de diversas proteínas y polisacáridos, que en forma natural integran tejidos y que por su hidratación le proporcionan frescura a los alimentos; además, por esta misma razón, dichos polímeros se emplean como aditivos en la in-

dustria alimentaria. La capacidad de retención de agua es una medida de la cantidad del líquido que puede quedar atrapado en una red, sin que exista exudación o sinéresis.

Para efectos estrictamente didácticos y con datos muy generales, se ha elaborado la figura 1.7, en la que se aprecian tres zonas hipotéticas en las que se puede dividir el agua contenida en un producto. La que integra la zona III se considera “libre”, se encuentra en macrocapilares y forma parte de las soluciones que disuelven las sustancias de bajo peso molecular, es la más abundante, fácil de congelar y evaporar, y su eliminación reduce la actividad del agua a 0.8.

En la zona II, el agua se localiza en diferentes capas más estructuradas y en microcapilares; es más difícil de quitar que la anterior, pero al lograrlo se obtienen valores de la actividad del agua de aproximadamente 0.25. Esta fracción correspondería, junto con la monocapa, al agua “ligada”.

Por último, el agua en la zona I equivale a la capa monomolecular y es la más difícil de eliminar en los procesos comerciales de secado; en algunos casos se puede reducir parcialmente en la deshidratación, pero esto no es recomendable, ya que, además de que se requiere mucha energía y se daña el alimento, su presencia ejerce un efecto protector, sobre todo contra las reacciones de oxidación de lípidos, porque actúa como barrera del oxígeno.

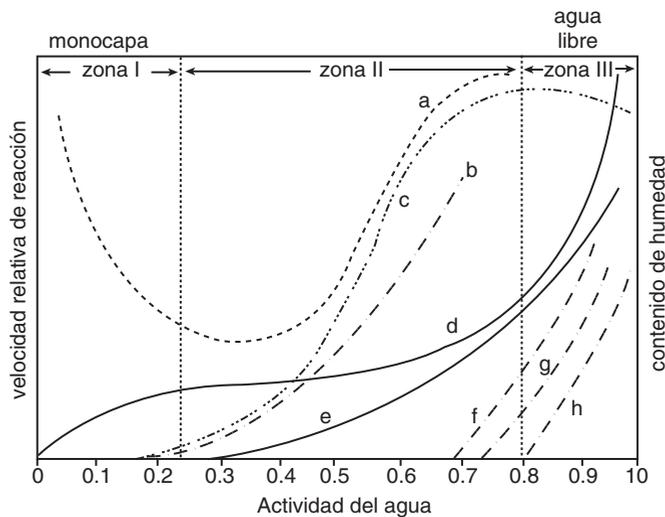


Figura 1.7 Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad del agua. a) Oxidación de lípidos; b) reacciones hidrolíticas; c) oscurecimiento no enzimático; d) isoterma de adsorción; e) actividad enzimática; f) crecimiento de hongos; g) crecimiento de levaduras, y h) crecimiento de bacterias.

1.7 ACTIVIDAD DEL AGUA

Las propiedades coligativas, reológicas y de textura de un alimento dependen de su contenido de agua, aun cuando éste también influye definitivamente en las reacciones físicas, químicas, enzimáticas y microbiológicas que se describen en otros capítulos de este texto. Como ya se indicó, y sólo para efectos de simplificación, el agua se dividió en “libre” y en “ligada”; la primera sería la única

disponible para el crecimiento de los microorganismos y para intervenir en las otras transformaciones, ya que la segunda está unida a la superficie sólida y no actúa por estar “no disponible o inmóvil”.

Es decir, bajo este sencillo esquema, sólo una fracción del agua, llamada actividad del agua, a_a , es capaz de propiciar estos cambios y es aquella que tiene movilidad o disponibilidad. Es con base en este valor empírico que se puede predecir la estabilidad y la vida útil de un producto, y no con su contenido de agua; refleja el grado de interacción con los demás constituyentes, además de que se relaciona con la formulación, el control de los procesos de deshidratación y de rehidratación, la migración de la humedad en el almacenamiento y muchos otros factores.

Si se considera una solución ideal, de las que no existen muchas en alimentos, con solutos en muy reducida concentración, este término puede expresarse de la siguiente manera:

$$a_a = \frac{f}{f^\circ} = \frac{P}{P_o} = \frac{HR}{100} = \frac{Ma}{Ma + Ms} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

- f = fugacidad del disolvente de la solución
- f° = fugacidad del disolvente puro
- HR = humedad relativa
- P = presión de vapor del agua del alimento
- P_o = presión de vapor del agua pura
- Ms = moles de soluto (g/pm)
- Ma = moles de agua (g/18)
- P/P_o = presión de vapor relativa

Termodinámicamente, la fugacidad es una medida de la tendencia de un líquido a escaparse de una solución; en virtud de que el vapor de agua se comporta aproximadamente como un gas ideal, se puede emplear la presión de vapor en lugar de la fugacidad. Es decir, en forma ideal, la a_a es directamente proporcional a la presión de vapor relativa según la ecuación (1). Sin embargo, los alimentos, con sus múltiples constituyentes e interacciones con el agua, no se comportan como tal y se desvían de estas consideraciones, de tal forma que la a_a es aproximadamente proporcional a la presión de vapor relativa. Por esta razón, se ha sugerido usar la presión de vapor relativa como medida más exacta, en lugar de la a_a . A pesar de esto, y al igual que el pH, la a_a se sigue empleando por sus beneficios prácticos, por la facilidad de su medición y por el bajo costo de los equipos requeridos. Por tal motivo, la Secretaría de Salud de México (SSA), la FDA de Estados Unidos y la Comunidad Económica Europea, la usan para categorizar la seguridad de los alimentos. En los estudios de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (HACCP, de las siglas en inglés *Hazard Analysis and Critical Control Points*), generalmente se le considera como un punto crítico.

Sin tomar en cuenta esta ligera inexactitud, se concluye que la a_a es la presión de vapor de las moléculas de agua en el espacio de cabeza en un recipiente cerrado, comparada con la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura, después de alcanzar el equilibrio. Sus valores varían desde 1.0 para el agua pura, hasta cero para un producto totalmente seco.

Otra forma de medir la disponibilidad del agua en un alimento es mediante su movilidad dinámica, en lugar de la a_a y de la presión de vapor relativa, pero requiere de equipos costosos y poco

prácticos, de difracción y de resonancia magnética nuclear. La movilidad molecular se basa en la capacidad de difusión de los solutos, así como en la viscosidad que se genera en su microambiente, sobre todo en alimentos congelados. La movilidad se reduce con las sustancias disueltas, principalmente las de bajo peso molecular.^{7, 35} Estas formas de medición de dicha disponibilidad y su influencia en la estabilidad de los alimentos resultan muy complicadas, por lo que, por el momento, se seguirá empleando la a_a como parámetro de referencia en la industria.

La actividad del agua es una propiedad intrínseca y se relaciona de manera no lineal con el contenido de humedad mediante las curvas o isothermas de adsorción y desorción (figura 1.8). Para entender esto, considérese un alimento con agua, almacenado a una temperatura determinada en una cámara herméticamente cerrada; al cabo de algún tiempo, su presión de vapor provocará la transferencia de moléculas de agua y la cámara adquirirá una humedad relativa constante que estará en equilibrio (sin movimiento en ningún sentido) con el contenido de agua del alimento. Dicha humedad está en función del grado de interacción de los solutos con el agua, lo que es un reflejo de la facilidad de ésta para escapar del alimento. Tanto los higrómetros como los manómetros miden la humedad y la presión de vapor en el espacio de cabeza de la cámara.

Por consiguiente, se tendrá un par de valores, de humedad relativa *vs* contenido de agua, a una temperatura determinada; si esto se repite con diferentes porcentajes de agua, y los resultados se grafican, se obtiene la isoterma de desorción (deshidratación del sólido).³⁶

Por el contrario, si ahora se parte de un producto seco y se somete a atmósferas de humedad relativa elevadas, se observará una transferencia de masa del gas al sólido hasta llegar a un equilibrio; al repetir este experimento con diferentes humedades, se tendrán nuevamente pares de valores que al graficarse crean la isoterma de adsorción (hidratación del sólido).

La figura 1.8 muestra las dos isothermas antes descritas, llamadas de sorción; se aprecia que para un contenido de humedad constante la actividad del agua es menor durante la desorción que en la adsorción, o que para una a_a determinada, la humedad es mayor en el secado que en la hidratación. Se observa también que estos procesos opuestos no son reversibles por un camino común, fenómeno que recibe el nombre genérico de histéresis.

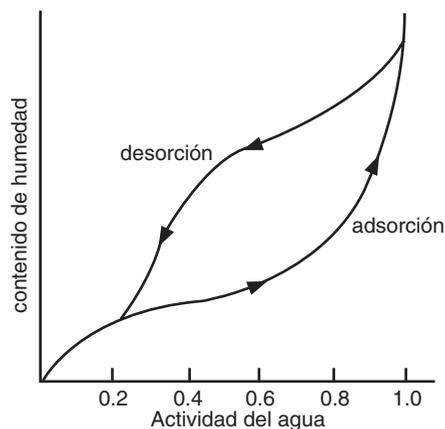


Figura 1.8 Curvas típicas de las isothermas de adsorción y desorción de los alimentos.

CUADRO 1.4 Porcentaje de humedad de equilibrio a varias humedades relativas

	Humedad relativa (%)				
	10	30	50	70	90
Pan blanco	0.5	3.1	6.2	11.1	19.0
Galletas	2.1	3.3	5.0	8.3	14.9
Pastas	5.1	8.8	11.7	16.2	22.1
Harinas	2.6	5.3	8.0	12.4	19.1
Almidón	2.2	5.2	7.4	9.2	12.7
Gelatina	0.7	2.8	4.9	7.6	11.4

Por ejemplo, la histéresis se presenta con una proteína hidratada que se seca en una atmósfera de humedad relativa de 35% y alcanza el equilibrio a un contenido de 10% de agua (curva de desorción); por otra parte, si la misma proteína completamente deshidratada se coloca en dicha atmósfera, adsorbe humedad y llega al equilibrio con tan sólo 7% de agua.

Existen muchos modelos que describen termodinámicamente el fenómeno de la adsorción-desorción que se basan en los cambios de entalpía y entropía, que a su vez se relacionan con la humedad de equilibrio, la actividad del agua y la temperatura.¹

En el cuadro 1.4 se muestra la variación del porcentaje de humedad de equilibrio, o adsorción, de diversos productos al someterlos a atmósferas de humedad relativa creciente; es claro que a medida que aumenta la *HR*, también lo hace el contenido de agua pero según una relación no lineal.

Por otra parte, el valor de a_a se incrementa cuando se eleva la temperatura, ya que igualmente lo hace la presión de vapor, como se observa en la figura 1.9 que muestra la tendencia general.²⁵ Esta dependencia ha sido motivo de muchos modelos matemáticos, y para la capa monomolecular se ha establecido la ecuación: $\ln X_m = \beta + \alpha T$, donde: X_m es el contenido de agua de la capa en gramos por 100 g de sólido seco, T la temperatura y α y β son constantes.^{19,20} Para ilustrar el efecto de la temperatura en la actividad del agua, considérese un ejemplo hipotético de frutas semideshidratadas, no esterilizadas, con 45% de humedad, empacadas en cajas de cartón y equilibradas con la atmósfera a 20°C, como muestra la figura 1.9; durante su envío a los clientes, la temperatura del camión subió a 35°C y así permaneció por varias horas, de tal manera que la a_a se desplazó de 0.42 original a casi 0.8, situación en la que ahora pueden crecer hongos y levaduras, además de propiciarse algunas reacciones de deterioro en detrimento del producto. Dependiendo del alimento, pero como regla general, muy pequeñas fluctuaciones de temperatura pueden ocasionar grandes modificaciones en la actividad del agua.

Por otra parte, la a_a también está en función de los sólidos que contenga un alimento, y para demostrarlo se han desarrollado diversas relaciones lineales matemáticas; éste es el caso del suero de la leche, cuya concentración C (gramos de sólido por 100 g de agua) es proporcional a la actividad del agua, mediante la ecuación $a_a = 0.999 - 0.000558 C$. Para este producto en particular, la lactosa y las sales, y en menor grado las proteínas, son las que determinan los valores de a_a .²²

Como ya se mencionó, el abatimiento de la temperatura de congelamiento, Δt , causa una reducción de la presión de vapor y, en consecuencia, en la actividad del agua, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$a_a = \frac{1}{1 + 0.0097\Delta t}$$

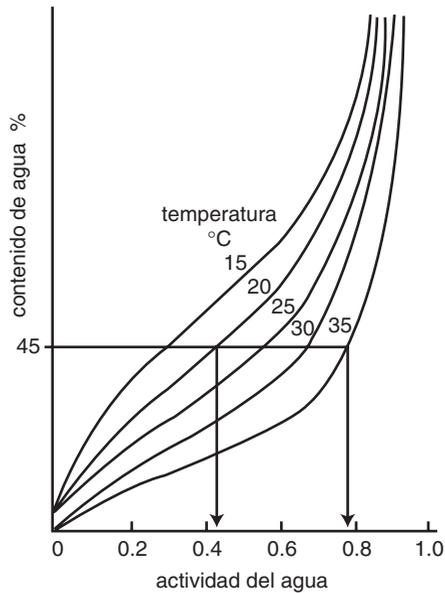


Figura I.9 Influencia de la temperatura en las isoterma de adsorción.

esta ecuación se puede aplicar en alimentos congelados en un intervalo de temperatura de 0 a -40°C .⁶ De hecho, en soluciones acuosas binarias sencillas como leche descremada, bebidas y jugos, también se ha calculado la a_a por medio de la depresión del punto de congelamiento.²⁸

De manera teórica, la a_a puede calcularse con diversos modelos matemáticos, como los representados por las ecuaciones de Langmuir, de BET, de Anderson-Guggenheim, de Chung y Pfof, de Iglesias y Chirife, de Bradley, de Smith, de Henderson, etcétera.⁴⁰

En general, existe mucha información sobre los valores de la actividad del agua de un gran número de alimentos (cuadro 1.5). Las frutas, las hortalizas, la carne y muchos enlatados tienen, en promedio, 0.97; contrariamente a éstos, los productos deshidratados van de aproximadamente 0.3 a 0.6, mientras que los llamados alimentos de humedad intermedia se ubican entre estos dos grupos extremos.

I.8

DETERMINACIÓN DE LAS CURVAS DE ADSORCIÓN Y DESORCIÓN

La isoterma de adsorción representa la cinética con la que un alimento adsorbe humedad y se hidrata, y es importante conocerla ya que refleja el comportamiento de los deshidratados almacenados en atmósferas húmedas (higroscopicidad). De manera semejante, la de desorción equivale al proceso de deshidratación y refleja la forma como pierde agua.²⁴ Con base en ambas curvas se diseñan los sistemas de almacenamiento, de secado, de rehidratación, etcétera, además de que ayudan a predecir la estabilidad de los alimentos almacenados en distintas condiciones.

CUADRO 1.5 Actividad del agua de algunos alimentos

	<i>a_a</i>
Frutas frescas y enlatadas	0.97
Verduras	0.97
Jugos	0.97
Huevos	0.97
Carne	0.97
Queso	0.95
Pan	0.94
Mermeladas	0.86
Frutas secas	0.73
Miel	0.70
Huevo en polvo 5% humedad	0.40
Galletas, cereales	0.35
Azúcar	0.10

Para su elaboración es preciso calcular el contenido de humedad y la actividad del agua en el alimento, cuando se alcanza el equilibrio en un sistema cerrado; para medir el primero se utilizan los métodos tradicionales ya conocidos, y para la a_a se pueden emplear diferentes sistemas basados en las mediciones de la presión de vapor, de la temperatura de rocío, del abatimiento del punto de congelamiento, de las temperaturas de bulbos húmedo y seco, etcétera.^{32, 37} Con el higrómetro, el alimento se coloca en una cámara cerrada y la determinación se hace en el espacio de cabeza mediante diversos potenciómetros que contienen compuestos higroscópicos como el cloruro de litio o las resinas de intercambio iónico, cuyas conductividades eléctricas cambian con la humedad relativa.

En ausencia de instrumentos, las isotermas se determinan colocando muestras del alimento en distintas cámaras cerradas herméticamente (p. ej. un desecador de laboratorio), en cuyo interior se generan atmósferas con una humedad relativa conocida y estable. De esta forma, al alcanzar el equilibrio se cuantifica el contenido de agua, con lo que se obtienen los valores que se grafican; la operación se repite con tantas humedades como se considere necesario.

Dichas atmósferas de humedad relativa conocida se logran empleando soluciones saturadas de algunas sales, como la del NaCl que produce una $HR = 75\%$ en el espacio de cabeza del recipiente cerrado en que se encuentre; de igual manera, las disoluciones de K_2CO_3 , $NaNO_2$, KCl y K_2SO_4 , generan una HR de 43%, 65%, 85% y 97%, respectivamente.³³

Con estas consideraciones, cuando se desea obtener la curva de adsorción se utiliza el alimento seco con disoluciones salinas de HR altas, y cuando se quiere determinar la de desorción, se usa el alimento húmedo con HR bajas.

La cinética de adsorción de los polvos es muy importante, ya que con base en ella se diseña el empaque y se determinan las condiciones de almacenamiento; aunque cada producto se hidrata de manera diferente, esto se puede modificar con la ayuda de aditivos, o manipulando las condiciones de su procesamiento. La albúmina del huevo se hidrata más rápidamente cuando no contiene la ye-

ma, posiblemente porque en ésta existen lípidos que rechazan el agua; la influencia de los hidratos de carbono igualmente desempeña un papel muy importante en este comportamiento.^{18, 30}

Los valores de las isoterms también pueden determinarse con base en ecuaciones matemáticas, como la de Clausius Clapeyron con la que se calcula la a_a a cualquier temperatura cuando se conoce el calor de adsorción-desorción a una humedad constante.

1.9

ACTIVIDAD DEL AGUA Y ESTABILIDAD DE LOS ALIMENTOS

Los diversos métodos de conservación se basan en el control de una o más de las variables que influyen en la estabilidad, es decir, actividad del agua, temperatura, pH, disponibilidad de nutrimentos y de reactivos, potencial de oxido-reducción, presión y presencia de conservadores. En este sentido, la a_a es de fundamental importancia, y con base en ella se puede conocer el comportamiento de un producto. En la figura 1.10 aparece su relación con el pH; la ubicación del alimento en este sencillo diagrama da una indicación clara de su estabilidad y contribuye a determinar la necesidad de tratamientos térmicos, de adición de conservadores, etcétera, para prolongar la vida de anaquel.

En general, mientras más alta sea la a_a y más se acerque a 1.0, que es la del agua pura, mayor será su inestabilidad, por ejemplo, en carnes, frutas y vegetales frescos que requieren refrigeración por esta causa. Por el contrario, los alimentos estables a temperatura ambiente (excepto los tratados térmicamente y comercialmente estériles, como los enlatados), son bajos en a_a , como sucede con los de humedad intermedia en los que el crecimiento microbiano es retardado.

Como ya se indicó, en forma resumida y sólo con fines didácticos, la figura 1.7 muestra la influencia de la actividad del agua en varias de las reacciones químicas y enzimáticas que ocurren en los alimentos (oscurecimiento, rancidez, etcétera), así como en el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Esta gráfica varía mucho entre los distintos productos, de acuerdo con la composición, la homogeneidad de la distribución de los componentes, el tipo de reacción y otros factores, por lo que es solamente indicativa de las tendencias generales.

El contenido de agua por sí solo no proporciona información sobre la estabilidad de un alimento y, por eso, productos con la misma humedad, presentan distintas vidas de anaquel; dicha estabilidad se predice mejor con la a_a .

La influencia de este parámetro se ha demostrado en un gran número de trabajos de investigación: pérdida de lisina disponible,²¹ oscurecimiento no enzimático,³ degradación de vitaminas,¹⁴ inactivación del inhibidor de tripsina,³¹ destrucción de pigmentos,²³ producción del aroma de productos cocidos,¹⁷ estabilidades de pastas y harinas,²⁹ y de las frutas,³⁴ y en muchos otros productos y reacciones.

La estabilidad de las vitaminas está influida por la a_a de los alimentos de baja humedad; las hidrosolubles se degradan poco a valores de 0.2-0.3, que equivale a la hidratación de la monocapa, y se ven más afectadas con el aumento de la a_a . Por el contrario, en los productos muy secos no existe agua que actúe como filtro del oxígeno y la oxidación se produce fácilmente.

La a_a influye en el oscurecimiento no enzimático (capítulo 2), aun cuando cada azúcar tiene un distinto poder reductor que afecta la velocidad de la reacción. En general, la energía de activación y la temperatura requeridas se reducen a medida que aumenta la actividad del agua; la velocidad se acelera de 3 a 6, cuando la a_a pasa de 0.35 a 0.65 y hasta tres veces por cada 10°C de incremen-

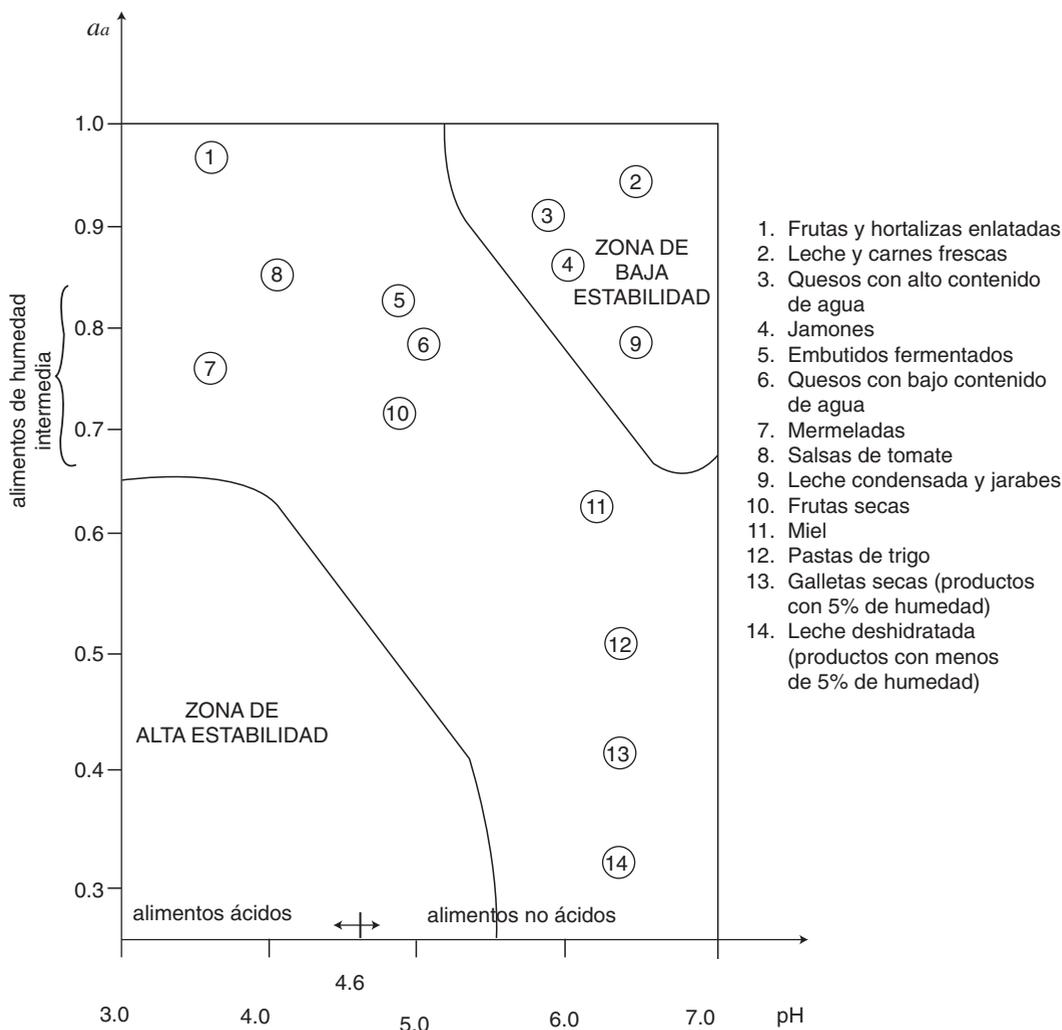


Figura 1.10 Influencia de la a_a y del pH en la estabilidad de los alimentos.

to. Sin embargo, cuando se concentran los alimentos se abate la a_a , pero también se concentran los reactivos, lo que favorece la reacción por un mayor contacto; al reducir aún más el agua, se pierde movilidad de los reactivos y se inhibe la reacción y por eso, en alimentos muy concentrados con azúcares, es más factible la caramelización que las reacciones de Maillard. Debido a la influencia del binomio a_a -temperatura, en el secado es recomendable reducir la temperatura del aire al final del proceso para prevenir el oscurecimiento.⁹

La oxidación de los aceites insaturados (capítulo 4) y de otras sustancias liposolubles, como las vitaminas y varios pigmentos, está influida por la a_a de acuerdo con la figura 1.7, en la que se obser-

va un fuerte incremento por debajo de la monocapa, ocasionado por una falta de agua que proteja del oxígeno a la superficie del alimento; después disminuye con la humedad por formar dicha capa protectora, para posteriormente aumentar nuevamente debido a que el agua favorece la movilidad de los metales que catalizan la reacción para ponerse en contacto con el sustrato.¹³

En las enzimas, el agua actúa facilitando la integración de su estructura proteínica, lo que conlleva a la formación del centro activo; además, también favorece la difusión de los reactivos e interviene como tal en las reacciones de hidrólisis. Cada enzima requiere una a_a para realizar su función; sin embargo, cuando el sustrato es líquido, como los aceites, las lipasas necesitan solamente un mínimo de agua (capítulo 4), mientras que las carbohidrasas y proteasas requieren de a_a mayores en un intervalo muy amplio (p. ej. desde 0.4 hasta 0.95).

Para su crecimiento, los microorganismos necesitan condiciones propicias de pH, de nutrientes, de oxígeno, de presión, de temperatura y de actividad del agua; como regla general, esta última tendrá que ser mayor a medida que los otros parámetros se vuelvan menos favorables. Por cada 0.1 unidades de aumento de a_a , el crecimiento microbiano puede incrementarse un 100%, hasta llegar a un límite. Los que más agua requieren son las bacterias (>0.91), después las levaduras (>0.88), y luego los hongos (>0.80); de todos, los patógenos son los que más la necesitan para su desarrollo, situación contraria a las levaduras osmófilas (cuadro 1.6). Como regla, la a_a mínima para la producción de toxinas es mayor que para el crecimiento microbiano. La reducción de la disponibilidad de agua inhibe dicho crecimiento, pero a su vez incrementa la resistencia térmica de los microorganismos, lo que indica que para destruirlos es mejor el calor húmedo que el calor seco.⁴¹ Los microorganismos responden a una baja humedad, prolongando su fase inicial, bajando la fase logarítmica y reduciendo el número de células viables.

CUADRO 1.6 Valores mínimos de la actividad del agua para el crecimiento de microorganismos de importancia en alimentos

<i>Organismo</i>	<i>Mínima</i>
Mayoría de bacterias dañinas	0.91
Mayoría de levaduras dañinas	0.88
Mayoría de hongos dañinos	0.80
Bacteria halófila	0.75
Levadura osmófila	0.60
<i>Salmonella</i>	0.95
<i>Clostridium botulinum</i>	0.95
<i>Escherichia coli</i>	0.96
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95

I.10 ALIMENTOS DE HUMEDAD INTERMEDIA

Los alimentos de humedad intermedia tienen una larga vida de anaquel y no necesitan de rehidratación o de enfriamiento para conservarse, por lo que son adecuados para zonas y países en donde la refrigeración no existe o es muy costosa. No hay una definición precisa de ellos pero se les considera productos con a_a de 0.65 a 0.86 y de 25 a 50% de agua. El valor de 0.86 se toma como límite, ya

que es suficiente para inhibir bacterias patógenas, como el *Staphylococcus aureus*,²⁶ aunque es insuficiente para evitar hongos y levaduras, por lo que en su elaboración se añaden sorbatos y benzoatos.^{10, 15}

Estos productos se fabrican quitándole agua al alimento o adicionándole solutos altamente hidratable que retienen agua y reducen consecuentemente la a_a . En el primer caso, la concentración por evaporación es muy común y se emplea en la leche, que de $a_a = 0.97$ pasa a $0.80 - 0.82$, con lo que se obtiene una leche evaporada con una mayor vida de anaquel; de la misma manera se fabrican mermeladas, dulces, jaleas, néctares y otros. La reducción del contenido de agua provoca la concentración de otras sustancias, como los ácidos que abaten el pH y que también contribuyen a la estabilidad microbiana del alimento.

La influencia de los solutos en la reducción de la actividad del agua en un alimento es muy compleja; la ecuación (1) se refiere a sistemas ideales, muy simples, de los cuales no existen muchos. Sólo como un ejemplo de aplicación de dicha fórmula, considérese un litro de agua pura, por lo que $M_s = 0$ y por tanto $a_a = 1.0$; si se le añaden 2 moles de sacarosa (684 g, $p_m = 342$), la $a_a = 0.96$, ya que $M_a = 55.5$ (1,000/18). Si fuera almidón ($p_m >$ un millón), se requeriría una mayor cantidad para lograr el mismo valor, lo que indica la gran influencia de los solutos de bajo p_m . Las desviaciones de la ecuación (1) en un alimento se comprueban fácilmente, y son más notorias mientras más complejo sea éste.

Los solutos de bajo p_m se seleccionan de acuerdo con su solubilidad, eficiencia, sabor, compatibilidad, pH, costo, regulaciones, etcétera; se tienen, por ejemplo, azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y lactosa), sales (cloruros de sodio y de potasio y varios fosfatos), polialcoholes (sorbitol, glicerina, manitol y propilenglicol), ácidos (fosfórico, láctico, cítrico, ascórbico y fumárico), hidrolizados de proteína, etcétera.^{12, 16, 38, 39} Es claro que la concentración requerida para cada uno de ellos depende de muchos factores, como el sabor. Por ejemplo, para reducir la actividad del agua de un cárnico con la sola adición de NaCl, se necesitaría tal concentración de sal que volvería el producto imposible de comer. La combinación de estas sustancias, junto con los conservadores y otros agentes, provoca la estabilidad de los alimentos de humedad intermedia.

Al ser un potencial químico, la diferencia de a_a que existe entre el exterior y el alimento, o incluso entre sus propios ingredientes, causa la migración del agua. El material del envase es fundamental, ya que si éste es permeable y el alimento se almacena en una atmósfera de HR mayor que la de equilibrio, habrá una migración hacia el interior (higroscopicidad), y la a_a se incrementará; por el contrario, si la humedad externa es inferior, se deshidratará. Aun cuando el material de empaque sea totalmente impermeable, la actividad del agua puede incrementarse con la temperatura (figura 1.9). En cualquier caso, el alimento tendrá una a_a distinta que favorecerá el crecimiento de microorganismos o de reacciones indeseables.

Por otra parte, esta transferencia de agua también ocurre internamente entre los constituyentes de un alimento, como sucede en las barras de los cereales con algunos componentes de humedad intermedia. El exterior es una galleta seca con 0.3 de a_a (bajo potencial químico), mientras que el relleno de frutas es de 0.7 (alto potencial químico), o más. Este diferencial provoca la migración de agua y la hidratación de la galleta, lo que conlleva a una reducción de su crujencia y facilita la oxidación de sus grasas. Al reducirse el contenido de humedad del relleno, su azúcar cristaliza y libera más agua, lo que a su vez aumenta la a_a y acelera su migración.

Es posible que un alimento tenga dos componentes, uno con 15% y otro con 25% de humedad, y la transferencia se haga del menor al mayor debido a sus distintas a_a , y no con base en sus contenidos de agua.

Además de los alimentos, muchos productos y preparaciones comerciales de pigmentos y de vitaminas alcanzan su mayor estabilidad cuando se les ajusta la actividad del agua en el intervalo de los de humedad intermedia.

1.11 CONGELAMIENTO DE LOS ALIMENTOS

De acuerdo con la ecuación de Arrhenius, la reducción de la temperatura inhibe las reacciones químicas y enzimáticas y el crecimiento microbiano, aun cuando en la refrigeración (0 – 10°C) y en la congelación (< 0°C) también se desarrollan. Esto se debe, en parte, a que los alimentos, por tener disueltas sustancias de bajo peso molecular, como sales y azúcares, presentan zonas ricas en solutos cuya temperatura de congelación se abate considerablemente y no toda el agua se convierte en hielo en el congelamiento, sino que quedan secciones líquidas ricas en solutos.

En el cuadro 1.3 se muestra el agua no congelada en dos productos lácteos a distintas temperaturas, así como los sólidos disueltos que contienen; a medida que disminuye la temperatura también se reduce la proporción de agua no congelada, aunque aumenta la concentración de los sólidos disueltos.

En el microambiente de la fase no congelable, diferente al resto del alimento, se modifica el pH, la concentración de reactivos, la *aa*, la fuerza iónica, la viscosidad, el potencial de oxidación-reducción, la solubilidad del oxígeno, la tensión superficial, etcétera; en consecuencia, en estas condiciones, a pesar de la baja temperatura, pueden ocurrir muchas reacciones químicas tales como la desnaturalización de las proteínas, la oxidación de los lípidos, la hidrólisis de la sacarosa, el oscurecimiento no enzimático, etcétera.

La estabilidad y las propiedades de las macromoléculas dentro de las células de los alimentos dependen de la interacción de sus grupos reactivos con la fase acuosa que los rodea; el congelamiento provoca un aumento de 8 – 10% del volumen, altera dichas interacciones y los cristales de hielo modifican la textura en frutas, hortalizas y cárnicos. La turgencia de los tejidos está determinada por la presión hidrostática de las células, y es la membrana la que retiene el agua y por lo tanto la que mantiene la frescura. Los componentes de las membranas son lipoproteínas formadas por enlaces débiles (puentes de hidrógeno y uniones hidrófobas) muy dependientes de la temperatura, lo que conlleva a su fácil disociación y a la liberación de agua durante el descongelamiento; esto ocasiona que los tejidos de los alimentos pierdan su rigidez y frescura y, en ocasiones, se eliminen nutrientes, como vitaminas hidrosolubles, en el agua de descongelamiento. Debido a esto, algunas frutas congeladas, como las fresas, se sirven parcialmente descongeladas en los restaurantes para evitar que al consumidor le llegue un producto sin estructura celular como el que se presenta cuando se descongela totalmente.

La velocidad de congelamiento determina la formación y localización de los cristales de hielo; cuando se hace rápidamente (minutos a muy baja temperatura), se producen muchos cristales pequeños tipo aguja a lo largo de las fibras musculares de la carne; por el contrario, si se efectúa en forma lenta, se induce un menor número de cristales pero de mayor tamaño, de tal manera que cada célula contiene una sola masa central de hielo. El congelamiento lento es más dañino que el rápido ya que afecta mayormente la membrana celular y además establece cristales intercelulares que tienen la capacidad de unir las células e integrar grandes agregados.

Los cristales de hielo no mantienen un tamaño constante en el almacenamiento a bajas temperaturas, sino que continúan creciendo a expensas de los de menor tamaño, debido a que éstos tienen un área mayor que los grandes que aumenta su presión de vapor y, por lo tanto, las moléculas de agua migran más fácilmente.

1.12 EL AGUA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Ningún recurso ambiental presenta tantos usos como el agua. En una planta de alimentos se emplea en la producción, en la formulación, en el transporte de vegetales, en la generación de vapor, en los

servicios (baños, regaderas, riego, etcétera), en los sistemas de enfriamiento, en el lavado de equipo y maquinaria, etcétera. Su extracción se vuelve cada día más complicada y costosa, sobre todo en países como México, en donde se requiere perforar varios cientos de metros para alcanzar el preciado líquido. Por estas razones, es de suma importancia implementar programas de ahorro, así como de optimización de procesos y de reutilización para disminuir el consumo.

En muchas ocasiones, el agua es la causa de reacciones que reducen las propiedades sensoriales y el valor nutritivo de los alimentos, por lo que es necesario tener un control adecuado de su calidad, sobre todo de la que está en contacto directo. No solamente los microorganismos presentes pueden causar daños, sino que las sales y los iones que contiene también ocasionan problemas, como es el caso del hierro, que cataliza las reacciones de oxidación de moléculas insaturadas, produciendo rancidez y decoloración de diferentes pigmentos. Asimismo, el cobre también propicia reacciones semejantes y de destrucción de vitaminas, como la C. La reactivación de algunas enzimas de los alimentos tratados térmicamente, puede acelerarse con la presencia de cationes como calcio y magnesio provenientes del agua empleada.

El agua dura, además de dificultar el lavado de los equipos con detergentes, provoca que se deposite carbonato y sulfato de calcio en las paredes de los intercambiadores de calor, los pasteurizadores, las calderas, etcétera, ocasionando una reducción en el área de transferencia de calor. De igual manera, en el escaldado de vegetales reduce la absorción de agua y modifica sus características de textura. Sin embargo, en el caso de las frutas que contienen pectinas, los iones divalentes producen una mayor rigidez.

Las aguas de pozos profundos contienen muchos bicarbonatos de hierro y manganeso que son solubles e incoloros, pero que al oxidarse en presencia de aire producen precipitados de color amarillo-rojo y gris-negro por la formación de sus respectivos hidróxidos. También, el betabel tiene una gran cantidad de oxalatos que forman precipitados blancos cuando interaccionan con los iones calcio o magnesio. Debido a la contaminación industrial de los mantos acuíferos, el agua también puede impregnar olores y sabores indeseables a los alimentos. El cloro y los fenoles se perciben en concentraciones menores a 1 ppm.

Así como en la industria alimentaria se consume mucha agua, también se generan efluentes que contaminan los ríos, lagos, mantos acuíferos, mares, etcétera, si previamente no son tratados. Esta contaminación es muy significativa en términos de la gran variedad de compuestos y del enorme impacto que tienen en los ecosistemas. Las autoridades federales requieren que se cumpla con los valores límite de ciertos parámetros para poder descargar las aguas residuales, tales como grasas y aceites, sólidos sedimentables, pH, temperatura, diversos elementos (As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Zn), demanda biológica de oxígeno, sólidos suspendidos totales y demanda química de oxígeno.

Para cumplir con dichos parámetros, se emplean diversos procesos físicos (sedimentación, flotación), químicos (coagulación, cambio iónico y ajuste de pH) y biológicos (digestión microbiana), generalmente en combinación. En los dos primeros se utilizan las propiedades físicas y químicas de los propios residuos para separarlos, mientras que en el biológico los efluentes orgánicos son inoculados con microorganismos para producir biomasa que posteriormente se separa como un sólido humedecido. Las aguas tratadas provenientes de estos sistemas se reutilizan en diversos servicios de las fábricas, como en calderas, riego, baños, etcétera, con lo cual se contribuye a reducir la sobreexplotación de los mantos acuíferos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre, R.J., Suárez, C. y Viollaz, P.E. 1986. "Enthalpy-entropy compensation in sorption phenomena: application to the prediction of the effect of temperature on food isotherms", *J. Food Sci.*, 51:1547.
2. Bertoluzza, A., C. Fagnano, M.A. Morelli, A. Tinti y M.R. Tosi. 1993. "The role of water in biological systems". *J. Molec. Struct.* 297:425-437.
3. Cerrutti, P., Resnik, S.L., Seldes, A. y Ferro Fontán, C. 1985. "Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: glucose loss, 5-hydroxymethylfurfural accumulation and fluorescence development due to nonenzymatic browning", *J. Food Sci.*, 50:627.
4. Chen, A.C. y Karmas, E. 1980. "Solute activity effect on water activity", *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 14:101.
5. Chen, C.S. 1986. "Effective molecular weight of aqueous solutions and liquid foods calculated from the freezing point depression", *J. Food Sci.*, 51:1537.
6. Chen, C.S. 1987. "Relationship between water activity and freezing point depression of food systems", *J. Food Sci.*, 52:433.
7. Chinachoti, P. 1993. "Water mobility and its relation to food functionality of sucrose-containing food systems". *Food Technol.* 45(1):134-140.
8. DeMan, J.M. 1999. "Water". Cap. 1 en *Food Chemistry*. Tercera edición, pp. 1-32. Aspen Publishers, Gaitersburg, MD.
9. Eichner, K. 1985. "The influence of water content on non-enzymatic browning reactions in dehydrated foods and model systems and the inhibition of fat oxidation by browning intermediates". Cap. 23 en *Water Relations of Foods*. Ed. R.B. Duckworth, pp. 417-434, Academic Press, Nueva York.
10. Erickson, L.E. 1982. "Recent developments in intermediate moisture foods", *J. Food Prot.*, 45:484.
11. Fennema, O.R. 1976. "Water and ice", en *Food Chemistry*, Ed. O.R. Fennema, Marcel Dekker, Nueva York.
12. Fernández, B., Mauri, L.M., Resnik, S.L. y Tomio, J.M. 1986. "Effect of adjusting the water activity to 0.95 with different solutes on the kinetics of thiamin loss in a model system", *J. Food Sci.*, 51:1100.
13. Fritsch, C.W. 1994. "Lipid oxidation – the other dimensions". *Inform 5*: 423-428, 431-436.
14. Furuya, E.M., Warthesen, J.J. y Labuza, T.P. 1984. "Effects of water activity, light intensity and physical structure of food on the kinetics of riboflavin photodegradation", *J. Food Sci.*, 49:525.
15. Gerschenson, L.N., Almazora, S.M. y Chirife, J. 1986. "Stability of sorbic acid in model food systems of reduced water activity: sugar solutions", *J. Food Sci.*, 51:1028.
16. Guilbert, S., Clement, O. y Cheftel, J.C. 1981. "Relative efficiency of various a_w -lowering agents in aqueous solutions and in intermediate moisture foods", *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 14:245.
17. Hartman, G.J., Scheide, J.D. y Ho, C.T. 1984. "Effect of water activity on the major volatiles produced in a model system approximating cooked meat", *J. Food Sci.*, 49:607.
18. Iglesias, H.A. y Chirife, J. 1982. *Handbook of Food Isotherms*, Academic Press, Nueva York.
19. Iglesias, H.A. y Chirife, J. 1984. "Correlation of BET monolayer moisture content in foods with temperature", *J. Food Technol.* 19:503
20. Iglesias, H.A., Chirife, J. y Ferro Fontán, C. 1986. "Temperature dependence of water sorption isotherms of some foods", *J. Food Sci.*, 51:551.
21. Kaanane, A. y Labuza, T.P. 1985. "Change in available lysine loss reaction rate in fish flour due to an a_w change induced by a temperature shift", *J. Food Sci.*, 50:582.
22. Kanterewicz, R.J. y Chirife, J. 1986. "Color changes and available lysine during storage of shelf-stable concentrated cheese whey", *J. Food Sci.*, 51:826.
23. Kearsley, M.W. y Rodríguez, N. 1981. "The stability and use of natural colours in foods: anthocyanin, *b*-carotene and riboflavin", *J. Food Technol.*, 16:421.

24. Keey, R.B. 1980. "Theoretical foundations of drying technology", en *Proc. Int. Symp. on Drying*, Ed. A.S. Mujumdar, Hemisphere Publishing Co., Nueva York.
25. Labuza, T.P., Kaanane, A. y Chen, J.Y. 1985. "Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods", *J. Food Sci.*, 50:385.
26. Ledward, D.A. 1982. "Intermediate Moisture Meats", en *Developments in Meat Science*, Ed. R. Laurie, Applied Science Pub., Ltd., Inglaterra.
27. Lehninger, A.L. 1975. "Water", en *Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., Nueva York.
28. Lerici, C.R., Piva, M. y Rosa, D. 1983. "Water activity and freezing point depression of aqueous solutions and liquid foods", *J. Food Sci.*, 48:1667.
29. Leung, H.K., Matlock, J.P., Meyer, R.S. y Morad, M.M. 1984. "Storage stability of a puff pastry dough with reduced water activity", *J. Food Sci.*, 49:1405.
30. Lo, Y.C., Froning, G.W. y Arnold, R.G. 1983. "The water activity lowering properties of selected humectants in eggs", *Poultry Sci.*, 62:971.
31. Phillips, R.D., Chihinnan, M.S. y Mendoza, L.G. 1983. "Effect of temperature and moisture content on the kinetics of trypsin inhibitor activity, protein in vitro digestibility and nitrogen solubility of cowpea flour", *J. Food Sci.*, 48:1863.
32. Prior, B.A. 1979. "Measurement of water activity in foods: A review", *J. Food Protection*, 42:668.
33. Resnik, S.L., Favetto, G., Chirife, J. y Ferro Fontán, C. 1984. "A world survey of water activity of selected saturated salt solutions used as standards at 25°C", *J. Food Sci.*, 49:510.
34. Singh, R.K., Lund, D.B. y Buelow, F.H. 1983. "Storage stability of intermediate moisture apples: kinetics of quality change", *J. Food Sci.*, 48:939.
35. Slade, L. y Levine, H. 1991. "Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality", and safety. CRC en *Food Science and Nutrition*, 30:115-360.
36. Troller, J.A. y Christian, J.H.B. 1978. *Water Activity and food*, Academic Press, Nueva York.
37. Troller, J.A. 1983. "Methods to measure water activity", *J. Food Protection*, 46(2):129.
38. Vaamonde, G., Chirife, J. y Scarmato, G. 1984. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth in laboratory media of water activity adjusted with polyethylene glycols", *J. Food Sci.*, 49:296.
39. Vallejo-Córdoba, B., Nakai, S., Powrie, W.D. y Beveridge, T. 1986. "Protein hydrolysates for reducing water activity in meat products", *J. Food Sci.*, 51:1156.
40. Van den Berg, C. y Bruin, S. 1981. "Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects", en *Water Activity: Influences on Food Quality*, Ed. L.B. Rockland y G.F. Stewart. Academic Press, Nueva York.
41. Verrips, C.T. y Van Rhee, R. 1981. "Heat inactivation of *Staphylococcus epidermis* at various water activities", *Appl. Environmental Microbiol.*, 41:1128.

2

Hidratos de carbono

- 2.1 Introducción
- 2.2 Clasificación y nomenclatura
- 2.3 Monosacáridos
- 2.4 Aminoazúcares
- 2.5 Desoxiazúcares
- 2.6 Azúcares-alcoholes o polioles
- 2.7 Glucósidos
- 2.8 Oligosacáridos
- 2.9 Reacciones químicas de los monosacáridos
- 2.10 Tecnología de los azúcares
- 2.11 Polisacáridos
- 2.12 Fibra
- Referencias bibliográficas



2.1 INTRODUCCIÓN

Como indica su nombre, los hidratos de carbono —o carbohidratos— (CHO) son compuestos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, presentan la fórmula general $C_x(H_2O)_n$, y tienen estructura de polihidroxialdehído o de polihidroxiacetona; además, todos los carbohidratos presentan grupos funcionales $C=O$ o $-OH$.

Los CHO son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, y también los más consumidos por los seres humanos (en muchos países constituyen entre 50 y 80% de la dieta poblacional). Los hidratos de carbono que provienen del reino vegetal son más variados y abundantes que los del reino animal; se originan como producto de la fotosíntesis y son los principales compuestos químicos que almacenan la energía radiante del Sol. De hecho, la glucosa que se sintetiza en las plantas representa la materia prima fundamental para la fabricación de casi todos

los carbohidratos: el bióxido de carbono reacciona con agua para formar glucosa, con el consecuente desprendimiento de oxígeno: $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$. Por su parte, la glucosa da origen a muchos otros azúcares, como la sacarosa y la fructosa, o bien a polímeros como la celulosa y el almidón. Los organismos obtienen energía a través del metabolismo bioquímico de los CHO (glucólisis y ciclo de Krebs).

Casi todos los compuestos orgánicos que se encuentran en las plantas y en los animales son derivados de hidratos de carbono; la misma síntesis de proteínas se lleva a cabo con los aminoácidos provenientes de la reacción entre hidratos de carbono y diversas sustancias nitrogenadas. En general, los azúcares simples no se encuentran libres en la naturaleza, sino en forma de polisacáridos, como reserva energética (almidones), o como parte de la estructura firme del producto (fibra dietética, *vg.* celulosa, pectinas, gomas y hemicelulosa), en cuyo caso no son digeribles, ya que el organismo humano no puede metabolizarlos; sin embargo, la fibra dietética absorbe agua en el intestino y ayuda a la formación y eliminación de heces.

Existe un gran número de hidratos de carbono; los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, la fructosa, el almidón y la celulosa, pero también hay otros que, aunque se encuentran en menor concentración en los productos que consumimos diariamente, tienen mucha importancia por sus propiedades físicas, químicas y nutrimentales. Si bien en la antigüedad gran parte de estos carbohidratos se consideraba un desperdicio, en la actualidad se les utiliza para elaborar un sinnúmero de alimentos (fibras y gomas).

La estructura química de los carbohidratos determina su funcionalidad y características, mismas que repercuten de diferentes maneras en los alimentos, principalmente en el sabor, la viscosidad, la estructura y el color. Es decir, las propiedades de los alimentos, tanto naturales como procesados, dependen del tipo de carbohidrato que contienen y de las reacciones en que éstos intervienen.

La glucosa es una forma de carbohidrato importante en el metabolismo de las células; su oxidación completa a CO_2 y H_2O , por medio de la glucólisis y el ciclo de Krebs, genera ATP, unidad básica de transferencia de energía en los sistemas biológicos. La reserva de estos compuestos en los animales y en las plantas son, respectivamente, el glucógeno y el almidón, polímeros de glucosa cuya combustión genera 4 kcal/g (17kJ/g); la porción de fibra dietética presente en los vegetales no produce energía.

2.2

CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

Los términos sinónimos carbohidrato e hidrato de carbono fueron acuñados, en principio, para designar una familia de compuestos que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno —estos dos últimos en la proporción del agua—, e integran moléculas del tipo $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$, como en el caso de la glucosa: $\text{C}_6(\text{H}_2\text{O})_6$; sin embargo, posteriormente se descubrieron muchas otras sustancias que, además de cumplir estas condiciones, contenían también compuestos como N, P, S, etc., con lo cual la fórmula empírica inicial se modificó de manera considerable.

Existen diversas clasificaciones de los carbohidratos, cada una de las cuales se basa en un criterio distinto: estructura química, ubicación del grupo $\text{C}=\text{O}$ (en aldosas o cetosas), número de átomos de carbono en la cadena (triosa, tetrosa, pentosa, hexosa), abundancia en la naturaleza, uso en alimentos, poder edulcorante, etc. Por lo general se prefiere el criterio de la estructura química, que hace referencia al tamaño de la molécula o al número de átomos de carbono que ésta contiene, así

como a la cantidad de unidades de azúcar que lo conforman.⁸⁵ De acuerdo con este principio, los hidratos de carbono pueden ser monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (cuadro 2.1).

CUADRO 2.1 Clasificación de los hidratos de carbono más importantes en los alimentos

a) <i>Monosacáridos (1 unidad de azúcar)</i>	b) <i>Oligosacáridos (de 2 a 10 unidades de azúcar)</i>
Pentosas: xilosa, arabinosa, ribosa, etc.	Disacáridos: lactosa, sacarosa, maltosa, etc.
Hexosas:	Trisacáridos: rafinosa, etc.
aldohexosas: glucosa, galactosa, manosa, etc.	Tetra y pentasacáridos: estaquirosa, verbascosa, etc.
cetohehexosas: fructosa, sorbosa, etc.	
c) <i>Polisacáridos (más de 10 unidades de azúcar)</i>	
Homopolisacáridos: almidón, glucógeno, celulosa, etc.	
Heteropolisacáridos: hemicelulosa, pectinas, etc.	

Los hidratos de carbono que no pueden ser hidrolizados en otros más simples se denominan monosacáridos. Por su parte, a los carbohidratos que contienen el grupo cetona se les asigna el sufijo “ulosa” para distinguirlos de los aldehídos, que llevan la terminación “osa”; por ejemplo, la levulosa (fructosa) es una cetosa del grupo de las hexulosas, mientras que la glucosa es una aldosa que pertenece a las hexosas. En el reino vegetal se encuentran muchos azúcares de seis átomos de carbono, aunque sólo cinco de ellos han sido aislados en estado libre: tres aldosas (glucosa, galactosa y manosa) y dos cetosas (fructosa y sorbosa).

Los monosacáridos son los monómeros o unidades básicas de los hidratos de carbono más complejos, cuya unión química produce oligosacáridos o polisacáridos, los cuales, a su vez, pueden estar constituidos por una o varias clases de monómeros.

La nomenclatura de los carbohidratos es algo confusa ya que, al igual que muchos otros compuestos químicos, fueron designados originalmente con nombres triviales y raíces que indican el origen o procedencia, a la cual sólo se le añade el sufijo “osa” (como en el caso de la lactosa, que es el azúcar de la leche, la fructosa de las frutas, la maltosa de la malta, etc.). Desafortunadamente, estos nombres no ofrecen una idea de la estructura química del carbohidrato en cuestión, pero se siguen usando a pesar de que desde hace tiempo existe una nomenclatura científica para diferenciarlos.¹⁰

En el caso de los polímeros se emplea la terminación “ana”. Por ejemplo, los constituidos por la unión de moléculas de glucosa se denominan glucanas; los que contienen sólo galactosa, galactanas, mananas, etc. Cuando los polímeros están integrados por más de un tipo de monómero, se les da un nombre compuesto; tal es el caso de la galactomanana, que es un polímero de galactosa y manosa.

2.3

MONOSACÁRIDOS

Estos compuestos, solubles en agua, son insolubles en etanol y en éter; además son dulces —aunque existen algunos amargos— y tienen apariencia cristalina y blanca. Comparativamente, la cantidad de monosacáridos en estado libre es muy inferior al número de los que se encuentran en forma combinada integrando los diversos polisacáridos. Casi todos los monosacáridos se han podido cristalizar, pero en ciertos casos el procedimiento necesario para ello es difícil si no se cuenta con cristales que permi-

tan iniciarlo. Al igual que otros, los cristales de los azúcares pueden descomponerse a temperaturas cercanas a su punto de fusión, e intervienen en un gran número de reacciones.

2.3.1 Distribución en la naturaleza

La glucosa es el monosacárido más abundante en la naturaleza; se encuentra en diferentes frutas, como las manzanas y las fresas, y en hortalizas como la cebolla (cuadro 2.2). Su concentración depende básicamente del grado de madurez del producto, como se detallará y ejemplificará posteriormente. Otro tipo de producto rico en glucosa es la miel, que contiene aproximadamente un 40% de ésta; la adulteración más común en la miel se presenta mediante la adición de sacarosa invertida, lo cual altera la relación glucosa-fructosa; este resultado aunado a otras pruebas como el $\delta C_{13}/C_{12}$ se emplean como un indicativo de adulteración en este producto. Debido a que la glucosa es dextrorrotatoria (es decir, gira a la derecha sobre el plano de la luz polarizada) también se le conoce con el nombre de dextrosa, y como es muy abundante en la uva (95% de los azúcares totales), se le llama azúcar de la uva. La glucosa que se emplea comercialmente en la elaboración de gran número de alimentos y se obtiene de la hidrólisis controlada del almidón (capítulo 5).

CUADRO 2.2 Contenido de azúcares de algunas frutas (%)

	<i>Sacarosa</i>	<i>Glucosa</i>	<i>Fructosa</i>
Fresa	1.3	2.6	2.3
Pera	1.0	2.4	7.0
Manzana	3.6	1.7	6.0
Durazno	6.7	1.5	1.0
Chabacano	4.4	2.0	0.4
Ciruela	4.3	4.0	1.4

Por su parte, la fructosa se encuentra principalmente en jugos de diversas frutas y en las mieles; cuando se hidroliza la sacarosa, se produce en cantidades equimoleculares con glucosa. Al igual que la mayoría de los monosacáridos, la fructosa es un azúcar reductor y, dado que es altamente levorrotatorio, se le designa con el nombre de levulosa. Forma parte de algunos polisacáridos, principalmente de la inulina (polisacárido lineal que contiene una glucosa terminal, y cuya unión molecular se da mediante enlaces $\beta(2-1)$ glicosídicos no digeribles), que se encuentra en plantas como el maguey, el ajo y la alcachofa, entre otras. La extracción comercial de la inulina —alentada por reportes científicos que indican una mejora en la absorción de calcio y magnesio—¹²⁶ se lleva a cabo a partir de la achicoria, herbácea compuesta que contiene hasta 20% de dicho monosacárido.

Como se mencionó antes, el contenido de los distintos azúcares en las frutas varía según el grado de maduración de éstas. Por ejemplo, en la fase inicial del desarrollo del durazno y del chabacano, los monosacáridos son más abundantes que la sacarosa; sin embargo, cuando los frutos alcanzan su estado comestible, los primeros se reducen a costa de las síntesis del disacárido. En el cuadro 2.2 se muestra la concentración de estos hidratos de carbono en la parte comestible de algunos productos vegetales.

En la maduración de las frutas climatéricas —como el plátano—, el etileno provoca la activación de diversas enzimas que catalizan la síntesis de fructosa, glucosa y sacarosa a partir del almidón; por su importancia destacan la sacarosa sintetasa y la invertasa.¹⁵¹ En la figura 2.1 se muestran estas transformaciones; como se puede observar, el almidón da origen a la sacarosa, la que a su vez produce la mezcla de los respectivos monosacáridos que la constituyen.

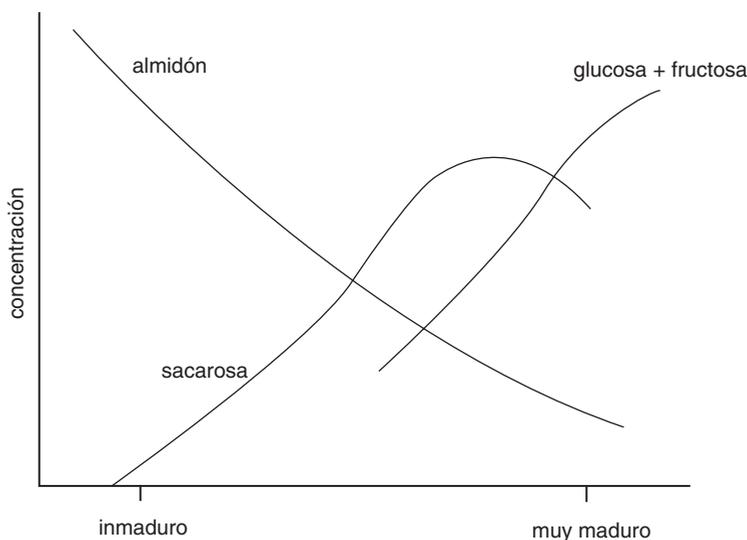


Figura 2.1 Conversión del almidón en azúcares durante la maduración del plátano.

El contenido y tipo de azúcares en las frutas, los vegetales, mieles, jarabes y productos derivados de éstos (donde los azúcares son los componentes dominantes) son como su huella digital, y conocerlos permite, junto con el resultado de otros análisis (pigmentos, ácidos orgánicos, azúcares, $\delta C_{13}/C_{12}$), determinar si un producto derivado de los mismos ha sido adulterado mediante la adición de azúcares de un origen diferente al esperado. Aunque esto es importante, no se debe perder de vista que los tratamientos térmicos aplicados a los diferentes productos procesados pueden afectar la relación de los azúcares al presentarse diversos tipos de reacciones, como caramelización, reacciones de oscurecimiento de Maillard, hidrólisis, etcétera.^{3, 31}

Los granos de los cereales tienen una proporción baja de azúcares libres (de 1 a 3% en peso, aproximadamente), sobre todo en el germen y en las capas de salvado.

La galactosa es parte constitutiva de algunos compuestos químicos, como los cerebrosidos y los gangliósidos, indispensables en los tejidos nerviosos del cerebro. Al igual que muchos otros monosacáridos, la galactosa se encuentra poco en estado libre, pero es muy abundante en forma combinada —principalmente con la glucosa— integrando, por ejemplo, la lactosa de la leche; además, participa en muchos polímeros, como las galactomananas y algunas gomas. Cabe indicar que un metabolismo inadecuado de este azúcar puede acarrear muy serios problemas de salud al ser humano.

Entre los azúcares ácidos más importantes está el ácido ascórbico o vitamina C, que se localiza sobre todo en las frutas. Además de la relevancia que tiene desde el punto de vista nutritivo, este

compuesto es de gran interés para el técnico, ya que da origen a varias reacciones químicas que inducen la producción de pigmentos amarillos en los alimentos que lo contienen. Los aspectos químicos del ácido ascórbico se revisan en el capítulo correspondiente a las vitaminas.

Casi todas las pentosas se encuentran como polímeros o como parte integrante de diversos glucósidos, por lo que es raro hallarlas en estado libre. Por ejemplo, la arabinosa es constituyente de varios polisacáridos (llamados arabanos), de gomas y de hemicelulosas, sustancias que se encuentran en el reino vegetal. La ribosa es un componente de los nucleótidos que integran los ácidos nucleicos. La ramnosa es una metilpentosa (desoxiazúcar) de varios glucósidos importantes, como la solanina, la hesperidina, la naringina y otras antocianinas. La xilosa, también llamada azúcar de la madera, se obtiene por hidrólisis de los polisacáridos estructurales de la madera (xilanas), de la mazorca del maíz y de la paja, y se utiliza para la producción industrial del furfural.

2.3.2 Estructura química

Los monosacáridos más comunes en la naturaleza, tales como las tetrasas, pentosas y hexosas, derivan del D-gliceraldehído con la adición de grupos CHOH a la cadena básica de carbonos (figura 2.2).

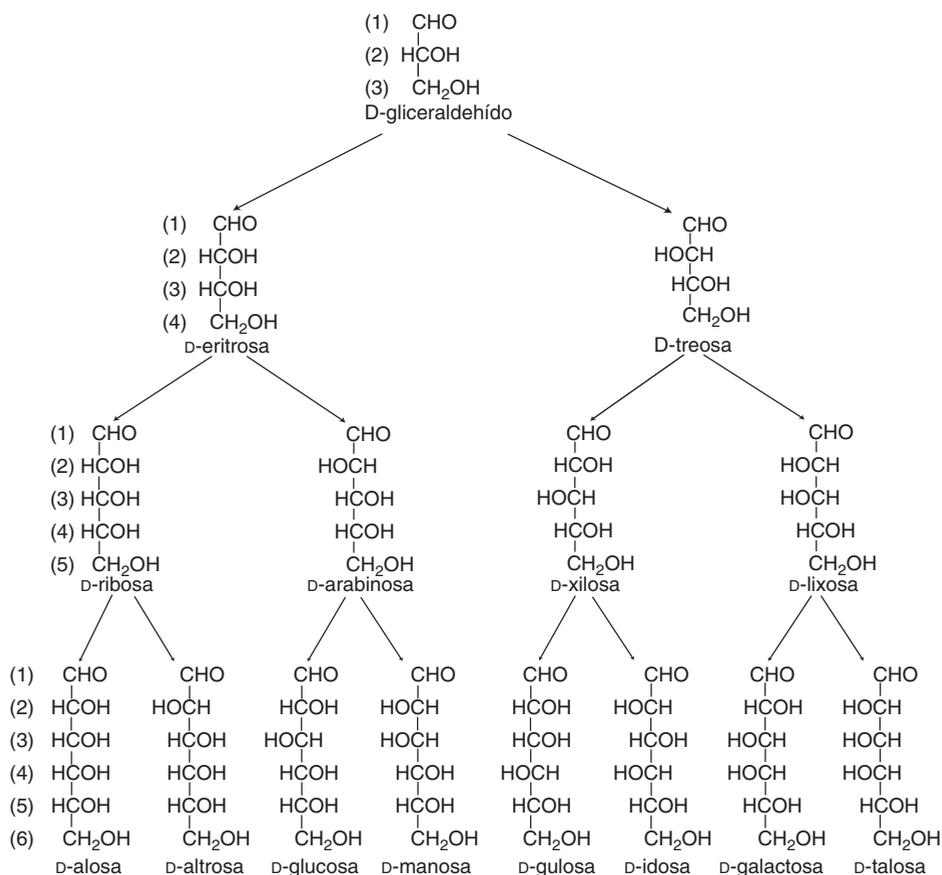


Figura 2.2 Proyección de Fischer de los azúcares derivados del D-gliceraldehído de 4, 5 y 6 átomos de carbono.

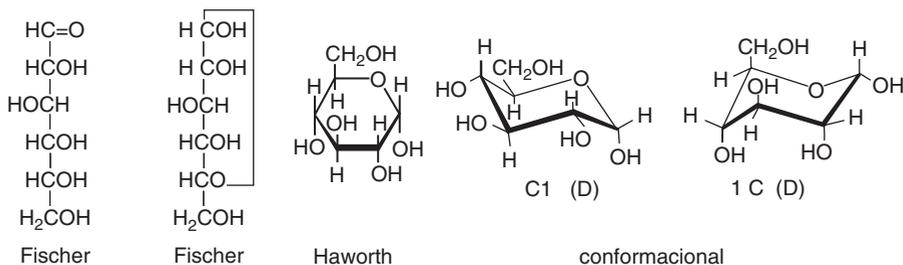


Figura 2.3 Diferentes representaciones de la D-glucosa (dextrosa).

El átomo número 2 del gliceraldehído es asimétrico y puede existir como los isómeros D y L; en los primeros el hidroxilo del carbono asimétrico más alejado del aldehído se encuentra a la derecha del plano lineal de la molécula (en las hexosas, las pentosas y las tetosas se localiza en el C-5, C-4 y C-3, respectivamente), y en los de la serie L dicho hidroxilo de referencia se ubica a la izquierda del plano central.

Es necesario hacer notar que las designaciones D y L no indican la dirección en la que el azúcar hace rotar el plano de la luz polarizada; si se desea hacer mención de su poder rotatorio, deben incluirse los signos (+) o (-), que corresponden a carbohidratos dextrorrotatorios o levorrotatorios, respectivamente.

El azúcar cuya única diferencia es la localización o posición de un solo hidroxilo que no sea el de referencia en su molécula se llama epímero. De acuerdo con ello, la glucosa es epímero de la manosa en el hidroxilo del C-2; de igual manera, la glucosa y la galactosa son epímeros por el hidroxilo del C-4.

Las representaciones químicas pueden hacerse mediante las proyecciones de Fischer y de Haworth, o bien con la fórmula conformacional (figuras 2.3 y 2.4). En la primera, los carbonos están en una cadena lineal abierta y se numeran a partir del aldehído, pero en el caso de las cetosas se hace desde el átomo de carbono más cercano a la cetona. Debido a su alta reactividad, el carbonilo interacciona con grupos alcohol de la misma molécula, produciendo enlaces hemiacetales intramoleculares que

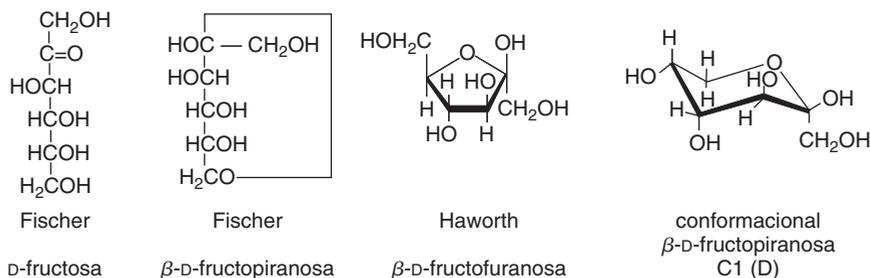


Figura 2.4 Diferentes representaciones de la D-fructosa (levulosa).

originan azúcares cíclicos y que, en agua, se encuentran en equilibrio con la cadena abierta (figura 2.5). En las hexosas se producen generalmente compuestos de conformación de piranosa (anillos de seis átomos), excepto en el caso de la fructosa, que es una furanosa (anillo de cinco átomos); de estos dos arreglos, el primero es el más estable y más común entre los distintos azúcares, debido a que presenta menos tensiones en los enlaces. Por lo tanto, estos hidratos de carbono se denominan con la terminación piranosa o furanosa, según el tipo de anillo que desarrollen.

La unión hemiacetal origina un nuevo centro asimétrico correspondiente al carbono anomérico en posición 1 de la representación de Haworth, que da origen a dos posibles enantiómeros; cuando el OH está por debajo del plano formado por los carbonos, el enantiómero se denomina α , y β cuando está por encima; es decir, los OH a la derecha de la representación de Fischer se localizan como α en la de Haworth, y los de la izquierda, como β . Cabe indicar que los diferentes isómeros de un azúcar pueden presentar características físicas y químicas distintas, como ocurre con la α y β -glucosa, cuyas características se muestran en el cuadro 2.3.

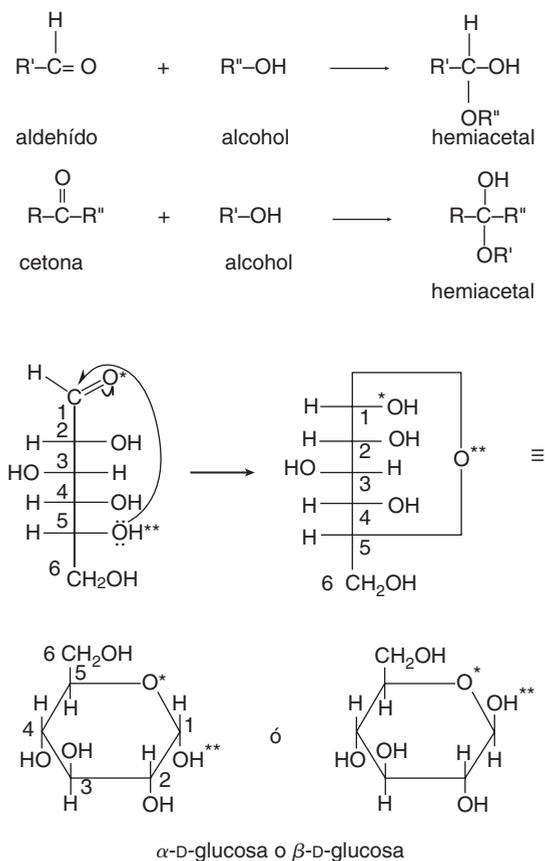


Figura 2.5 Enlaces hemiacetal de los monosacáridos.

CUADRO 2.3 Propiedades de la glucosa

	<i>α-D-glucosa</i>	<i>β-D-glucosa</i>
Rotación específica	+112.2°	+18.7°
Punto de fusión (°C)	146	150
Solubilidad en agua (%)	82.5	178
Velocidad relativa de oxidación con glucosa oxidasa	100	< 1.0

La representación cíclica de Haworth es más adecuada, ya que las cadenas lineales no responden estequiométricamente al poder reductor de los grupos aldehído o cetona. Las soluciones acuosas de los monosacáridos sufren modificaciones en su actividad óptica durante el almacenamiento, lo que indica que existe un proceso dinámico de conformación química hasta alcanzar el equilibrio mediante el fenómeno que recibe el nombre de mutarrotación; por ejemplo, la α -D-glucosa disuelta en agua tiene una rotación óptica de aproximadamente (+) 112°, que se reduce hasta (+)53° después de 4 horas, cuando se alcanza el equilibrio entre las formas cíclica y lineal; por su parte, la β -D-glucosa aumenta de (+)18.7° a (+)53° en un proceso similar al anterior. La mutarrotación es una manifestación del equilibrio que se establece entre las estructuras anomérica o de aldehído, y la cíclica o hemiacetal de los azúcares reductores.

Se sabe que la conformación más estable de los monosacáridos es aquella en que la cadena de átomos de carbono adopta un arreglo planar de zigzag con los grupos OH de manera antiparalela, lo que hace que la molécula se encuentre en su estado mínimo de energía (figura 2.6). De acuerdo con esto, las piranosas adoptan la forma de silla, en la que los OH son axiales cuando están perpendiculares al plano de átomos de carbono, o ecuatoriales cuando se localizan paralelamente a dicho plano; esto se ha demostrado con análisis de difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear, espectroscopia, etc. Exceptuando la α -D-arabinosa, que tiene estructura 1C, la mayor parte de los monosacáridos están como 1C, puesto que en ésta hay más OH ecuatoriales y, consecuentemente, menos impedimentos (figura 2.7).

2.4 AMINOAZÚCARES

Estos compuestos son resultado de la sustitución de un OH, normalmente el de C-2, por un grupo amino, como ocurre con la D-glucosamina y la D-galactosamina; la primera se encuentra en las mucoproteínas y en los mucopolisacáridos constituyentes de las células de varios insectos y crustáceos, mientras que la segunda es parte integral del sulfato de condroitina. Un grupo importante de los aminoazúcares es el del ácido siálico y sus derivados, que además pueden contener una molécula de ácido pirúvico o de ácido láctico; los más representativos son el ácido N-acetilneuramínico y el ácido

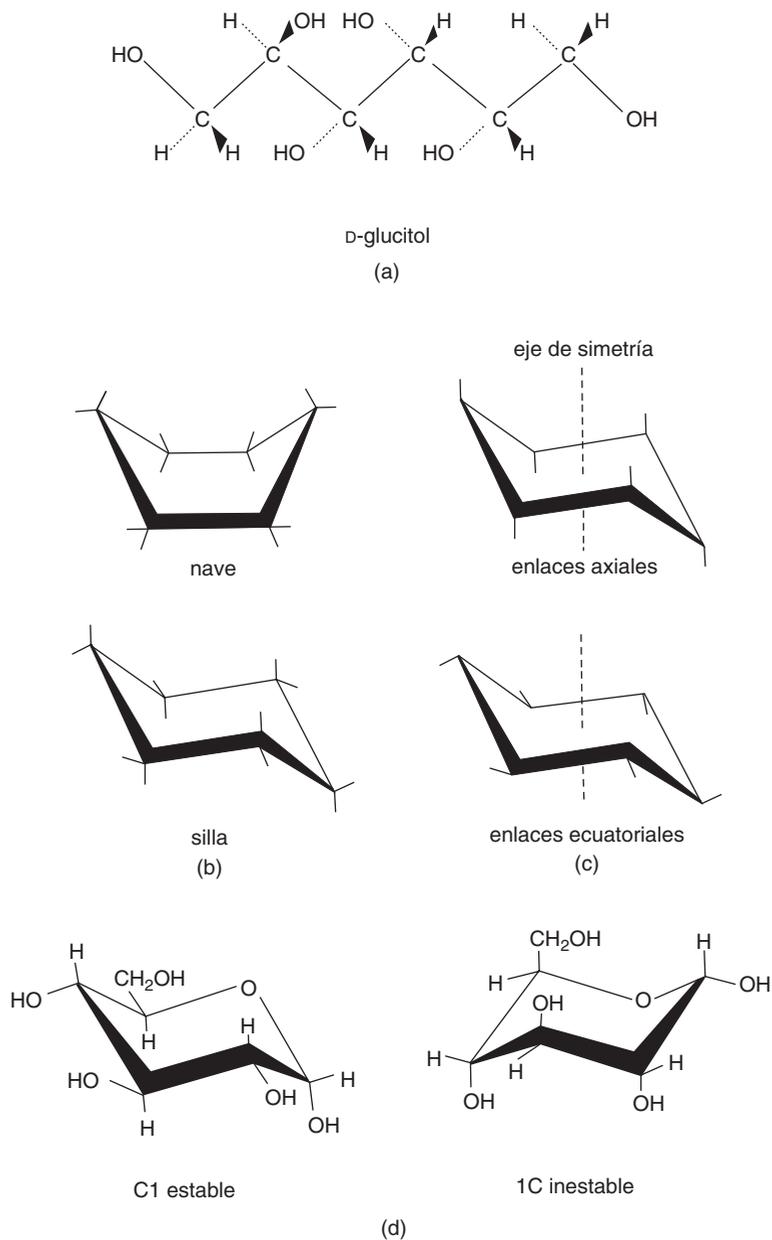


Figura 2.6 Estructuras conformacionales de los monosacáridos: (a) conformación planar en zig-zag de los átomos de carbono del glucitol; (b) estructuras de nave y silla; (c) posición axial y ecuatorial de los hidroxilos, y (d) formas conformacionales de silla de la α -D-glucopiranososa.

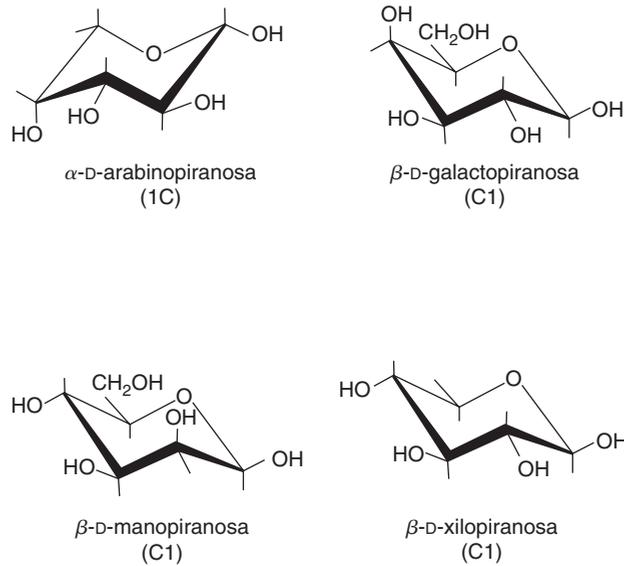
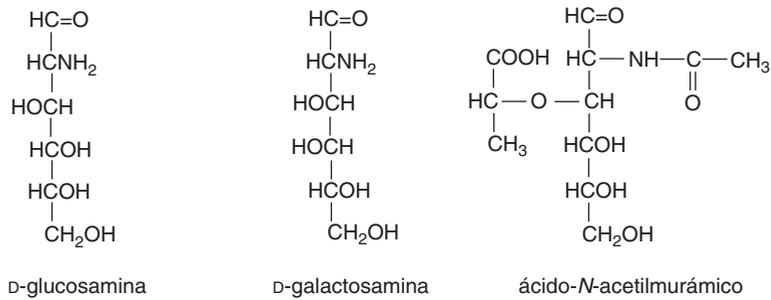


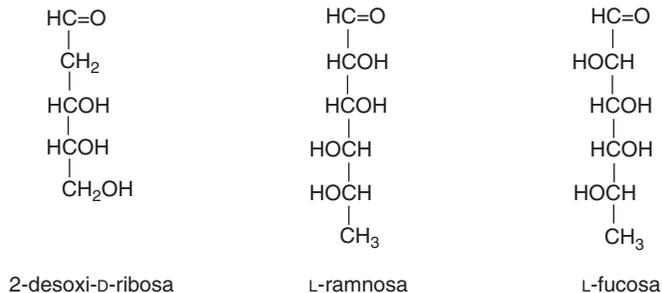
Figura 2.7 Estructuras conformacionales estables de algunos monosacáridos.

N-acetilmurámico, que forman parte de una glucoproteína de la leche, la caseína κ , a la cual se unen mediante un enlace éster.



2.5 DESOXIAZÚCARES

Estos derivados se producen cuando los azúcares pierden un átomo de oxígeno de un OH, indicado en la nomenclatura por el número que antecede al prefijo desoxi. Los más importantes son el 2-desoxi-D-ribosa (componente de los ácidos desoxirribonucleicos), el 6-desoxi-L-manopiranososa (comúnmente llamado L-ramnosa) y el 6-desoxi-L-galactofuranosa (L-fucosa).



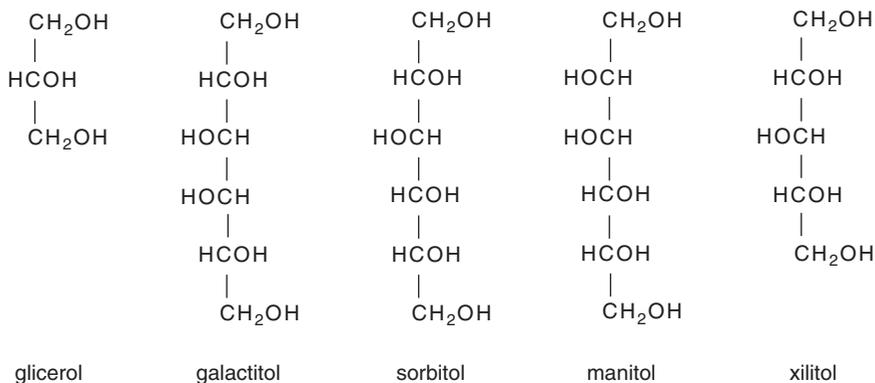
2.6 AZÚCARES-ALCOHOLES O POLIOLES

Estos compuestos se forman cuando los grupos aldehído o cetona de los azúcares se reducen y se produce el correspondiente hidroxilo. El poliol más conocido es el glicerol o glicerina, que es parte constitutiva de las grasas y los aceites; se le clasifica como triol por tener tres átomos de carbono. Entre los pentitales más comunes están el ribitol —el azúcar de la riboflavina— y el xilitol.

Algunos hexitales, como el sorbitol (D-glucitol) y el manitol, se han identificado en peras, manzanas, duraznos y otras frutas.

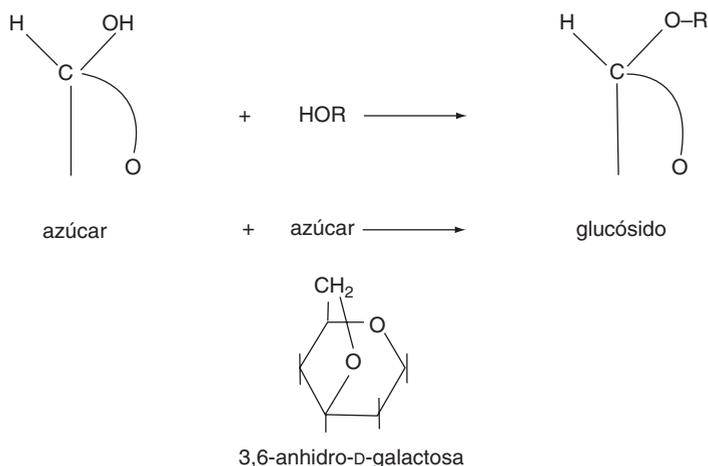
Tanto el sorbitol como el xilitol y la isomaltosa se sintetizan industrialmente a partir de sus correspondientes monosacáridos o disacáridos (glucosa, xilosa y sacarosa, respectivamente), mediante una reducción catalítica en presencia de níquel. Estos polioles, conocidos como azúcares-alcoholes, se usan mucho en la elaboración de alimentos, sobre todo productos de confitería y panificación, y en la producción de artículos para la higiene oral; se absorben lenta e incompletamente en el intestino, se emplean como sustituto de azúcar —ya que proporcionan menos energía por su lenta absorción— y su consumo en exceso puede provocar diarrea. Las propiedades funcionales y detalles específicos de estos polioles, considerados como aditivos GRAS, se analizarán con detalle en el capítulo 9, Aditivos.^{103, 189, 198}

Existen otros azúcares-alcoholes en la naturaleza; por ejemplo, el inositol, cuyo estereoisómero, el mioinositol, es parte importante en la fitina.



2.7 GLUCÓSIDOS

Estos compuestos se sintetizan cuando un azúcar se une, mediante su carbono anomérico reductor, a un grupo alcohol propio o de otro compuesto que puede o no ser un azúcar. Cuando el OH pertenece a un monosacárido se producen oligosacáridos que reciben el nombre genérico de *O*-glucósidos por estar enlazados mediante un átomo de oxígeno; a esta unión se le llama enlace glucosídico. En ocasiones el aldehído o la cetona reaccionan con un hidroxilo de la propia molécula para formar azúcares anhidros, como la 3,6-anhidro-D-galactosa, que se encuentra en las carrageninas.



Entre todos los miembros de este grupo de compuestos, los *O*-glucósidos son los más abundantes, puesto que en esta categoría se incluyen los oligosacáridos y los polisacáridos; debido a la importancia que revisten, se estudian por separado en otras secciones de este capítulo.

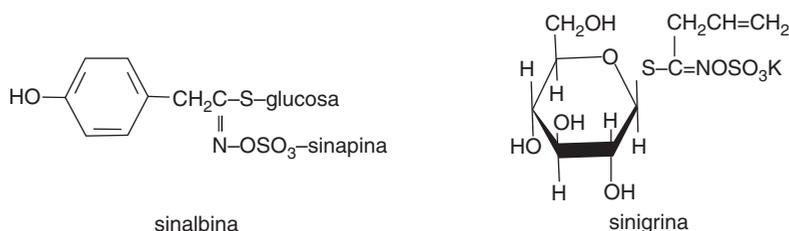
Además de las anteriores, existen otras muchas sustancias que son resultado del enlace de un azúcar reductor con una molécula que no tiene carácter de hidrato de carbono, y que recibe el nombre genérico de aglucona. El azúcar y la aglucona tienen la capacidad de enlazarse mediante átomos de oxígeno, de nitrógeno o de azufre, por lo que se les designa, respectivamente, *O*-glucósidos, *N*-glucósidos o *S*-glucósidos. Con relación a los oligosacáridos y los polisacáridos, aunque los demás glucósidos sólo representan una fracción muy pequeña, en baja concentración desempeñan un papel muy importante: muchos de ellos son pigmentos, algunos confieren las características de sabor a distintos alimentos, otros son tóxicos, varios más tienen funciones biológicas hormonales, etc. Se ha reportado que parte de las propiedades funcionales de la soya, como su contribución a la reducción de colesterol, sus efectos a nivel cardiovascular y óseo, y su utilización como alternativa hormonal para mujeres, se deben a la presencia de isoflavonas que digieren las glucosidasas en el jejunio, liberando agluconas, daidzeína y genisteína.^{131, 152}

Por otro lado, se ha informado que la genisteína es el compuesto químico con mayor potencial anticancerígeno.^{15, 110, 152, 188, 199, 200} La aglucona es la responsable de estas propiedades, mientras que el azúcar sirve para la estabilización y la solubilización del glucósido.^{16, 164}

Al igual que sucede con los oligo y polisacáridos, la unión que existe en estos compuestos se ve afectada por el carácter químico de la aglucona, por el tipo de enlace (oxígeno, nitrógeno o azufre),

por la clase de hidrato de carbono que contienen, etc.; en general son más sensibles a los ácidos que a los álcalis, y son hidrolizados por enzimas que reciben el nombre genérico de glucosidasas, entre las que se incluyen las amilasas, las pectinasas, las tioglucosidasas, etcétera.

En los *S*-glucósidos, también llamados glucosinolatos o tioglucósidos, el azúcar (en muchos casos glucosa) está enlazado a la aglucona mediante el átomo de azufre; de estos compuestos se conocen aproximadamente 70, pero pocos de ellos ejercen efectos importantes en los alimentos: algunos son responsables del aroma y el olor de ciertos productos vegetales, mientras que otros (llamados bociogénéticos) actúan como promotores del bocio. Todos ellos inhiben la síntesis de la tiroxina y permiten menor incorporación de yodo,^{34, 42, 210} y se han identificado en diferentes plantas de la familia de las crucíferas, siendo el género *Brassica* el más representativo; en él se incluyen la col, el brócoli, la mostaza, el nabo, la rutabaga, la berza, el rábano, la colza y otras plantas.



La sinalbina, la mirosina y la sinigrina son los *S*-glucósidos más estudiados; cada uno de ellos se encuentra asociado a una tioglucosidasa (tioglucósido glucohidrolasa), que también recibe los nombres populares de sinalbinasa, mirosinasa y sinigrinasa. Cuando el tejido de uno de los productos que los contiene se rompe a consecuencia de un daño mecánico (corte, mordedura, golpe, etcétera), la enzima se pone en contacto con el sustrato y libera moléculas de glucosa, de bisulfato y de la correspondiente aglucona; posteriormente, esta última experimenta un acomodo intramolecular y genera isotiocianatos, nitrilos, metiltoisotiocianatos, metilnitrilos y tiocianatos —todos de bajo peso molecular— que son responsables del aroma y el olor típicos de estos productos (figura 2.8). En el caso de la mostaza, la sinigrina genera isotiocianato de alilo, también llamado “aceite de mostaza”, que

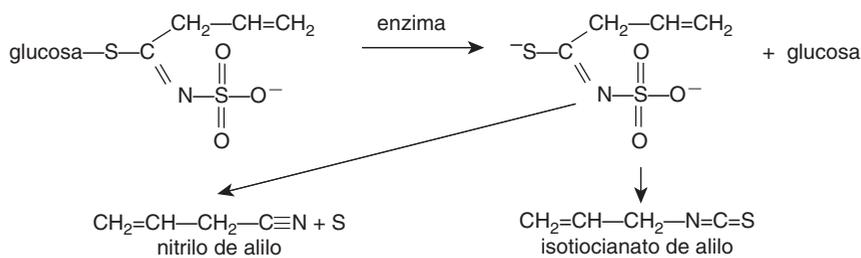


Figura 2.8 Formación de compuestos aromáticos a partir de los glucosinolatos de las crucíferas.

causa la pungencia característica de esta semilla. En los últimos años se ha asociado el cáncer que desarrollan las ratas de laboratorio con el consumo de isotiocianato de alilo.

Existen otros *S*-glucósidos (llamados progoitrinas) que también se encuentran en las crucíferas, y tienen la propiedad de contener una aglucona que genera compuestos (goitrinas) que evitan la fijación del yodo en la glándula tiroides, debido primordialmente a que son inhibidores de la peroxidasa involucrada en la síntesis de la T3 y la T4, lo que ocasiona hipertiroidismo en los animales de laboratorio. En la figura 2.9 se observa la generación de un isotiocianato que produce el compuesto bociogénico al ciclizarse. Se ha reportado que el consumo de soya es benéfico; no obstante, se ha comprobado que los niños que comen dicha semilla pueden presentar bocio.^{75, 199} Los calentamientos llevan a cabo la inactivación de la enzima correspondiente, pero no destruyen el glucósido; sin embargo, esto no indica necesariamente que se ha eliminado el efecto dañino de las semillas, puesto que los microorganismos del tracto intestinal son hidrolíticos y producen las goitrinas respectivas (capítulo 11).

Otro grupo de glucósidos muy importante es el de los cianogénéticos, es decir, aquellos cuya hidrólisis genera ácido cianhídrico. Consumidos en concentraciones elevadas pueden ser muy peligrosos; los más conocidos son la durrina del sorgo (250 mg/100 g), la amigdalina de las almendras amargas (250 mg/100 g), y la linamarina de la tapioca (53 mg/100 g) y de la judía de Lima (10-312 mg/100 g), entre muchos otros (cuadro 2.4). Se sabe que existen más de mil plantas que los contienen, pero en una concentración baja que los hace no tóxicos. Entre los glucósidos reportados, la *D*-glucosa es el azúcar más comúnmente presente en ellos. Por otro lado, la detoxificación puede lograrse mediante trituración y molienda.²¹⁰ En el cuadro 2.5 se listan algunos alimentos conocidos que presentan esta clase de compuestos y la cantidad de HCN que llegan a sintetizar.

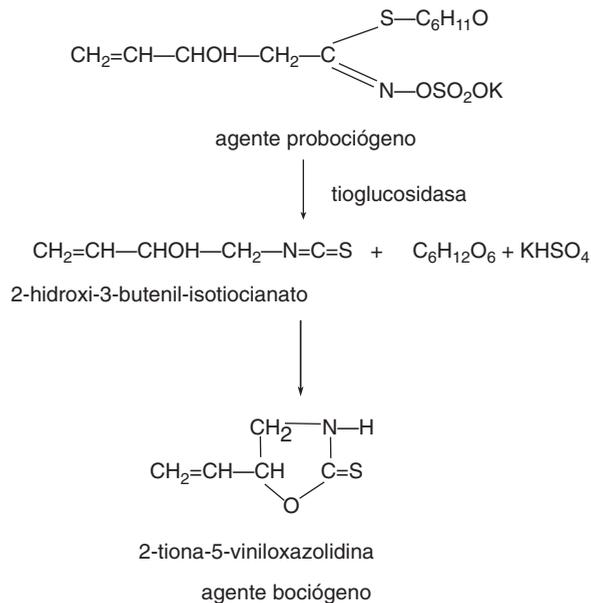


Figura 2.9 Reacciones enzimáticas conducentes a la producción de sustancias bociógenas.

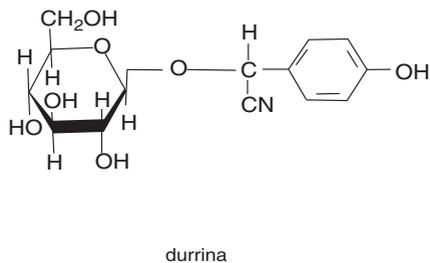
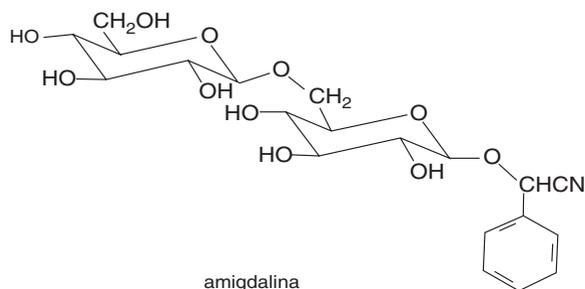
CUADRO 2.4 Glucósidos cianogénéticos

Nombre	Azúcar	Aglucona	Producto final
Amigdalina	Gentiobiosa	Bencenacetronitrilo	HCN, benzaldehído
Durrina	β -D-glucopiranososa	<i>p</i> -hidroximandelonitrilo	HCN
Linamarina	β -D-glucopiranososa	2-metil-propanonitrilo	HCN, acetona

CUADRO 2.5 Producción de HCN a partir de varios alimentos

	HCN producido g/100 g
Frijol (<i>Phaseolus lunatus</i>), algunas variedades	210-312
Frijol (<i>Phaseolus lunatus</i>), mayoría de variedades	10-17
Sorgo (café), planta entera	250
Tapioca	113
Linaza	53
Chícharo	2.3
Judías (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	2.0
Yuca (<i>Manihot utilisima</i>)	113

Mediante un mecanismo semejante al descrito para los *S*-glucósidos, las enzimas β -glucosidasas extracelulares actúan sobre los compuestos cianogénéticos después de que se rompe la pared celular y la enzima se pone en contacto con el sustrato intracelular. Es decir, la reacción se efectúa cuando el tejido ha sufrido un daño mecánico que lo altera, permitiendo el paso de la enzima hacia el glucósido. Por ejemplo, en el caso de la linamarina, la β -glucosidasa produce la aglucona correspondiente, y ésta a su vez se descompone en HCN y acetona por acción de la enzima oxinitrilasa (figura 2.10).



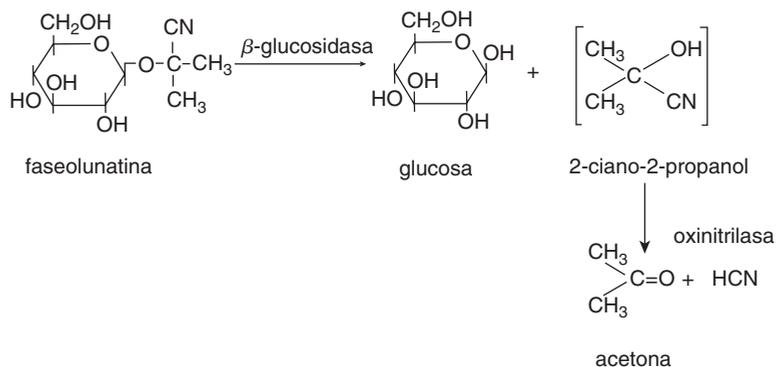


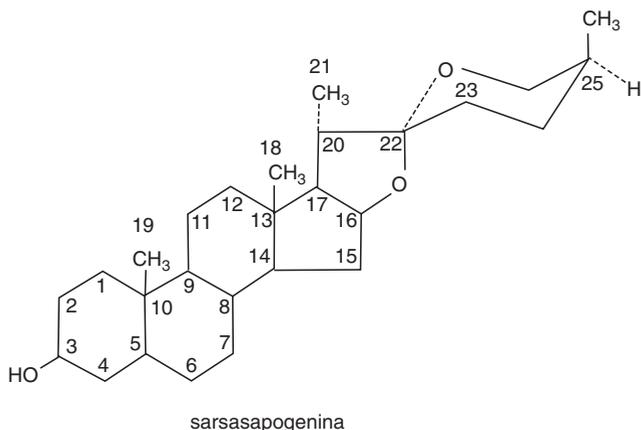
Figura 2.10 Producción de HCN a partir de faseolunatina del *Phaseolus lunatus*.

Estos compuestos no son tóxicos por sí mismos, pero llegan a liberar hasta 300 mg de HCN por cada 100 g de producto (cuadro 2.5); la dosis letal oral para el humano varía de 0.5 a 3.5 mg de HCN por kilogramo de peso. En consecuencia, un individuo de 70 kg de peso podría enfrentar serios problemas de salud —e incluso la muerte— al consumir 100 g de ciertos productos, ya que el HCN es un fuerte inhibidor de la cadena respiratoria. La cantidad de HCN producido varía considerablemente aun para una misma especie que se cultiva en diferentes condiciones: por ejemplo, en el caso de la *Phaseolus lunatus* se sabe que ésta puede variar desde 312 hasta 10 mg/100 g. Como alternativa para evitar intoxicaciones por un manejo inadecuado de estos alimentos, se han desarrollado formas de detoxificación mediante enzimas, obteniéndose diversos resultados. Otros procedimientos sugieren fermentación o tratamiento térmico para la eliminación del HCN.⁶

Por tener una dieta variada, el hombre consume continuamente estos compuestos en cantidades bajas; sin embargo, el cianuro ingerido en estas condiciones se elimina por conversión a tiocianato mediante el ión sulfito y la enzima rodanasa con actividad de transferasa. Los primeros síntomas de toxicidad se presentan cuando esta capacidad de desintoxicación se satura; el ión cianuro actúa en la cadena respiratoria en el nivel de la enzima citocromo oxidasa, e inhibe el proceso respiratorio: en un principio causa palpitaciones, dolores de cabeza y de garganta; posteriormente, da lugar a confusión mental, cianosis, convulsiones, coma y, finalmente, la muerte.

Los glucósidos cianogenéticos son solubles en agua, y se pueden eliminar de las semillas que los contienen mediante lixiviación. Otra forma de reducir el HCN consiste en provocar la reacción de su síntesis, seguida de un calentamiento que causa la volatilización de este compuesto.⁶ Cabe indicar que la β -glucosidasa es muy termolábil, pero no así el glucósido; en ocasiones se ha considerado que las intoxicaciones son provocadas al consumir sólo el glucósido, que es hidrolizado por las enzimas del tracto gastrointestinal.

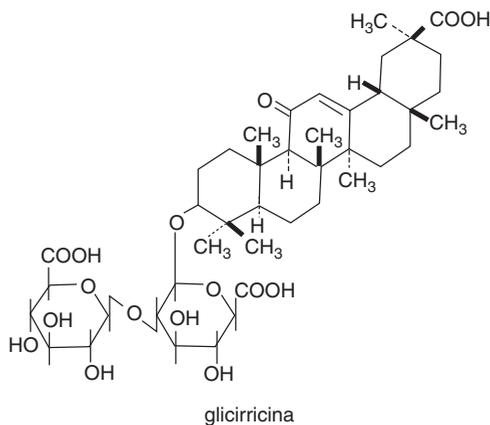
Las saponinas también pertenecen al grupo de los glucósidos y se encuentran en una gran variedad de plantas, muchas de ellas comestibles. La parte de hidrato de carbono está constituida normalmente por diferentes hexosas, pentosas y ácidos urónicos; la aglucona o la sapogenina pueden ser de naturaleza esteroidea, con 27 átomos de carbono, o de origen triterpenoide de 30C. Las más estudiadas han sido las de la soya, por su supuesto efecto tóxico hemolítico sobre las células rojas o eritrocitos. Actualmente ya no se consideran dañinas, y se usan en bebidas por su sabor amargo y su capacidad para formar espumas.



Entre los *N*-glucósidos más importantes se encuentran los nucleótidos que forman parte de los ácidos nucleicos; en la actualidad algunos de ellos se fabrican a gran escala, debido a que funcionan como potenciadores del sabor (capítulo 9, Aditivos).

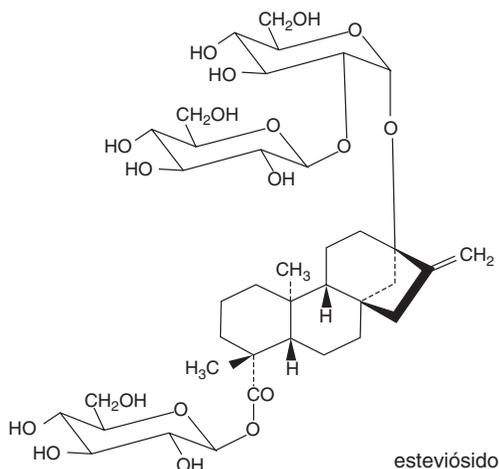
En el capítulo 7 se revisan los aspectos más relevantes de las antocianinas, los flavonoides y las betalainas, todos ellos pigmentos con estructura de glucósidos.

Existen otros muchos, algunos en concentraciones muy reducidas, por lo que es difícil estudiarlos; por ejemplo, el ácido glicirrónico, el esteviósido y la osladina que han sido aislados de la raíz de regaliz (orozuz), de la hierba del Paraguay y de los rizomas del helecho, todos ellos caracterizados por ser muy dulces.

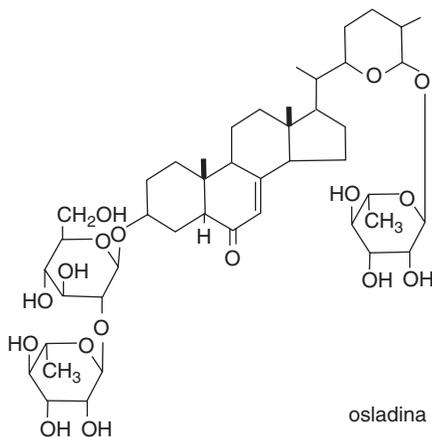


La glicirricina, llamada también ácido glicirrónico, tiene la estructura de saponina —glucósido amargo que puede causar hemólisis en los eritrocitos y que actúa como surfactante—¹⁵⁸ y se encuentra en la raíz del regaliz (*Glycyrrhiza glabra*), formada por el triterpeno ácido glicirretínico unido al ácido *O*- β -D-glucuronosil-(1,2)- β -D-glucurónico; su sal de amonio es un potente edulcorante, hasta 100 veces más dulce que la sacarosa. Consumidas en altas concentraciones, tanto la forma ácida como la sal incrementan la presión sanguínea y favorecen la retención de agua y de cloruro de sodio.

Por su parte, el esteviósido es un glucósido diterpeno de pm 804, integrado por una molécula de esteviol a la cual se une la sofrorosa mediante un grupo hidroxilo del carbono número 13; se encuentra en las hojas de la planta *Stevia rebaudiana*, originaria del Paraguay, y llega a ser hasta 300 veces más dulce que la sacarosa.¹⁴⁴



Finalmente, la osladina es un glucósido formado por la unión de la neohesperidosa con la polipodosaponina, a la cual se une, a su vez, un residuo de L-ramnosa; se encuentra hasta en 0.03% de la materia seca de los rizomas del helecho *Polypodium vulgare*, y tiene un poder edulcorante mucho mayor que el de la sacarosa.

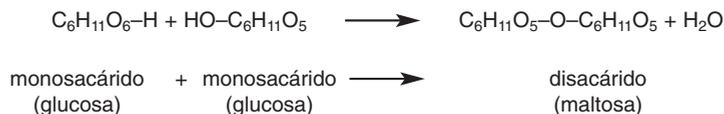


2.8 OLIGOSACÁRIDOS

Este grupo de sustancias se considera tradicionalmente como producto de la condensación de entre tres y 10 monosacáridos mediante un enlace glucosídico. Cuando el número de monómeros es ma-

yor, la molécula resultante se llama polisacárido, y sus características específicas dependen del tipo de azúcar que los conforma, así como de si su estructura es lineal o ramificada.^{40, 41}

En el área de los alimentos, los más importantes son los disacáridos y algunos tri y tetrasacáridos. Un disacárido se sintetiza por la unión de dos monosacáridos (con la consecuente pérdida de una molécula de agua), pero también se pueden obtener por la hidrólisis de los polisacáridos:



Durante la formación de oligosacáridos, uno de los azúcares elimina su OH anomérico para poder establecer el enlace glucosídico; al monómero que lo cede se le agrega el sufijo “sil” inmediatamente después de su nombre. Por ejemplo, la lactosa es la *O*-β-D-galactopiranosil-(1,4)-α-D-glucopiranosil-D-galactopiranosil-D-glucopiranosil. En caso de que los dos monosacáridos estén unidos por medio de sus respectivos carbonos anoméricos, se producen azúcares no reductores, como la sacarosa.

En general, los disacáridos se han dividido de acuerdo con su poder reductor. De esta manera tenemos aquellos capaces de reducir las soluciones de Fehling —como la lactosa, la celobiosa, la isomaltosa y la maltosa—, y los que no la reducen, como la sacarosa.

Al igual que sucede con los polisacáridos, el organismo humano sólo utiliza los oligosacáridos después de que han sido hidrolizados enzimáticamente en el intestino delgado, y convertidos en sus correspondientes monosacáridos; de ésta forma se absorben a través de la pared intestinal para llegar a los sitios donde finalmente pasan al torrente sanguíneo, mismo que los traslada a donde serán aprovechados.

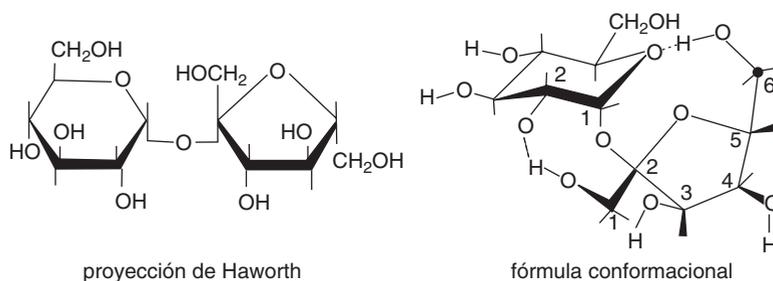
La hidrólisis química de los enlaces glucosídicos de los oligosacáridos depende de factores como el pH, la temperatura, la configuración anomérica y el tamaño del anillo glucosídico; en general estas uniones son más lábiles en los ácidos que en los álcalis, y las de configuración β resisten más que las de configuración α.

2.8.1 Sacarosa

La sacarosa (β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosil) llamada comúnmente “azúcar”, está integrada por una glucosa cuyo carbono aldehídico se une al cetónico de la fructosa, estableciendo un enlace glucosídico β(1,2) que impide que este disacárido sea reductor por carecer de grupos aldehído o cetona libres; además, no exhibe mutarotación. La fructosa que contiene está como furanosa tensionada, lo que hace que el enlace glucosídico sea muy lábil al calor y a los ácidos, y pueda hidrolizarse con facilidad para producir una mezcla altamente reductora de los correspondientes monosacáridos; de hecho, esta unión es de las más sensibles entre todos los disacáridos.^{79, 194}

La sacarosa es el químico orgánico más abundante en el mundo. Su hidrólisis parcial se aprovecha comercialmente en la elaboración de azúcar invertido usado en bebidas, ya que se reduce el porcentaje de azúcar necesario para proporcionar un dulzor determinado.

Este azúcar tiene un grado de solubilidad muy alto (cuadro 2.6), una gran capacidad de hidratación (cuadro 2.7), y es menos higroscópico que la fructosa (figura 2.11); todas estas características hacen que se emplee en la elaboración de diversos alimentos.



Estructuras de la sacarosa

La sacarosa abunda en forma natural en casi todas las frutas, en algunas raíces (como la remolacha, a partir de la cual se obtiene comercialmente, junto con la caña de azúcar), en ciertos granos, y en leguminosas como los chícharos. Su concentración en los diversos alimentos varía de manera considerable según el grado de madurez de estos productos. Por ejemplo, antes de alcanzar la madurez óptima para su cosecha, los chícharos (guisantes) contienen un porcentaje de sacarosa que representa 95% del total de los azúcares (9.5% del peso de la legumbre), y algunos monosacáridos como glucosa, fructosa y galactosa en baja cantidad; además, como la proporción de sacarosa es mayor que la del almidón, un chícharo inmaduro tiene un sabor dulce y una textura delicada.

CUADRO 2.6 Máxima solubilidad de disacáridos

°C	g/100 g agua	
	Lactosa	Sacarosa
0	11.9	179.2
15	16.9	197.0
25	21.6	211.4
40	32.4	238.1
80	99.6	362.1
100	157.6	487.2

CUADRO 2.7 Hidratación de algunos azúcares (azúcar 2M, 5°C)

	Moles H ₂ O/mol azúcar
Glucosa	3.7 ± 0.2
Manosa	3.9 ± 0.4
Ribosa	2.5 ± 0.4
Maltosa	5.0 ± 0.5
Sacarosa	6.6 ± 0.7

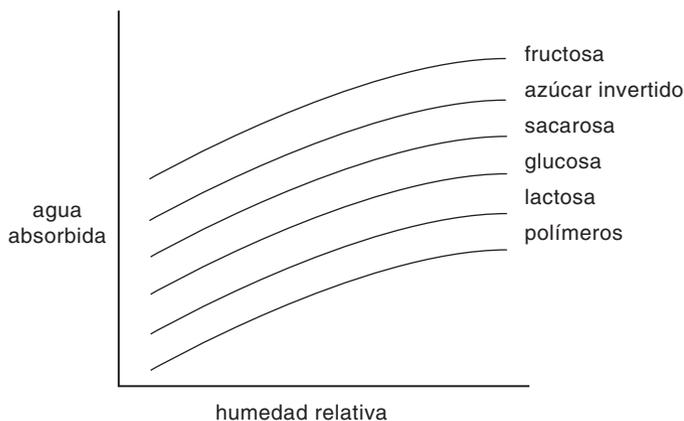


Figura 2.11 Absorción de agua de algunos azúcares respecto de la humedad relativa.

Al continuar el proceso natural de maduración, la sacarosa se convierte en almidón mediante una transformación bioquímica conocida, que continúa aun después de que el grano se cosecha y almacena (figura 2.12). En el producto maduro la cantidad del polisacárido se incrementa de 2 a 16%, aproximadamente, debido a un proceso contrario al del plátano (figura 2.1), que hace la textura más rígida y el sabor menos dulce. El rendimiento máximo por hectárea se logra cuando la proporción de almidón es mayor, a pesar de que las características sensoriales más adecuadas se ubican en un punto anterior a éste.

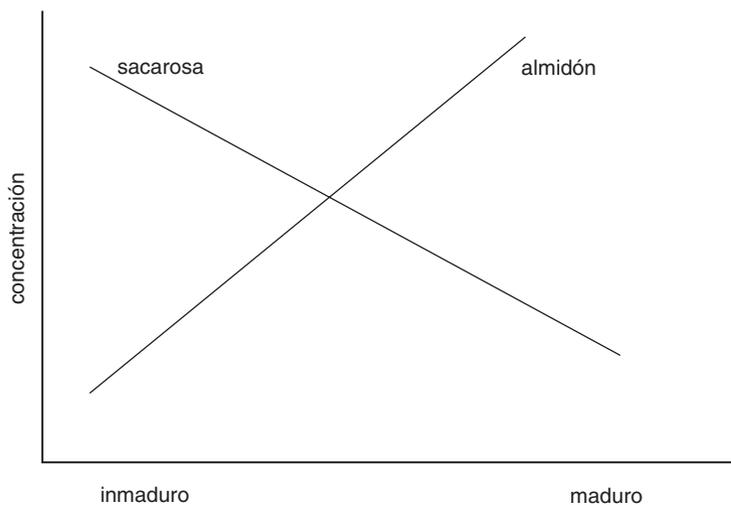


Figura 2.12 Conversión de sacarosa en almidón durante la maduración de chícharos.

Cambios como el anterior se observan también en otros alimentos, por ejemplo, en garbanzos, ejotes, habas y maíz. En el caso de algunos tubérculos como la papa (patata), la sacarosa (y algo de

glucosa y de fructosa) se sintetiza a partir del almidón por acción enzimática amilolítica que se favorece a temperaturas inferiores a 12°C, lo que provoca la transformación de almidón en glucosa. Esto ocasiona que el producto sea inadecuado para la industrialización, ya que los azúcares intervienen en reacciones de oscurecimiento durante el freído, o se pierden por lixiviación en el lavado. Por otra parte, si el almacenamiento se lleva a cabo a 25°C durante algunos días, la glucosa se transforma en almidón, haciendo el producto adecuado para su transformación comercial.⁴⁵

Desde hace tiempo se conoce la relación directa que existe entre el consumo de azúcares —principalmente sacarosa— y la caries dental; esta enfermedad es el resultado del crecimiento de bacterias tales como *Streptococcus mutans* y *S. sanguis*, que utilizan el disacárido y lo transforman en los ácidos pirúvico, acético y láctico, agentes que disuelven el esmalte de los dientes. Estos microorganismos sintetizan, además, dextranas (polímeros de glucosa) que les sirven de soporte, y crean un microambiente adecuado para su desarrollo.

Por otra parte, la sacarosa es un azúcar que el intestino utiliza fácilmente, convirtiéndolo en sus correspondientes monosacáridos; la glucosa se absorbe con rapidez e incrementa de manera violenta su concentración en la sangre, lo cual puede provocar problemas en el sistema hormonal que la regula.

2.8.1.1 Azúcar invertido

Se conoce con este nombre a la mezcla de azúcares producida cuando la sacarosa se hidroliza, química o enzimáticamente. El adjetivo “invertido” se refiere al cambio del poder rotatorio que se observa durante dicha hidrólisis: la sacarosa es dextrorrotatoria (+66°), pero al transformarse en glucosa (+52°) y en fructosa (−92°), la mezcla resultante desarrolla un poder levorrotatorio (−20°) por la fuerte influencia de la fructosa; es precisamente a este giro de +66° a −20° a lo que se le llama inversión. La producción de azúcar invertido puede lograrse mediante acción enzimática (el uso de una invertasa) o mediante tratamientos químicos que involucran la ruptura del enlace acetal, adicionando un H del agua a la fructosa y un O a la glucosa.

El azúcar invertido se produce naturalmente en la miel de abeja, razón por la cual dicho producto es tan dulce; también en los jugos de frutas con pH ácido y que sufren algún tratamiento térmico se percibe un ligero aumento de la dulzura, debido a la hidrólisis de la sacarosa.

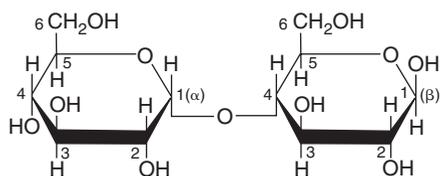
Comercialmente es fácil de producir, ya que el enlace glucosídico es muy lábil por la influencia de la fructosa; en el cuadro 5.3 se observa que la energía de activación necesaria para lograr esta transformación es baja, por lo que se pueden emplear ácidos diluidos o enzimas de las llamadas invertasas. No es recomendable usar ácidos fuertes ni temperaturas elevadas, pues en estas condiciones, por procesos químicos que se estudiarán más adelante, no sólo se provoca la hidrólisis del disacárido, sino también la deshidratación de los monosacáridos y la formación de colores y olores indeseables.

Debido a la presencia de la fructosa, el azúcar invertido es un poco más dulce que la sacarosa. Si consideramos un valor arbitrario de 100 para el poder edulcorante del disacárido, el de la fructosa es de 180 y el de la glucosa de 74; consecuentemente, el del azúcar invertido será el promedio: $(180 + 74)/2 = 127$; es decir, el azúcar invertido es 27% más dulce que la sacarosa. Otra de sus características es que no cristaliza, por lo que se emplea en algunos derivados de la confitería; además, es higroscópico, lo cual puede ser una desventaja en algunos casos (figura 2.11). En la industria se han desarrollado muchos jarabes de sacarosa con distintos grados de hidrólisis, que reciben el nombre genérico de azúcar líquido. Su aplicación en productos comerciales es importante, ya que ayuda a controlar la cristalización y a realzar el sabor en productos derivados de fruta; también se puede

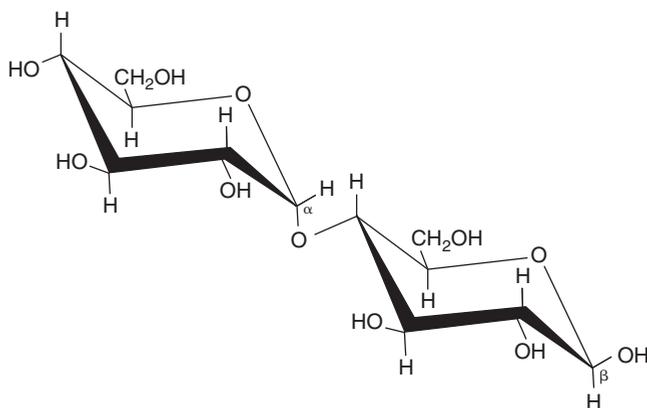
aplicar en ciertos artículos para reducir su actividad del agua y así apoyar su conservación. Asimismo, facilita la compactación de nieves y helados, el manejo de productos de panificación que van a ser sometidos a congelación, y da cuerpo a sustancias que serán utilizadas como rellenos.¹⁹¹

2.8.2 Maltosa

La maltosa (4-*O*- β -D-glucopiranosil- α -D-glucopiranososa), integrada por dos moléculas de glucosa, es un azúcar reductor hidrolizado por ácidos y por la enzima maltasa; presenta el fenómeno de la mutarrotación, pues existe en los isómeros α o β ; se encuentra comúnmente en la cebada y en los hidrolizados de maíz y de almidones. De todos los maltosacáridos, la maltosa es el menos higroscópico; no es tan dulce como la glucosa, pero tiene una dulzura aceptable; es fermentable, soluble en agua, y no cristaliza fácilmente. En la actualidad existen jarabes comerciales con altos porcentajes de este disacárido —fabricados enzimáticamente a partir de almidón—, mismos que disfrutan de gran aceptación en la industria alimentaria para la elaboración de bebidas alcohólicas como el whisky y la cerveza, entre otras; de hecho, la malta germinada, materia prima empleada en la elaboración de dichas bebidas, se obtiene mediante la germinación de cebada por el proceso llamado malteado.



proyección de Haworth



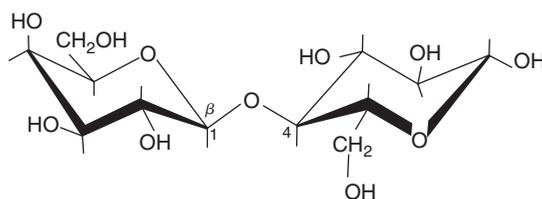
fórmula conformacional de la maltosa

2.8.3 Lactosa

La lactosa (4-*O*- β -D-galactopiranosil-D-glucopiranososa) se encuentra exclusivamente en la leche de los mamíferos, y está constituida por una molécula de galactosa y otra de glucosa, unidas mediante un enlace glucosídico β (1,4). Debido a que el carbono anomérico de la glucosa está libre, este disacárido presenta las características de los azúcares reductores; existe en los isómeros α y β y, por lo tanto, presenta el fenómeno de mutarrotación. De los disacáridos de importancia en alimentos, la lactosa es el menos soluble (cuadro 2.6) y menos dulce: tan sólo presenta 15% del poder edulcorante de la sacarosa.

Algunos grupos étnicos no la toleran, fundamentalmente porque el jugo intestinal de su sistema digestivo carece de la enzima β -D-galactosidasa, llamada lactasa. Esta condición, llamada intolerancia a la lactosa, produce síntomas muy desagradables, como náusea, cólicos y diarrea con espuma, que suelen presentarse entre una y dos horas después de consumir un producto que la contenga. La intolerancia a la lactosa es rara en los niños; sin embargo, la producción de la lactasa empieza a reducirse a partir de los 2 años de edad. La intolerancia a la lactosa afecta a un elevado número de personas en el mundo; entre éstos un 60 a 90% se encuentra entre personas de raza negra, nativos norteamericanos, hispanos, asiáticos, judíos y árabes.^{149, 150, 206}

Por su poder adsorbente, la lactosa se utiliza en la industria para retener compuestos que imparten sabores, aromas y colores y, al igual que la maltosa, se emplea en la panificación, pues interactúa fácilmente con proteínas y produce pigmentos mediante las reacciones de Maillard; también se aplica en productos de confitería, mezclas secas, productos lácteos, vegetales secos, botanas y fórmulas de alimento infantil.^{3, 12, 23, 84, 201}



lactosa

Dado el importante papel que desempeña este azúcar en la leche, en el capítulo 12 se revisan a fondo sus aspectos físicos y químicos más significativos.

2.8.4 Otros oligosacáridos

Existen muchos oligosacáridos en la naturaleza, pero en la tecnología de alimentos sólo algunos de ellos resultan de interés. Por ejemplo, la lactulosa (4-*O*- α -D-galactopiranosil-D-fructofuranosa), que es un disacárido reductor constituido por la unión de la galactosa y de la fructosa mediante un enlace glucosídico β (1,4), y que se produce durante el calentamiento de la lactosa de la leche al epimerizarse la glucosa en fructosa, es un azúcar no reductor cuya aplicación principal se da en el área farmacéutica, como laxante;¹⁹⁷ la celobiosa (4-*O*- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranososa), que es el disacárido obtenido de la hidrólisis parcial de la celulosa, y la neoquestosa (fructosa-glucosa-fructosa), que es

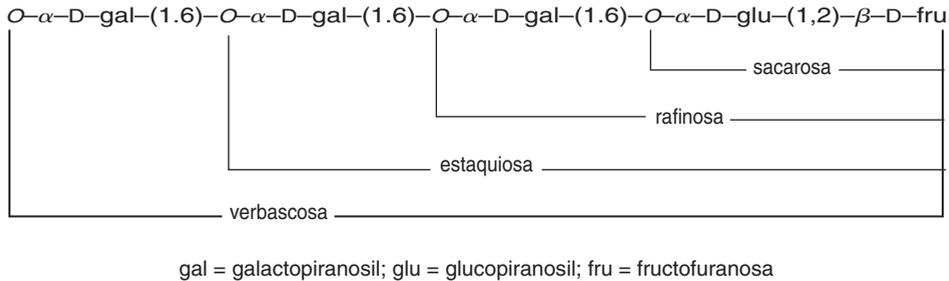


Figura 2.13 Oligosacáridos productores de flatulencia: rafinosa, estaquiosa y verbascosa.

no tiene relación con bacterias aeróbicas, como *Escherichia coli*, que se encuentran en gran concentración en el intestino; parece que los verdaderos responsables son el *Clostridium perfringens* y otros microorganismos anaeróbicos.^{119, 120, 121}

En la soya, la concentración de los α -galactosacáridos en general aumenta considerablemente durante la maduración de la semilla⁹¹ y disminuye en la germinación;¹ en el cuadro 2.8 se muestra la proporción de estos galactosacáridos en la harina de soya desgrasada. Debido a que estos azúcares son hidrosolubles, se pueden eliminar parcialmente de los granos y las semillas que los contienen mediante un remojo prolongado; este proceso se acelera si se adiciona calor al proceso.¹⁴¹ Por otra parte, algunos alimentos orientales a base de soya fermentada (tempe y tofu) se inoculan con hongos como *Rhizopus*, que consumen los oligosacáridos para crecer, resultando en una reducción en la concentración final del producto de los mismos y la consecuente eliminación de los efectos adversos.

Existe una relación entre el hidrógeno intestinal generado en las ratas de laboratorio y la cantidad de gases que el ser humano puede sintetizar con el mismo tipo de dieta; por esa razón, para medir la flatulencia humana se determina el hidrógeno que producen las ratas.¹⁶¹

CUADRO 2.8 Hidratos de carbono de la harina de soya desgrasada y descascarillada ¹¹⁹	
	Porcentaje
Total polisacáridos	15-18
Polisacáridos ácidos	8-10
Arabinogalactana	5
Celulosa	1-2
Total oligosacáridos	15
Sacarosa	6-8
Estaquiosa	4-5
Rafinosa	1-2
Verbascosa	Huellas

Cabe indicar que no sólo estos oligosacáridos son responsables de la producción de gases; se ha encontrado que ciertas pentosanas hidrolizables en ácido también ocasionan flatulencia, al igual que los componentes fibrosos de la pared celular de algunas leguminosas.⁴⁸

2.9 REACCIONES QUÍMICAS DE LOS MONOSACÁRIDOS

Los monosacáridos tienen un grupo aldehído o una cetona y varios hidroxilos; consecuentemente, los cambios químicos a los que están sujetos se relacionan con las transformaciones de estas funciones: se ven afectados por los ácidos, los álcalis, las altas temperaturas y los agentes oxidantes y reductores, que provocan su isomerización, enolización, deshidratación, ciclización, oxidación, reducción, etc. Entre las reacciones más relevantes en que participan se encuentran las que provocan un oscurecimiento o empardeamiento; debido a su gran importancia, estos efectos se revisan por separado en la sección 2.9.5 de este capítulo.

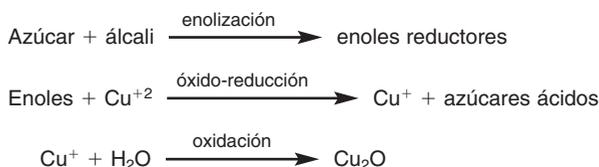
Las reacciones de los monosacáridos ante la presencia de álcalis y ácidos se dan normalmente a pHs extremos, debido a que son relativamente estables entre pHs de 3 y 7.

2.9.1 Por álcalis

Según la concentración que se emplee, los álcalis inducen diversas transformaciones en los monosacáridos; en soluciones débiles (0.05N) provoca enolización y aun fragmentación del azúcar, a las que puede seguir reacciones secundarias. En el caso de la glucosa, ésta que se tautomeriza y produce un enol, que por un arreglo de Lobry de Bruyn-Van Eckenstein se convierte en una mezcla de D-fructosa (32%), D-manosa (3%) y D-glucosa (65%). Por su parte, los disacáridos se transforman en aldosas o cetosas, mientras que la lactosa puede convertirse en lactulosa, compuesto que ha adquirido valor nutricional por actuar como factor bifídico y prevenir la constipación. Este cambio, más fácil con un pH alcalino, puede ocurrir también en condiciones ácidas, pero a una velocidad más baja.

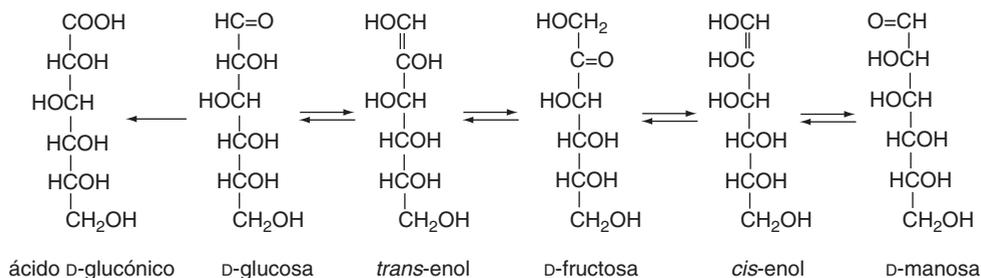
Además de formarse enoles en todos los carbonos del monosacárido al incrementarse la concentración de álcali (0.5N), la reacción puede continuar fragmentando los compuestos formados en los átomos en donde se localiza la doble ligadura; por ejemplo, la hidrólisis de un enol entre el C-1 y el C-2 produce una molécula de formaldehído y una pentosa; entre el C-2 y el C-3 una tetrosa y aldehído glicólico, y entre el C-3 y el C-4, gliceraldehído y una triosa. Las aldosas que se generan con este rompimiento pueden, a su vez, enolizarse y sintetizar nuevos compuestos, entre los cuales destacan el diacetilo, el acetol, la acetoina y algunos ácidos como el láctico, el propiónico y el pirúvico.

Cabe indicar que, debido a que estos enoles son agentes muy reductores (más que los propios monosacáridos de donde provienen), su presencia se aprovecha para medir el poder reductor de los azúcares mediante una reacción alcalina en la que se usa el ion cúprico como agente oxidante. El método más conocido es el de Fehling, el cual se aplica comúnmente en la determinación de azúcares reductores; la reacción emplea sulfato cúprico con un amortiguador de pH a base de tartrato de sodio y potasio, y se lleva a cabo con aplicación de calor. El hidrato de carbono disuelto en esta solución produce enoles que reducen el ion cúprico a cuproso, produciéndose el óxido correspondiente de color rojo; la secuencia de estas transformaciones se resume a continuación:



Cada tipo de monosacárido requiere cierta concentración de reactivo por molécula; así, la D-glucosa y la D-fructosa interactúan con igual número de equivalentes, mientras que la galactosa lo hace con 10% menos. Existen otros métodos que se basan en un principio similar al de Fehling, por ejemplo: la reacción de Nylander, con tartrato trivalente de bismuto; el método de Benedict, donde el ion cúprico se compleja con ion citrato; el método de Munson Walker, que es un procedimiento gravimétrico, o el método de Somogyi-Nelson.

En condiciones fuertemente alcalinas, los grupos aldehído o cetona se oxidan y se convierten en sus respectivos ácidos; por ejemplo, la glucosa se transforma en ácido glucónico.



Transformación de la glucosa; por isomerización con bases débiles hasta manosa; por oxidación a ácido glucónico.

2.9.2 Por ácidos

En general, la isomerización de los azúcares en condiciones ácidas es muy lenta en comparación con la que se efectúa con los álcalis; la enolización de los azúcares es lenta también en condiciones ácidas. Sin embargo, las reacciones de deshidratación son más rápidas y se aceleran considerablemente a altas temperaturas, produciendo derivados furanos. Los ácidos inorgánicos calientes dan lugar a moléculas cíclicas: con las hexosas se genera el 5-hidroxi-2-furfural (figura 2.14), mientras que las pentosas dan por resultado el 2-furfuraldehído, eliminando 3 moléculas de agua en cada caso. Para entender este mecanismo, considérese la glucosa que, como primer paso, induce el enol correspondiente; éste, a su vez, da origen a la 3-desoxiosulosa, que en este caso se llama 3-desoxi-D-glucosulosa; a partir de este compuesto y por acción de una sucesiva eliminación de moléculas de agua se sintetiza el 5-hidroxi-2-furfural.

Esta degradación de los azúcares se lleva a cabo en las reacciones de oscurecimiento no enzimático, y contribuye decididamente a la síntesis de las melanoidinas.

Este mecanismo se emplea industrialmente en la fabricación de furfural y de sus derivados a partir de los residuos de la caña de azúcar y de la mazorca de maíz, que contienen una alta cantidad de pentosanas.

2.9.3 Por altas temperaturas

Las altas temperaturas aceleran considerablemente todos los cambios que sufren los monosacáridos en condiciones tanto ácidas como alcalinas, pero a pH neutro catalizan las reacciones de caramelización y de oscurecimiento no enzimático.

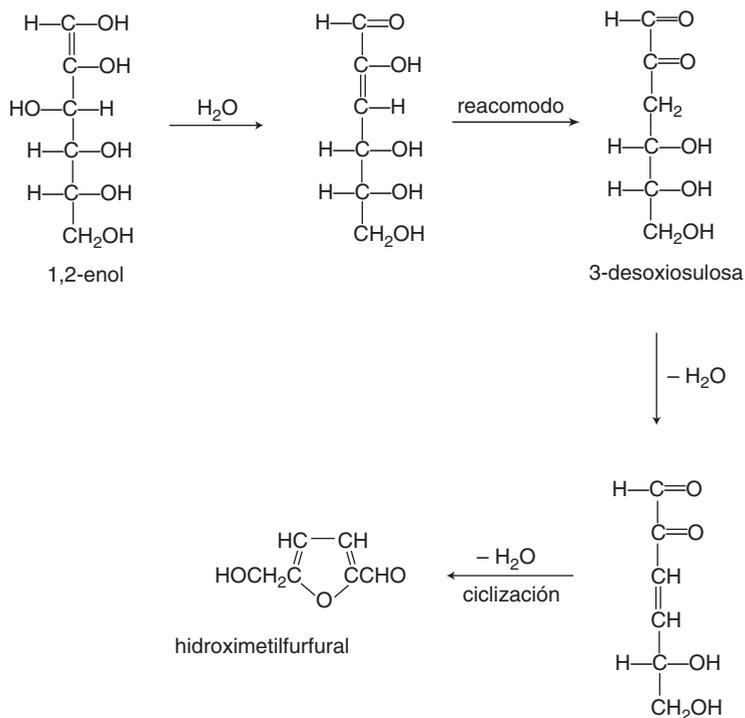


Figura 2.14 Formación de los derivados furfúricos a partir de hexosas.

Además de estos efectos, el calentamiento de los azúcares también favorece algunos mecanismos que implican la polimerización y la epimerización de los monosacáridos; por ejemplo, cuando la glucosa se somete a tratamientos intensos se propicia la síntesis de oligosacáridos tales como gentobiosa (6-*O*- β -D-glucopiranosil-glucopiranososa), isomaltosa (6-*O*- α -D-glucopiranosil-glucopiranososa), maltosa, panosa, celobiosa y otros más complejos; en el caso de la lactosa se observa la epimerización de la glucosa en fructosa, con lo cual el disacárido se convierte en lactulosa.

2.9.4 Otras reacciones

Además de las anteriores, existen reacciones químicas o enzimáticas de reducción y de oxidación en las que interviene el grupo aldehído de los monosacáridos, que se transforma en su correspondiente alcohol primario o en ácido carboxílico, respectivamente.

La reducción de la glucosa se aprovecha ampliamente para obtener azúcares-alcoholes (polioles) que tienen un gran número de aplicaciones en la industria alimentaria; por lo general éstos se sintetizan mediante una hidrogenación catalítica en presencia de níquel. En el caso de la reducción de la fructosa, se genera un carbono asimétrico adicional y, por lo tanto, dos epímeros en el carbono 2: el sorbitol y el manitol.

Algunos ácidos carboxílicos de los azúcares que se encuentran en la naturaleza integrando las pectinas se sintetizan en forma comercial por métodos electroquímicos, y sus sales (vg. los gluconatos

a partir de la glucosa) se emplean en la industria alimentaria; por ejemplo, la acción de la enzima glucosa-oxidasa transforma la glucosa en ácido glucónico para evitar el efecto dañino de este monosacárido en el huevo.

2.9.5 Reacciones de oscurecimiento o de empardeamiento

Durante la fabricación, el almacenamiento y otros procedimientos en que intervienen, muchos alimentos desarrollan una coloración que, en ciertos casos, mejora sus propiedades sensoriales, mientras que en otros las deteriora; la complejidad química de los alimentos hace que se propicien diversas transformaciones responsables de estos cambios. En algunas situaciones los pigmentos naturales (vg. mioglobina, clorofila, antocianinas, etc.) se pierden, y en otras la oxidación de las grasas y la interacción de taninos con el hierro generan compuestos coloreados que no están presentes en el producto original. Las modificaciones en el color de los alimentos son deseables en algunos casos e indeseables en otros; así, resulta necesario conocer a fondo las condiciones que provocan ambas reacciones para poder controlarlas.

Sin embargo, existe otro grupo de mecanismos muy importantes, llamado de oscurecimiento, encafecimiento o empardeamiento, que sintetizan compuestos de colores que van desde un ligero amarillo hasta el café oscuro; en términos generales y para agruparlos, dichos mecanismos se han clasificado como reacciones enzimáticas y no enzimáticas (véase el cuadro 2.9). En los primeros sólo se incluye la reacción catalizada por la polifenoloxidasa —la cual se estudia en el capítulo 5, Enzimas, y en las segundas se incluyen la caramelización, la reacción de Maillard y la degradación del ácido ascórbico —de la cual hablaremos en el capítulo 6, Vitaminas. Cabe indicar que las transformaciones por acción enzimática y por ácido ascórbico son las únicas que tienen naturaleza oxidativa, toda vez que se requiere la presencia del oxígeno para llevarlas a cabo.

CUADRO 2.9 Aspectos generales de las reacciones de oscurecimiento

<i>Mecanismo</i>	<i>O₂ necesario</i>	<i>Grupos amino necesarios</i>	<i>Temp. elevada</i>	<i>pH óptimo</i>	<i>Azúcares reductores</i>
Caramelización	no	no	sí	alcalino/ácido	sí
Maillard	no	sí	no	alcalino	sí
Oxidación					
ácido ascórbico	sí	no	no	ligeramente ácido	no
Polifenol oxidasa	sí	no	no	ligeramente ácido	no

En este capítulo sólo se estudiarán los mecanismos de oscurecimiento en los que intervienen azúcares reductores: la caramelización y la reacción de Maillard.

Debido a su gran complejidad, ambas reacciones implican muchos aspectos que todavía no se conocen bien y que requieren más investigación. El comportamiento de los azúcares varía considerablemente según el pH, la temperatura, la presencia de otras sustancias, etc., por lo que pueden seguir diversas rutas químicas dependiendo de la composición del alimento. Para entender mejor estos cambios, en muchos casos se emplean sistemas modelo de laboratorio con un estricto control sobre los parámetros que más influyen; en estas circunstancias resulta muy difícil comprender todo lo que ocurre en el matraz, y más aún extrapolar esta información a un alimento que contiene un gran número de sustancias desconocidas y capaces de reaccionar. Hay que recordar que el pH, la concentra-

ción, la actividad del agua, etc., pueden ser incluso diferentes dentro del propio producto, por lo que el panorama del mecanismo se vuelve más complejo. Sin embargo, los diversos estudios realizados en los últimos años han permitido comprender de forma más completa las reacciones, las variables involucradas y las velocidades de reacción.^{55, 95, 155, 172}

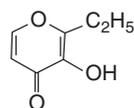
Estos cambios son de fundamental importancia, ya que no sólo dan lugar a un color ligeramente amarillo (como la costra de algunos productos de la panificación) o café oscuro (como el de los caramelos que se emplean para colorear bebidas), sino que también sintetizan una gama muy amplia de sustancias que contribuyen al sabor y al aroma, además de alterar la calidad nutritiva y la apariencia del alimento. Tales transformaciones no son siempre dañinas; en el caso de muchos productos, como el café, el cacao y el pan, son deseables, debido a que provocan el empardeamiento y el aroma requeridos.

2.9.5.1 Caramelización

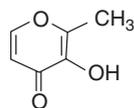
Esta reacción de oscurecimiento, también llamada pirólisis, ocurre cuando los azúcares se calientan por arriba de su punto de fusión. La reacción se lleva a cabo tanto a pH ácidos como alcalinos, y se acelera con la adición de ácidos carboxílicos y de algunas sales; se presenta en los alimentos tratados térmicamente de manera drástica, tales como la leche condensada y azucarada, los derivados de la panificación, las frituras, y los dulces a base de leche, como cajeta, natillas, etcétera.¹¹⁵

Como se mencionó antes, los mecanismos que producen este tipo de reacciones son muy complejos y no se conocen en su totalidad, aunque incluyen algunos ya descritos en secciones anteriores, por ejemplo, la isomerización y la deshidratación de los hidratos de carbono.

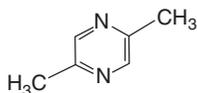
Se ha dicho ya que la deshidratación genera furfural y sus derivados insaturados, que se polimerizan consigo mismos o con otras sustancias semejantes para formar las macromoléculas de pigmentos llamadas melanoidinas. Durante esta transformación también se sintetiza una serie de compuestos de bajo peso molecular y muy olorosos, como furanos, furanonas, lactonas, pironas, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y pirazinas, así como otros con dobles ligaduras conjugadas que igualmente absorben la energía radiante y, por lo tanto, producen colores. Por ejemplo, se conoce que la 2,5-dimetilpirazina y la trimetilpirazina se generan por este mecanismo y contribuyen al aroma típico de las frituras de papas y cacahuates; de manera semejante, el maltol, el isomaltol y el etil-maltol, que se forman en la elaboración del pan, son parte fundamental del aroma de dicho producto.



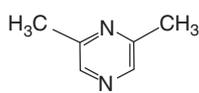
etil-maltol



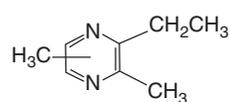
maltol



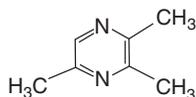
2,5-dimetilpirazina



2,6-dimetilpirazina

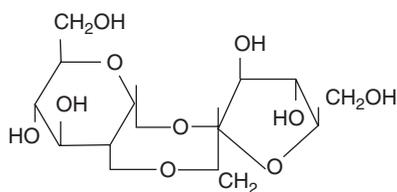


2-etil 5(6)-dimetilpirazina



2,3,5-trimetilpirazina

La caramelización de la sacarosa se ha estudiado con más detalle, lo que ha permitido comprobar que, al calentarla a más de 160°C, genera simultáneamente la hidrólisis, la deshidratación y la dimerización de los productos resultantes: se sintetiza la isosacarosana de sabor amargo, cuya fórmula condensada equivale a la del disacárido menos una molécula de agua; al incrementar la temperatura se acelera la deshidratación y se produce la caramelana ($C_{24}H_{36}O_{18}$), que corresponde a dos sacarosas eliminadas de 4 moléculas de agua. Posteriormente se sintetiza el carameleno, $C_{36}H_{50}O_{25}$, sustancia oscura y amarga que representa tres residuos del azúcar menos ocho moléculas de agua. Un calentamiento excesivo da origen a la caramelina o humina, de peso molecular muy alto ($C_{125}H_{188}O_{80}$) y sabor desagradable. Cada una de estas sustancias se presenta en forma de partículas coloidales cuyo diámetro varía de 0.46 a 4.33 nm.



isosacarosana

De manera similar, cuando se le somete a temperaturas elevadas en un sistema modelo, la lactosa empieza por perder el agua de hidratación para después entrar en diversas rutas de ciclización, repolimerización, etc.; el resultado es una mezcla de azúcares anhidros, oligosacáridos, sustancias coloridas y un gran número de compuestos de bajo peso molecular que imparten olores característicos.^{67, 68} A medida que las técnicas analíticas de laboratorio se mejoran, se descubren nuevas sustancias producidas por esta reacción.¹⁵⁶

Comercialmente, la caramelización se lleva a cabo de manera controlada para la fabricación de caramelos, líquidos o sólidos, que se utilizan como colorante para refrescos de cola, postres, productos de la confitería, etc. Para ello se calientan soluciones concentradas de glucosa o de sacarosa en presencia de ácidos y sales de amonio; su composición química es muy compleja y se presentan como partículas coloidales con un tamaño y punto isoeléctrico característicos. A los extractos cetónicos del calentamiento de glucosa también se les ha atribuido actividad antioxidante.¹²³

2.9.5.2 Reacción de Maillard

Esta reacción, conocida también como reacción de oscurecimiento de Maillard, designa un grupo muy complejo de transformaciones que traen consigo la producción de múltiples compuestos. Entre ellos pueden citarse las melanoidinas coloreadas, que van desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro, y afectan también el sabor, el aroma y el valor nutritivo de los productos involucrados; además, dan lugar a la formación de compuestos mutagénicos o potencialmente carcinogénicos, como la acrilamida. Para que tales reacciones se lleven a cabo se requiere un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre, proveniente de un aminoácido o de una proteína. Estas reacciones las observó por vez primera el químico francés Louis-Carnille Maillard, en 1913, pero no fue sino

hasta 1953 cuando se propuso un mecanismo general, donde el compuesto de Amadori se consideraba importante.^{2, 7, 13, 14, 18, 19, 20, 35, 47, 65, 95, 97} Otra característica de algunos compuestos generados por el oscurecimiento enzimático de Maillard es la habilidad antioxidante, principalmente de las melanoidinas, que actúan básicamente como quelantes y eliminadores de oxígeno radicales peróxidos e hidroxilos.^{1, 131, 139, 171, 175}

El color característico —y deseado— de la costra de los alimentos horneados se debe a esta reacción, al igual que el de los diversos postres a base de leche. La misma coloración, sin embargo, resulta indeseable en otros productos, como en las leches evaporadas y azucaradas, y en algunos jugos concentrados. Por ejemplo, en el caso de las papas fritas, la generación excesiva de este tipo de reacciones da lugar a sabores amargos y colores muy intensos, que hacen el artículo poco atractivo para el consumidor, con las consecuentes pérdidas para todos los involucrados en su industrialización. Para controlarlo se emplea la determinación de azúcares reductores libres, los cuales han sido confirmados como una fuente de oscurecimiento.^{13, 29, 130}

Aunque esta reacción se puede efectuar en diferentes condiciones,^{2, 5, 22, 28, 172} se ve influida sobre todo por los siguientes parámetros:

- a) A pH alcalino se incrementa la velocidad y alcanza un máximo a pH 10; sin embargo, hay que recordar que existen muy pocos alimentos que tengan $\text{pH} > 7$ en forma natural (como el huevo). Por lo contrario, el mecanismo se inhibe en condiciones muy ácidas, que normalmente no se encuentran en los alimentos.¹²
- b) Las temperaturas elevadas también la aceleran, pero debido a que su energía de activación es baja, se observa de igual manera hasta en condiciones de refrigeración. En términos generales, la E_a es del orden de 16 a 30 kcal/mol, y el valor de su coeficiente de temperatura, Q_{10} (en el intervalo de 0 a 70°C), es de 2 a 3; es decir, por cada 10°C de aumento, la velocidad se incrementa entre dos y tres veces. En el caso del encafecimiento del jugo de manzana de 65 a 75° Brix, la E_a es de 16.4 a 19.3 kcal/mol,¹⁵³ mientras que para la pera es de 21.9 kcal/mol.²³ En sistemas modelo de caseína-glucosa se sigue una relación lineal entre la temperatura y la velocidad de reacción en un intervalo de 0 a 90°C, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius. Por otra parte, este mecanismo se ajusta también a un modelo de primer orden aparente en el jugo de manzana, el cual depende de la temperatura, la composición y los sólidos solubles.¹⁵³
- c) Otro factor importante es la actividad del agua, por lo que los alimentos de humedad intermedia son los más propensos; en la figura 1.7 se observa que los valores de a_a , de 0.6 a 0.9 son los que más la favorecen: una actividad del agua menor no permite la movilidad de los reactantes, lo que inhibe el mecanismo. Una actividad del agua mayor produce el mismo efecto: por ser producto de la propia reacción, el agua ejerce una acción inhibitoria (de acuerdo con la ley de acción de masas), ya que diluye los reactantes.^{31, 83}
- d) El tipo de aminoácido es decisivo, puesto que será más reactivo en la medida en que se incremente el tamaño de la cadena y tenga más de un grupo amino. Por esta razón, la lisina, con su amino en posición ϵ es el más activo; también pueden intervenir otros aminoácidos, como la arginina, la histidina y el triptofano. Se sabe que en los sistemas modelo de glucosa-aminoácido, la velocidad se incrementa con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo. El aspartamo es un dipéptido, y también está sujeto a estos cambios; con la glucosa presenta una energía de activación de 22 kcal/mol y un valor de Q_{10} de 2.4.¹⁴⁶

e) Los azúcares reductores que más favorecen la reacción de Maillard son, en primer término, las pentosas, y en segundo las hexosas; asimismo, las aldosas actúan más fácilmente que las cetosas, y los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos. De acuerdo con ello y en términos generales, la xilosa es el azúcar más activo, seguido de la galactosa, la glucosa, la fructosa, la lactosa y la maltosa; por su parte, la sacarosa, que carece de poder reductor, interviene sólo si se hidroliza previamente, lo cual es muy sencillo. Este ordenamiento no es estricto, ya que en sistemas específicos, como el freído de papas, la fructosa es más activa que la glucosa,^{93, 168} y en otros esta situación se invierte.¹²⁵ Los ácidos nucleicos también intervienen, porque contienen ribosa altamente reactiva. En los sistemas modelo de caseína se ha demostrado que esta transformación se lleva a cabo a diferentes velocidades, de acuerdo con el azúcar que se emplea.

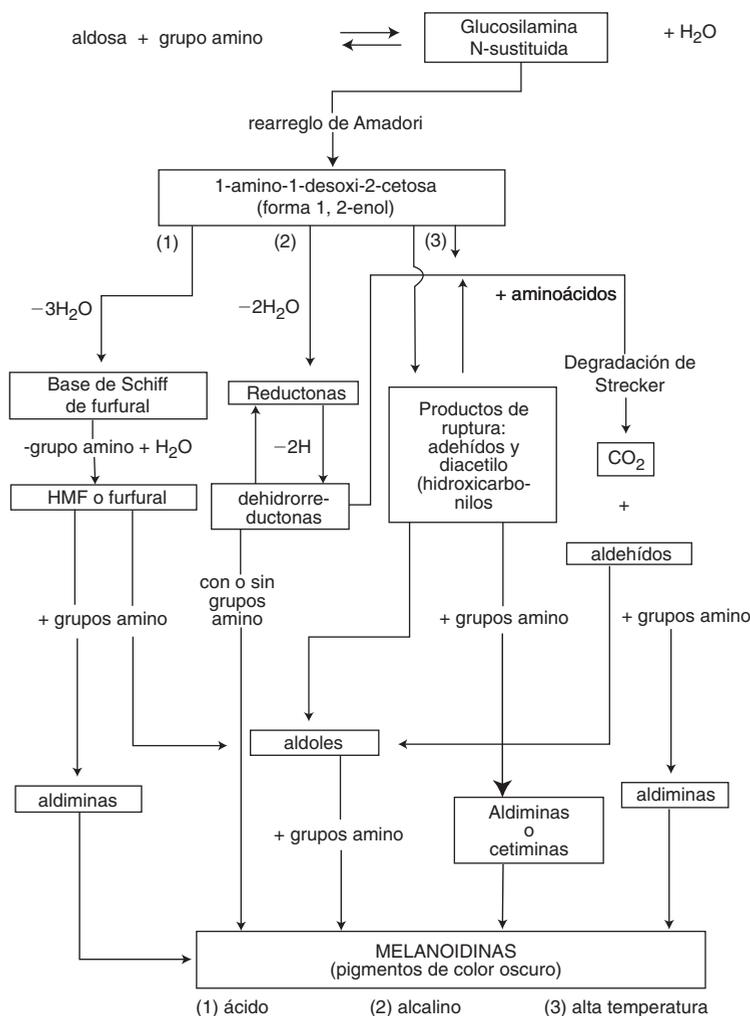


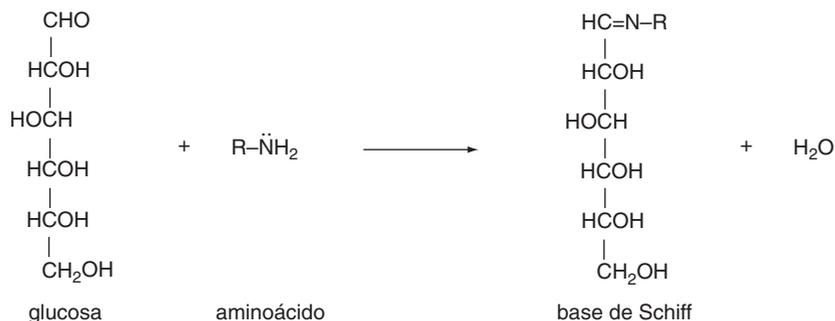
Figura 2.15 Reacciones de oscurecimiento de Maillard.⁶⁵

- f) Metales como el cobre y el hierro tienen un efecto catalizador sobre la formación de las melanoidinas,¹⁶⁹ lo que indica el carácter de oxidación-reducción de la última etapa de este mecanismo. El oxígeno y las radiaciones electromagnéticas actúan de manera semejante. La ausencia de estos agentes (metal, luz y oxígeno) no previene el inicio de la reacción, ya que sólo favorecen la polimerización final.

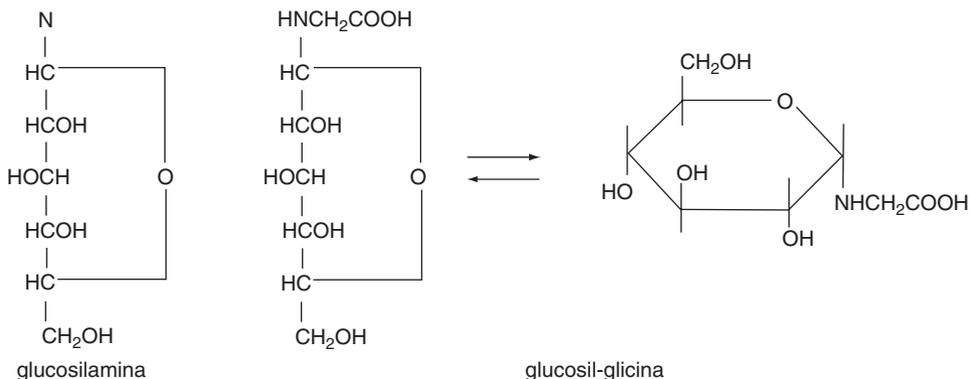
La reacción de Maillard se lleva a cabo de manera muy compleja mediante un gran número de mecanismos que incluyen la posible producción de radicales libres;¹²⁵ en la figura 2.15 se muestra el diagrama característico de este proceso, de acuerdo con los primeros trabajos de Hodge (1953),⁶⁵ en donde se resumen las posibles rutas que siguen los reactantes. Con base en esto, la reacción se ha dividido en cuatro etapas principales: condensación del azúcar reductor con el grupo amino; transposición de los productos de condensación; reacción de los productos de la transposición, y polimerización y formación de sustancias coloreadas.

Condensación del azúcar reductor con el grupo amino. Esta primera etapa consiste en que el carbonilo libre de un azúcar reductor se condensa con el grupo amino libre de un aminoácido o de una proteína. Es preciso recordar que los grupos amino que intervienen en un enlace peptídico no están libres y, por lo tanto, no actúan en este mecanismo.

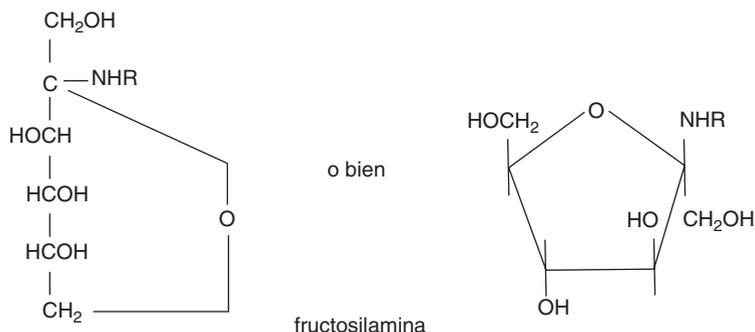
El azúcar debe tener una estructura abierta para que su carbonilo sea atacado nucleofílicamente por el par de electrones del nitrógeno del grupo amino, y formar así la base de Schiff correspondiente:



A su vez, la base de Schiff se cicla y genera una glucosilamina que puede ser aldósamina si interviene una aldosa, o cetosamina, si lo hace una cetosa. Por ejemplo, si la glucosilamina proviniera de la glucosa y la glicina, el compuesto resultante se llamaría glucosil-glicina:



Debido a que existen más aldosas que cetosas, generalmente se producen glucosilaminas; sin embargo, la fructosa también puede condensarse y formar, aunque con mayor dificultad, la fructosilamina correspondiente:



En esta etapa no hay todavía producción de sustancias coloreadas ni de compuestos insaturados que absorban radiaciones, por lo que resulta imposible medir espectroscópicamente la intensidad de la reacción. En sistemas modelo se ha observado que el pH se reduce por el bloqueo del grupo amino por parte del azúcar.

Transposición de los productos de condensación. Tanto las aldosaminas como las cetosaminas que se han producido hasta ahora, son inestables y están sujetas a diversos cambios químicos; las primeras se isomerizan a cetosas por el mecanismo de Amadori, mientras que las segundas se transforman en aldosas por la transposición de Heyns. Por ejemplo, la glucosilamina cambia a una fructosamina o 1-amino-1-desoxifruktosa, mientras que las cetosilaminas lo hacen a 2-amino-2-desoxialdosa. Las dos isomerizaciones son reversibles, y aún no se sintetizan sustancias coloreadas. En la figura 2.16 se muestran estas dos transposiciones.

La transposición de Amadori ha sido aceptada como mecanismo de isomerización desde que Hodge la propuso en 1953;⁶⁵ sin embargo, en los últimos años se ha sugerido la realización de un nuevo procedimiento —principalmente en la generación de color, que implica la fragmentación de los azúcares y la producción de radicales libres— previamente a dicha transposición.¹⁰⁴ De acuerdo con ello se ha visto que, en un sistema modelo de caseína-glucosa, los antioxidantes utilizados para los lípidos (tales como α -tocoferol, butihidroxianisol, butilhidroxitolueno y galato de propilo) controlan el oscurecimiento por la reacción de Maillard y la pérdida de lisina.¹⁷²

Reacción de los productos de la transposición. Según las condiciones prevaletientes de pH, actividad del agua y temperatura, los compuestos formados pueden sufrir modificaciones muy profundas. En esta fase aparecen algunos olores, se incrementa el poder reductor, se observan ligeras tonalidades amarillas, y aumenta la absorción de las radiaciones ultravioleta.

La principal reacción es la deshidratación de los azúcares por isomerización enólica, con lo cual se sintetiza furfural y sus derivados, así como reductonas y dehidrorreductonas, ambas con un alto poder reductor; también se producen compuestos como el maltol, el etilmaltol y el acetil-furano, que son los que producen el aroma del pan.

Además de la deshidratación, se presentan también mecanismos de fragmentación de los azúcares enólicos, con lo cual se favorece la síntesis de un gran número de compuestos de peso molecular bajo, como aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes de dos a cuatro átomos de carbono. Entre éstos se

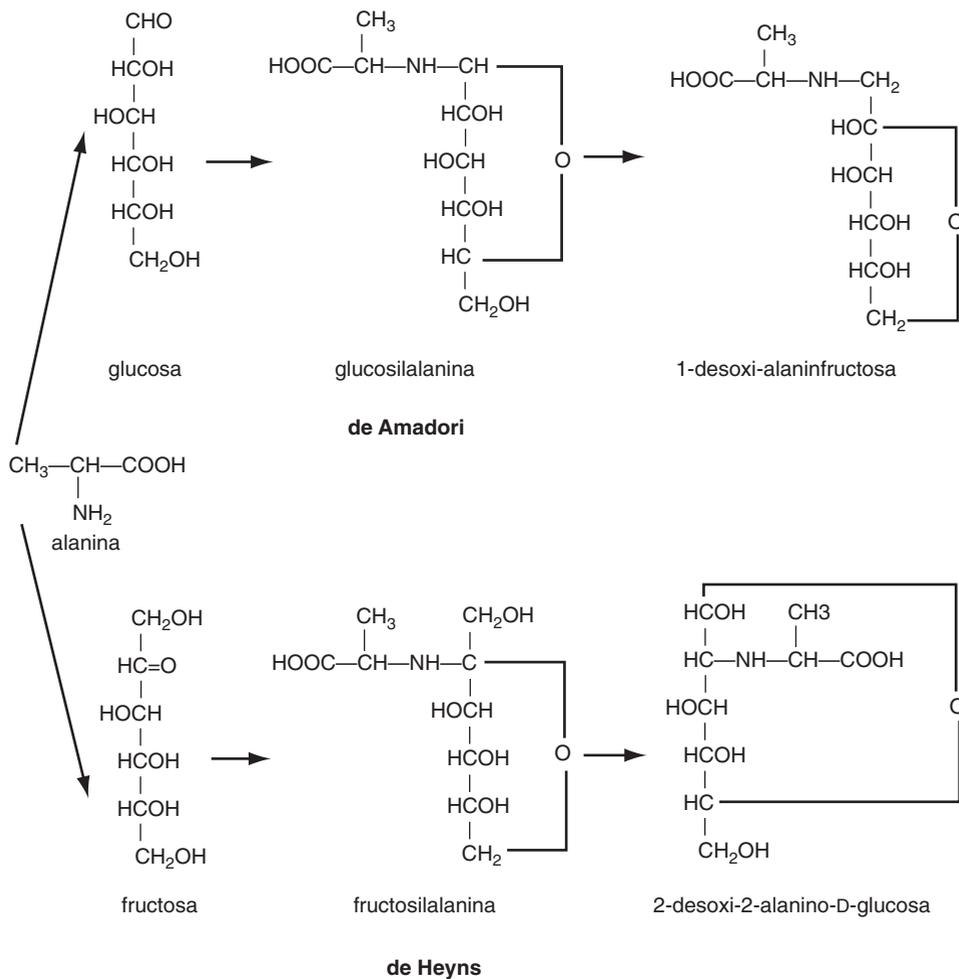


Figura 2.16 Transposiciones de Amadori y de Heyns.

encuentra el gliceraldehído, el piruvaldehído, el acetol, la acetoína y el diacetilo, todos con un olor característico.

Casi todas las sustancias resultantes son insaturadas y muy reactivas, por lo que siguen, a su vez, diversas rutas químicas según las condiciones imperantes de acidez, temperatura, etc.

En la figura 2.17 se observan, a manera de ejemplo, dos mecanismos de transformación que puede seguir una cetosamina; mediante deshidrataciones, isomerizaciones y desaminaciones se generan otros compuestos insaturados también inestables, como las osulonas (3,4-didesoxi-3-enohexosona) y las desoxiosulosas (3-desoxihexosona); éstos también reaccionan con aminoácidos por medio de la llamada degradación de Strecker, y producen un aldehído con un átomo de carbono menos que el

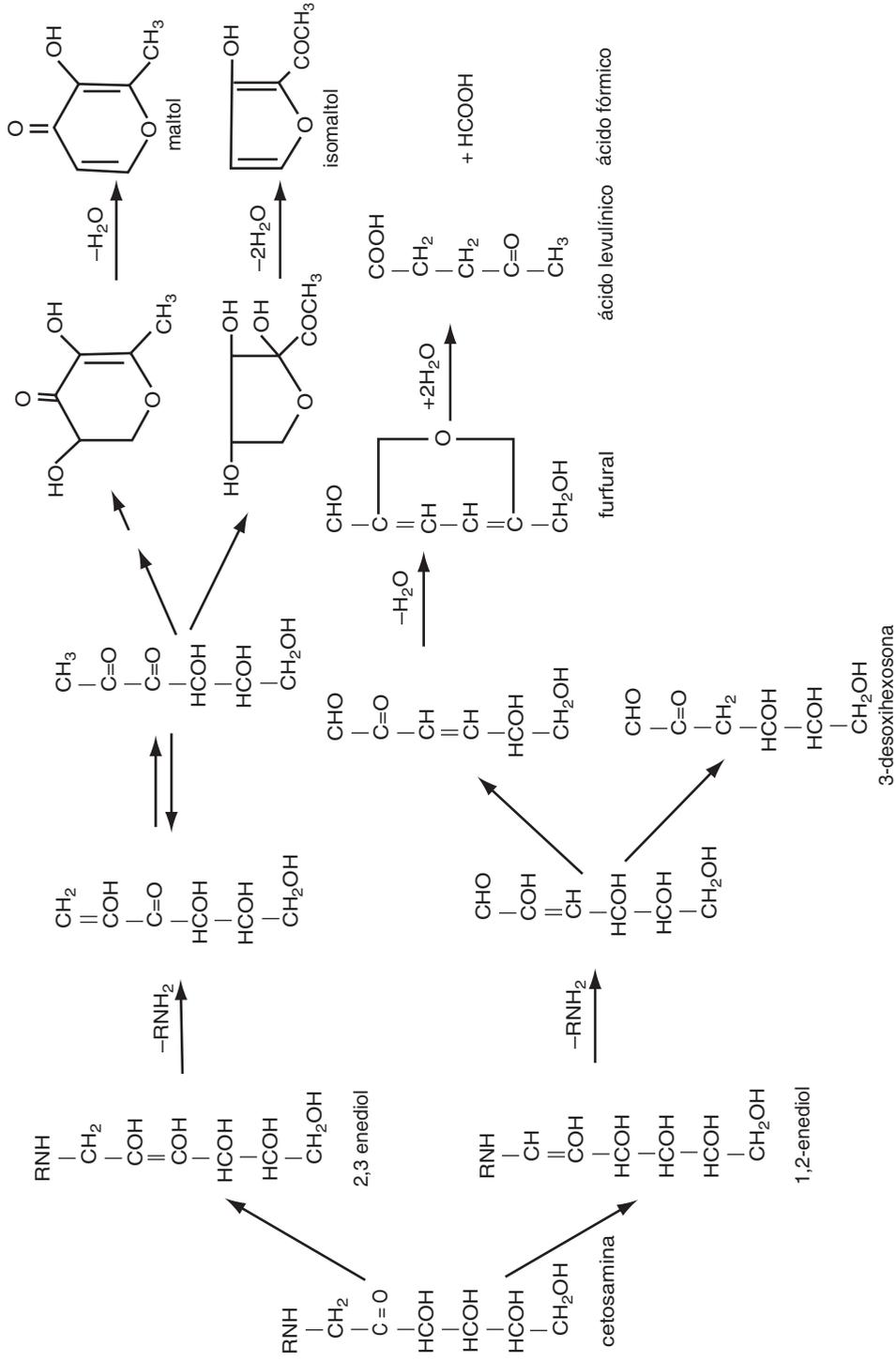
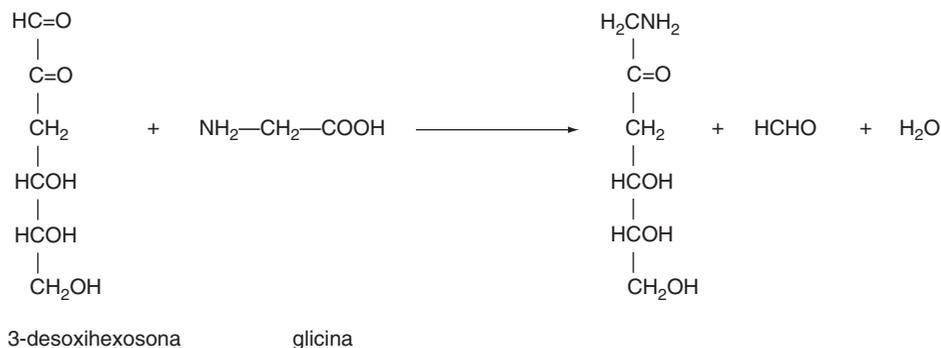


Figura 2.17 Síntesis de diversos compuestos a partir de una cetosamina.

aminoácido, CO₂ y nuevas sustancias carbonílicas. Si la 3-desoxihexosona actuara sobre la glicina se tendría:



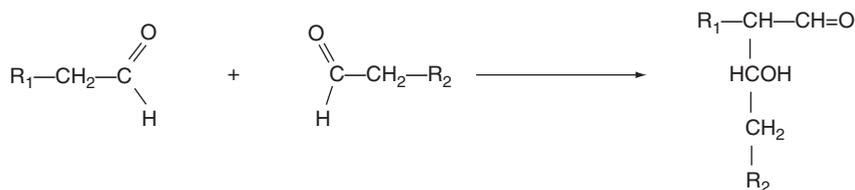
A su vez, el formaldehído puede condensarse con grupos amino para iniciar la reacción de Maillard. La producción de CO₂ se ha empleado para cuantificar el grado de avance de estas transformaciones. El mecanismo de Strecker por sí solo no sintetiza compuestos coloreados, sino muchos aldehídos de bajo peso molecular que contribuyen a retroalimentar la reacción, además de producir los olores típicos. Cabe indicar que este mismo mecanismo es el responsable de la producción de pirazinas y de otras moléculas con un alto poder odorífico, como las que se encuentran en el café y el cacao. Por esta razón, la industria de los saborizantes sintéticos emplea la degradación de Strecker en forma controlada para elaborar compuestos, o mezclas de éstos, que imitan determinados sabores; se sabe que el calentamiento de cierto aminoácido con glucosa genera olores muy característicos (véase el cuadro 2.10).

CUADRO 2.10 Olores producidos por el calentamiento de un aminoácido con glucosa

Aminoácido	Olor	
	100°C	180°C
Ninguno (sólo glucosa)	Ninguno	Caramelo
Valina	Pan de centeno	Chocolate muy fuerte
Leucina	Chocolate dulce	Queso quemado
Prolina	Proteína quemada	Aroma agradable de pan
Glutamina	Chocolate	Caramelo
Ácido aspártico	Azúcar	Caramelo
Lisina	Ninguno	Pan

Polimerización y formación de sustancias coloreadas. La fase final de esta reacción es la polimerización de un gran número de compuestos insaturados, que trae consigo la síntesis de las sustancias coloreadas llamadas melanoidinas, compuestos con un peso molecular de 5 a 10 kD cuya composición no ha sido definida con claridad; dichos compuestos se encuentran relacionados con la retención del sabor del café y, a pesar de que su concentración es baja, ejercen un efecto muy marcado en la apariencia del alimento. El color se debe a una amplia absorción del espectro visible por parte de diversos cromóforos. En la síntesis del polímero influyen decididamente algunas moléculas como el

furfural, el hidroximetil-furfural, las osulosas, las desoxiosulosas, los aldehídos, las pirazinas, los imidazoles, las cetonas y las reductonas; como muchos de estos compuestos contienen grupos carbonilos, se favorece la condensación aldólica:⁹



A su vez, estos dímeros pueden seguir polimerizándose con otros aldehídos libres o con grupos amino.

La estructura química de las melanoidinas es muy compleja; los estudios espectrofotométricos han demostrado la presencia de muchos dobles enlaces de aminoácidos y de distintos grupos heterocíclicos. Casi todas las melanoidinas tienen su máxima absorción a 420 o 490 nm, por lo cual pueden ser cuantificadas a estas longitudes de onda. Por otra parte, mediante sus espectros en el infrarrojo o en el ultravioleta se ha podido seguir el curso de su formación. Sólo las de bajo peso molecular son solubles en agua.

Como se puede deducir, el número de compuestos que se genera por la reacción de Maillard en su conjunto es muy grande; muchos de ellos contienen grupos aldehído y grupos cetona, por lo que muestran una capacidad reductora muy alta, y en los sistemas modelo ha sido posible demostrar su efecto antioxidante en lípidos insaturados;⁹⁰ éste es el caso de los productos de peso molecular superior a 1,000, que resultan de la histidina y la glucosa y que, probablemente debido a la presencia de radicales libres, evitan la oxidación de grasas. Esta acción también se ha observado en diversos alimentos, tales como dulces, aderezos y leche en polvo,⁶³ pero no en el pescado congelado.^{17, 160, 172}

En la figura 2.18 se muestran los compuestos y los grupos de sustancias que se han identificado en sistemas modelo con sólo calentar azúcares y aminoácidos.

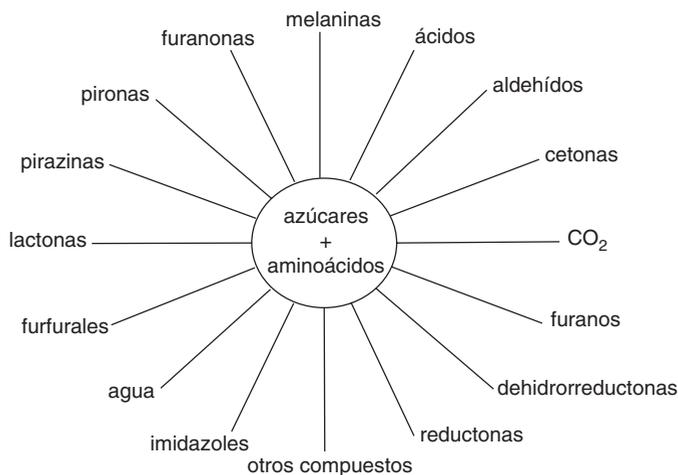


Figura 2.18 Compuestos que se generan durante el calentamiento de mezclas de azúcares y aminoácidos.

2.9.5.3 Control de la reacción de oscurecimiento

Como ya se indicó, los factores que más influyen en esta reacción son el pH, la temperatura, la actividad del agua, el tipo de aminoácido y de azúcar, los metales y el oxígeno. En sistemas modelo de laboratorio se pueden manipular todos estos parámetros, de manera que la velocidad de la reacción sea controlable; sin embargo, dada la complejidad química que presentan los alimentos, en un ambiente real sólo es posible modificarlos moderadamente.⁸³

La reducción del pH, de la temperatura y de la actividad del agua inhibe esta reacción considerablemente, aunque en ocasiones lograrlo resulta imposible técnica y económicamente.⁹⁵ En huevo deshidratado, por ejemplo, se puede añadir ácido o eliminar la glucosa por la acción de la enzima glucosa oxidasa, lo cual permite estabilizar el producto en polvo (capítulo 5).

Antiguamente, una de las formas más comunes para controlar la reacción de oscurecimiento consistía en la adición de sulfitos, metabisulfitos, bisulfitos o anhídrido sulfuroso; sin embargo, los cambios en la legislación de diferentes países —provocados por los efectos adversos de los sulfitos y compuestos similares— ha obstaculizado el uso de los sulfitos a niveles de 10 ppm, provocando la búsqueda de otras alternativas.

Existen muchos compuestos que inhiben el mecanismo de Maillard en experiencias de laboratorio, por ejemplo, la dimedona, los cianuros, la hidroxilamina, las hidrazinas, los mercaptanos, los bromuros y las sales de estaño; sin embargo, son muy tóxicos o confieren olores indeseables.

Un método adecuado para el control es la optimización de los procesos térmicos.⁴⁶ Éste es el caso de la deshidratación de las papas, que se puede efectuar de manera que favorezca las transferencias de calor y de masa sin que ocurra un oscurecimiento.¹⁰¹

Otra forma de control es mediante la reducción de los azúcares reductores de estos tubérculos, que se logra almacenándolos en condiciones adecuadas antes de su freído, lo cual evita la transformación de almidón en glucosa.⁴⁵

2.9.5.4 Efectos dañinos del oscurecimiento

Además de los colores y olores indeseables, la reacción de oscurecimiento reduce el valor nutritivo del alimento, ya que se pierden aminoácidos y vitaminas y se generan compuestos que pueden ser tóxicos; las propiedades funcionales de las proteínas, como la solubilidad, el espumado y la emulsificación, también se reducen.

La lisina es uno de los aminoácidos indispensables para el hombre, y es el aminoácido limitante de los cereales; en algunos países cuya dieta se basa en el maíz (como México), esta reacción tiene particular importancia, ya que cualquier disminución del compuesto afecta el ya de por sí reducido valor nutritivo del cereal. Numerosos trabajos han demostrado que la pérdida de lisina, o su conversión a una forma biológicamente no disponible, reduce su Relación de Eficiencia Proteica (o PER, por sus siglas en inglés). La simple condensación azúcar-lisina hace que el aminoácido se vuelva no disponible biológicamente hablando y que, por lo tanto, no pueda utilizarse en la síntesis de otras proteínas; es decir, no es necesario que el alimento desarrolle los compuestos coloreados finales para que se pierdan los aminoácidos indispensables.

Se ha observado que la tripsina sólo ataca parcialmente las proteínas que han sufrido este tipo de transformación, sobre todo en los enlaces peptídicos cercanos a donde sucede la condensación azúcar-aminoácido.¹⁵⁵

Los productos lácteos son particularmente susceptibles debido a su alto contenido de lactosa y de lisina, y pueden propiciar la reacción incluso en condiciones de refrigeración. Se ha visto que en el suero de la leche la aparición de compuestos coloreados va acompañada de una reducción de la lisina disponible;^{27, 77} el mismo hallazgo ha ocurrido en sistemas modelo de caseína-glucosa-glicerol (figura 2.19).

Ciertas pruebas de laboratorio han demostrado que las ratas alimentadas a base de caseína adicionada con 0.2% del producto resultante del calentamiento de una mezcla de glucosa y lisina, reducen su capacidad de retención de nitrógeno de 49 a 33%, con una pérdida de peso.¹⁶⁸ En algunos países es costumbre añadir lisina a los productos que llevan a cabo esta reacción, para restablecer el contenido original del aminoácido.

En los últimos años se ha despertado un gran interés por la actividad mutagénica que presentan algunas sustancias generadas por esta reacción y en la pirólisis de los hidratos de carbono.¹⁰⁰ Se ha visto que su concentración es paralela a la intensidad y a la producción del color,¹⁴⁰ y que se sintetizan más fácilmente cuando la lisina está en proporción equimolecular en presencia de ribosa, que cuando está en presencia de glucosa en un sistema modelo a 100°C.⁵⁶ Cabe recordar que la ribosa abunda en el pescado y en las carnes blancas y rojas, por lo que se considera que en estos productos es donde se pueden sintetizar con más facilidad los compuestos mutagénicos.

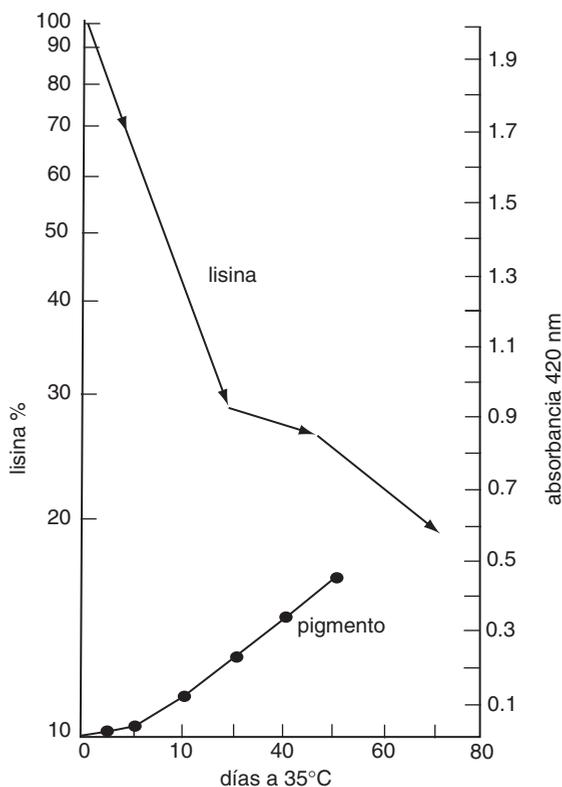


Figura 2.19 Producción de pigmentos oscuros y pérdida de lisina a 35°C en un sistema modelo de caseína/glucosa/glicerol, con una actividad del agua de 0.5.⁸⁴

2.10 TECNOLOGÍA DE LOS AZÚCARES

Para la elaboración de un gran número de alimentos, la industria ha empleado tradicionalmente diversos mono y disacáridos, como la glucosa, la sacarosa, el azúcar invertido y la lactosa; sin embargo, en la actualidad han adquirido mayor popularidad algunos azúcares-alcoholes, sobre todo el xilitol y el sorbitol que, en ciertos casos, han desplazado a los primeros. Los azúcares provienen de fuentes naturales como la caña de azúcar, la remolacha, los almidones, las frutas, etc.; su obtención implica el uso de tecnología especializada que, afortunadamente, ha evolucionado gracias a la creación de equipos que optimizan los procesos, a la recuperación de la energía liberada en el proceso de obtención, a la automatización y, en resumen, a la reducción de costos. Por otra parte, se han desarrollado procesos que permiten una mayor versatilidad en la aplicación de los azúcares, como la elaboración de azúcares microporosos que sirven como acarreadores de sabores.¹⁷⁸

Los diferentes usos de dichos azúcares se basan en sus propiedades funcionales, las cuales son consecuencia de su estructura química: su alto contenido de hidroxilos altamente hidrófilos, les proporciona la capacidad de hidratarse y de retener agua al establecer puentes de hidrógeno; generalmente son dulces, propician las reacciones de oscurecimiento de Maillard y de caramelización y fermentación, fungiendo como fuente de carbono; son capaces de inhibir el crecimiento microbiano, dependiendo de la concentración a la cual se empleen, por reducir el a_a ; confieren viscosidad y “cuerpo” a diversos alimentos, etcétera.

A continuación se enumeran algunos aspectos técnicos a considerar cuando se utilizan azúcares.

2.10.1 Conservación

Como se menciona en el capítulo 1, los solutos de peso molecular bajo reducen la presión de vapor de agua y, paralelamente, aumentan la presión osmótica; es decir, se pueden emplear para el control microbiológico de diversos hongos, levaduras y bacterias. Para que tengan este efecto se requiere que estén en solución; por esta razón, lo importante es la cantidad disuelta y no la total añadida. El control de los microorganismos se puede llevar a cabo regulando la actividad del agua; sin embargo, como se discutió también en el capítulo 1, es necesaria una gran concentración de sólidos para lograrlo, lo que va en detrimento de las propiedades sensoriales del alimento. Por ejemplo, en el caso de las mermeladas se pueden evitar los hongos y las levaduras ajustando el $a_a = 0.8$, lo que implica la adición de 60-65% de sacarosa;¹⁰⁵ esta cantidad se puede reducir sin afectar la calidad, mediante el empleo de algunos conservadores químicos. En estos productos, la sacarosa ayuda a la gelificación de las pectinas y su concentración es doblemente importante: si es baja, el gel es débil y puede ocurrir la sinéresis que concentra agua en la superficie, aumenta la actividad del agua y favorece el crecimiento microbiano. En la formulación de este tipo de productos es importante tomar en cuenta la legislación del país en que van a aplicarse, los conservadores permitidos y los niveles de uso autorizados.

2.10.2 Cristalización

Los azúcares tienen la capacidad de presentar el fenómeno de polimorfismo, que consiste en que un mismo compuesto puede cristalizar en diversas formas.

El ejemplo típico es la lactosa, que produce los isómeros α y β , cuyos cristales tienen solubilidades y tamaños diferentes. En la elaboración de productos lácteos condensados la concentración del

disacárido alcanza niveles muy cercanos a la saturación, lo que hace relativamente fácil su cristalización. Esto, en una determinada proporción, es bueno para lograr las propiedades sensoriales deseadas; no obstante, si la concentración es menor el producto tendrá un “cuerpo” débil, y si se excede conferirá una textura arenosa. De igual manera, en la leche en polvo es muy importante que la lactosa se encuentre como β , que es más soluble en agua que la α . En el capítulo 12 se menciona con más detalle el comportamiento de este azúcar en la leche.

Con el control adecuado de algunos parámetros como la temperatura, las concentraciones, etc., se puede inducir la formación de un determinado tipo de cristal; generalmente estos aspectos se toman en cuenta en los procesos industriales de elaboración de lácteos, en la confitería y en la producción de otros productos en los que la cristalización de los azúcares es muy importante.

Además de ser soluble en agua y difícil de cristalizar, la fructosa ejerce un efecto inhibitor sobre la cristalización de mono y oligosacáridos, por lo que los jarabes invertidos se emplean en confitería.

La textura y el lustre o brillantez de los chocolates y los dulces se debe en gran medida a la relación de concentraciones de los azúcares amorfos y cristalinos. La relación de éstos es importante, por ejemplo, si la humedad no es la adecuada en los chocolates y, si en su formulación sólo se empleó sacarosa, ésta se disuelve, migrando a la superficie del producto para cristalizar y producir una mancha blanquecina conocida como *sugar bloom*, que dota al producto de una textura arenosa y una apariencia desagradable; ésta situación puede evitarse si se emplea azúcar invertido en la formulación.

2.10.3 Hidratación

Esta propiedad de los azúcares está directamente relacionada con la facilidad que tienen sus OH de establecer puentes de hidrógeno con el agua, y varía de manera considerable entre los distintos mono y disacáridos (cuadro 2.7). En algunos azúcares, como la mezcla de α y β -lactosa, no se presenta una buena hidratación, ya que las dos formas anoméricas actúan entre sí por puentes de hidrógeno, lo que reduce su capacidad de hacerlo con moléculas de agua.

La hidratación se aprovecha para el control de la actividad del agua de los alimentos, sobre todo los de humedad intermedia. En algunos casos estos hidratos de carbono son higroscópicos, es decir, se hidratan con la humedad del aire, ocasionando un problema en los derivados de la confitería, ya que se vuelven pegajosos.

La selección de un azúcar para un uso específico debe hacerse tomando en cuenta el grado de higroscopia que tiene, ya que este fenómeno es indeseable en los productos deshidratados, como la leche en polvo, los granulados, etc.; sin embargo, en algunos productos de confitería sí es benéfico, toda vez que confiere cierta humedad constante que les da aspecto de frescura.

Cuando los azúcares son higroscópicos, deben almacenarse en recipientes cerrados y herméticos para evitar su exposición al aire húmedo.

2.10.4 Poder edulcorante

Casi todos los azúcares tienen la característica de ser dulces (aun cuando también los hay amargos), y se clasifican dentro de los edulcorantes como edulcorantes naturales (porque pueden extraerse de ciertas plantas), en hidratos de carbono, alcoholes polihídricos y glucósidos —según su estructura química— o en edulcorantes artificiales (que muestran diversas estructuras químicas y que se estudian en el capítulo 9).

CUADRO 2.11 Poder edulcorante relativo de algunos azúcares. Sacarosa = 100

Azúcar	Dulzura	
	En solución	Forma cristalina
β -D-fructosa	135	180
α -D-glucosa	60	74
β -D-glucosa	40	82
α -D-galactosa	27	32
β -D-galactosa	—	21
α -D-manosa	59	32
β -D-manosa	amargo	amargo
α -D-lactosa	27	16
β -D-lactosa	48	32
α -D-maltosa	39	—

Los azúcares presentan diferentes poderes edulcorantes en función de diversos factores (cuadro 2.11). Debido a que las determinaciones de dulzura provienen de un grupo de jueces o catadores y, por tanto, son netamente subjetivas, los resultados de todo análisis sensorial están sujetos a errores propios de los individuos, e incluso a su estado anímico o al color del producto, capaz de modificar la capacidad de captar la intensidad de los sabores dulces;⁸¹ ésta es la razón por la que existen discrepancias en los valores indicados en la literatura.

Cuando se disuelven en agua, los azúcares presentan reacciones de mutarrotación que producen una mezcla de tautómeros con distinta dulzura; esto se ha observado en la fructosa, cuyas soluciones recién preparadas son más dulces que las que se dejan reposar hasta alcanzar el equilibrio tautomérico.

La propiedad de dulzura de estos hidratos de carbono está muy relacionada con los grupos hidroxilo y con su estereoquímica; por ejemplo, la β -D-glucosa es dulce, mientras que su epímero, la β -D-manosa, es amargo. Sin embargo, existen otros compuestos que no pertenecen a los hidratos de carbono —y, por lo tanto, carecen de OH— pero también son dulces, como el cloroformo, algunos aminoácidos y sales metálicas, la sacarina y los ciclamatos.

Otros factores que influyen en el poder edulcorante de los azúcares son la temperatura y la concentración; la D-fructosa es más dulce a temperaturas bajas, fenómeno que se aprovecha en la elaboración de bebidas refrescantes que se consumen normalmente frías (figura 2.20); la glucosa es menos dulce que la sacarosa, pero ambas causan la misma sensación a una concentración de 40%. La presencia de ácidos, sales y algunos polímeros, así como la viscosidad del sistema, modifican esta percepción; el etanol intensifica la dulzura de la sacarosa, y lo mismo hacen los ácidos con la fructosa, mientras que la carboximetilcelulosa y el almidón la reducen, posiblemente porque ocupan los sitios activos receptores. La presencia del maltol y del etil-maltol aumentan el poder edulcorante de la sacarosa: el primero reduce 50% el umbral mínimo de percepción del disacárido.

Debido a que la fructosa es hasta 1.8 veces más dulce que la sacarosa, su uso se ha intensificado en los últimos años, ya sea en forma de azúcar invertido o en jarabes producidos por la acción de la glucosa isomerasa (capítulo 5). En nivel experimental se ha producido este monosacárido por hidrólisis controlada de la inulina, polímero lineal de moléculas de fructosa unidas $\beta(2,1)$, que se encuentra en plantas como el maguey y la alcachofa. Industrialmente se fabrica enzimáticamente a partir de glucosa del almidón (capítulo 5).

Debido a los problemas de salud que se asocian con el consumo excesivo de sacarosa, en la actualidad se emplean muchos azúcares-alcoholes (polioles) y edulcorantes sintéticos como sustitutos de este disacárido.⁷⁴

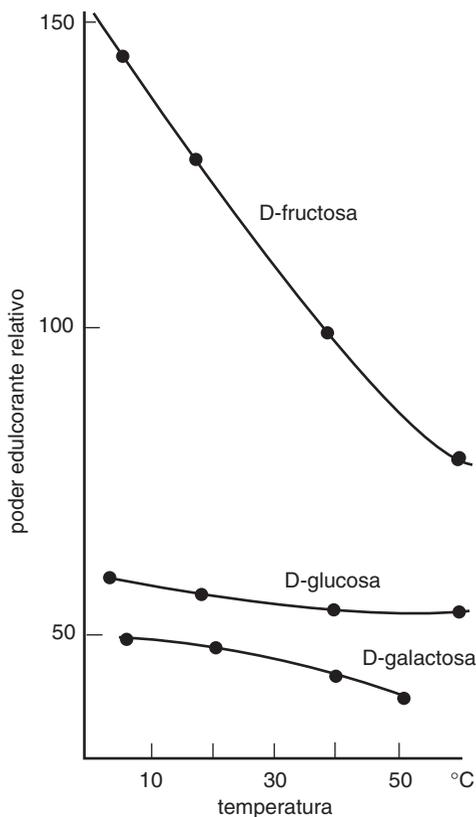


Figura 2.20 Efecto de la temperatura sobre el poder edulcorante relativo de varios azúcares.¹³⁷

Existen muchas teorías para explicar el fenómeno de la percepción de la dulzura de los azúcares y de otras moléculas, entre otras, la que postula que un compuesto dulce posee átomos electronegativos designados como A y B, y que un átomo de hidrógeno unido por un enlace covalente simple a A, puede formar enlaces de puente de hidrógeno recíprocos con un receptor que presenta una estructura similar en las papilas gustativas, lo que ocasiona la sensación de dulzura en la boca.^{133, 134, 137} Esta teoría se explica con más detalle en el capítulo 8.

2.11 POLISACÁRIDOS

Los polisacáridos constituyen un grupo heterogéneo de polímeros, en el que intervienen más de 10 monosacáridos unidos por distintos enlaces glucosídicos; los polisacáridos de menos de 10 son los oligosacáridos.

Casi todos los polisacáridos naturales contienen cientos de monómeros y, en ocasiones, varios miles. No producen verdaderas soluciones, sino más bien dispersiones de tamaño coloidal; puros no tienen color, aroma ni sabor. Su peso molecular, que puede llegar a ser hasta de millones, es en realidad un promedio, puesto que las moléculas no son iguales y siempre presentan una distribución de valores.

Se encuentran como cadenas lineales o ramificadas, que a su vez pueden estar integradas por un solo tipo de monosacárido (homopolisacárido) —como el almidón y la celulosa— o por varios tipos de monosacáridos (heteropolisacárido), como es el caso de la mayoría de las gomas. De cualquier manera, sus componentes siempre están unidos regularmente con una secuencia y estructura repetitivas, representando polímeros con un alto grado de ordenación. Estos enlaces pueden darse entre el C₁ o C₂ y el C₂, C₃, C₄, C₅ o C₆ del segundo residuo. Un polisacárido ramificado presenta más de dos tipos de enlace en una misma molécula.

De los hidratos de carbono contenidos en casi todos los tejidos animal y vegetal, los polisacáridos son los más abundantes; los azúcares libres generalmente están en una menor concentración, por lo que interactúan fuertemente con las proteínas en los sistemas biológicos, determinando muchas de las funciones celulares. La unión entre estos polímeros se efectúa sobre todo mediante enlaces electrostáticos, aun cuando pueden existir puentes de hidrógeno, hidrófobos y, en ocasiones, covalentes. Algunos de estos complejos forman geles cuando se calientan y producen una estructura ordenada tridimensional en la que queda atrapada el agua.^{21, 43, 159} Las características del gel dependen, entre otros factores, de la concentración del polímero.⁷⁶

La nomenclatura de los polisacáridos se basa en la adición de la terminación “ana” a las primeras letras que identifiquen el nombre del azúcar que los integran; por ejemplo, aquellos constituidos por glucosa exclusivamente, se denominan glucanas, los que contienen sólo galactosa, galactanas, etc. Cuando contienen más de un monómero se hace una combinación, como galactomanana, arabinogalactana, etcétera.⁷¹

De acuerdo con su función biológica, los polisacáridos se han dividido en dos grandes grupos: los que constituyen la estructura celular y le confieren rigidez a los tejidos (celulosa, pectinas, gomas, etc.), y los que representan la reserva energética de animales (glucógeno) y vegetales (inulina y almidón); cada grupo tiene propiedades físicas y químicas muy distintas, tal como se muestra en el resumen de los cuadros 2.12 y 2.13.

CUADRO 2.12 Características de los polisacáridos

<i>Estructurales</i>	<i>De reserva alimenticia</i>
Forman puentes de hidrógeno intermoleculares muy fuertes	Pocos puentes de hidrógeno intermoleculares y débiles
Producen fibras muy rígidas	No producen fibras
Insolubles en agua	Solubles en agua
Enlaces glucosídicos generalmente β	Enlaces glucosídicos generalmente α
Muy resistentes a enzimas, microorganismos y agentes químicos	Muy vulnerables a enzimas, microorganismos y agentes químicos
Sus dispersiones son de alta viscosidad	Sus dispersiones no son muy viscosas

CUADRO 2.13 Clasificación de algunos polisacáridos, de acuerdo con su fuente natural y función⁷¹

	<i>Función</i>	
	<i>Estructural</i>	<i>Reserva energética</i>
REINO ANIMAL		
Invertebrados	Quitina Celulosa	Glucógeno Galactanas
Vertebrados	Condroitina	Glucógeno
REINO VEGETAL		
Embryophyta		
<i>Bryophyta</i> (musgo)	Celulosa	Amilosa
<i>Tracheophyta</i>	Pentaglucanas Sustancias pécticas	Amilopectina Fructanas
Thallophyta		
<i>Phacophytia</i> (alga café)	Galactanas Agar	Laminarana Almidón
<i>Rhodophyta</i> (alga roja) y otras algas	Carragenina Ácido algínico Fucanas Celulosa Sustancias pécticas	Mananas
Schizomycophyta	Quitina	Almidones
Myxomycophyta	Celulosa	Levanas
Eumycophyta (bacterias, hongos y levaduras)	Mananas	Glucógeno

Su hidrólisis, al igual que la de los oligosacáridos, depende del pH, la temperatura, el tipo de enlace glucosídico, la configuración anomérica y la presencia de grupos voluminosos (vg. sulfatos) que ejercen un efecto estabilizador. Por ejemplo, los α -D-enlaces del almidón son más susceptibles que los β -D-enlaces de la celulosa; a su vez, los $\alpha(1,3)$ se rompen más fácilmente que los $\alpha(1,6)$ o los $\alpha(1,4)$. Las uniones en que intervienen furanosas (fructosa) son más lábiles que las que contienen piranosas. La presencia de grupos sulfato estabiliza los enlaces glucosídicos, a pesar de que éstos, en forma individual, son muy sensibles a los ácidos. Los azúcares anhidros, como la 3,6-anhidro-galactosa, son sumamente lábiles y aceleran la hidrólisis de los polisacáridos que los contienen.

Al igual que otras macromoléculas, estos polímeros pueden tener una conformación ordenada o carecer de ella y estar al “azar”; cada una de ellas es resultado de las interacciones que tienen sus monómeros constituyentes y que, en términos generales, se agrupan en su entropía conformacional. Debido al gran número de uniones covalentes y no covalentes, los polisacáridos, con un cambio muy pequeño en su energía interna, presentan cierta rotación y flexibilidad de movimiento. Las estructuras de hélice, como en el almidón y la celulosa, son más ordenadas y rígidas que las estructuras al azar.

Los polisacáridos se encuentran en forma natural en muchos alimentos, pero en algunas ocasiones se añaden a otros para obtener la formulación correcta, como en el caso del almidón, la carragenina y las pectinas, que se utilizan por sus propiedades funcionales (cuadro 2.14). Por su gran capacidad de retener agua, producen partículas coloidales muy hidratadas, razón por la cual se les da el nombre de hidrocoloides.

CUADRO 2.14 Principales usos de los polisacáridos en alimentos

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Estabilizadores a través de sus interacciones con agua • Emulsionantes • Gelificantes • Estabilizan o forman espumas • Mejoran la textura, dándole “cuerpo” al alimento • Espesantes y agentes de viscosidad • Encapsulación de sabores artificiales, fijación de sabores • Estabilizan sistemas donde hay ciclos de congelamiento y descongelamiento • Fibra dietética • Protectores de coloides • Inhibidores de sinéresis | <ul style="list-style-type: none"> • Controlan la cristalización de azúcares, sales y agua • Forman películas resistentes • Agentes de suspensión de sólidos en líquidos • Agentes adhesivos • Espesantes en alimentos dietéticos bajos en calorías • Agentes clarificantes • Crioprotectores de alimentos sometidos a congelación • Sustitutos de grasa • Aumentan la viscosidad/mejoran la sensación de cuerpo en la boca • Estabilizantes de proteínas • Agentes que mantienen la suspensión |
|--|--|

La expresión “capacidad de retención de agua” generalmente hace referencia a la cantidad de agua que una proteína o un hidrato de carbono (macromoléculas en general) puede retener sin que haya liberación del líquido. Dicha capacidad depende de factores intrínsecos (tipo de polímero, peso molecular, linealidad, etc.) y extrínsecos (pH, fuerza iónica, temperatura, presencia de ciertos cationes, etcétera).

La retención de agua puede causar la formación de un gel; tal es el caso de los producidos por las carrageninas y las pectinas. Las moléculas de agua se orientan respecto de los grupos hidroxilo que se encuentran en las moléculas de azúcar del hidrocoloide, lo que conduce a la formación de una red tridimensional. Algunas gomas espesan y otras gelifican, dependiendo de la interacción entre las moléculas: si ésta es baja, las moléculas se mueven al azar (espesan); si la interacción se da mediante enlaces verdaderos, las moléculas gelifican. Ciertos geles son termorreversibles, otros no.⁶⁶ Sin embargo, durante el almacenamiento puede ocurrir que las macromoléculas reaccionen entre sí y pierdan su capacidad de retención de agua; esto ocasiona que las moléculas de agua que ya no son retenidas se desprendan de la matriz del gel y emigren a la superficie. Este fenómeno se conoce como sinéresis, lo cual indica exudación o liberación de agua causada por un reacomodo interno de las macromoléculas (véase retrogradación del almidón).

2.11.1 Celulosa

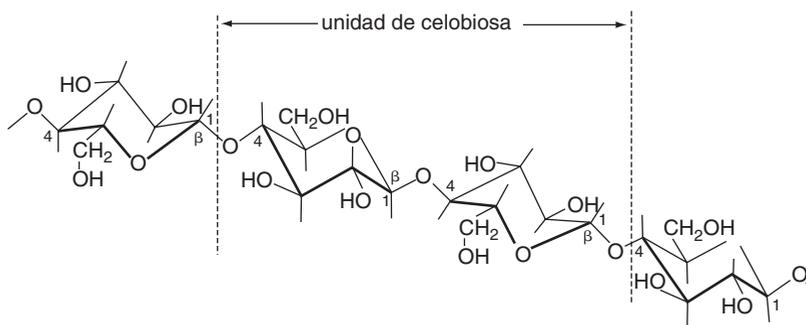
Es el polisacárido estructural de todo el reino vegetal; por ser considerado el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza y constituir una fuente de glucosa prácticamente inagotable que se renueva de forma continua mediante la fotosíntesis, los científicos han desarrollado muchas investigaciones para aprovecharlo en la obtención de glucosa.

A diferencia de los animales monogástricos como el hombre, los herbívoros son los únicos capaces de aprovechar la celulosa en su metabolismo, pues cuentan con las correspondientes enzimas celulasas en el tracto gastrointestinal; para el organismo humano, la celulosa es parte de la fibra cruda, por lo que se elimina en las heces sin haber sido aprovechada.

La celulosa se encuentra en las frutas, las hortalizas y los cereales como constituyente estructural de las paredes celulares, y también la producen ciertos microorganismos. En el arroz, el maíz y el

trigo se localiza en el pericarpio, y en el germen junto con las hemicelulosas y la lignina, representando 1.0, 2.5 y 2.0% del grano, respectivamente.

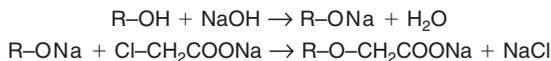
Comercialmente, este polisacárido se obtiene de la madera y del algodón, siendo esta última la fuente más pura. Al igual que la amilosa del almidón, la celulosa es un homopolisacárido lineal de unidades de D-glucopiranosas, pero con la diferencia de que los monómeros se unen mediante enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$; su peso molecular llega a ser hasta de varios millones, y su alta resistencia mecánica y química se debe a que sus cadenas paralelas se alinean sobre un eje longitudinal y establecen un gran número de puentes de hidrógeno intermoleculares, lo que da origen a microfibrillas altamente estructuradas. Tiene zonas cristalinas y amorfas: las primeras se producen cuando las moléculas se enlazan con un alto grado de ordenación, mientras que en las segundas no existe este orden. A pesar de tener muchos hidroxilos libres es muy poco soluble en agua, debido a que estos grupos no se hidratan por estar actuando entre sí.



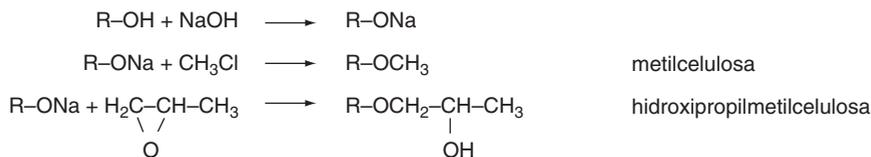
celobiosa, unidad repetitiva de la celulosa

Puede ser hidrolizada a residuos de D-glucosa por la acción de ácidos como el sulfúrico y el clorhídrico a una temperatura de más de 125°C ; también se han desarrollado métodos enzimáticos aprovechando las celulasas extracelulares que sintetizan ciertos microorganismos (capítulo 5).

Generalmente la celulosa no se usa como aditivo de manera directa; se emplean más bien sus diversos derivados, principalmente la carboximetilcelulosa, que se fabrica haciendo reaccionar en un tanque con agitación la celulosa del algodón con hidróxido de sodio y ácido monocloroacético. El derivado obtenido se neutraliza y se seca, y el exceso de sales se elimina mediante una extracción con alcohol-agua. Teóricamente es posible lograr que los tres OH de la glucosa reaccionen con NaOH para alcanzar un máximo grado de sustitución; sin embargo, los productos comerciales con una sustitución de 0.4-1.2 son los que más se emplean, porque tienen una buena solubilidad:



Otros derivados que también se usan son la metilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa; la primera se produce haciendo reaccionar la celulosa con sosa y cloruro de metilo, mientras que en la obtención de la segunda intervienen la sosa y el óxido de propileno:



La celulosa microcristalina (MCC) es una forma depolimerizada que se fabrica por medio de una hidrólisis ácida controlada de la celulosa que se extrae de la madera; el ácido ataca las partes amorfas, dejando intactas las zonas cristalinas y liberando pequeños paquetes de fibras de microcelulosa. Esto hace que el producto resultante no sea fibroso y que tenga una alta capacidad de absorción de agua. Normalmente la MCC se recubre con celulosa u otra goma para evitar que los paquetes de fibra se reorganicen durante el secado; el material de recubrimiento dependerá de las aplicaciones que se le darán a la MCC. La MCC presenta excelentes propiedades emulsificantes y estabilizantes de productos aerados. Se aplica en aderezos, salsas y productos elaborados a base de jitomate, productos lácteos, productos de panificación y como sustituto de grasa.^{66, 179}

Otro derivado importante de la celulosa es la carboximetilcelulosa, que presenta propiedades funcionales de interés en la industria de alimentos, actúa como aglutinante, como espesante y estabilizante, y forma películas resistentes. Se utiliza en productos como tortillas de maíz por su habilidad de retener agua, en la elaboración de jugos y néctares, rellenos de pie, productos de panificación, como sustituto de grasa, en productos lácteos (helados), en salsas, aderezos y productos elaborados a base de jitomate.^{25, 66, 122}

Los usos de los derivados de la celulosa son muchos y muy variados; por ejemplo, en el control de la cristalización de la lactosa para la fabricación de helados; en la elaboración de productos congelados; en aderezos para conferir “cuerpo” e incrementar la viscosidad; en mezclas con otras gomas para evitar la sinéresis; en alimentos dietéticos (pues no se metabolizan), etcétera.

2.11.2 Hemicelulosa

Este término es algo ambiguo; se emplea para referirse a un grupo muy extenso de polisacáridos con diversos tipos de monómeros (heteropolisacáridos) que se localizan principalmente en la pared celular, y que son muy distintos a la celulosa o al almidón. Generalmente son solubles en soluciones alcalinas concentradas (18 a 24% de los hidróxidos de sodio o de potasio), presentan una estructura amorfa (aun cuando algunos tipos desarrollan una forma fibrilar), y actúan como agentes cementantes en el tejido vegetal.

Se asocian principalmente a las pectinas, a la celulosa y a otros polímeros con estructuras de mananas, glucomananas, galactanas, arabinogalactanas, etc. Su composición química se basa en la unión glucosídica de distintos monosacáridos, sobre todo pentosas (vg. arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), ácidos urónicos (galacturónico y glucurónico) y algunos desoxiazúcares. El contenido de hemicelulosas cambia durante la maduración de los frutos y vegetales.¹⁴²

Una de las hemicelulosas más abundantes es la que está integrada por la unión $\beta(1,4)$ de unidades de D-xilopiranosas; a esta estructura lineal básica ocasionalmente se le enlazan grupos de L-arabinofuranos mediante los carbonos 2 o 3 de la xilosa.

El trigo contiene de 2 a 3% de hemicelulosa, y una fracción de ésta (0.5 a 0.8%) es de peso molecular bajo y soluble en agua, mientras que la otra es de peso molecular alto e insoluble. La pre-

sencia de la primera provoca que la harina de este cereal absorba mayor cantidad de agua, lo cual reduce el tiempo de amasado y mejora el volumen y la textura del pan de trigo. Cuando aumenta el contenido de hemicelulosas insolubles, la calidad global de los productos de la panificación tiende a reducirse.

Estos hidratos de carbono presentan diferentes capacidades de hidratación o retención de agua; por ejemplo, la hemicelulosa proveniente de los frijoles tiene un valor de 3.3 g de agua por gramo de polímero, mientras que el valor de la col es de 12 g y el del trigo de 22.8 g. Se considera que por esta razón los dos últimos alimentos tienen la capacidad de formar grandes volúmenes de bolo, que ayudan a efectuar la defecación más fácilmente.⁶⁹

Las hemicelulosas tienen una alta habilidad de absorber agua, razón por la cual se dice que son solubles; al absorber agua en los intestinos ayudan a la formación de heces y a la mejor y más fácil eliminación de éstas, por lo que son ingredientes en la manufactura de varios productos farmacéuticos para este propósito.

2.11.3 Almidón

Este carbohidrato ha sido parte fundamental de la dieta del hombre desde la prehistoria, además de que se le ha dado un gran número de usos industriales. Después de la celulosa, es probablemente el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial. Se encuentra en los cereales, los tubérculos y en algunas frutas como polisacárido de reserva energética. Su concentración varía según el estado de madurez de la fuente; el caso del plátano es una señal muy clara en este sentido: en estado verde o inmaduro, el almidón constituye la mayor fracción de los hidratos de carbono, ya que los azúcares son muy escasos; a medida que la fruta madura, el polisacárido se hidroliza por la acción de las amilasas, y mediante otros sistemas enzimáticos se sintetizan la sacarosa y la fructosa que se encuentran cuando llega a la plena maduración (cuadro 2.15).

Desde el punto de vista químico, el almidón es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina; el primero es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$, que establece largas cadenas lineales con 200-2 500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana, cuya unidad repetitiva es la α -maltosa. Tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal (figura 2.21), en la que cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa.

CUADRO 2.15 Cambios en la composición del plátano durante la maduración

Color	Características	Almidón	Azúcares
1	Verde	21.5-19.5	0.1-2.0
2	Verde con huellas de amarillo	19.5-16.5	2.0-5.0
3	Más verde que amarillo	18.0-14.5	3.5-7.0
4	Más amarillo que verde	15.0-9.0	6.0-12.0
5	Sólo puntas verdes	10.5-2.5	10.0-18.0
6	Todo amarillo	4.0-1.0	16.5-19.5
7	Pequeñas áreas de color café	2.5-1.0	17.5-19.0
8	Grandes áreas de color café	1.5-1.0	18.5-19.0

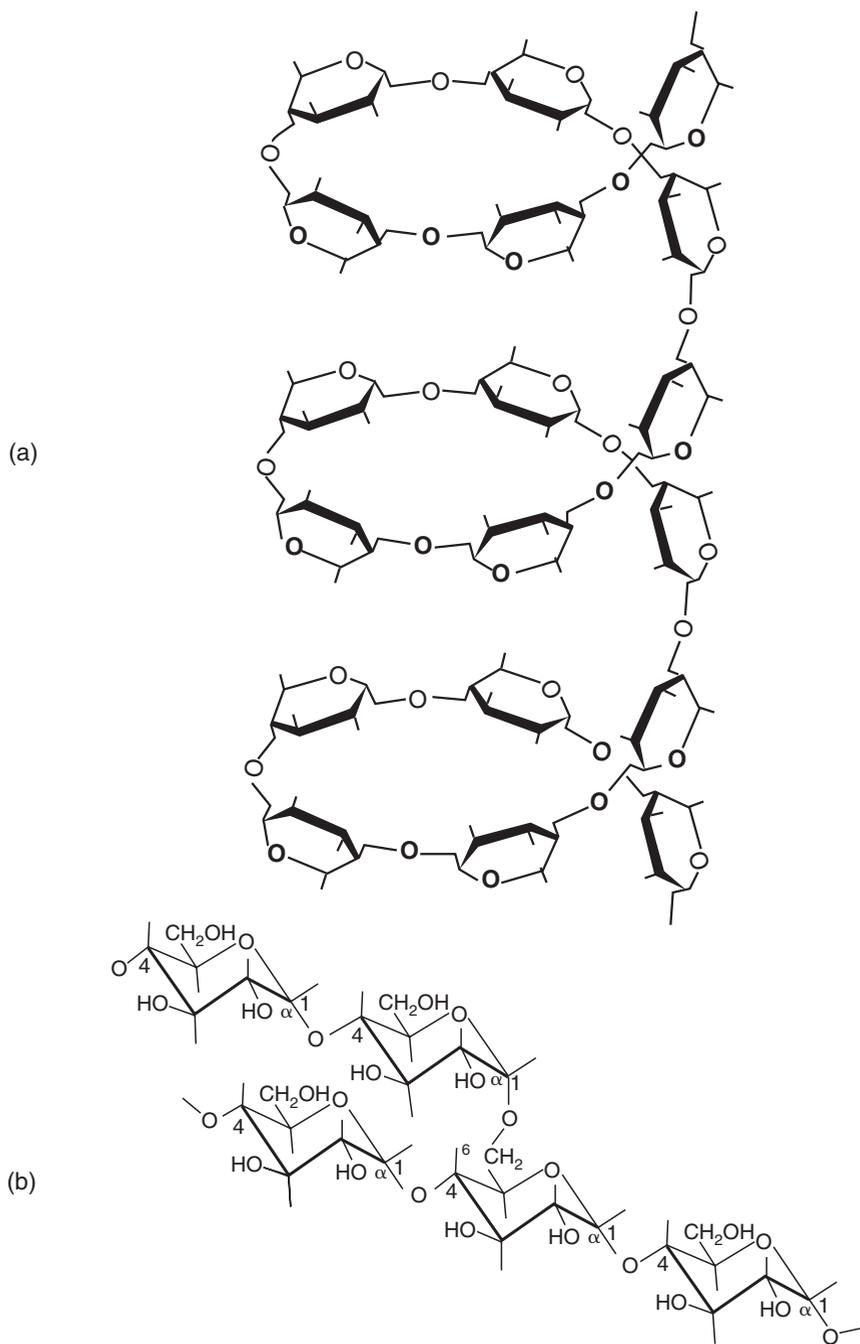


Figura 2.21 (a) enrollamiento helicoidal de la amilosa; (b) estructura química de la amilopectina.

Por su parte, la amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa (figura 2.21). Su peso molecular es muy alto, ya que algunas fracciones llegan a alcanzar hasta 200 millones de daltones, aunque se han reportado pesos de entre 300,000 y 500,000.^{51, 167}

En términos generales, los almidones contienen aproximadamente 17-27% de amilosa, y el resto de amilopectina (cuadro 2.16). Algunos cereales, como el maíz, el sorgo y el arroz, tienen variedades llamadas “céreas” que están constituidas casi únicamente por amilopectina; hay otras que tienen hasta 90% de amilosa. La concentración relativa de estos dos polímeros está regida por factores genéticos típicos de cada cereal.

El yodo reacciona con la amilosa y genera un fuerte color azul característico debido al complejo que se establece entre una molécula de éste con cada 7-8 glucosas; para desarrollar adecuadamente la coloración se requiere un mínimo de 40 residuos de monosacárido, las cadenas muy cortas de amilosa, en lugar de azul producen un color rojo. Aparentemente el complejo amilosa-yodo se establece por la inclusión del I_2 en la hélice, mecanismo semejante al que se observa en los monoglicéridos que se usan en la elaboración del pan. Por otra parte, la amilopectina sólo forma complejos con una pequeña cantidad de I_2 y desarrolla una coloración roja.

Tanto la amilosa como la amilopectina influyen de manera determinante en las propiedades sensoriales y reológicas de los alimentos, principalmente mediante su capacidad de hidratación y gelatinización. En ciertos casos, cuando una de estas fracciones está en exceso, puede traer consigo algunos inconvenientes; esto se observa en el arroz cocido, cuya calidad mejora cuando se reduce el contenido de amilosa, pues resulta menos pegajoso.

El almidón sirve de reserva energética en el reino vegetal, y se encuentra en pequeños corpúsculos discretos que reciben el nombre de gránulos; en el tejido vegetal, éstos ejercen una presión osmótica muy baja, con lo que la planta almacena grandes cantidades de glucosa de una manera muy accesible sin romper el balance de agua interior. El tamaño y la forma del gránulo son característicos de cada especie botánica; esto se ha aprovechado en el desarrollo de diferentes métodos microscópicos para identificar el origen de los distintos almidones (cuadro 2.16). En un mismo cereal se distinguen varios tipos de gránulos; en general, los que se encuentran en la zona más exterior del endospermo son poliédricos, mientras que los del interior son redondos.¹⁰⁶

CUADRO 2.16 Características de algunos almidones usados en la industria alimentaria

<i>Tipo</i>	<i>Amilopectina (%)</i>	<i>Amilosa (%)</i>	<i>Temperatura de gelatinización (°C)</i>	<i>Tamaño del gránulo (micras)</i>
Maíz	69-74	26-31	62-72	5-25
Maíz rico en amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25
Papa	73-77	18-27	58-67	5-100
Arroz	83	17	62-78	2-5
Tapioca	82	18	51-65	5-35
Maíz céreo	99-100	0-1	63-72	5-25
Sorgo céreo	99-100	0-1	67-74	5-25
Trigo	76	24	58-64	11-41

La estructura rígida de los gránulos está integrada por capas concéntricas de amilosa y de amilopectina (distribuidas radialmente) que permanecen inalterables durante la molienda, el procesamiento y la obtención de los almidones comerciales. Estos cuerpos son birrefringentes, es decir, tienen dos índices de refracción, por lo cual cuando se irradian con luz polarizada desarrollan la típica “cruz de malta”; esto se debe a que dentro del gránulo se localizan zonas cristalinas de moléculas de amilosa ordenadas paralelamente a través de puentes de hidrógeno, así como zonas amorfas causadas principalmente por la amilopectina, que no tienen la posibilidad de asociarse entre sí o con la amilosa. Por esta razón, los gránulos que contienen una proporción grande de la fracción ramificada no presentan birrefringencia; esta característica, al igual que su espectro de rayos X, se pierde cuando los gránulos alcanzan la gelatinización.

2.11.3.1 Obtención del almidón

Uno de los métodos para obtener almidón de manera comercial consiste en la llamada molienda húmeda de maíz, en la que intervienen los siguientes pasos:

Se limpian los granos y se maceran en agua de 24 a 48 horas a 50°C (se puede añadir entre 0.1 y 0.2% de anhídrido sulfuroso como agente microbiano); en esta etapa el maíz absorbe agua hasta alcanzar un contenido de 45 a 50%, con lo cual se ablanda el grano y se facilita su trituración; durante este proceso se desprende el germen, que se recupera por flotación o mediante un sistema de hidrociclones. La suspensión resultante se muele y se filtra, y el almidón se separa de las proteínas por diferencia de densidades. La fracción que contiene el polisacárido se purifica hasta reducir su contenido de proteínas a un valor menor de 0.3%; posteriormente se concentra y se seca por métodos como el de tambor rotatorio o el de aspersión.

Los subproductos también tienen un alto valor comercial, ya que el germen se usa para la extracción de aceite comestible, y el gluten, rico en proteínas, para el consumo humano y animal.

2.11.3.2 Gelatinización

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, debido a que su estructura está altamente organizada y a que presenta una gran estabilidad por las múltiples interacciones que existen con sus dos polisacáridos constituyentes; sin embargo, cuando se calientan empieza un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni rígidos como en las áreas cristalinas. A medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y a aumentar de volumen, fenómeno que puede observarse en el microscopio, sin que se presente un aumento importante en la viscosidad; una vez que la parte amorfa se ha hidratado completamente, la cristalina inicia un proceso semejante, pero para esto se requiere más energía.

Al llegar a ciertas temperaturas —normalmente cercanas a 65°C, aunque dependen de cada tipo de almidón—, el gránulo alcanza su volumen máximo y pierde tanto su patrón de difracción de rayos X como la propiedad de birrefringencia; si se administra más calor, el gránulo hinchado, incapaz para retener el líquido, se rompe parcialmente y la amilosa y la amilopectina, fuertemente hidratadas, se dispersan en el seno de la disolución. En este punto se pierden la estructura original y la birrefringencia del gránulo; esto va aunado a un aumento de la viscosidad. Aproximadamente 30% de la amilosa se encuentra en solución. A todo este proceso se le llama gelatinización, y es una transición de un estado ordenado (vg. la estructura cristalina) a otro desordenado en el que se absorbe ca-

lor. Es decir, la gelatinización transforma los gránulos de almidón insolubles en una solución de las moléculas constituyentes en forma individual.¹¹¹

La cinética de la gelatinización del almidón de la papa se ha estudiado aplicando la técnica analítica de calorimetría diferencial de barrido. Con ella se ha encontrado que existen dos constantes de velocidad, dependientes de la temperatura, que son un reflejo de la presencia de las zonas amorfa y cristalina.¹¹⁸ Por otra parte, esta transformación sigue una cinética de pseudo-cero orden cuando se efectúa mediante la extrusión, en cuyo caso la velocidad está en función de la temperatura y de la humedad; con este sistema también se ha comprobado que los almidones céreos (1% amilosa) gelatinizan más fácilmente que los normales (30% amilosa), pues existen menos zonas cristalinas.²⁴

Para visualizar mejor este fenómeno, la figura 2.22 muestra esquemáticamente el aumento de volumen de los gránulos contra el aumento de la viscosidad de la dispersión acuosa. Una vez que los gránulos se rompen, la viscosidad se reduce hasta alcanzar un valor estable en el que se genera un gel cuyas características físicas y químicas son diferentes según el almidón de que se trate. Esta representación simple se transforma en la curva que se obtiene del amilograma correspondiente, y que se muestra en la figura 2.23.

La temperatura de gelatinización es aquella en la que se alcanza el máximo de viscosidad y se pierden la birrefringencia y el patrón de difracción de rayos X; esta temperatura es en realidad un intervalo, ya que los gránulos tienen diferente composición y grado de cristalinidad aunque provengan de la misma fuente botánica, lo que provoca que unos sean más resistentes que otros. Por esta razón se llega a presentar una diferencia de 8 a 12°C, teniendo como promedio 10°C entre la temperatura de gelatinización de los primeros gránulos y la de los últimos. Este parámetro también se ve muy afectado por la presencia de diversos compuestos químicos que favorecen o inhiben los puentes de hidrógeno.⁵⁹

La determinación de la temperatura de gelatinización se puede lograr con el microscopio Kofler de luz polarizada, el cual consta de una placa cuya temperatura se regula y sobre la cual se colocan

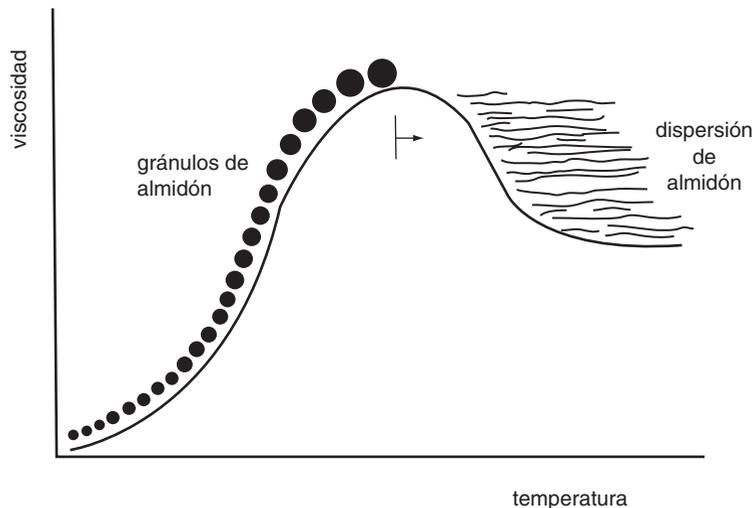


Figura 2.22 Gelatinización del almidón; los gránulos se hinchan y retienen un máximo de agua hasta que se rompen y producen una dispersión de moléculas de amilosa y amilopectina.

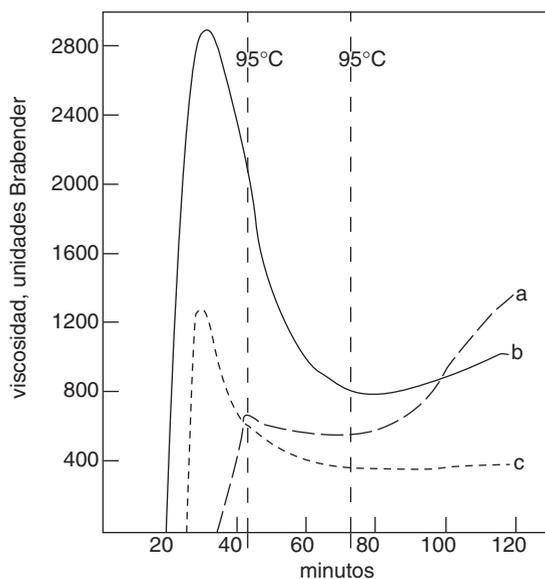


Figura 2.23 Viscosidad de varios almidones a pH 5.0 (6.0% sólidos): a) maíz; b) papa, y c) maíz céreo.¹⁷⁰

los gránulos en agua; de esta manera es posible comprobar visualmente el momento (y, en consecuencia, la temperatura) en que se pierde la birrefringencia.

Cabe indicar que al final de este fenómeno se genera una pasta en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los agregados, también hidratados, de los restos de los gránulos. La solubilización y la destrucción total de dichos gránulos se consigue cuando se someten a temperaturas de autoclave y se acelera considerablemente con una agitación violenta. La cantidad de agua que absorben los diferentes almidones varía, pero se puede considerar que va de 40 a 55 gramos de agua por cada 100 g de sólido; en la figura 2.24 se comprueba que el almidón de maíz se hincha mucho menos que los almidones de papa, tapioca y sorgo céreo y, además, que los modificados tienen una capacidad de hinchamiento diferente a la que presentan de manera natural.

Se ha encontrado que las propiedades funcionales de los almidones se modifican radicalmente dependiendo de si se emplean solos o con otros hidrocoloides, ya que se pueden obtener reacciones sinérgicas.

2.11.3.3 Retrogradación

Este fenómeno se define como la insolubilización y la precipitación espontánea, principalmente de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan de forma paralela y reaccionan entre sí por puentes de hidrógeno a través de sus múltiples hidroxilos; esto se puede efectuar por diversas rutas, según la concentración y de la temperatura del sistema. Si una solución concentrada de amilosa se calienta y se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente, se forma un gel rígido y reversible, pero si las soluciones son diluidas, se vuelven opacas y precipitan cuando se dejan reposar y enfriar lentamente (figura 2.25). Cada almidón tiene una tendencia diferente a la re-

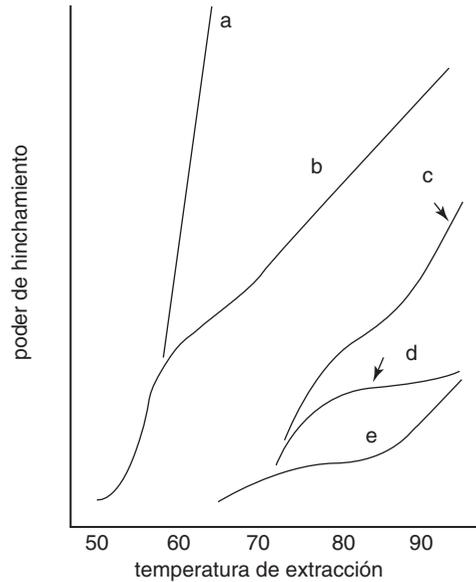


Figura 2.24 Intensidad de hinchamiento de varios almidones comerciales: a) papa; b) tapioca; c) sorgo céreo; d) sorgo céreo modificado, y e) maíz.

trogradación, lo cual se relaciona con su contenido de amilosa: es más difícil que la amilopectina la desarrolle, debido a que sus ramificaciones impiden la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas adyacentes; sin embargo, si las soluciones de almidón se congelan y se descongelan continuamente, se produce su insolubilización. Las fracciones de amilosa o las secciones lineales de amilopectina que retrogradan, forman zonas con una organización cristalina muy rígida que, para romperse y permitir la gelatinización del almidón, requiere alta energía.

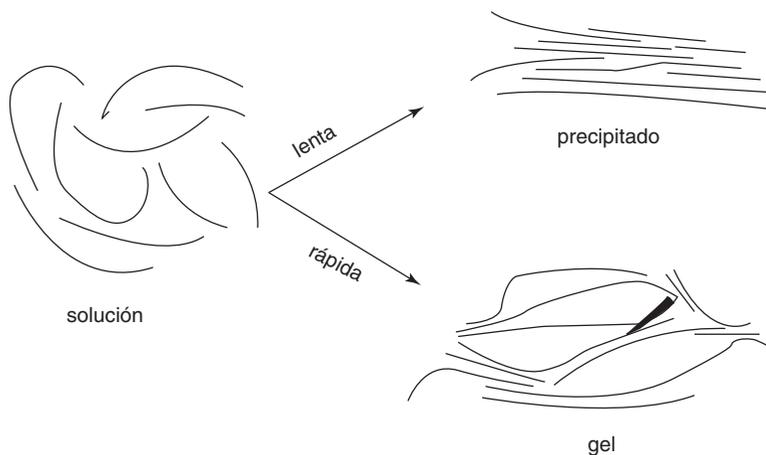


Figura 2.25 Mecanismos de retrogradación del almidón.

La retrogradación se relaciona de manera directa con el envejecimiento del pan; originalmente se pensaba que la modificación de este alimento se debía a la facilidad de la amilosa para retrogradar y formar zonas cristalinas, pero después se encontró que también la amilopectina ejerce un efecto decisivo. Durante el cocimiento del pan, parte de la amilosa se difunde fuera del gránulo y retrograda en el momento de su enfriamiento, de manera que los restos de gránulos (ahora ricos en amilopectina) se ven rodeados por moléculas del polímero lineal; se considera que el envejecimiento se debe básicamente a la asociación de las cadenas de amilopectina que permanecen en el gránulo hinchado después de haber perdido parte de la amilosa. En el pan fresco, el polímero ramificado tiene todas sus ramas completamente extendidas, mientras que en el pan duro están retrogradadas, unidas entre sí y sin el agua original (figura 2.26).

De acuerdo con este mecanismo, los emulsionantes inhiben este fenómeno porque interactúan con la amilosa dentro del gránulo y evitan su difusión, lo que trae consigo que la amilopectina no se concentre y se esponga a la retrogradación.^{92, 135}

El envejecimiento del pan puede hacerse reversible con calor húmedo, siempre y cuando el almidón no se encuentre en un estado muy avanzado de retrogradación. Las enzimas amilolíticas del sistema digestivo del humano no atacan las zonas cristalinas que se producen y, en este sentido, se reduce el valor calórico de los alimentos que las contienen.

Se ha visto que la retrogradación del almidón se ve afectada por el tipo y concentración del hidrocoloide con que se haya mezclado.^{4, 175} El estudio de diferentes tipos de almidones y de las condiciones que afectan la gelatinización y retrogradación de los mismos,^{50, 53, 78} han permitido determinar los factores que favorecen la resistencia durante la gelatinización o la retrogradación.⁵⁴

2.11.3.4 Productos derivados del almidón

A partir de este hidrato de carbono se obtienen distintos derivados, como la glucosa, las dextrinas y los almidones modificados, todos ellos ampliamente usados en la elaboración de un gran número de alimentos, e incluso en muchas otras industrias de productos no comestibles.¹⁷⁰

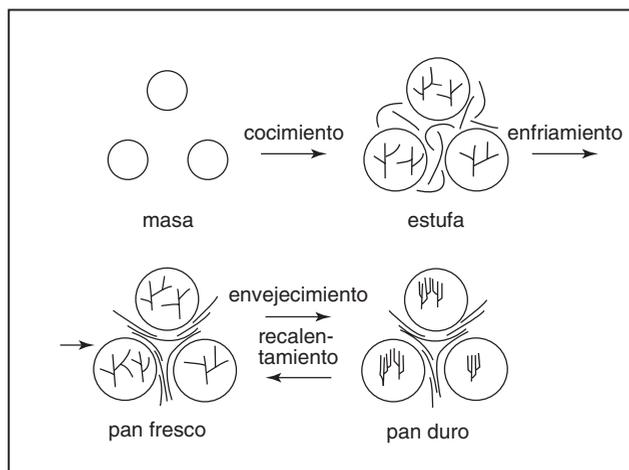


Figura 2.26 Función de las fracciones del almidón en el envejecimiento del pan sin emulsionantes.¹³⁵

La glucosa se fabrica por la hidrólisis completa del almidón, con ácidos y enzimas amilolíticas. Por ejemplo, a una dispersión de 30 a 40% de almidón se le añade HCl en una concentración de 0.10 a 0.15%, y se calienta durante 20 minutos; la hidrólisis parcial que ocurre se completa, después de neutralizar y enfriar, con la adición de las α y β -amilasas y la glucoamilasa. El jarabe producido se purifica y se decolora por centrifugación, filtración y por la acción de carbón activado, y finalmente se concentra. De acuerdo con las condiciones de temperatura, la glucosa se presenta en tres formas o en mezclas de éstas: la α -D-glucosa monohidratada, que es la más común, cristaliza a $< 50^{\circ}\text{C}$ y es poco soluble (cuadro 2.3); en caso de emplearse temperaturas más altas, que pueden llegar hasta los 115°C , se favorece la α -D-glucosa anhidra, y si son menores de los 115°C , se induce la β -D-glucosa anhidra, que tiene la ventaja de ser muy soluble en agua y que es la más apropiada para la fabricación de bebidas y otros productos que requieren una solubilización instantánea.

El grado de conversión de almidón a glucosa se mide en términos del equivalente de dextrosa (ED), que se define como el porcentaje de azúcares reductores de un jarabe, calculado como dextrosa en base seca.

El segundo grupo de derivados, las dextrinas, se fabrican por una hidrólisis parcial del almidón empleando ácidos y calor; entre ellas destacan las pirodextrinas, las dextrinas blancas y las dextrinas amarillas.

Las primeras también reciben el nombre de gomas pardas (*British gums*), que se logran por un calentamiento de 170 a 210°C durante 7-18 horas; en estas condiciones se propicia una hidrólisis lenta de los enlaces $\alpha(1,4)$ y una reordenación y polimerización de las moléculas producidas, con lo cual se favorece la ramificación a través de nuevos enlaces $\alpha(1,6)$ y $\beta(1,6)$. En general, la parte que corresponde a las ramas de un almidón representa de 2 a 3%, mientras que en las pirodextrinas llega a ser de 25%. Estos derivados son de peso molecular alto, oscuros, solubles en agua fría, de poca tendencia a la retrogradación y alta resistencia a las enzimas amilolíticas.

Las dextrinas blancas se fabrican haciendo reaccionar el almidón con ácidos a una temperatura de 95 a 120°C , con lo cual se favorece la hidrólisis en lugar de la polimerización; pueden tener distintos colores, viscosidades y solubilidades, de acuerdo con las condiciones de procesamiento.

Finalmente, las dextrinas amarillas se obtienen también por hidrólisis en condiciones intermedias de temperatura y con menos concentración de ácido que las anteriores.

A diferencia de los jarabes de glucosa, las dextrinas no cristalizan; se emplean como agentes espesantes y estabilizadores en un gran número de alimentos.

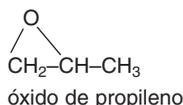
Los almidones modificados presentan más propiedades funcionales que los naturales, por lo que generalmente se emplean más en la industria; estos productos pueden ser agentes estabilizadores, emulsionantes, humectantes, espesantes, etc., en productos con distintos pH, sales, sólidos, lípidos, etc.; es decir, se cuenta con un almidón modificado para cada necesidad.

Existen diversos procesos a través de los cuales se pueden obtener almidones modificados, entre éstos: gelatinización, fluidización por ácidos, eterificación, esterificación, enlaces cruzados, fosfatos, acetilados, succinato, hidroxipropilados, oxidados y parcialmente hidrolizados.²⁰⁷

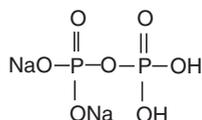
Gelatinización. Consiste en cocer y gelatinizar el almidón, haciéndolo pasar por unos rodillos calientes para después secarlo; el producto se hincha rápidamente en agua fría y forma una pasta estable; es un buen agente espesante y se emplea en alimentos cuyo consumo no requieren calentamiento. Este método normalmente se emplea en forma conjunta con otro de naturaleza química para obtener los beneficios de ambos.

Fluidización (o hidrólisis) por ácidos. Los almidones llamados fluidizados se logran calentando una suspensión al 40% a $< 55^{\circ}\text{C}$ en presencia de HCl o de H_2SO_4 0.1N durante un tiempo que puede variar entre 10 y 20 horas para lograr la viscosidad deseada. Como no se alcanza la temperatura de gelatinización, el ácido sólo hidroliza las regiones amorfas del gránulo y muy poco o nada las cristalinas, por lo que la amilopectina es la más afectada; después se neutraliza con NaOH, se filtra, se lava y se seca. Este tipo de almidones forma pastas que, en caliente, tienen poca viscosidad, y sus geles son débiles; se usan en la industria de caramelos cuando se desea lograr texturas gomosas.

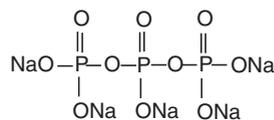
Esterificación. Esta reacción se efectúa a 50°C con óxido de propileno, el cual forma enlaces éter con los OH del almidón, y alcanza un grado de sustitución de 0.05 a 0.10; esto provoca una reducción en la temperatura de gelatinización y de la tendencia de las pastas a la retrogradación.



Esterificación. Esta modificación se lleva a cabo con anhídridos orgánicos e inorgánicos, o con sales ácidas de orto, piro y tripolifosfatos, que reaccionan con los OH y forman uniones éster. Entre los más comunes están los derivados fosfato que se producen por calentamiento de 55 a 60°C durante una hora y alcanzan un grado de sustitución < 3 . Este tipo de almidón tiene menor temperatura de gelatinización, se hidrata más fácilmente, sus pastas transparentes son viscosas y no presentan retrogradación; por su estabilidad a los ciclos de congelamiento-descongelamiento, se emplean en la elaboración de alimentos congelados.

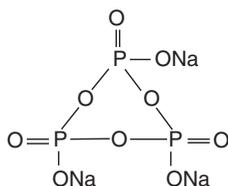


pirofosfato ácido de sodio



tripolifosfato de sodio

Enlaces cruzados (o sustitución de enlaces). Esta reacción es de esterificación, pero de dos cadenas unidas por un grupo funcional, como un éster fosfato. Se hace reaccionar una suspensión de almidón con trimetafosfato de sodio, o con oxocloruro de fósforo, que establecen enlaces intermoleculares que refuerzan el gránulo. Las pastas de estos derivados presentan alta estabilidad a la agitación y al calentamiento, incluso en medio ácido, por lo que se emplean en alimentos que requieren esterilización o que tienen un pH bajo; además, son buenos espesantes y estabilizadores, no retrogradan ni gelifican, y su sinéresis es mínima. Entre las reacciones de sustitución están las reacciones con difosfatos, con ácido adípico o con agentes monofuncionales para producir acetatos de almidón, succinatos de almidón y derivados hidroxipropilos (óxido de propileno, anhídrido acético).



trimetafosfato de sodio

Oxidación. Se efectúa con diferentes agentes químicos, pero el más empleado es el hipoclorito de sodio. La oxidación de algunos OH se hace al azar y da lugar a grupos carboxilo, además de que existe cierto grado de hidrólisis. Debido a lo voluminoso de dichos grupos, se inhibe —por impedimentos estéricos— la unión de cadenas lineales y, por consiguiente, la retrogradación. Estos almidones adquieren una temperatura de gelatinización y viscosidad menores, pero esta última disminuye rápidamente con el calentamiento y la agitación, generando unas pastas fluidas de gran transparencia.

2.11.3.5 Interacción del almidón con otros constituyentes

Este polisacárido influye definitivamente en las propiedades sensoriales de los alimentos, mismas que están determinadas por las interacciones que tenga con los otros componentes; aunque la forma precisa y el mecanismo de estas interacciones no son totalmente conocidos, sus efectos se pueden observar fácilmente. La influencia del agua, las sales, las proteínas, etc., hace que este hidrato de carbono pueda cambiar su temperatura y su velocidad de gelatinización, así como otras características. A continuación se discuten los principales agentes que modifican la gelatinización del almidón.

Agua. Uno de los principales factores que afectan las propiedades funcionales de estos polímeros es la cantidad de agua con la que pueden reaccionar; la intensidad y el grado de hinchamiento están en función directa de la concentración de este disolvente, de manera que la adsorción se facilita a medida que aumenta la concentración. Durante la manufactura del pan se requiere cierta proporción de agua para que las moléculas de almidón puedan expandirse libremente y contribuyan a la viscosidad de la masa antes del horneado.

Azúcares y sales. La presencia de glucosa y sacarosa ejerce una competencia por el agua de hidratación, lo que trae consigo cambios en las propiedades reológicas del almidón, ya que reducen la velocidad de la gelatinización y la viscosidad final. En este sentido, los disacáridos son más activos que los monosacáridos, lo cual se ha comprobado en la manufactura de productos de repostería, toda vez que la fructosa ejerce menor efecto que la glucosa y ésta, a su vez, menor que la sacarosa.¹¹³ El hecho de que una mezcla de almidón y sacarosa absorba menos agua que la calculada matemáticamente, es un reflejo de la interacción que existe y que hace que el polímero no desarrolle toda su capacidad de hidratación.³⁶

Algunas sales aceleran la velocidad de gelatinización, mientras otras la reducen; la figura 2.27 muestra el efecto de las sales de la leche en la viscosidad del polímero: la diferencia de viscosidades

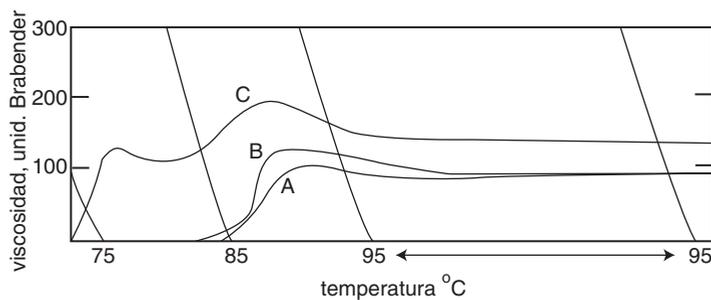


Figura 2.27 Efecto de la lactosa y de las sales de la leche en la viscosidad del almidón: a) en agua; b) en 5% de lactosa, y c) en un sistema libre de proteínas.¹¹³

entre las curvas B y C se debe fundamentalmente a la acción de las sales y de los azúcares. El almidón no tiene grupos ionizables como otros polímeros (carragenina, pectinas, proteínas, etc.) y, por lo tanto, debería ser insensible a las sales y a los cambios de pH; sin embargo, en sistemas modelo se ha visto que sí se ve afectado cuando aniones como fosfatos, acetatos, cloruros, citratos, sulfatos y tartratos, y cationes como sodio y calcio, se encuentran en concentraciones muy altas.

Proteínas. La estructura de muchos alimentos está determinada por las interacciones físicas y químicas de las proteínas con el almidón. Durante la manufactura del pan a base de harina de trigo se induce este mecanismo, que produce una estructura tridimensional en donde queda atrapado el CO₂ formado durante la fermentación. Las proteínas de la leche se emplean conjuntamente con el almidón para la elaboración de diferentes alimentos en los que se requieren ciertas propiedades funcionales; la temperatura de gelatinización en presencia de proteínas lácteas depende, en gran medida, de los tratamientos térmicos previos a los que se somete la leche, ya que esto determina el grado de desnaturalización, mismo que influye en las propiedades del almidón.¹¹² Sin embargo, se ha encontrado que en la manufactura de geles de almidón-leche no se produce una verdadera interacción, de forma que las micelas de caseína y los gránulos de almidón se pueden observar separadamente al microscopio.⁷⁰

Emulsionantes y lípidos. Los emulsionantes que contienen ácidos grasos de cadena larga forman complejos con la amilosa a través de un mecanismo que parece ser muy similar al descrito para el de yodo-amilosa; cuando contienen más de 16 átomos de carbono reducen la velocidad de hinchamiento de los gránulos y aumentan su temperatura de gelatinización; se ha encontrado que, independientemente del tipo de emulsionante utilizado, la viscosidad máxima de las pastas de almidón es muy similar, y lo único que varía es la temperatura a la cual se alcanza la reacción.¹¹² Por otra parte, los hidrocarburos de cadena corta y los triacilglicéridos reducen la temperatura de gelatinización, sin importar el tipo de ácido graso que contengan.

pH. Los valores de pH menores de 5 o mayores de 7 tienden a reducir la temperatura de gelatinización y acelerar el proceso de cocción (figura 2.28). En condiciones muy alcalinas ésta decrece considerablemente, mientras que en condiciones muy ácidas se favorece la hidrólisis del enlace glucosídico con la consecuente pérdida de la viscosidad.

Dependiendo del almidón y de la modificación realizada al mismo, se cuenta con materia prima para una amplia gama de aplicaciones, de acuerdo con las propiedades funcionales que se busquen: que sean espesantes, que den consistencia, que regulen la textura, que sean adherentes o ligantes, que actúen como agentes floculantes, como aglomerantes o como antihumectantes, y otras. Entre las industrias que se ven favorecidas por dichas aplicaciones están la panificación, la confitería, la manufactura de bebidas, la elaboración de salsas, aderezos, productos cárnicos y lácteos, alimentos para bebé, jarabes, medicamentos y textiles. Los almidones y los almidones modificados están siendo empleados como acarreadores en el secado por aspersión de pigmentos.³³

2.11.4 Pectinas

Las sustancias pécticas comprenden un extenso grupo de heteropolisacáridos vegetales cuya estructura básica está integrada por moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces glucosídicos α -D-(1,4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal.³⁷ Las pectinas se encuentran asociadas con otros hidratos de carbono, principalmente con hemi-celulosas, en las paredes celulares de los vegetales, y son responsables de la firmeza de algunos productos.^{73, 96, 132} La disolución de los componentes de dicha pared celular, sobre todo de las pectinas, se ha relacionado con el ablandamiento de diversos alimentos.

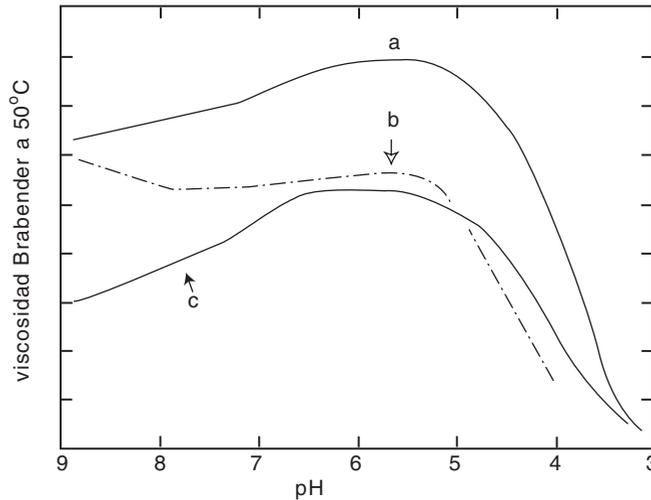
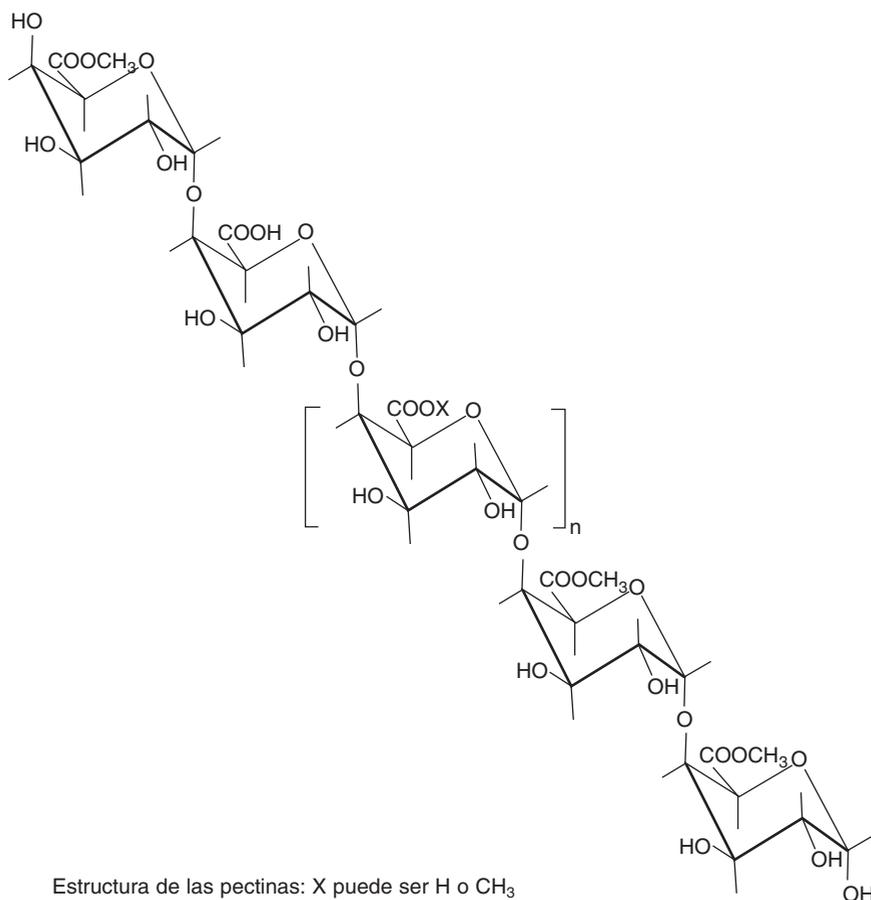


Figura 2.28 Efecto del pH en la viscosidad de algunos almidones: a) maíz; b) papa, y c) sorgo.

Se pueden distinguir dos clases principales de sustancias pécticas: los ácidos pectínicos, que tienen una pequeña porción de sus ácidos poligalacturónicos como ésteres metílicos, y los ácidos pécticos, que sólo contienen moléculas de ácido poligalacturónico libre de esterificación. Por definición, las pectinas son ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y neutralización, que pueden contener de 200 a 1,000 unidades de ácido galacturónico. Existen otros compuestos de este tipo, las protopectinas, altamente esterificadas con metanol y muy insolubles en agua, que se encuentran en los tejidos inmaduros de los frutos y son responsables de su textura rígida; sin embargo, la acción de la enzima protopectinasa hace que se conviertan en pectinas solubles o ácido pectínico, en un proceso que ocurre durante la maduración y que trae consigo el ablandamiento del fruto.

En la literatura se describen diversos métodos analíticos para determinar el grado de esterificación, como por ejemplo, mediante el uso de espectroscopia en el infrarrojo; sin embargo, en el nivel práctico industrial se hacen pruebas más sencillas, como la titulación de los grupos carboxilo libres antes y después de la hidrólisis del enlace metílico; otra manera de cuantificar —basada en el poder de gelificación—, consiste en determinar los gramos de sacarosa en solución de 63° Brix, para que con un gramo de pectina se establezca un gel consistente.^{62, 107, 108}

De todas estas sustancias, las pectinas son las más abundantes e importantes, están en mayor cantidad en los frutos inmaduros y especialmente en algunos tejidos suaves, como en la cáscara de los cítricos (naranja, limón, toronja, lima), en las manzanas, las peras, etc.¹⁰⁸ Aun dentro del propio vegetal existe una distribución de las pectinas; las más esterificadas están en la parte más interna, y las menos esterificadas en la periferia. Excepto en algunos productos como la remolacha y la espinaca —cuyas pectinas contienen una pequeña fracción de ácido ferúlico (0.6%) unido a los grupos no reductores⁵² y en otras frutas y hortalizas, la mayoría de estos polímeros están constituidos de manera exclusiva por residuos parcialmente esterificados de ácido galacturónico.



La funcionalidad de una pectina, y por ende su posible aplicación, dependen de factores intrínsecos como su peso molecular y su grado de esterificación (que a su vez dependen de la materia prima, de las condiciones de su fabricación, etc.), y por factores extrínsecos, tales como el pH, las sales disueltas y la presencia de azúcares.¹⁶³ La viscosidad de sus dispersiones, al igual que la de otros polisacáridos, se incrementa a medida que aumenta el peso molecular; en el caso de las pectinas, la viscosidad es mayor cuanto más se incrementa el grado de esterificación.

Las pectinas desempeñan un papel muy importante en la industrialización de las frutas, como la elaboración de jaleas (manufacturadas con pectinas de bajo grado de esterificación), gelatinas (con pectinas de alta esterificación) o geles similares^{73, 98, 108} y, sobre todo, en lo relacionado con la elaboración de bebidas. La expresión de la naranja produce un jugo cuyas partículas en suspensión son de tejido desintegrado compuesto de fibra celulósica y pectinas, además de pequeños glóbulos de lípidos que contienen carotenoides y aceites esenciales; la turbidez, la viscosidad y el “cuerpo” de este jugo se dan debido a un sistema coloidal que depende de la concentración y del grado de polimerización de la pectina, así como del pH y de las sales disueltas en el medio; de estas características depende que el consumidor acepte el producto o no, de manera que aquel que está clarificado no tie-

ne demanda comercial. Sin embargo, en otros casos se persigue la eliminación de las pectinas como un paso importante en la clarificación de los jugos de uva y de manzana, para lo cual incluso se añaden enzimas comerciales (capítulo 5). Por otra parte, estos polímeros también llegan a causar problemas en ciertos procesos, sobre todo en la obturación de los poros de ciertos equipos usados en la industria. Asimismo, las pectinas se emplean en la elaboración de productos de relleno y de glaseado en panificación, para la estabilización de productos lácteos (pasteurizados, esterilizados o acidificados), y en la industria de la confitería.^{82, 107, 117}

La obtención industrial de las pectinas se hace a partir de cáscara de los cítricos antes mencionados (en México, la del limón) o del bagazo de manzana.¹⁰⁸ Después de extraerle el jugo y el aceite esencial, las cortezas residuales de limón y naranja contienen de 25 a 40% de pectinas en base seca; se calientan a 95°C para inactivar las enzimas pectinolíticas y evitar futuras degradaciones; se lavan varias veces para eliminar sustancias solubles como azúcares, ácidos, etc., y se deshidratan; luego se precipitan mediante el empleo de etanol o de isopropanol, y finalmente se lavan y se secan. Una variante de su recuperación consiste en la adición de sulfato de aluminio y amonio, pero este sistema requiere un tratamiento extra con etanol acidificado con ácido clorhídrico para extraer los residuos de aluminio.

Durante las distintas etapas de su fabricación se pueden inducir muchos cambios químicos catalizados por el ácido, la temperatura o las enzimas naturales; principalmente ocurre la hidrólisis de los enlaces éster metoxílico (desmetoxilación) y glucosídico (despolimerización), que traen consigo una reducción de la calidad, puesto que las pectinas se cotizan más cuantas menos degradaciones presenten.

A pesar de que las pectinas están presentes en muchos vegetales, no todos ellos sirven para su producción industrial. En el nivel experimental se ha intentado el uso de otras materias primas, por ejemplo, la remolacha azucarera; sin embargo, las propiedades funcionales de los polímeros que se obtienen no son adecuadas y, por lo tanto, no pueden usarse en la fabricación de alimentos.⁹⁹

La característica química más importante de las pectinas es que, a diferencia de casi todos los polisacáridos, éstas contienen grupos carboxilo que pueden estar protonados (vg. COOH) a pH < 3; en forma ionizada (COO⁻) a pH > 3, o como éster metílico (COOCH₃); en cada caso, las pectinas tienen diferente capacidad de interacción con los otros constituyentes de los alimentos, pero en el de los carboxilos ionizados son más reactivas.

En el caso de las pectinas de baja esterificación se requiere la presencia de iones calcio y de un pH de 2.8 a 6.5, ya que en estas condiciones los carboxilos se encuentran ionizados y pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca⁺²; de esta manera se crea la estructura básica del gel, en la cual, a su vez, los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno (figura 2.29). Para su gelificación no se necesita sacarosa, aun cuando una pequeña cantidad ayuda a proporcionar mayor rigidez, puesto que favorece la interacción carboxilo-calcio. Este tipo de pectina es el que se emplea en la elaboración de postres y otros productos con textura de gel (destinados a los diabéticos), en los cuales el azúcar se sustituye por un edulcorante sintético, como la sacarina o el aspartamo.

Como se acaba de mencionar, el ablandamiento de las frutas se puede prevenir añadiendo sales de calcio, con lo cual se producen pectatos de calcio que incrementan la rigidez de la pared celular, haciendo el tejido más resistente tanto a los agentes físicos (vg. temperaturas elevadas), como a los enzimáticos (vg. la poligalacturonasa natural). En ocasiones se practica la adición de sales de calcio a las frutas sobremaduras que van a ser sometidas a un tratamiento térmico drástico, para que resistan el efecto de las altas temperaturas.

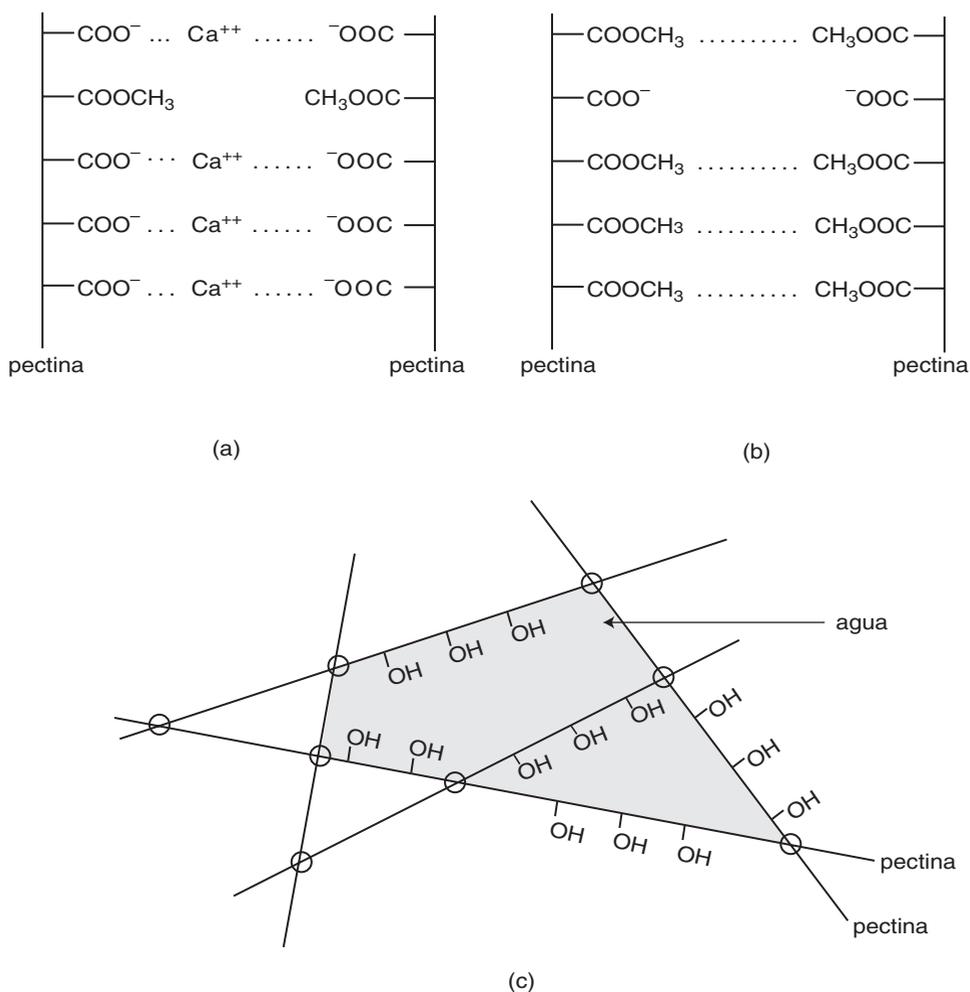


Figura 2.29 Gelificación de las pectinas: (a) de bajo metoxilo mediante uniones electrostáticas con iones calcio; (b) de alto metoxilo por puentes hidrófobos de los grupos metilo; (c) estructura tridimensional o gel de las pectinas, cuya unión (círculos) es por los mecanismos (a) o (b); los OH del ácido galacturónico quedan libres para retener agua mediante puentes de hidrógeno.

Por su parte, las pectinas de alto metoxilo gelifican dentro de un intervalo de pH de 2.0 a 3.5 y con 60 a 65% de sacarosa. Mediante estudios de difracción de rayos X se ha comprobado que los gels integrados de esta manera se estabilizan mediante un gran número de enlaces débiles;¹⁶² los carboxilos se encuentran protonados y crean puentes de hidrógeno entre sí o con los hidroxilos de una molécula vecina de pectina o del disacárido. La adición del azúcar ejerce un efecto “deshidratante” sobre los polímeros, lo que ocasiona que se favorezcan las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba,¹⁰⁹ y se cree una estructura tridimensional que rodea las moléculas de sacarosa altamente hidratadas.

El uso de las pectinas comerciales está ampliamente difundido, ya que se consideran aditivos cuya aplicación responde a lo que se conoce como “buenas prácticas de manufactura”. En ocasiones se emplean en combinación con algunas gomas; cuando esto ocurre llegan a inducirse interacciones de estos dos grupos de polímeros, por lo que su cuantificación se vuelve compleja. Sin embargo, ya hay métodos analíticos que permiten determinar las pectinas en presencia de gomas de tragacanto, karaya, algarrobo o agar.⁸⁰

2.11.5 Glucógeno

Es el polisacárido de reserva energética animal más importante, por lo cual también se le conoce como el “almidón animal”. Se encuentra principalmente en el músculo y en el hígado; es un polímero de D-glucosa altamente ramificado. Está formado por cadenas de 8-12 moléculas de glucosa, unidas en enlaces 1-4; a su vez, estas pequeñas cadenas están unidas entre sí por enlaces 1-6, pudiendo formar estructuras de hasta 120,000 moléculas.¹⁹⁵

En el nivel de metabolismo se emplea como fuente de glucosa, la que a su vez se usa en la glucólisis para producir moléculas de ATP y de ácido láctico. Después del sacrificio de los animales se reduce el pH por efecto de este ácido, lo que trae consigo una contracción muscular y el endurecimiento característico de la carne *post-mortem*. Del contenido de glucógeno en los animales depende, en gran medida, la calidad de su carne, ya que si no hay glucógeno, no habrá conversión en ácido láctico y el pH no descenderá lo suficiente, haciendo susceptible la carne al ataque microbiano. Por otra parte, esta situación puede dar lugar a una disminución de la retención de agua en la elaboración de productos cárnicos, produciendo carne PSE (Pálida, Suave y Exudativa), o DFD (siglas en inglés de Oscura, Firme y Seca).

2.11.6 Gomas

En sus orígenes, este término se refería a los productos de la exudación de algunas plantas y árboles; sin embargo, en la actualidad su uso se ha extendido a un grupo muy amplio de polisacáridos de alto peso molecular, que tienen la capacidad de actuar como espesantes y gelificantes, y que presentan además algunas propiedades funcionales, como emulsificación, estabilización, crioprotección, etc.^{58, 88, 148}

De acuerdo con lo estudiado en secciones anteriores, muchos polímeros naturales (almidón, pectinas y celulosas) tienen algunas características propias de las gomas, por lo que hay autores que los incluyen en la clasificación general de estas últimas (cuadro 2.17); se observa entonces que existen gomas naturales, semisintéticas y sintéticas.

Las gomas semisintéticas se elaboran a partir de un polímero natural que se somete a alguna transformación física o química; en esta categoría están los almidones modificados, al igual que los distintos derivados celulósicos (sección 2.11.1). Las gomas sintéticas son polímeros vinílicos y acrílicos que hasta la fecha no están aprobadas para el consumo humano, aunque presentan muchas de las propiedades de las naturales.

En esta sección sólo se estudiarán aquellas gomas naturales de importancia que no hayan sido revisadas anteriormente, y la de xantano, que se considera semisintética. Todas ellas forman parte de la fibra cruda, ya que el organismo humano está incapacitado para metabolizarlas por carecer del sistema enzimático necesario; son heteropolisacáridos que pueden ser iónicos, neutros, lineales, ramificados, etc. Su característica más importante se basa en la capacidad que tienen para interactuar con

CUADRO 2.17 Clasificación de algunas gomas

<i>Naturales</i>	<i>Semisintéticas</i>	<i>Sintéticas</i>
Exudado de plantas	Derivados de celulosa	Polímeros vinílicos
arábigo	carboximetilcelulosa	polivinilpirrolidina
tragacanto	metilcelulosa	alcohol polivinílico
karaya	hidroxipropilmetilcelulosa	polímeros carboxivinílicos
gatti	hidroximetilcelulosa	
alerce	etilhidroxietilcelulosa	Polímeros acrílicos
raíces	celulosa microcristalina	ácido poliacrílico
konjac	metilhidroxipropilcelulosa	
Semillas		
algarrobo	Gomas microbianas	Poliacrilamina
guar	dextranas	
psilio	xantanos	Polímeros de óxido de etileno
tara	galana	
mezquite		
Extractos de algas marinas	Pululana	
rojas		
agar	Derivados de almidón	
carrageninas	almidón carboximetílico	
furcellerano	almidón hidroxietílico	
café	almidón hidroxipropílico	
alginato de sodio		
Otros	Otros	
pectina	pectina baja en metoxilo	
gelatina (extracto animal)	alginato de propilenglicol	
almidón	alginato trietanolamínico	
celulosa	algarrobo carboximetílico	
	guar carboximetílico	

el agua, de manera que, en concentraciones bajas, producen soluciones viscosas, y cuando éstas se incrementan llegan incluso a establecer geles.

Al igual que ocurre con la mayoría de los polímeros (vg. polisacáridos y proteínas), las propiedades funcionales de las gomas, como son la de espesante y gelificante, dependen de varios factores: *a)* los intrínsecos propios de la molécula, como el peso molecular, los grados de ionización y de ramificación, etc., y *b)* los extrínsecos, que son propios del sistema, tales como el pH, la fuerza iónica, la temperatura, la concentración de los otros componentes, la interacción con los componentes del alimento en que se emplean, si se emplean solos o mezclados con otros hidrocoloides, etc. Cada goma presenta características físicas y químicas determinadas, que no pueden sustituirse fácilmente con el uso de otro polisacárido; la combinación de dos o más de estos compuestos genera nuevas propiedades funcionales que no tienen en lo individual; éste es el caso de la emulsificación de sistemas aceite/agua, que se logra con mezclas de gomas.^{39, 66}

El uso de las gomas en la industria alimentaria es muy vasto: en helados, confitería, jugos de frutas, cerveza, vinos, quesos, mermeladas, aderezos, embutidos, productos dietéticos, etc. En cada

caso, las gomas desempeñan un papel muy característico, gracias a las propiedades funcionales que desarrollan (cuadros 2.18 y 2.19); las características que se muestran en el cuadro 2.19 dependen de diversos factores, entre ellos: la concentración de la goma, las sales minerales en el medio, el pH, o si las gomas se están empleando solas o en conjunto con otras.

CUADRO 2.18 Funciones y aplicación de las gomas en los alimentos

<i>Función</i>	<i>Aplicación</i>
Inhibidor de la cristalización	Helados
Emulsificante	Aderezos, bebidas
Encapsulante	Sabores, vitaminas microencapsuladas
Formador de películas	Productos cárnicos y confitería
Agente floculante o clarificante	Vino, cerveza
Estabilizador de espumas	Cerveza, cremas
Agente gelificante	Postres
Estabilizador	Cerveza, bebidas
Agente espesante	Salsas, mermeladas
Texturizante y ligante	Postres
Fijador	Cosmética

CUADRO 2.19 Clasificación de hidrocoloides por función

<i>Goma</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>15</i>
Guar		+	+	+	+			+			+			+	+
Algarrobo		+	+	+			+			+					
Pectina		+	-	-											
Alginato		+	-	-											
Agar		+	+	+	+	+	+								
Carragenina		+	-	+											
Derivados celulósicos		+	-	+											
Tragacanto		+	+	+	+			+		+					
Arábica	+	-	+	+	+								+		
Almidones	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+			
Xantano		+	-	+	+		+	+							

- 1 = Texturizante.
 2 = Espesante.
 3 = Gelificante.
 4 = Estabilizante.
 5 = Emulsificante.
 6 = Enturbante.
 7 = Agente de suspensión.
 8 = Adhesivo.
 9 = Formador de película.
 10 = Ligador de agua.
 11 = Extensor.
 12 = Vehículo de sabores.
 13 = Crioprotector.
 14 = Previene la cristalización.
 15 = Floculante.

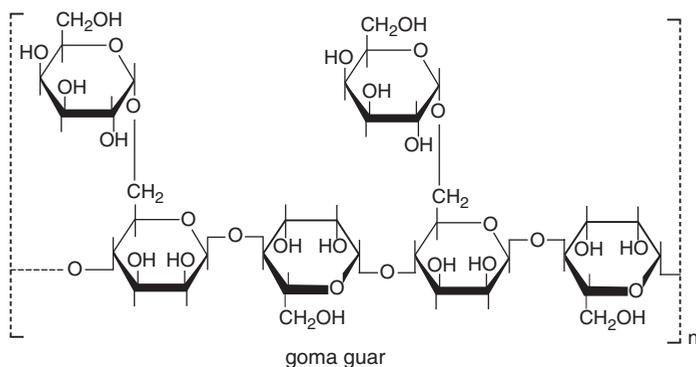
Goma arábiga. Este producto, también conocido como goma acacia o goma mimosa, es el exudado que se obtiene de la corteza de árboles como *Acacia senegal*, y otros del mismo género. Es un heteropolisacárido muy ramificado de la familia de las arabinogalactomananas, formado por una cadena principal de unidades de β -galactopiranosas a la cual se le unen residuos de L-ranopiranosas, de L-arabinofuranosas y de ácido glucurónico; su peso molecular varía entre 300 a 800 kDa.

La goma producida por árboles entre 5 y 25 años de edad es incolora, de un tamaño que va de una avellana a una nuez (normalmente de forma esférica o de lágrima), y color que va desde el amarillo claro hasta el amarillo rojizo. Se encuentra en el mercado como goma sin transformar o procesada (molida, secada por aspersión o en hoja); su presentación comercial es en sacos de yute o polietileno de 1, 25, 50, 75 o 100 kg, o en contenedores de 1,000 kg. Sudán es el mayor productor de goma arábiga en el mundo. En estado natural la goma arábiga es una molécula compacta. La influencia de sus grupos ácidos hace que la viscosidad de sus dispersiones se vea afectada por la adición de ácidos o de álcalis, y por la presencia de cationes. Dos de sus características principales son su alta solubilidad en agua (hasta 50%) y la baja viscosidad que desarrolla; a diferencia del resto de las gomas, las soluciones de la arábiga tienen un comportamiento newtoniano en concentraciones hasta de 40%, pero al incrementarse ésta, desarrolla las características pseudoplásticas de la mayoría de las gomas. En los últimos años su utilización ha tendido a la producción de productos bajos en calorías: margarinas, helados, dulces, cereales ricos en fibra, barras energéticas, etc. Por sus diversas propiedades funcionales estas gomas han adquirido gran importancia y su mercado se ha ampliado.³⁸

Goma guar. Se obtiene del endospermo de la semilla leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus* (planta anual); su estructura química es ramificada y la cadena principal consiste en unidades de β -D-manopiranosas unidas $\beta(1,4)$, a la cual se le añaden ramas de α -D-galactopiranosas por enlaces $\alpha(1,6)$. La relación de monosacáridos es de 2:1; es decir, en cada tercer D-manosa se localiza una D-galactosa. Su peso molecular es variado: se encuentra entre 150,000 y 1,500,000, pero el promedio se considera de 220,000. Es soluble en agua fría, y su solubilidad aumenta al disminuir el tamaño particular de la goma y aumentar la temperatura, como era de esperarse.⁶⁶

Carece de grupos ionizables, lo cual la hace prácticamente inalterable a los cambios de pH, ya que es estable en el intervalo 1.0-10.5, pero su máxima capacidad de hidratación se alcanza a pH de 7.5-9.0. La adición de altas concentraciones (> 5.0%) de sales multivalentes provoca que se produzcan geles. Al hidratarse en agua fría forma dispersiones coloidales viscosas con características tixotrópicas. La presencia de sales la afecta poco, ya que está conformada por azúcares neutros.

Su aplicación se da en aderezos, salsas, productos elaborados a partir de jitomate, y en productos lácteos y bebidas de frutas.^{29, 66, 114} Es un aditivo considerado GRAS por la FDA.¹⁰⁸

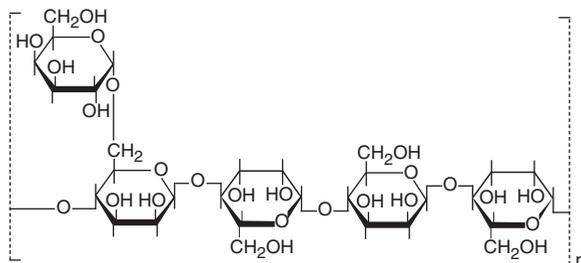


Goma tragacanto. Es el exudado seco de varias especies de árboles *Astragalus*, como *A. gummifer*, de la familia de las leguminosas. Está constituida por dos fracciones: una soluble en agua (llamada tragacantina) y otra insoluble (basorina); la primera está formada por moléculas de L-arabinosa, ácido D-galacturónico, D-galactosa y D-xilosa, comprende 70% de la goma y tiene un peso molecular de 800,000; por su parte, la basorina es una mezcla de ácidos polimetoxilados de peso molecular 84,000. Sus dispersiones presentan viscosidades generalmente muy superiores a las logradas con otras gomas; la adición de ácidos, álcalis o NaCl reduce la viscosidad, y sus geles son susceptibles de ataque microbiano.

Es un hidrocólide ligeramente ácido —pH 5.0 a 6.0—, que en la naturaleza se presenta como sal de sodio, calcio y magnesio. Entre sus propiedades funcionales están su estabilidad y resistencia a los ácidos; también es un emulsificante bifuncional, produce textura cremosa, es pseudoplástica, forma películas, da cuerpo, es adhesiva, forma suspensiones y es espesante. Las aplicaciones comerciales de la goma de tragacanto se dan en emulsiones y *toppings* para panificación y repostería, salsas, aderezos, helados, nieves, paletas heladas, jarabes saborizantes, confitería, productos farmacéuticos, cosméticos, emulsiones y suspensiones, quesos untables, malteadas, entre otros.^{66, 186, 207} Finalmente, se le considera un aditivo seguro en base a las evaluaciones de JECFA (Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios del Codex Alimentarius).²⁰²

Goma de alerce. Es el heteropolisacárido que se obtiene por extracción acuosa de la madera de varios árboles de la especie *Larix*, principalmente *L. occidentalis*. Su estructura química corresponde a una arabinogalactana formada por moléculas de L-arabinosa y D-galactosa en una relación de 1:6. Tiene una estructura muy ramificada, su peso molecular es 80,000 y es muy soluble en agua. Se emplea en la elaboración de medicamentos, en la industria textil y de pinturas.

Goma de algarrobo. Heteropolisacárido extraído del endospermo de las semillas del árbol *Ceratonia siliqua* de la familia de las leguminosas, subfamilia *Caesalpinieae*. Su estructura química corresponde a una galactomanana formada por una cadena de moléculas de D-manosas unidas (1,4), a la cual se le unen varias ramas de D-galactosas a través de enlaces (1,6); la relación de D-manosas con D-galactosas es de 9:1.⁶⁶ Se dispersa en agua fría o caliente, formando un sol que puede convertirse en gel por la adición de borato de sodio (estos geles no son comestibles); sus soluciones son estables en un intervalo de pH de 3 a 10; para hidratarse requiere una temperatura de 85°C. Su peso molecular está alrededor de 400,000-1,000,000. Las soluciones de esta goma son pseudoplásticas, y el grado de pseudoplasticidad aumenta según su concentración y peso molecular. La hidratación de la goma disminuye de acuerdo con las sales presentes en el medio, así como con otros componentes que puedan captar agua.^{66, 108} Se aplica en postres congelados, productos lácteos fermentados, queso crema, sopas, salchichas, salami, alimentos para bebé, alimentos para mascotas, productos para repostería, rellenos de pastel, etc.^{182, 196}



goma de algarrobo

Goma gatti. Es el exudado del tronco del árbol *Anogeissus latifolia*, de la familia combretácea, que contiene principalmente la sal cálcica y magnésica del ácido gáltico. Es un heteropolisacárido formado por L-arabinosa, D-galactosa, D-manosa, D-xilosa y ácido D-glucurónico en una relación molar de 10:6:2:1:2, más trazas menores al 1% de 6-deoxihexosas; tiene un peso molecular de 12,000. Sus dispersiones son estables en un intervalo de pH de 3.5 a 10, y se puede emplear como sustituto de la goma arábiga. El pH normal de una solución de goma gatti es de 4.8, condición por la cual es sensible a pHs alcalinos; posee una alta habilidad de hidratación en agua fría, produce viscosidad moderada y es un buen emulsificante. Sus aplicaciones son como emulsificante en bebidas y mantequillas, como fijador de saborizantes, en la elaboración de preparaciones estables de vitaminas liposolubles, como ligante en la elaboración de papel, como emulsificante en emulsiones de cera, y en la industria petrolera se le emplea en mezcla con poliacrilamida para la obtención de poliestireno, como lodo acondicionador en el drenado de pozos, y con polvos explosivos.^{184, 204}

Goma karaya. Este heteropolisacárido se obtiene de la exudación del árbol *Sterculia urens*, de la familia esterculiácea; su estructura contiene moléculas de L-ramnosa, D-galactosa y ácido D-galacturónico parcialmente acetiladas. Algunos de los componentes identificados en el producto son la α -D-galactopiranosil-L-ramnosa, sin embargo la estructura molecular no ha sido dilucidada. Tiene un peso molecular entre 300,000 y 1,000,000; es una de las gomas menos solubles en agua y produce soluciones muy viscosas que pueden desarrollar olor a vinagre por la liberación de ácido acético. En algunos casos se emplea como sustituto de la goma tragacanto. La viscosidad de la goma disminuye conforme aumenta la fuerza iónica; es relativamente estable a pH ácido si fue hidratada antes de disminuir el pH. Se emplea poco en la industria cárnica, en la elaboración de merengues, como estabilizante en productos lácteos, aderezos, crema de batir y postres congelados (en general en productos aereados). Previene la sinéresis en productos untables, y se utiliza también como ligante en la elaboración de productos bajos en calorías fabricados a partir de harinas, como adhesivo dental, en la elaboración de laxantes, en la industria textil etc.^{66, 185, 205}

Goma xantano. Heteropolisacárido ramificado sintetizado por diferentes especies de bacterias *Xanthomonas*, principalmente *X. campestris*, que produce la goma como una cobertura de protección. Después de su producción el medio se pasteuriza y se separa por filtración el microorganismo. La goma xantano está formada por residuos de D-glucosa, D-manosa y ácido D-glucurónico en una relación molar de 2.8:3.2; también contiene aproximadamente 4.7% de grupos acetilo y 3.5% de ácido pirúvico; su peso molecular es de alrededor de 3,000,000. Es una goma pseudoplástica, soluble en agua fría o caliente, y forma soluciones muy viscosas estables en un rango de pH de 1-9 así como a la presencia de diversas sales en el medio; produce soluciones traslúcidas aún a altas concentraciones, es resistente a la degradación enzimática, funciona como un buen crioprotector, es compatible con otras gomas y presenta sinergia con los galactomananos.^{49, 66, 108, 145, 177, 187, 208} Legalmente es un aditivo permitido por la FDA y, en Europa y en México, su aplicación debe darse bajo las “buenas prácticas de manufactura”.²⁰³

Su aplicación se recomienda en la producción de artículos cocinados, aderezos, salsas, productos elaborados a base de jitomate, bebidas, productos lácteos y fruta procesada.^{66, 187}

Agar. Extracto obtenido con agua caliente a pH ligeramente ácido de algas rojas, entre las que se encuentran *Gelidium cartilagineum*, *G. amansii*, *G. corneum*, *G. liatum*, *G. linguatum*, *G. pacificum*, *G. sesquipedale* y otras de las rodofíceas. Es un heteropolisacárido formado por moléculas de β -D-galactosa, 3,6-anhidro- α -L-galactosa, con 5 a 10% de ésteres sulfato y algo de ácido D-glucurónico. Hasta 21% de las unidades de α -D-galactosa pueden tener grupos metoxilo, los cuales se considera están relacionados con la temperatura de gelificación del agar; a mayor porcentaje de grupos

metoxilo, mayor será la temperatura de gelificación. Sus geles son muy resistentes mecánicamente, y estables al calor.⁶⁶

Su aplicación en la industria de alimentos se da principalmente en la confitería, en la elaboración de productos tipo gomita, y en productos bajos en calorías; en la industria cárnica, en productos de repostería, congelados, glaseados, productos lácteos y enlatados.^{66, 108, 157}

Alginato. Polisacárido que se extrae de las algas café de las *Feoficeae*, donde es el componente estructural de las paredes celulares como sales de sodio, calcio o potasio.¹⁰⁸ Comercialmente se extrae de *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborea*, *L. digitata* y *Ascophyllum nodosum*. Su estructura química corresponde a un polímero lineal de moléculas de ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico y ácido $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico. La relación de concentraciones de estos azúcares varía según la fuente botánica y el grado de madurez de la planta; esto influye a su vez en la viscosidad que se logra con sus soluciones. Ofrece reactividad frente al calcio.^{66, 108}

Las sales de calcio y de amonio producen soluciones viscosas estables en un intervalo de pH de 5 a 10; debido a su naturaleza iónica, estos polímeros se ven afectados por la presencia de sales y por pH inferiores a 5.

Su aplicación se da en productos de panificación, rellenos, helados, bebidas, aderezos, confitería, salsas, emulsiones, pudines, jarabes, purés, fruta congelada, alimentos dietéticos, mezclas secas, betún, productos cárnicos, fruta procesada y como agente de volumen.^{66, 181}

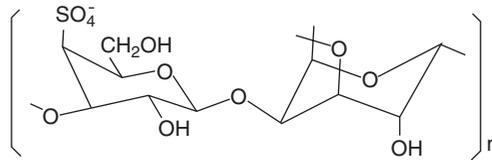
Carrageninas. Entre los polisacáridos sulfatados, la carragenina ocupa el primer lugar en cuanto a uso en la industria alimentarla, aunque no es la única que contiene grupos sulfato (véase el cuadro 2.20). Como casi todos los polisacáridos sulfatados, proviene de la pared celular de las algas marinas rojas (*Rodofíceae*), siendo los géneros *Chondrus* (*Ch. crispus*, *Ch. ocellatus*, *Euचेuma cottonii*, *E. spinosum* *Gigartina radula*, *Iridaea laminarioides*) y *Furcellaria* los principales productores de carragenina y furcellarano, respectivamente. Otros géneros productores son *Solieriaceae*, *Gigartinaceae*, *Phyllophoraceae*, *Hypnaceae*, *Rhabdoniceae* y *Rhodophyllidaceae*. El peso molecular promedio de la carragenina es de 100,000 a 1,000,000.^{66, 108, 147}

CUADRO 2.20 Contenido de éster sulfato en algunos polisacáridos de plantas marinas

	Éster sulfato (%)
Agar	Muy poco
Agarpectina	5-10
Furcellarano	12-18
Carragenina	20-36

Las carrageninas están conformadas por varias estructuras en grupos de polisacáridos de galactosa. Estas estructuras son de varios tipos diferentes, y se designan con las letras griegas κ , λ , ν , i , θ y ξ . Su fórmula química consiste en unidades de D-galactosa unidas por enlaces glucosídicos $\alpha(1,3)$ y $\beta(1,4)$ alternadamente; se diferencian entre ellas por la concentración de los azúcares anhidros 3,6-anhidro-D-galactosa que contengan, y por la posición en que se encuentren los grupos sulfato, así como por la cantidad de estos últimos en la molécula D-galactosa. De las estructuras antes mencionadas, las comerciales son las κ , λ , i . No se encuentran aisladas en la naturaleza, sino que suelen formar parte de mezclas; sus pesos moleculares varían entre 100,000 y 1,000,000 (en la planta mari-

na, su forma natural), y 100,000, que es la carragenina comercial más usada en la elaboración de alimentos.^{66, 108, 147}



carragenina

Al dispersarse en agua se hincha y requiere un ligero calentamiento para disolverse; la solución resultante presenta una viscosidad baja a temperaturas superiores a 60°C, pero al enfriarse establece un gel, cuya calidad y rigidez dependen de la concentración del polímero y de la cantidad de iones potasio, amonio o calcio que contengan. El potasio es especialmente necesario para que la fracción κ gelifique.

El mecanismo de gelificación no se conoce totalmente; sin embargo, se ha visto que las moléculas de la carragenina desarrollan estructuras helicoidales que a veces reaccionan entre sí, creando una red tridimensional. A temperaturas superiores a las del punto de fusión del gel, se produce una agitación térmica que impide que se formen las hélices, por lo que la conformación del polímero en solución es al azar (figura 2.30). Posteriormente, cuando se enfría, se induce una transición de sol a gel que origina la formación de una estructura tridimensional, en la cual las dobles hélices son los puntos de unión de las cadenas de los polímeros (gel I); al seguir enfriándose se favorece la agregación de las moléculas, lo cual da como resultado el establecimiento final del gel (gel II); la rigidez del gel depende de la rapidez con la que estas transiciones ocurren.¹²⁴

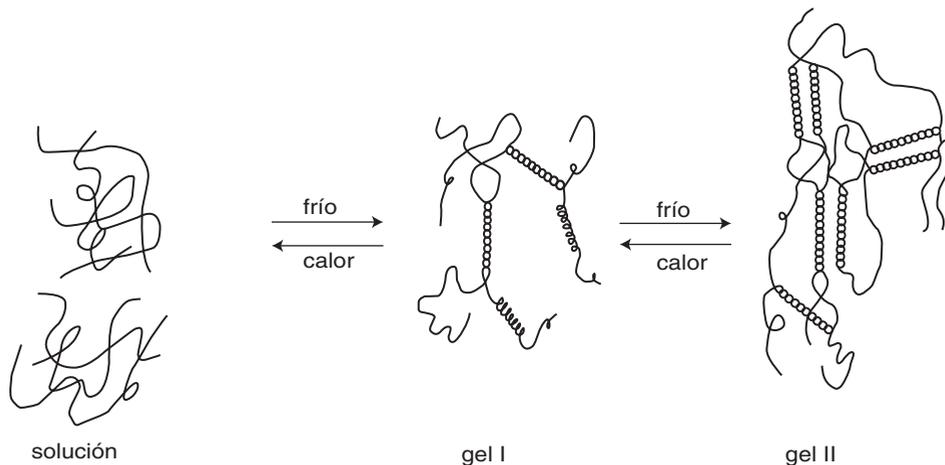


Figura 2.30 Mecanismo de gelificación de la carragenina.¹²⁴

Una propiedad muy importante es su reactividad con las proteínas, principalmente con las de la leche. Se ha visto⁶⁴ que la carragenina κ tiene la capacidad de estabilizar las caseínas α y β contra su precipitación por iones calcio, tal como lo hace la caseína κ de manera natural (capítulo 12). Debido a que sus grupos sulfato se orientan hacia el exterior de la cadena de galactosas, tiene la capacidad de reaccionar con polipéptidos, según se muestra en la figura 2.31. Existen interacciones de los iones sulfato con los grupos cargados de la proteína, ya sea de manera directa o a través de iones divalentes como el calcio; la interacción depende de la carga neta del complejo y, por lo tanto, está en función del punto isoelectrico de la proteína: cuando la relación de la carga entre la carragenina y la proteína es igual a 1, el complejo precipita, puesto que el grado de interacción es el máximo. Este tipo de asociación se llega a utilizar para recuperar proteínas y enzimas o para clarificar la cerveza.

Existen ciertas restricciones en el uso comercial de la carragenina, debido a que algunos estudios mostraron que sus moléculas de bajo peso molecular, de menos de 20,000 daltones, causan úlceras en el intestino de cuyos y conejos, y colitis en ratas, lo cual se considera está relacionado con la permeabilidad intestinal provocada por la ingesta de este polisacárido degradado;^{44, 165, 166} sin embargo, no se han comprobado reacciones semejantes en el ser humano. Es posible que durante la es-

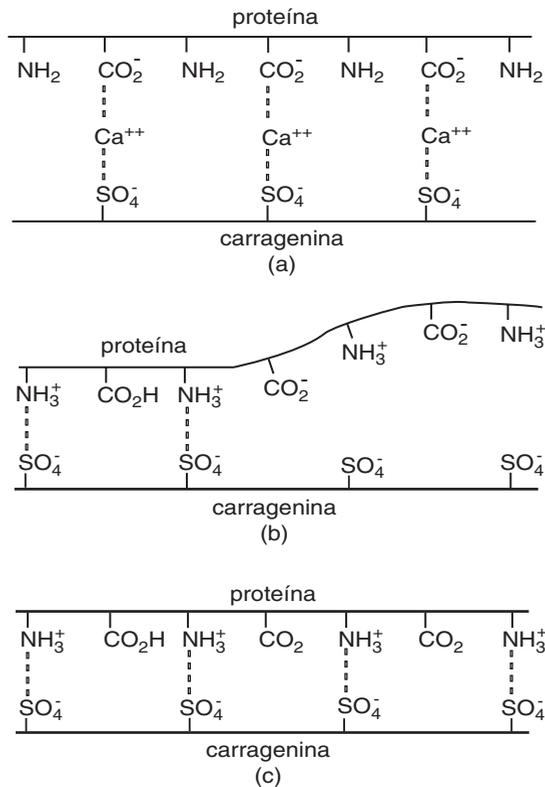


Figura 2.31 Reactividad de la carragenina con las proteínas: (a) por encima del punto isoelectrico; (b) en el punto isoelectrico, y (c) por debajo del punto isoelectrico.

terilización de los productos que contienen este polisacárido se produzca una hidrólisis térmica que dé lugar a dichas moléculas; si el hombre las consumiera podría desarrollar los efectos ulcerógenos que se han encontrado en los animales de laboratorio. Su presunto efecto tóxico no está totalmente aclarado, pero se sigue investigando para lograr una conclusión más precisa. A la fecha, su uso como aditivo está permitido en Estados Unidos, Europa y otros países, incluyendo México, en donde se recomienda su aplicación bajo las “buenas prácticas de manufactura”.^{108, 192}

La aplicación de las carrageninas es amplia en productos lácteos (leches infantiles y evaporadas en una concentración de 300 ppm), en las bebidas a base de chocolate (250 ppm), en helados (150 ppm), en budines y flanes (3,000 ppm), productos de panificación, pasta, cárnicos y como sustituto de grasa.^{64, 66, 89, 127, 138, 183}

2.11.7 Fructosanas

Son polímeros, generalmente lineales, de moléculas de D-fructosa unidas mediante enlaces glucosídicos $\beta(2,1)$, que se encuentran como reserva energética en varios vegetales, tales como la alcachofa y el maguey, además de algunas raíces y tubérculos. En virtud de que a la fructosa también se le da el nombre de levulosa, su polisacárido se denomina levana.

La inulina es la fructosana más difundida: se encuentra presente en diversas fuentes, como la achicoria y la alcachofa, de donde se obtiene comercialmente, ya que llegan a tener hasta un 20% de inulina, aunque también está presente en trigo, ajo, cebolla, plátano, espárrago y cebolla;^{87, 116} su hidrólisis total produce, además de fructosa, de 5 a 6% de moléculas de glucosa, que se considera están ubicadas en los extremos de la cadena. La inulinasa es la enzima que actúa sobre los correspondientes enlaces glucosídicos de este polímero; debido a que las furanosas que contiene (fructosa) hacen que la inulina sea muy lábil a la hidrólisis, se ha sugerido usarla como fuente para la obtención comercial de fructosa de alta pureza. Las condiciones de cristalización modifican las características del gel.²⁶ Diversos estudios muestran que la ingesta de inulina mejora significativamente la absorción de calcio y magnesio en humanos y roedores.^{61, 176}

Existen otras gomas que presentan un potencial interesante y que han sido estudiadas, aunque no se comercializan a niveles importantes, como la goma de mezquite, la goma tara, el konjac y la goma de tapioca.^{66, 70}

Por otra parte, la tendencia en las gomas es la obtención de gomas modificadas, ya sea genética o químicamente, o empleando mezclas de ellas que permitan las características deseadas para el producto en que serán aplicadas.^{57, 70, 86}

2.11.8 Otros polisacáridos

En la naturaleza existe un número muy grande de otros polisacáridos que están distribuidos en tejidos vegetales, animales y microbianos. A continuación hablaremos brevemente de algunos de ellos.

La quitina es un polímero que forma parte importante de la estructura de los invertebrados, principalmente en los caparazones de los crustáceos y de los moluscos, al igual que en varios hongos y algas. Su composición química es a base de aminoazúcares, como la N-acetil-D-glucosamina, que se unen linealmente mediante enlaces $\beta(1,4)$, como lo hace la glucosa formando estructuras fibrilares y cristalinas semejantes a las de la celulosa. Se ha demostrado que presenta propiedades funcionales importantes que pueden ser de importancia, como retención de agua y emulsificación. Se emplea como

agente floculante en el tratamiento de aguas, para curar heridas (especialmente quemaduras), espesante, estabilizante en alimentos, conservador, en saborizantes, como resina intercambiadora de iones, y en la industrias farmacéutica, cosmética y agrícola.^{180, 190} Se le otorgan propiedades funcionales interesantes, que no han sido confirmadas, como ayudar a que la grasa no se absorba, lo cual ha aumentado su comercialización como un suplemento alimenticio para bajar de peso.²¹¹

Dentro de los polisacáridos sulfatados también existen otros de menor importancia para el tecnólogo de alimentos, como es la condroitina. Este hidrato de carbono consiste en una mezcla equimolecular de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-galactosamina; se encuentra en el tejido conectivo de los animales. Los grupos sulfato esterifican a los hidroxilos de los carbonos 4 o 6.

2.12 FIBRA

Con este nombre se designa un grupo muy amplio de polisacáridos, de los considerados estructurales (cuadro 2.12), que no son aprovechados metabólicamente por los organismos monogástricos, incluyendo al hombre, pero que cumplen una función muy importante en el bienestar del individuo.¹¹

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas, de las cuales ya se habló; también se incluye entre estos compuestos la lignina que, aun cuando no es un hidrato de carbono, sino más bien una cadena de compuestos fenólicos como la vanilina, el aldehído siríngico y los alcoholes coniferílico, sinapílico y cumarílico, siempre se encuentra asociada a ellos y es un compuesto no digerible por el tracto digestivo del humano. Estos polímeros no se encuentran de manera natural en los alimentos de origen animal, ya que son exclusivos de los vegetales. La composición de dichas fibras es muy variada en los distintos alimentos,^{102, 143} y depende de muchos factores, entre los que destaca la madurez del producto (cuadro 2.21).

Por otra parte, muchos alimentos se elaboran mediante el empleo de gomas, como las de algarrobo, guar, arábica y de tragacanto; éstas también forman parte de la fibra, debido a que no son hidrolizadas (ni aprovechadas) en el tracto gastrointestinal del humano.

Es necesario hacer una clara distinción entre la fibra cruda y la fibra dietética. La primera es la que se consigna generalmente en las tablas de composición de los alimentos, y se determina analíticamente.

CUADRO 2.21 Relación de hidratos de carbono totales y fibra cruda de la porción comestible de algunos alimentos (base húmeda)

	Totales (%)	Fibra cruda (%)	% Fibra cruda del total de hidratos de carbono
Ajo	30.6	1.5	4.9
Arroz	77.4	1.0	1.3
Avena	68.3	1.5	2.2
Maíz	76.7	0.8	1.0
Manzana	14.6	1.0	6.8
Trigo	71.2	2.4	3.4
Zanahoria	9.7	1.0	10.3

camente sometiendo los productos a un tratamiento en caliente con ácido sulfúrico y luego con hidróxido de sodio; en estas condiciones se pierde una fracción importante de polisacáridos que sí se incluye en la fibra dietética ya que, dado el tratamiento tan fuerte a que se someten los alimentos, se disuelven muchos componentes de la fibra; es decir, la fibra cruda normalmente es menor que la dietética, ya que esta última representa el contenido total de los polímeros antes indicados. En términos generales, el procedimiento de determinación de la fibra cruda provoca la pérdida de 70 a 80% de la hemicelulosa, de 30 a 50% de la celulosa, y hasta 90% de la lignina; algunos autores consideran que la subestimación de la fibra dietética cuando se determina fibra cruda es hasta de seis veces. Tomando en cuenta esto, a lo largo del siglo pasado se fueron desarrollando técnicas analíticas que permitieron evaluar una proporción cada vez más amplia de los componentes de la misma, como la fibra detergente ácida, la fibra detergente neutra, la fibra dietética, la fibra enzimática y otros que permiten evaluar el contenido de azúcares totales en el alimento, incluyendo los digeribles y los no digeribles.

Originalmente se pensaba que la fibra no era afectada por las enzimas ni por la microflora intestinal; sin embargo, se ha comprobado que existe cierta hidrólisis, sobre todo de las pectinas, provocada por el ácido clorhídrico estomacal y por los sistemas enzimáticos de ciertas bacterias. De todos los polímeros, la lignina es la más resistente a esta acción degradativa.

La importancia de la fibra en la dieta fue puesta de manifiesto en la década de los setenta;^{32, 154} a raíz de esto se han efectuado muchos estudios que relacionan la ausencia de fibra con diversos problemas de salud, tales como constipación, diverticulosis, colitis, hemorroides, cáncer en el colon y en el recto, diabetes *mellitus*, aterosclerosis y otros. Su función principal es que tiene la capacidad de hincharse al absorber agua y, por lo tanto, de aumentar el volumen de la materia fecal; esto provoca un incremento en los movimientos peristálticos del intestino y facilita el tránsito, la distensión intestinal y, consecuentemente, la defecación; es decir, su acción primaria se lleva a cabo precisamente en el colon del ser humano.^{8, 128}

Esta situación provoca que se incremente la viscosidad, se reduzca el tiempo de residencia de los constituyentes del alimento en el intestino, y que sólo las moléculas fácilmente absorbibles atraviesen la pared intestinal; aquellas sustancias irritantes, dañinas y tóxicas (vg. las cancerígenas), que generalmente requieren más tiempo para entrar al sistema linfático, no tienen oportunidad de hacerlo y se eliminan en las heces. Para un mejor aprovechamiento de estas bondades, el consumo de la fibra debe ir acompañado de una ingestión adecuada de agua, a fin de favorecer la producción de las heces.

No todas las fibras presentan las mismas propiedades; algunas son hipoglucémicas (reducen el contenido de glucosa en la sangre) y otras son hiperglucémicas; lo mismo ocurre con su acción hipocolesterolémica. Aparentemente estos polisacáridos provocan y aceleran la secreción de ácidos biliares y de colesterol; éstos se unen a la fibra y se eliminan en las heces, reduciendo la posibilidad de su reabsorción. También se ha indicado que los hidratos de carbono que contienen pentosas (vg. xilosas), como los que se encuentran en los cereales, son mejores para evitar la constipación que los de las frutas y hortalizas.

Contrariamente a esto, una dieta muy abundante en fibra puede llegar a provocar problemas estomacales, sobre todo de diarrea, ya que al hidratarse mucho ocasiona un desequilibrio en el contenido de agua intestinal. Además, esta situación también tiene el inconveniente de que los polisacáridos se unen a elementos importantes, como calcio, cinc, hierro, magnesio, fósforo y cobre, así como a la vitamina B₁₂ y a algunos aminoácidos, lo que provoca que estos nutrimentos no sean aprovechados, porque se eliminan en las heces.

La fibra dietética presenta muchas cualidades funcionales, entre ellas —como ya se mencionó— la habilidad de captar agua, y algunas reducen el contenido de glucosa en sangre. Tomando en cuenta

lo anterior, en los últimos años se ha observado una tendencia hacia el desarrollo de productos altos en fibra, destinados a consumo humano, lo cual ha aumentado el valor agregado de la fibra, que antes se destinaba únicamente a la elaboración de alimento balanceado. Entre los alimentos que hoy se producen a partir de fibra están: productos diseñados para evitar problemas de constipación, como cereales y medicamentos, y productos diseñados para personas que desean bajar de peso, en forma de polvos que se hidratan antes de la alimentación, barras energéticas, galletas y panes ricos en fibra, entre otros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdullah, A., Baldwin, R.E. y Minor, H. 1984. "Germination effects on flatus-producing factors and antinutrients in Mung beans and two strains of small-seeded soybeans", *J. Food Prot.*, 47:441.
2. Acharya, A.S. y Sussman, L.G. 1984 "The reversibility of the ketoamine linkages of aldoses with proteins", *J. of Biol. Chem.*, 259:4372-4378.
3. Adrian, J. 1982. "The Maillard reaction", en *Handbook of Nutritive Value Of Processed Food* vol. 1. *Food for Human Use*, Ed. M. Rechcigl, Jr. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
4. Ahmad, F.B. y Williams, P.A. 2001. "Effect of ther galactomannans on the thermal and rheological properties of sago starch", *Food Chem.*, 49:1578-1586.
5. Ajandouz, E.H. y Puigserver, A. 1999. "Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics", *J. of Agric. and Food Chem.*, 45:1786-1793
6. Akpapunam, M.A. 1985. "Effects of blanching, soaking, and cooking on the HCN yields, nitrogen, ash, and minerals of lima beans (*Phaseolus lunatus*)", *J. Food Sci.*, 50:1191.
7. Amrani-Hemaimi, N., Cerny, C.A. y Fay, L.B. 1995 "Mechanisms of formation of alkylpyrazines in the Maillard reaction", *J. of Agric. and Food Chem.*, 43:32818-32822.
8. Anderson, J.W. y Chen, W.J.L. 1979. "Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism", *Am. J. Clin. Nutr.*, 32:346.
9. Andriot, I., Le Quére, J-L. y Guichard, E. 2004. "Interactions between coffee melanoidins and flavour compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity", *Food Chem.*, 85(2):289-294.
10. Anónimo. 1971. "Tentative rules for carbohydrate nomenclature", *Biochemistry*, 10:3983.
11. Arrigoni, E., Caprez, A., Amado, R. y Neukom, H. 1986 "Chemical composition and physical properties of modified dietary fibre sources." *Food Hydrocolloids*, 1:57-64.
12. Ashoor, S.H. y Zent, J.B. 1984. "Maillard browning of common amino acids and sugars", *J. Food Sci.*, 49:1206.
13. Bailey, M.E. 1988 "Inhibition of warmed over flavor with emphasis on Maillard reaction products" *Food Technol.* 42(6):123-126.
14. Baisier, W.M. y Labuza, T.P. 1992. "Maillard browning kinetics in a liquid model system", *J. of Agri. and Food Chem.*, 40(5):707-713.
15. Barnes, S. 1995. "Effect of genistein on in Vitro and in vivo models of cancer", *J Nutrition*, 125:777S-783S.
16. Barnes, S.K.M; Coward, L. 1994 "Isoflavones and their conjugates in soy foods; extraction, conditions and analysis by HPLC Mass Spectrometry", *J. Agri. Food Chem.*, 42:2466-2474.
17. Beckel, R., Lingnert, H., Lundgren, B., Hall, G. y Waller, G.R. 1985. "Effect of Maillard reaction products on the stability of minced herring in frozen storage", *J. Food Sci.*, 50:501.
18. Bell, L.N. 1997. "Maillard reaction as influenced by buffer type and concentration" *Food Chem.*, 59(1):143-147.
19. Bell, L.N., Touma, D.E., White, K.L. y Chen, Y.H. 1998. "Glycine loss and Maillard browning as related to the glass transition in a model food system", *J. of Food Sci.*, 63:625-628.

20. Berg, H.E. y Van Boeckel, M.A.J.S. 1994. "Degradation of lactose during heating of milk 1: Reaction pathways", *Netherlands Milk and Dairy J.*, 48:157-175.
21. Bernal, V.M., Smajda, C.H., Smith, J.L. y Stanley, D.W. 1987. "Interactions in protein/polysaccharide/calcium gels", *J. Food Sci.*, 52:1121.
22. Bersuder, P., Hole, M., y Smith, G. 2001. "Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. Investigation of the copper (II) binding ability", *J. of the Am. Oil Chem. Soc.*, 78:1079-1082.
23. Beveridge, T. y Harrison, J.E. 1984. "Nonenzymatic browning in pear juice concentrate at elevated temperatures", *J. Food Sci.*, 49:1335.
24. Bhattacharya, M. y Hanna, M.A. 1987. "Kinetics of starch gelatinization during extrusion cooking", *J. Food Sci.*, 52:764.
25. Bingham, S., Cummings, J.H. y McNeil, N.I. 1979. "Intakes and sources of dietary fiber in the british population", *Amer. J. Clin. Nutr.*, 32:1313.
26. Bot, A., Erle, U., Vreeker, R. y Agterof, W.G.M. 2004. "Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels", *Food Hydrocolloids*, 18(4):547-556.
27. Brands, C.M.J. Alink, G.M., Van Boeckel, M.A.J.S. y Jongen, W.M.F. 2000. Mutagenicity of heat sugar-casein system: effect of the Maillard reaction", *J. Agric. Chem.* 48:2271-2275.
28. Bressa, F., Tesson, N., Rosa, M. D., Sensidoni, A., y Tubaro, F. 1996. "Antioxidant effect of Maillard reaction products: application to a butter cookie of a competition kinetics analysis", *J. of Agric. and Food Chem.*, 44:692-695.
29. Brummel, S.E. y Lee, K. 1990. "Soluble hydrocolloids enable fat reduction in process cheese spreads", *J. Food Sci.*, 55:1290-1292, 1307.
30. Buera, M. del P., Hough, G., Martínez, E. y Resnik, S. 1990. "Colorimetric, spectrophotometric and sensory color measurement of a dairy product: dulce de leche", *Anales de la Asoc. Química Argentina* 78:291-295.
31. Buera, M. P., Chirife, J., Resnik, S.L. y Lozano, R. D. 1987. "Nonenzymatic browning liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars", *J. Food Sci.*, 52:1059.
32. Burkitt, D.P. 1973. "Some disease characteristics of modern western civilization", *Brit. Med. J.*, 1:274.
33. Cai, Y.Z. y Corke, H. 2000. "Production and properties of spray dried *Amaranthus* betacyanin pigments", *J. Food Sci.* 65(6):1248-1252.
34. Carlson, D.G., Daxenbichler, M.E., VanEtten, C.H., Tookey, H.L. y Williams, P.H. 1981. "Glucosinolates in crucifer crops: turnips and rutabages", *J. Agric. Food Chem.*, 29:1235.
35. Chen, S.L., Yin, S.H. y Chen, C.H.S. 2005. "Relative reactivities of glucose and galactose in browning and pyruvaldehyde formation in sugar/glycine model systems", *Food Chemistry*, 92(4):597-605.
36. Chinachoti, P. y Steinberg, M.P. 1986. "Interaction of solutes with raw starch during desorption as shown by water retention", *J. Food Sci.*, 51:450.
37. Christensen, S.H. 1986. En *Food Hydrocolloids, vol III* Ed. M. Glicksman, CRC Press, Boca Raton, FL, págs. 206-227.
38. Clegg, S.M., Moore, A.K. and Jones, S.A. 1996. "Low Margarine spreads as affected by Aqueous Phase Hydrocolloids", *J. Food Sci.*, 61:1073-1079.
39. Coia, K.A. y Stauffer, K.R. 1987. "Shelf life study of oil/water emulsions using various commercial hydrocolloids", *J. Food Sci.*, 52:166.
40. Crittenden, R. 1999. En *Prebiotics a Critical Review* Ed. Tannock, G.W., Horizon Scientific Press, Norfolk, England, págs. 141-156.
41. Crittenden, R. y Playne, M.J. 1996. "Production, properties and applications of food grade oligosaccharides", *Trends Food Sci. and Technol.*, 7:353-361.
42. Daxenbichler, M.E., VanEtten, C.H. y Williams, P.H. 1979. "Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. Analysis of fourteen varieties of Chinese cabbage", *J. Agric. Food Chem.*, 27:34.
43. Dea, I.C.M. 1982. "Polysaccharide conformation in solutions and gels", en *Food Carbohydrates*, Ed. D.R. Lineback y G.E. Inglett, The Avi Publishing Co. Inc., Westport, Conn.

44. Delahunty, T., Recher, L. y Hollander, D. 1987. "Intestinal permeability changes in rodents: A possible mechanism for degraded carrageenan-induced colitis", *Food and Chem. Toxicology* 25(2):113-118.
45. Dwelle, R.B. y Stallknecht, B.F. 1978. "Respiration and sugar content of potato tubers as influenced by storage temperature", *Am. Potato J.*, 55:561.
46. Evans, L.B. 1982. "Optimization theory and its application in food processing", *Food Technol.*, 36(7):101.
47. Felton, J.S., Healy, S., Stuermer, D., Berry, C., Timourion, H., Hatch, F.T., Morris, M. y Bjeldanes, L. F. 1981. "Mutagens from the cooking of food. Improved extraction and characterization of mutagenic fractions from cooked ground beef", *Mutat Res.*, 88:33.
48. Fleming, S.E. 1982. "Flatulence activity of the smooth-seeded field pea as indicated by hydrogen production in the rat", *J. Food Sci.*, 47:12.
49. Foegeding, E.A. y Ramsey, S.R. 1987. "Rheological and water holding properties of gelled meat batters containing iota carrageenan, kappa carrageenan or xanthan gum", *J. Food Sci.*, 52:549.
50. Fredrikson, H., Silverio, J., Anderson, R., Eliason, A. C. and Åman, P., 1998. "The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches" *Carbohydrate Polymers*, 38:119-134.
51. French, D. 1969. "Physical and chemical structure of starch and glycogen", en *Carbohydrates and their Roles*, Ed. H.W. Schultz *et al.*, The Avi Publishing, Westport, Conn.
52. Fry, S.C. 1983. "Feruloylated pectins from primary cell wall: their structure and possible functions", *Planta*, 86:1.
53. Funami, T., Kataoka, Y., Omoto, T., Goto, Y., Asai, I. y Nishinari, K. 2005. "Effects of non-ionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behaviour of wheat starch", *Food Hydrocolloids* 19(1):1-13.
54. Garcia-Alonso, A., Jiménez-Escig, A., Martín-Carrón, N., Bravo, L. y Saura-Calixto, F. 1999. "Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch", *Food Chemistry* 66(2):181-187.
55. García-Baños, J.L., del Castillo, M.D., Sanz, M.L., Olano, A. y Corzo, N. 2005. "Maillard reaction during storage of powder enteral formulas", *Food Chemistry*, 89:555-560.
56. Gazzani, G., Vagnarelli, P., Cuzzoni, M.T. y Mazza, P.G. 1987. "Mutagenic activity of the Maillard reaction products of ribose with different amino acids", *J. Food Sci.*, 52:757.
57. Gidley, M.J. 2002. "Using Nature to Tailor Hydrocolloid Systems" en *Gums and Stabilizers for the food Industry 11* Eds. Williams, P.A. and Phillips, G.O. The Royal Society of Chemistry, Wrextham, UK, págs. 281-288.
58. Glicksman, M. 1969. *Gum Technology in the Food Industry*, Academic Press, Nueva York.
59. Graham, H.D. 1977. *Food Colloids*, Avi Pub. Co., USA.
60. Greenberg, N.A. y Mahoney, R.R. 1983. "Formation of oligosaccharides by β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*", *Food Chemistry*, 10:195.
61. Griffin, I.J., Penni, M.D., Hicks, P.M.D., Heaney, R.P. y Abramsa, S.A. 2003. "Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption", *Nutrit. Res.*, 901-909.
62. Haas, U. y Jäger, M. 1986. "Degree of esterification of pectins determined by photoacoustic near infrared spectroscopy", *J. Food Sci.*, 51:1087.
63. Hall, G. y Lingnert, H. 1984. "Flavor changes in whole milk powder during storage. 1. Odor and flavor profiles of dry milk with additions of antioxidants and stored under air and nitrogen", *J. Food Quality*, 7(2):131.
64. Hansen, P.M.T. 1968. "Stabilization of α -casein by carrageenan", *J. Dairy Sci.*, 51:192.
65. Hodge, J.E. 1953. "Dehydrated foods. Chemistry and browning reactions in model systems", *J. Agr. Food Chem.*, 1:928.
66. Hoefler, A.C. 2004 *Hydrocolloids*, Eagan Press, Mineesota, USA, 111 pp.
67. Hohno, H. y Adachi, S. 1982. "Disaccharides formation in thermal degradation of lactose", *J. Dairy Sci.*, 65, 1421.
68. Hohno, H., Suyama, K. y Adachi, S. 1983. "Formation of anhydro-sugars during thermal degradation of lactose", *J. Dairy Sci.*, 66:11.

69. Holloway, W.D. y Greig, R.I. 1984. "Water holding capacity of hemicelluloses from fruits, vegetables and wheat bran", *J. Food Sci.*, 49:1632.
70. Hood, L.F. 1974. "Microstructure of modified tapioca starchmilk gels", *J. Food Sci.*, 39:117.
71. Horton, D. y Wolfrom, M. L. 1963. "Polysaccharides", en *Comprehensive Biochemistry*, vol. 5, Ed. M. Florkin y G. Glotz. Elsevier, Amsterdam.
72. Hough, G., Buera, M. del P., Martínez, E. y Resnik, S. 1991. "Effect of nonenzymatic browning rate in dulce de leche-like systems", *Anales de la Asoc. Química Argentina* 79:31-34.
73. Hudson, J.M. y Buescher, R.W. 1986. "Relationship between degree of pectin methylation and tissue firmness of cucumber pickles", *J. Food Sci.*, 51:138.
74. Hyvonen, L. Y Torma, R. 1983. "Examination of sugars, sugar alcohols, and artificial sweeteners as substitutes for sucrose in strawberry jam. Product development", *J. Food Sci.*, 48:183.
75. Ishizuki, Y., Hirooka, Y., Murata, Y., and Togasho, K. 1991. "The effects on the thyroid gland of soybeans administered experimentally to healthy subjects", *Nippon Naibunpi gakkai Zasshi*, 67:622-629.
76. Jauregui, B., Munoz, M.E., Santamaria, A. 1995. "Rheology of hydroxyethylated starch aqueous systems. Analysis of gel formation", *Int. J. Biol. Macromol.* 17(1):49-54.
77. Kanterewicz, R. J. y Chirife, J. 1986. "Color changes and available lysine during storage of shelf-stable concentrated cheese whey", *J. Food Sci.*, 51:826.
78. Karlsson, M.E. y Eliasson, A. C. 2003. "Gelatinization and retrogradation of potato (*Solanum tuberosum*) starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry (DSC)", *Lebens.-Wiss. U Technol.*, 36:735-741.
79. Khan, R. 1976. "The chemistry of sucrose", *Adv. Carboh. Chem. Biochem.*, 33:236.
80. Koseki, M., Kitabatake, N., Doi, E., Yasuno, T., Ogino, S., Ito, A. y Endor., F. 1986. "Determination of pectin in the presence of food polysaccharides", *J. Food Sci.*, 51:1329.
81. Kostyla, A.S. y Clydesdale, F.M. 1978. "The psychophysical relationships between color and flavor", en *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, CRC Press, Florida.
82. Kratz, R. y Dengler, K. 1995. "Fruit preparation for yoghurts Pectin as a thickener – requirements posed by producers of fruit preparations and yoghurts", *Food Tech. Eur.*, 2(2):130-137.
83. Labuza, T.P. y Schmidl, M.K. 1986. "Advances in the control of browning reactions in foods", en *Role of Chemistry in the Quality of Processed Food*, Ed. O.R. Fennema, W.H. Chang y C.Y. Lii. Food and Nutrition Press, Inc. Westport, Conn.
84. Labuza, T.P., Warren, R.M. y Warmbier, H.C. 1977. "The physical aspects with respect to water and non-enzymatic browning", *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B:25.
85. Lachance, P.A. 1973. "Carbohydrates as nutrients", *Food Prod. Devel.*, 7:29.
86. Laplante, S., Turgeon, S.L. y Paquin, P. 2002. "Using Formation of strong Gels by Enzymatic debranching of Guar Gum", en *The presence of Ordered Xanthan in Gums and Stabilizers for the food Industry 11* Eds. Williams, P.A. y Phillips, G.O. The Royal Society of Chemistry, Wrexham, UK, págs. 289-296.
87. Leclercq, E. y Hageman, G.J. 1985. "Release of inulin by enzymatic liquefaction of chicory roots", *Food Chemistry*, 18(2):131-138.
88. Lian, P.Z., Lee, C.M. y Hufnagel, M. 2000. "Physicochemical properties of Red Hake (*Urophycis chuss*) Mince as affected by Cryoprotective Ingredients", *J. Food Sci.*, 65(7):1117-1123.
89. Lin, K.W., Keeton, J.T. 1998. "Textural and Physicochemical properties of low-fat, pre-cooked ground beef patties containing carrageenan and sodium alginate", *J. Food Sci.*, 63(4):571-574.
90. Lingnert, H., Eriksson, C.E. y Waller, G.R. 1983. "Characterization of antioxidative Maillard reaction products from histidine and glucose en The Maillard Reaction" en *Foods and Nutrition*". Ed. G.R. Walier y M.S. Feather, Amer. Chem. Soc. Symp. Ser., 215:335.
91. Liu, K. y Markakis, P. 1987. "Effect of maturity and processing on the trypsin inhibitor and oligosaccharides of soybeans", *J. Food Sci.*, 52:222.
92. Maga, J.A. 1975. "Bread staling", en *CRC Critical Reviews in Food Technology* vol. 5, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland.

93. Márquez, G. y Añón, M.C. 1986. "Influence of reducing sugars and amino acids in the color development of fried potatoes", *J. Food Sci.*, 51:157.
94. Marriott, J. y Lancaster, P.A. 1983. "Bananas and plantains", en *Handbook of Tropical Foods*, Ed. T.C. Harvey Jr., Marcel Dekker, Inc., Nueva York.
95. Martins, S.I.F.S., Martinus, A.J.S. y Van Boeckel, A.J.S. 2005. "A kinetic model for the glucose/glycine Maillard reactions pathways" *Food Chemistry* 90:257-269.
96. May, C.D. 1992. "Pectins" en *Thickening and Gelling Agents for Food* Ed. A. Imeson, Blackie A & P, Glasgow págs. 124-152.
97. McWeency, D.J. y Burton, U. 1963. "Some possible glucose-glycine browning intermediates and their reactions with sulfites", *J. Sci. Food Agr.*, 14:29-31.
98. Michel, F., Doublier, J.L. y Thibault, J.F. 1982. "Investigations on high-methoxyl pectins by potentiometry and viscometry", *Prog. Food Nutr. Sci.*, 6:367.
99. Michel, F., Thibault, J.F., Mercier, C., Heitz, F. y Pouillaude. 1985. "Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp", *J. Food Sci.*, 50:1499.
100. Miller, A.J. 1985. "Processing-induced mutagens in muscle foods", *Food Technol.*, 39(2):75.
101. Mishkin, M., Saguy, I. y Karel, M. 1983. "Dynamic optimization of dehydration processes: minimizing browning in dehydration of potatoes", *J. Food Sci.*, 48:1617.
102. Mongeau, R. y Brassard, R. 1982. "Determination of neutral detergent fiber in breakfast cereals: pentose, hemicelullose, cellulose and lignin content", *J. Food Sci.*, 47:550.
103. Nahon, D.F., Roozen, J.P., De Graaf, C. 1998. "Sensory evaluation of mixtures of maltitol or aspartame, sucrose and an orange aroma", *Chem. Senses* 23:59-63.
104. Namiki, M. y Hayashi, T. 1983. "A new mechanism of the Maillard reaction involving sugar fragmentation and free radical formation", en *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition*, Ed. G.R. Waller y M.S. Feather, Amer. Chem. Soc. Symp. Ser., 215:21.
105. Nicol, W.M. 1980. "Sucrose in food systems", en *Carbohydrate Sweeteners in Foods and Nutrition*, Ed. P. Koivistoinen y L. Hyvonen, Academic Press, Londres.
106. Nikuni, Z. 1982. "Studies on starch granules", *Die Starke*, 30:1.
107. Nosker, M., Jensen, M. y Adler-Nissen, J. 2000. "Enzymatic gelation of sugar beet pectin in food products", *Food Hydrocolloids*, 15(3):237-243.
108. Nussinovitch, A. 1997 "Pectins" en *Hydrocolloids Applications Gum technology in the food and other industries*, Blackie Academia and Professional London, 354 pp.
109. Oakenfull, D. y Scott, A. 1984. "Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins", *J. Food Sci.*, 49:1093.
110. Onozawa, M., Fukuda, K., Otani, M., Akaza, H., Sugimura, T. y Wakabayasi, K. 1998. "Effects of soybean isoflavones on cell growth and apoptosis of the human prostatic cancer cell line LNCaP", *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 28:360-363.
111. Oosten, B.J. 1982. "Tentative hypothesis to explain how electrolytes affect the gelatinization temperature of starches in water", *Die Starke*, 34:233.
112. Osman, E.M. 1967. "Starch in the food industry", en *Starch: Chemistry and Technology, Industrial Aspects*, vol. 2, Ed. R.L. Whistler y E.F. Paschall, Academic Press, Nueva York.
113. Osman, E.M. 1975. "Interaction of starch with other components of food systems", *Food Technol.*, 29:30.
114. Pastor, M.V., Costell, E., Izquierdo, L. and Duran, L. 1996. "Optimizing acceptability of a high fruit-low sugar peach nectar using aspartame and guar gum", *J. Food Sci.*, 61:852-855.
115. Pauletti, M.S., Matta, E.J., Castelao, E. y Rozycki, D.S. 1999. "Color in Concentrated Milk Proteins with High Sucrose as Affected by Glucose Replacement", *J. Food Sci.* 63(6):90-92.
116. Pekić B, Slavica B, Lepojević Ž and Petrović SM 1985. "Effect of pH on the acid hydrolysis of Jerusalem artichoke inulin", *Food Chem.*, 17(3):169-173.
117. Pozsá-Hajnal, K. y Polacsek-Rácz, M. 1975. "Determination of pectinmethylesterase, polygalacturonase and pectic substances in some fruits and vegetables" *Acta Alimentaria*, 4:271-289.

118. Pravisani, C.I., Califano, A.N. y Cálvelo, A. 1985. "Kinetics of starch gelatinization in potato", *J. Food Sci.*, 50:657.
119. Rackis, J.J. 1974. "Biological and physiological factors in soybeans", *J. Am. Oil Chemists Soc.*, 51:161A.
120. Rackis, J.J., Honig, D.H., Sessa, D.J. y Steggerda, F.R. 1970. "Flavor and flatulence factors in soybean protein products", *J. Agr. Food Chem.*, 18:977.
121. Rackis, J.J., Sessa, D.J., Steggerda, F.R., Shimizu, J., Anderson, J. y Pearl, S.L. 1970. "Soybean factors relating to gas production by intestinal bacteria", *J. Food Sci.*, 35:634.
122. Rankin, S., Bodyfelt, F.W. 2001. "The effect of hydrocolloids on the stability and viscosity of cloudy apple juices", *Food Hydrocolloids*, 15(1):1-7.
123. Rhee, C., Kim, D.H. 1975-76. "Antioxidant activity of acetone extracts obtained from a caramelization-type browning reaction", *Food TA*, 75-09-N0372.
124. Rees, D. A. 1969. "Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks", *Adv. Carboh. Chem. Biochem.*, 24:267.
125. Reyes, F.G.R., Poocharoen, B. y Wrolstad, R.E. 1982. "Maillard browning reaction of sugar-glycine model systems: Changes in sugar concentration, color and appearance", *J. Food Sci.*, 47:1376.
126. Roberfroid, M. 1993. "Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 33:103-148.
127. Rocco, S. C., Sampaio, G. R., Okani, E. T.; Pinto-Silva, M. E. M.; Torres, E.A.F.S. 2003. "Evaluación de substitutos de materia grasa en lingüiça". *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(2):74-80.
128. Rochrig, K.L. 1988. "The physiological effects of dietary fiber, - a review", *Food Hydrocolloids*. 2:1.
129. Rodríguez-Saona, L.E., Wrolstad, R.E. and Pereira C. 1997. "Modeling the contribution of sugars, ascorbic acid, chlorogenic acid and amino acids to non-enzymatic browning of potato chips", *J. Food Sci.*, 62(5):1001-1005.
130. Roe, M.A., Faulks, R.M. y Belsten J.L. 1990. "Role of reducing sugars and amino acids in fry colour of chips from potato grown under different nitrogen regimen", *J. Food Sci. Food Agric.*, 52:207-214.
131. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Millar NJ, Bolwell GP and Rice-Evans CA 1997. "Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones", *Free Rad. Res.*, 26:63-70.
132. Sakai, T Sakamoto, T Hallaert, J. et al 1993. "Pectin, pectinase and protopectinase – production, properties and applications", *Adv. Applied Microb.*, 39:213-294.
133. Schallenberg, R.S. 1980. "Predicting sweetness from chemical structure and knowledge and chemoreception", *Food Technology*, 34(1):65-66.
134. Schallenberg, R.S. 1990. "Introduction to sweeteners chemistry", *Cereal Foods*, 35(4):377-381.
135. Schoch, T.J. 1965. "Starch in bakery products", *Baker's Digest*, 39:48.
136. Schoch, T.J. 1969. "Starches in foods", en *Carbohydrates and their Roles*, Ed. H.W. Schultz *et al.*, The Avi Publishing, Westport, Conn.
137. Shallenberger, R.S. y Acree, T.E. 1967. "Molecular theory of sweet taste", *Nature*, 216:480.
138. Shand, P.J., J.N. Sofos, y G.R. Schmidt 1994. "Kappa-carrageenan, sodium chloride and temperature affect yield and texture of structured beef rolls", *J. Food Sci.*, 59:282-287.
139. Shanin, H. y Ozdemir, F. 2004. "Effect of some hydrocolloids on the rheological properties of different formulated ketchups", *Food Hydrocolloids*, 18(6) :1015-1033.
140. Shinobara, K., Jahan, N., Tonaka, M., Yamamoto, K., Wu, R.T., Murakami, H. y Omura, H. 1983. "Formation of mutagens by aminocarbonyl reactions", *Mutat. Res.*, 122:279.
141. Silva, H.C. y Braga, G.L. 1982. "Effect of soaking and cooking on the oligosaccharide content of dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L)", *J. Food Sci.*, 47:924.
142. Soda, J., Hasagawa, G. y Suzuki, T. 1987. "Changes in hemicellulose during ripening of kiwi fruit", *J. Agri. Sci.*, 31:261-264.
143. Sosulski, F.W. y Cadden, A.M. 1982. "Composition and physiological properties of several sources of dietary fiber", *J. Food Sci.*, 47:1472.

144. Soto, A.E., Del Val, S. 2002. "Extracción de los principios edulcorantes de la *Stevia rebaudiana*", *Rev. de Ciencias Agrarias y Tecnol. de Alimentos*, 20:5-9.
145. Speers, R.A. y Tung, M.A. 1986. "Concentration and temperature dependence of flow behavior of xanthan gum dispersions", *J. Food Sci.*, 51:96.
146. Stamp, J.A. y Labuza, T.P. 1983. "Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures", *J. Food Sci.*, 48:543.
147. Stanley, N.F. 1990. "Carragenans", en *Food Gels* Ed. P. Harris, Elsevier Applied Science, London, págs. 70-119.
148. Stauffer, K.R. 1980. *Handbook of Water Soluble Gums and Resins cap. 11*, McGraw-Hill Book Co., Nueva York.
149. Suárez, F.L. y Savaiano, R.A. 1997. "Diet, genetics and lactose intolerance", *Food Technology*, 51:74-76.
150. Taylor, S.L. and Hefie S.L. 2001. "Food Allergy", en *Present Knowledge in Nutrition* Eds. Bowman, B.A. y Russel, M.R., ILSI Press, Washinton, D.C. 8th ed., págs. 463-496.
151. Terra, N.N., García, E. y Lajolo, F.M. 1983. "Starch-sugar transformation during banana ripening: the behavior of UDP glucose pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase", *J. Food Sci.*, 48:1097.
152. Tong, W., Perkins, R., Xing, L., Welsh, W.J., y Sheehan, D.M. 1997. "Q SAR models for binding of estrogenic compounds to estrogen receptor alpha and beta subtypes", *Endo.*, 138:4022-4025.
153. Toribio, J.L. y Lozano, J.E. 1986. "Heat induced browning of clarified apple juice at high temperatures", *J. Food Sci.*, 51:172.
154. Trowell, H.C. 1972. "Crude fiber, dietary fiber and atherosclerosis", *Atherosclerosis*, 16:138.
155. Tu, A. y Eskin, N.A.M. 1973. "The inhibitory effect of reducing sugar on the hydrolysis of casein by trypsin", *Can. Inst. Food Sci. Tech. J.*, 6:50.
156. Urashima, T., Suyama, K. y Adachi, S. 1986. "1,6-anhydro-3,4-O-furfurylidene- β -D-galactopyranose, a new furfurylidene derivative formed from lactose during pyrolysis", *J. Food Sci.*, 51:675.
157. Uzuhashi, Y. y Nishinari, K. 2003. "Physicochemical properties of agar and its utilization in food and related industry", *Foods Food Ingr. J. Jpn.*, 208(10).
158. Valle, V.P. y Lucas, F.B. 2000. *Toxicología de Alimentos*, Instituto Nacional de Salud Pública, Centro Nacional de Salud Ambiental, México D.F., 261 pp.
159. Van Wazer, J.R., Lyons, J.W., Kim, K.Y. y Colwell, R.E. 1963. *Viscosity and Flow Measurements: A Laboratory Handbook of Rheology*, John Wiley and Sons Inc., Nueva York.
160. Wagner, K.H., Derkits, S., Herr, M. y Schuh, W. 2002. "Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model", *Food Chem.*, 78(3):375-382.
161. Wagner, J.R., Carson, J.F., Becker, R., Gumbmann, M.R. y Danhof, I.E. 1977. "Comparative flatulence activity of beans and bean fractions for man and the rat", *J. Nutr.*, 107:680.
162. Walkinshaw, M.D. y Arnott, S. 1981. "Conformations and interactions of pectins. 2. Models for junction zones in pectinic acid and calcium pectate gels", *J. Mol. Biol.*, 153:1075.
163. Walter, G.H. y Sherrnan, R.M. 1983. "The induced stabilization of aqueous pectin dispersions by ethanol", *J. Food Sci.*, 48:1235.
164. Wang, HJ, and Murphy PA 1996. "Mass balance study of isoflavones during soybean processing", *J. Agri. Food Chem.*, 44:2377-2383.
165. Watt, J. y Marcus, R. 1970. "Ulcerative colitis in rabbits fed degraded carrageenan", *J. Pharm. Pharmacol.*, 22:130.
166. Watt, J. y Marcus, R. 1969. "Ulcerative colitis in the guinea-pig caused by seaweed extract", *J. Pharm. Pharmacol.*, 21:1875.
167. Whistler RL 1976. *Starch Chemistry and Technology*, Academia Press, London, England, 527 pp.
168. Williams, J.C. 1976. "Chemical and non-enzymic changes in intermediate moisture foods", en *Intermediate Moisture Foods*, Ed. R. Davies, G.G. Birch y K.J. Parker, Applied Science Publishers LTD, Londres.
169. Wu, C.H., Russell, G. y Powrie, W.D. 1987. "Paramagnetic behavior of model system melanoidins", *J. Food Sci.*, 52:813.

170. Wurzburg, O.B. 1972. "Starch in the food industry", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland.
171. Yanagimoto, K., Lee, K.-G., Ochi, H. y Shibamoto, T. 2002. "Antioxidative activity of heterocyclic compounds formed by Maillard reaction products", *Int. Congress Series*, 1245:335-340.
172. Yen, G.C. y Lai, Y.H. 1987. "Influence of antioxidants on Maillard browning reaction in a casein-glucose model system", *J. Food Sci.*, 52:1115.
173. Yeoh, H. y Tan, C. 1994. "Determination of lamarine in cassava using enzyme-sensitized microcentrifuge tubes", *J. Sci. Food Agric.*, 66:31-33.
174. Yilmaz, Y. y Toledo, R. 2005. "Antioxidant activity of water soluble Maillard products", *Food Chem.*, 93(2):273-278.
175. Yoshimura, M., Takaya, T. y Nushinari, K. 1999. "Effect of xyloglucan on the gelatinization and retrogradation of corn starch as studied by rheology and differential scanning calorimetry", *Food Hydrocolloids* 13(2):101-111.
176. Zafar, T.A., Weaver, C.M., Zhao, Y., Martin, B.R. y Wastney, M.E. 2004. "Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats", *J. Nutr.*, 134:399-402.
177. Zatz, J. L. y Knapp, S. 1984. "Viscosity of xanthan gum solutions at low shear rates", *J. Pharm. Sci.*, 73(4):468.
178. Zeller, B.L. and Saleeb, F.Z. 1996. Production of Microporous Sugars for Adsorption of Volatile Flavors, *J. Food Sci.*, 61(4):749-752, 756.
179. agproducts.unl.edu/microcrystalline_cellulose.htm
180. dalwoo.com/chitosan/#click%20here
181. food.oregonstate.edu/gums/alginates.html
182. food.oregonstate.edu/gums/bean.html
183. food.oregonstate.edu/gums/carr.html
184. food.oregonstate.edu/gums/ghatti.html
185. food.oregonstate.edu/gums/karaya.html
186. food.oregonstate.edu/gums/trag.html
187. food.oregonstate.edu/gums/xanthan.html
188. www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=150.141
189. www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/novedades/edulcorantes%20tipos.htm
190. www.britishsugar.co.uk/bsweb/sfi/pages/invert.htm
191. www.bvs.sld.cu/revistas/mil/vol25_1_96/mil03196.htm
192. www.cfsan.fda.gov/~lrd/FCF136.html
193. www.cfsan.fda.gov/~lrd/FCF139.html
194. www.chem.ox.ac.uk/mom/carbohydrates/sucrose.html
195. www.chemistrydaily.com/chemistry/Glycogen
196. www.cybercolloids.net/recipes/recipes.php?submit=locust%20bean%20gum
197. www.endousec.com/pated/lactulose.htm
198. www.eufic.org/sp/quickfacts/carbohidratos.html
199. www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/04q0151/04Q-0151-emc0002-vol4.doc
200. www.gettingwell.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/gen_0118.shtml
201. www.ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper_9922.htm
202. www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je59.htm
203. www.jungbunzlauer.com/products/product_21.html
204. www.krystal-colloids.com/ghatti.html
205. www.krystal-colloids.com/karaya.html
206. www.lactose.co.uk/intolerance/index.html
207. www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html

208. www.lsbu.ac.uk/water/hyxan.html
209. www.steviasmart.com/trgum1ozth.html
210. www.uam.es/personal_pdi/ciencias/eeymar/default_archivos/tema3pecesvegetales.pdf
211. www.youngagain.com/chitin.html, <http://dalwoo.com/chitosan/#click%20here>

Capítulo

3

Proteínas

Amanda Gálvez Mariscal
Idalia Flores Argüello
Amelia Farrés González Saravia

- 3.1 Introducción
- 3.2 Aminoácidos
- 3.3 Péptidos y enlace peptídico
- 3.4 Detección y cuantificación de aminoácidos péptidos y proteínas
- 3.5 Organización estructural
- 3.6 Desnaturalización
- 3.7 Modificaciones químicas
- 3.8 Propiedades funcionales de las proteínas
- 3.9 Propiedades nutricionales
- 3.10 Proteínas de algunos alimentos

Referencias
bibliográficas



3.1 INTRODUCCIÓN

Las proteínas constituyen, junto con los ácidos nucleicos, las moléculas de información en los seres vivos. Éstas fluyen siguiendo los principios establecidos por Watson y Crick: se almacenan en unidades denominadas genes en el ácido desoxirribonucleico y se transcriben para formar diversos tipos de ácido ribonucleico, y los ribosomas traducen el mensaje formando proteínas. El proceso se conserva en todos los sistemas vivos, por medio de un código genético universal de 64 codones, que indica la manera de traducir los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas.

Las proteínas juegan un papel central en los sistemas biológicos. Los microorganismos tienen un número mínimo cercano a 3,000 clases de proteínas que abarcan todo tipo de funciones: estructura, transporte, movilidad, defensa, reconocimiento, almacenamiento y la función catalítica que llevan a cabo las enzimas.

La importancia de las proteínas en los sistemas alimenticios no es menor. Poseen propiedades nutricionales, y de sus componentes se obtienen moléculas nitrogenadas que permiten conservar la estructura y el crecimiento de quien las consume; asimismo, pueden ser ingredientes de productos alimenticios y, por sus propiedades funcionales, ayudan a establecer la estructura y propiedades finales del alimento.

Hace dos décadas la desnutrición proteínico-calórica (PEM, por sus siglas en inglés) era el principal problema nutricional en países en desarrollo; actualmente ha disminuido aunque no se ha erradicado. En ciertos segmentos económicos es fundamental contar con fuentes de proteínas baratas y accesibles; en otros segmentos los problemas relacionados con la nutrición son ahora diferentes y están vinculados con enfermedades degenerativas, cáncer y obesidad, ya que existe una mayor conciencia de la importancia de mantener la salud y en la prevención de enfermedades: por ejemplo, existe documentación sobre el papel de la nutrición en la respuesta inmune, en procesos inflamatorios, en el desempeño cognitivo y desarrollo neuronal, entre otros fenómenos biológicos. Las proteínas juegan un papel fundamental, siempre y cuando se consuman en los niveles apropiados y se combinen de manera adecuada con otros elementos de la dieta. Actualmente el reto no es sólo la disponibilidad de proteínas, sino la calidad requerida. Las herramientas modernas de análisis de proteínas están basadas en la genómica y proteómica; es decir, en el estudio del grupo de genes que forman un organismo y de su funcionalidad. No todos los genes se expresan en todas las células: los que tienen funciones esenciales sí se expresan en todas las células; y los que las tienen altamente especializadas, sólo en tipos de células específicas. Por lo tanto, cada organismo cuenta con un genoma que da lugar a muchos proteomas.⁹⁴ Sin duda, su estudio sistemático y organizado permitirá explotar mejor las fuentes tradicionales y diseñar proteínas para mercados específicos.

Existe la posibilidad de formar un gran número de proteínas a partir de las 20 unidades básicas denominadas aminoácidos. Las diversas combinaciones de secuencia de aminoácidos, longitud de cadena y organización estructural permiten una gran variedad de estructuras y, por tanto, de funciones, que dependerán de sus propiedades fisicoquímicas, como: carga, hidrofobicidad, estado de agregación, etcétera.

Para fines prácticos es posible definir a las proteínas alimentarias como las proteínas que son fácilmente digeribles, no tóxicas, nutricionalmente adecuadas, útiles en los alimentos y disponibles en abundancia. Para la nutrición de los niños, se considera que la carne, la leche y el huevo son indispensables en su dieta, pero en otros países, en especial los asiáticos, se consumen proteínas de fuentes anteriormente consideradas como “no convencionales”; proteínas de soya y otras leguminosas importantes por su balance de aminoácidos indispensables.

Sin restar importancia al papel que desempeñan las proteínas, y en específico los aminoácidos indispensables, en la buena nutrición y el desarrollo infantil; se puede afirmar que también, desde el punto de vista industrial, el papel de las proteínas es preponderante: el mercado de proteínas funcionales, de hormonas proteínicas y sobre todo de las enzimas, son tres ejemplos de mercados que requieren un profundo conocimiento de la química de las proteínas, de manera que se optimicen los procesos de extracción, modificación, procesamiento y almacenamiento con base en un profundo conocimiento de las posibles rutas de modificación de las mismas, tanto positiva como negativa, para obtener mayores beneficios.

Al considerar el papel que las proteínas, como otros nutrientes, desempeñan para mantener en buen estado la salud de cada individuo, no deben dejarse de lado posibles efectos negativos que su consumo representa. Los efectos negativos más importantes se presentan por su papel como alérgenos y como toxinas, pero no debe descartarse la interacción negativa con otros nutrientes o la formación de subproductos tóxicos.

3.2 AMINOÁCIDOS

Las unidades más simples de la estructura química común a todas las proteínas son los aminoácidos. En el código genético están codificados los veinte distintos α -aminoácidos, también llamados residuos, que constituyen los eslabones que conforman péptidos, que cuando forman cadenas polipeptídicas y alcanzan altos pesos moleculares se denominan proteínas.

Las estructuras de los 20 aminoácidos se presentan en la figura 3.2 y en el cuadro 3.1, los datos relevantes a su estructura, base de su comportamiento químico.

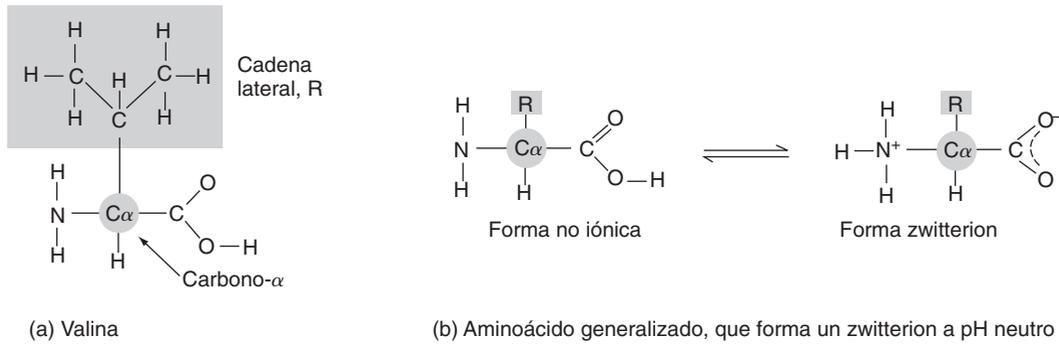


Figura 3.1 Estructura de los α aminoácidos.⁹⁹

En la figura 3.1a aparece un aminoácido representativo, la valina. El grupo amino está unido al carbono α , contiguo al carboxilo, de donde proviene el nombre de α -aminoácido. Al carbono α también se unen un átomo de hidrógeno y la cadena lateral (R) de cuya naturaleza química se desprenden sus propiedades: carga neta, solubilidad, reactividad química y potencial para formar puentes de hidrógeno, características de cada residuo cuando forma parte de un polipéptido. Los grupos carboxilo y amino presentan valores pK de cerca de 2 y 10, respectivamente, como se detalla más adelante. En la proximidad del pH neutro, el grupo carboxilato habrá perdido un protón y el grupo amino habrá captado uno, para dar la forma zwitterion que se presenta en la figura 3.1b. Se trata de la forma en que por regla general se describirá la estructura de los aminoácidos. Los aminoácidos que conforman a las proteínas en los organismos presentan la forma L ya que en el proceso evolutivo se seleccionó ésta y no la forma del enantiómero D, y es uniforme en todas las proteínas nativas. De hecho, los aminoácidos D existen en la naturaleza y algunos desempeñan funciones bioquímicas importantes, pero nunca se hallan en las proteínas en sus estructuras naturales. Se ha propuesto la siguiente hipótesis: al comienzo de la evolución de la vida, los isómeros L se seleccionaron de modo fortuito, o bien, tuvieron una ligera ventaja en la naturaleza, de forma que la maquinaria de síntesis y uso de las proteínas quedó fijada de esta forma⁷¹. Es importante aclarar esto ya que hay muchas sustancias con estructura de β -aminoácido que no intervienen en la síntesis de proteínas: por ejemplo la β -alanina, precursor del ácido pantoténico, la homocisteína y la homoserina, que actúan en el metabolismo de algunos compuestos, la citrulina y la ornitina, intermediarios para la producción de la arginina. Los 20 α -aminoácidos que se incorporan a las proteínas se presentan en el cuadro 3.1, donde aparecen sus estructuras y abreviaturas de tres letras.

CUADRO 3.1 Propiedades de los aminoácidos hallados en proteínas

Nombre	Código de una letra	Código de tres letras	pK ₁ del grupo α-carboxilo	pK ₂ del grupo α-amino	pI	pK _R de la cadena lateral ionizable	Masa del residuo ^b (Da)	Código Genético	Presencia en proteínas ^c (mol %)
Alanina	A	Ala	2.3	9.7	6.02	—	71.08	GC(N)	9.0
Arginina	R	Arg	2.2	9.0	10.76	12.5	156.20	AGA AGG CG(N)	4.7
Asparagina	N	Asn	2.0	8.8	5.41	—	114.11	AAU AAC	4.4
Ácido aspártico	D	Asp	2.1	9.8	2.97	3.9	115.09	GAU GAC	5.5
Cisteína	C	Cys	1.8	10.8	5.02	8.3	103.14	UGU UGC	2.8
Glutamina	Q	Gln	2.2	9.1	5.65	—	128.14	CAA CAG	3.9
Ácido glutámico	E	Glu	2.2	9.7	3.22	4.2	129.12	GAA GAG	6.2
Glicina	G	Gly	2.3	9.6	6.06	—	57.06	GG(N)	7.5
Histidina	H	His	1.8	9.2	7.58	6.0	137.15	CAU CAC	2.1
Isoleucina	I	Ile	2.4	9.7	6.02	—	113.17	AUU AUC AUA	4.6
Leucina	L	Leu	2.4	9.6	5.98	—	113.17	UUA UUG CU(N)	7.5
Lisina	K	Lys	2.2	9.0	9.74	10.0	128.18	AAA AAG	7.0
Metionina	M	Met	2.3	9.2	5.75	—	131.21	AUG	1.7
Fenilalanina	F	Phe	1.8	9.1	5.48	—	147.18	UUU UUC	3.5
Prolina	P	Pro	2.0	10.6	6.30	—	97.12	CC(N)	4.6
Serina	S	Ser	2.2	9.2	5.68	—	87.08	AGU AGC	7.1
Treonina	T	Thr	2.6	10.4	6.53	—	101.11	AC(N)	6.0
Triptófano	W	Tyr	2.4	9.4	5.88	—	186.21	UGG	1.1
Tirosina	Y	Tyr	2.2	9.1	5.65	10.1	163.18	AUA UAC	3.5
Valina	V	Val	2.3	9.6	5.97	—	99.14	GU(N)	6.9

^aValores aproximados observados para las cadenas laterales de los aminoácidos libres.

^bPara obtener la masa del aminoácido en sí, añadir la masa de un mol de agua, 18.02 g.

^cPromedio para un gran número de proteínas. Las proteínas individuales pueden presentar variaciones importantes respecto a estos valores.

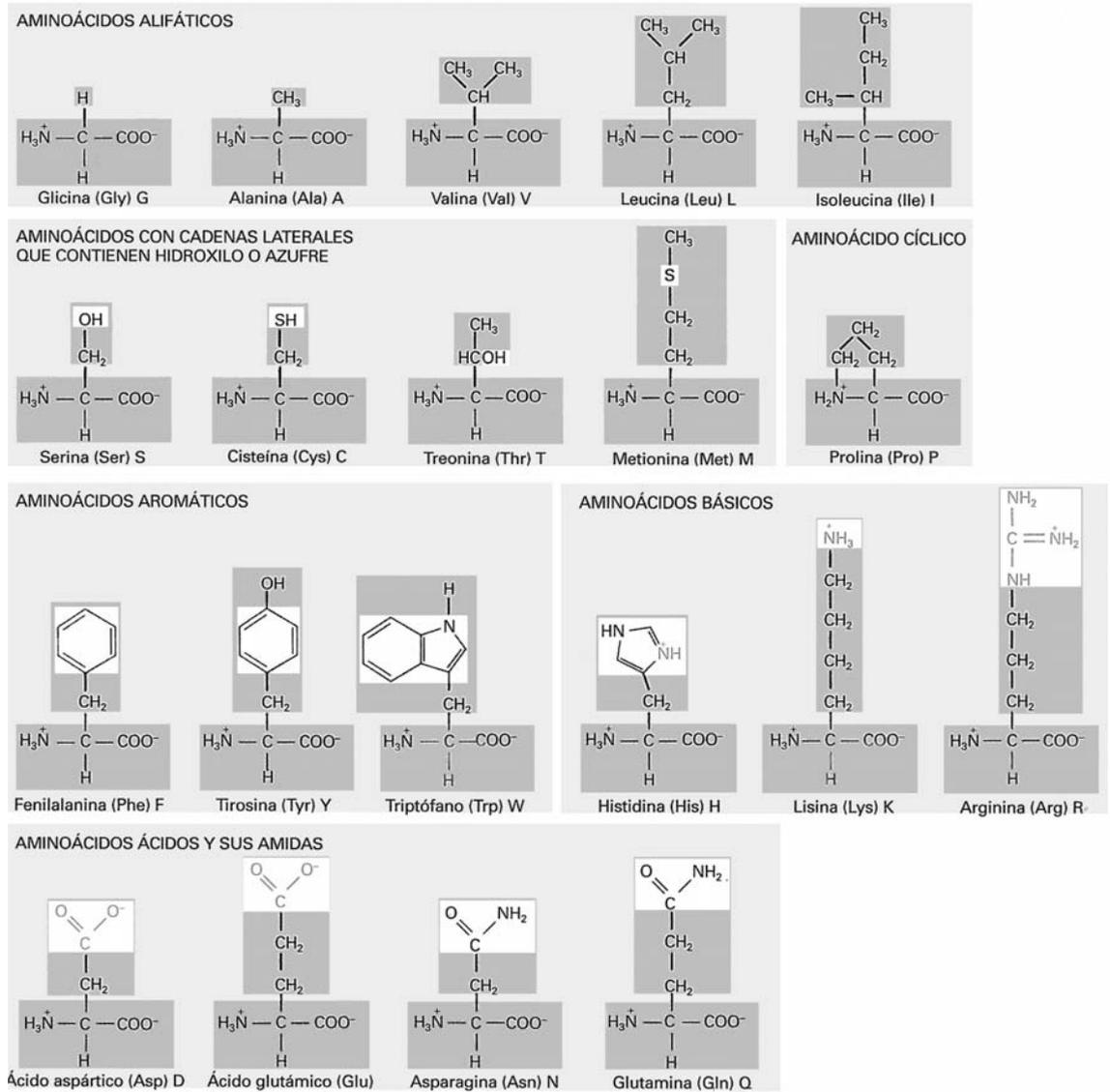


Figura 3.2 Aminoácidos que conforman a las proteínas.⁹⁹

La secuencia de una proteína se describe enlistando las abreviaturas, de una o tres letras, de los aminoácidos que la componen. La de tres letras, la primera en utilizarse, podría ser confusa, por ejemplo: Gln, Glu y Gly. El código de una letra es menos obvio y facilita escribir una secuencia porque se ahorran espacio y posibles confusiones. En el caso de los aminoácidos antes mencionados quedan descritos como Q, E y G, respectivamente.

3.2.1 Del gen a la proteína

El orden en que se encuentran los residuos de aminoácidos en cada proteína, conocida como estructura primaria, está determinado por el gen particular que codifica para dicha proteína. La secuencia de nucleótidos comprendidos en ese gen se transcribe a una molécula de ARN que se llama mensajero (ARNm). Las proteínas se sintetizan sobre los ribosomas por la traducción a polipéptidos de los ARNm. En la mayoría de los casos, las cadenas polipeptídicas inicialmente traducidas sufren modificaciones antes de asumir la conformación funcional en los sistemas vivos. Estas modificaciones postraduccionales comprenden una amplia variedad de reacciones químicas reversibles e irreversibles y han sido reportadas hasta 200 diferentes tipos.

La proteína es un producto de la traducción ribosómica de una secuencia de ARNm, que ha sufrido diversos procesos, siguiendo las reglas establecidas en el código genético universal.

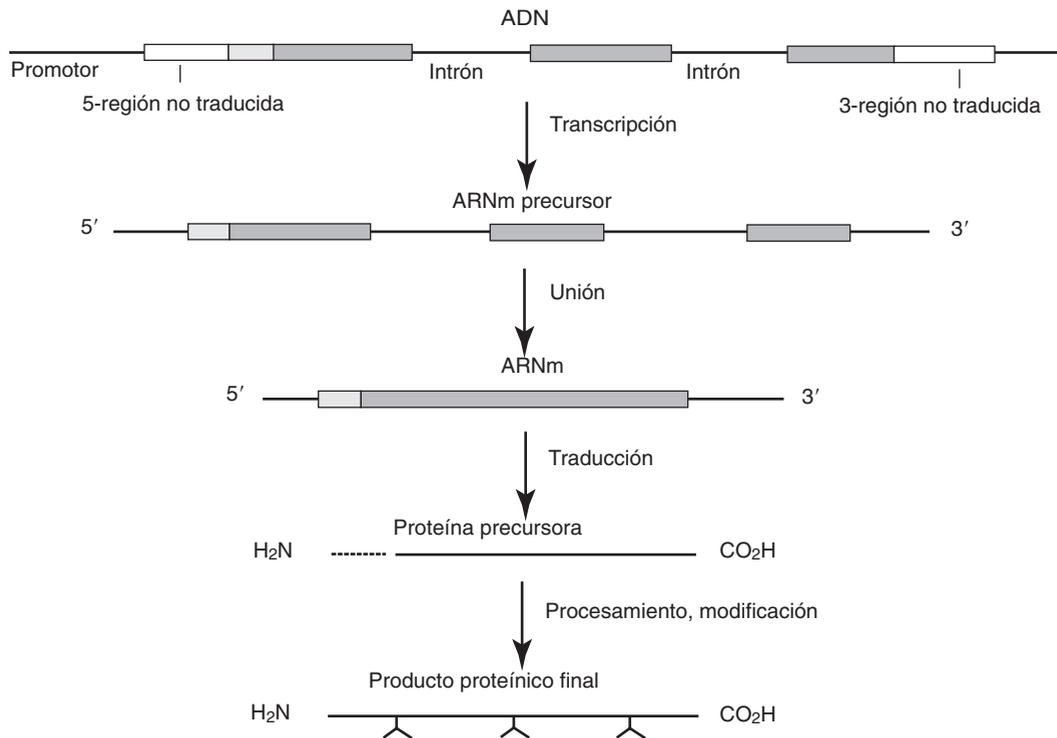


Figura 3.3 Esquema de la traducción de una proteína a partir de ADN y ARN.⁹⁴

Sólo existen cuatro nucleótidos en el ADN, cada uno de ellos se transcribe en un nucleótido concreto en el ARN, y existen 20 aminoácidos. Obviamente, resulta imposible una correspondencia 1:1 entre el nucleótido y el aminoácido. En realidad, se utilizan tripletes de nucleótidos (codones) para cada aminoácido, lo cual permite 4^3 , o sea 64 combinaciones distintas, que aparecen en la siguiente figura 3.4.

		Segunda posición							
		U	C	A	G				
U	UUU	Phe	UCU	UAU	UGU	Tyr	UGC	Cys	U
	UUC								UCC
	UUA	Leu	UCA	UAA	UGA	Parada	UGA	Parada	A
	UUG								UCG
C	CUU	Leu	CCU	CAU	CGU	His	CGC	Arg	U
	CUC								CCC
	CUA	Pro	CCA	CAA	CGA	Gln	CGG	Arg	A
	CUG								CCG
A	AUU	Ile	ACU	AAU	AGU	Asn	AGC	Ser	U
	AUC								ACC
	AUA	Thr	ACA	AAA	AGA	Lys	AGG	Arg	A
	AUG <small>Met/^{comien-}_{zo}</small>								ACG
G	GUU	Val	GCU	GAU	GGU	Asp	GGC	Gly	U
	GUC								GCC
	GUA	Ala	GCA	GAA	GGA	Glu	GGG	Gly	A
	GUG								GCG

Figura 3.4 Código genético.⁹⁹

Este número es más que suficiente para codificar 20 aminoácidos, por lo que la mayoría tienen codones múltiples. Se dice que el código genético es universal debido a que todos los organismos utilizan los mismos codones para traducir sus genomas a proteínas. Las pocas excepciones están distribuidas en todos los reinos biológicos.

Traducción

La termodinámica de la formación del enlace peptídico requiere que los aminoácidos se activen antes de que puedan añadirse a una cadena polipeptídica. Esta activación se logra acoplado cada aminoácido al extremo 3' de un ARN de transferencia (ARN_t) adecuado para dar un aminoacil-ARN_t. Este acoplamiento está catalizado por enzimas específicas denominadas aminoacil-ARN_t sintetasas, cada una de las cuales reconoce un aminoácido concreto y su ARN_t adecuado. La fuente de energía libre para la reacción es la hidrólisis de ATP a AMP y pirofosfato.

En la figura 3.5 se presenta la síntesis de un polipéptido. Cada ARN_t contiene, en una región conocida como bucle del anticodón, una secuencia de nucleótidos denominada anticodón que es complementaria con el codón adecuado del mensaje. El ARN_m se ha unido a un ribosoma, los aminoacil ARN_t también se unen aquí acoplando sus anticodones a los codones correspondientes en el mensaje, tal como se muestra en la figura 3.5 (paso 1). El aminoácido transportado por cada ARN_t que entra se transfiere a la cadena peptídica en crecimiento (paso 2). A continuación se libera el primer ARN_t y el ribosoma se mueve un codón a lo largo del mensaje, permitiendo de este modo que el siguiente ARN_t llegue a su lugar transportando su aminoácido (paso 3).

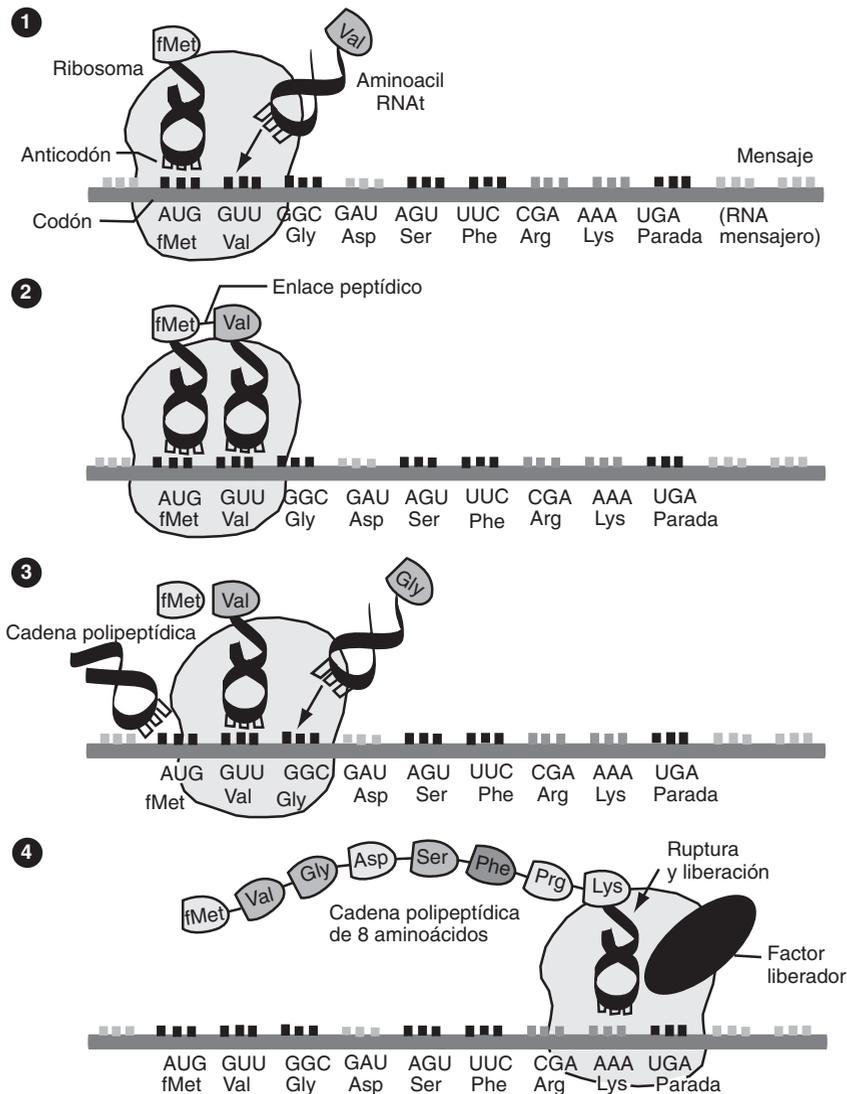


Figura 3.5 Traducción de un mensaje de ARN en una proteína.⁹⁹

Una vez más, es preciso obtener energía de la hidrólisis de ATP en cada paso del movimiento. El ribosoma se mueve a lo largo del ARN mensajero hasta que, finalmente, encuentra un codón de “parada” o de terminación; en este punto se libera la cadena polipeptídica. El paso 4 presenta una proteína completa (aunque demasiado corta para ser real). En todas las células de cualquier tipo de organismo esta notable maquinaria traduce la información codificada en miles de genes distintos para resultar en miles de proteínas diferentes. Cuando se libera una cadena polipeptídica de un ribosoma no está necesariamente acabada. La cadena de aminoácidos (estructura primaria) debe plegarse siguiendo una estructura secundaria y posteriormente adoptar la conformación espacial más estable de acuerdo a las condiciones en que se encuentre, es decir, debe adoptar una estructura terciaria correcta, y en algunos casos es preciso formar enlaces disulfuro. Es posible que el plegamiento correcto requiera de la participación de enzimas tipo chaperona. Las enzimas de la célula pueden actuar sobre algunos de los residuos de los aminoácidos para producir diferentes modificaciones como la carboxilación de los residuos de glutamato o la eliminación de la Met N-terminal (todas las proteínas en el codón de “parada” o de terminación adicionan una Met). También puede sufrir una fragmentación proteolítica específica para acortar la longitud de la cadena. La información de una secuencia dicta el modo en que la proteína se pliega formando una estructura en tres dimensiones. A su vez, este plegamiento determina la función de la proteína, el modo en que interactúa con las moléculas pequeñas y los iones, con otras proteínas y con sustancias como los ácidos nucleicos, los hidratos de carbono y los lípidos.

3.2.2 Estereoquímica de los α -Aminoácidos

Las fórmulas representadas en 2-D (figura 3.2) no evidencian algunas de las características importantes de la estructura. Los enlaces alrededor del carbono son tetrahédricos y se visualizan de forma más realista en las representaciones tridimensionales de las figuras 3.6a y 3.6b.

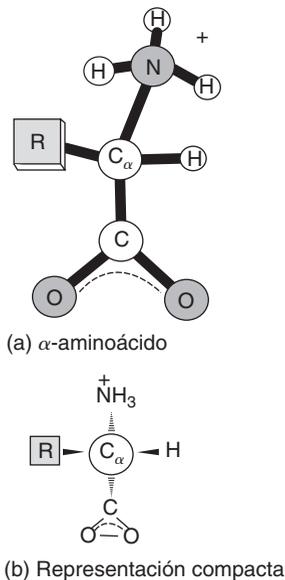


Figura 3.6 Representaciones tridimensionales de los α -aminoácidos.⁹⁹

En la figura 3.6b, los triángulos sólidos representan enlaces que sobresalen de la página, mientras que los que están en forma de rayas representan enlaces que se extienden hacia el fondo de la página. Un átomo de carbono con cuatro sustituyentes distintos forma una molécula asimétrica, y se le llama carbono quiral o centro de quiralidad, es decir, forma un estereocentro o, simplemente, un carbono asimétrico. Si una molécula contiene un carbono de este tipo, existen dos estereoisómeros distinguibles que son imágenes especulares que no se pueden superponer y se denominan enantiómeros. Los enantiómeros L- y D- pueden distinguirse entre sí experimentalmente debido a que sus soluciones rotan el plano de luz polarizada en direcciones opuestas: los enantiómeros se llaman a veces isómeros ópticos.

3.2.3 Clasificación de los aminoácidos

La diversidad de cadenas laterales de las proteínas les permite exhibir una enorme variedad de estructuras y propiedades. Por lo anterior, algunas de las clasificaciones se superponen, ya que hay aminoácidos que caen en una o más de ellas como se describe a continuación (cuadro 3.2):

Gly es un aminoácido particular, ya que su grupo R es un -H y es el único de los 20 aminoácidos que **no tiene carbono quiral**. Con la más pequeña de las cadenas laterales presenta el menor de los impedimentos estéricos y vuelve a la cadena polipeptídica más flexible. Es el más barato de los aminoácidos y puede sintetizarse fácilmente.

Ala es el siguiente aminoácido en términos de peso molecular; si se considera que tiene un metilo como sustituyente resulta ligeramente más hidrofóbico que la glicina. Los **aminoácidos ramificados Val, Leu e Ile**, presentan barreras a la rotación en la cadena polipeptídica porque sus cadenas laterales son más abultadas, dando más rigidez a la cadena. **Phe, Trp y Tyr** son los **aminoácidos aromáticos** y cuentan con cadenas laterales altamente hidrofóbicas, aunque **Tyr** resulta **más polar** que los otros por su grupo -OH. Podría pensarse que su comportamiento frente al medio acuoso, en el que normalmente se encuentran las proteínas, los fuerzan a colocarse en el interior de las moléculas para minimizar su exposición al medio, que sería termodinámicamente inconveniente. Éste no es el caso de los **aminoácidos polares**, que llevan una relación termodinámicamente favorable con el agua del medio. Así, entonces se tiene que **Cys, Ser, Thr, Asn, Gln** y aún **Tyr** pueden formar fácilmente puentes de hidrógeno en el medio y, por lo tanto, tienden a situarse en el exterior de las moléculas. Este grupo de aminoácidos es de suma importancia para la estructuración tridimensional de las proteínas. Los **aminoácidos** capaces de mostrar una **carga formal** son **Asp y Glu**, con cargas negativas, y **Arg, Hys y Lys** con **carga positiva**. Son cruciales para la formación de interacciones electrostáticas o puentes salinos, una de las interacciones no covalentes importantes para la estructuración de las proteínas. Por último, se encuentra **Pro** cuyo **amino** no está libre, sino que se encuentra involucrado **en un heterociclo**, colocándose en un ángulo diferente al resto de los aminoácidos en la cadena polipeptídica; al presentarse en una secuencia, la cadena se dobla formando una vuelta o un codo, lo que interrumpe cualquiera de las estructuras secundarias que pudieran formarse en la proteína.

La idea de que los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran acomodados preferentemente al interior de la molécula, así como los polares y cargados hacia el exterior no es una regla estricta cuando se encuentran ya en la cadena polipeptídica: la conformación tridimensional impone arreglos y acomodados, puesto que se trata de una estructura cooperativa, resultando algunos aminoácidos hidrofóbicos en la superficie y algunos cargados y polares en el interior, y ambos deben relacionarse con el agua de una u otra manera.

3.2.4 Reactividad química

Cada aminoácido presenta una reactividad de acuerdo a la naturaleza de su cadena lateral, y se refleja en la estabilidad o la reactividad de las proteínas. A medida que se visualiza de izquierda a derecha en la fila superior de la figura 3.2, el grupo R se extiende más y se hace más hidrófobo. **Ile**, por ejemplo, tiene una tendencia mucho mayor que **Gly** al pasar del agua a un disolvente de naturaleza hidrocarbonada. Los aminoácidos más hidrófobos, como **Ile**, se encuentran normalmente en el interior de las moléculas proteínicas, donde están alejados del agua. **Pro** comparte muchas propiedades con los aminoácidos alifáticos. Sin embargo, la rigidez del anillo, en comparación con la flexibilidad de la mayoría de las cadenas laterales dificulta el plegamiento normal en la proteína como se mencionó arriba. El anillo imidazol de **His** pierde su protón a un pH de aproximadamente 6. Dado que la cadena lateral de la histidina puede intercambiar protones cerca del pH fisiológico, suele participar a menudo en la catálisis enzimática que requiere transferencia de protones. **Lys** y **Arg** son considerados **aminoácidos básicos**, ya que sus cadenas laterales están siempre cargadas positivamente en condiciones fisiológicas. Son fuertemente polares y en consecuencia suelen hallarse en las superficies exteriores de las proteínas, donde pueden hidratarse por el entorno acuoso que les rodea. Los aminoácidos con cadenas laterales que contienen hidroxilo o azufre, donde se sitúan **Ser**, **Cys**, **Thr** y **Met**, debido a que sus cadenas laterales son débilmente polares, y en general más hidrófilos que sus análogos alifáticos, a pesar de que **Met** presenta un grado de hidrofobicidad por su anillo aromático. El tioéter de Met es propenso a transformaciones de oxidación-reducción. En este grupo puede destacarse **Cys** en dos aspectos. En primer lugar, la cadena lateral puede ionizarse a pH elevado, en segundo lugar, puede producirse una oxidación entre pares de cadenas laterales de Cys para formar un enlace disulfuro. El producto de esta oxidación recibe el nombre de **cistina**. No se ha incluido entre los 20 aminoácidos porque la cistina se forma siempre por oxidación de dos cadenas laterales de cisteína y no está codificada por el ADN. La presencia de estos enlaces disulfuro entre los residuos de **Cys** en las proteínas suele desempeñar un papel estructural importante para la estructura secundaria. **Phe**, junto con los aminoácidos alifáticos **Val**, **Leu** e **Ile**, resultan los aminoácidos más hidrófobos. **Tyr** y **Trp** también presentan un carácter hidrófobo atenuado por los grupos polares de sus cadenas laterales; además **Tyr** puede ionizarse a pH elevado. Los aminoácidos aromáticos, como la mayoría de los compuestos que presentan anillos conjugados, muestran una fuerte absorción de luz en la región del espectro ultravioleta cercano. Esta absorción se usa con frecuencia para la detección analítica de las proteínas a 280 nm.

Asp y **Glu** son los únicos aminoácidos con cargas negativas a pH 7. En la figura 3.2 están representados en las formas aniónicas. Los valores de pKa de los aminoácidos ácidos son tan bajos (cuadro 3.1) que incluso cuando los aminoácidos se incorporan a las proteínas la carga negativa de la cadena lateral se conserva en condiciones fisiológicas. Por lo tanto, suele denominarse a estos residuos de aminoácidos aspartato y glutamato. Los ácidos aspártico y glutámico están acompañados por sus amidas correspondientes, **Asn** y **Gln**. A diferencia de sus análogos ácidos, Asn y Gln tienen cadenas laterales sin carga, aunque son claramente polares. Como los aminoácidos básicos y los ácidos también son claramente hidrófilos y tienden a encontrarse en la superficie de las moléculas de proteína en contacto con el agua que las rodea.

El cuadro 3.2 resume las características anteriormente mencionadas e indicaciones acerca de su carácter nutricional de aminoácidos indispensables o no indispensables para el desarrollo de los seres humanos.

En la sección 3.7 se revisan los cambios que le ocurren a las proteínas que se someten a distintos tratamientos y que se reflejan en una mejoría o en una pérdida de su valor nutritivo y de sus pro-

propiedades funcionales; estas transformaciones se refieren precisamente a la sensibilidad y a la reactividad de cada aminoácido.

En el cuadro 3.2 aparece un listado de los 20 aminoácidos, de forma que se describen sus distintas características.

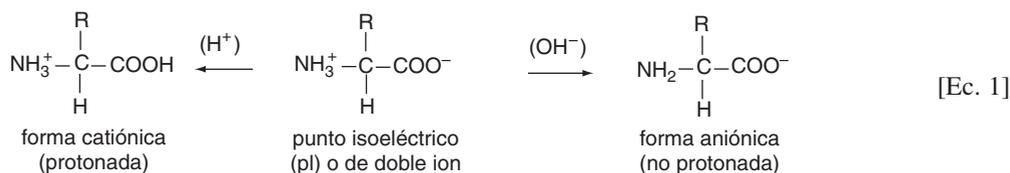
CUADRO 3.2 Clasificación de los aminoácidos con base en diferentes características ¹⁰³						
	Hidrófilo	Hidrófobo	Ácido	Básico	Indispensable	No indispensable
Alanina		X				X
Arginina	X			X	X ^a	
Asparagina	X					X
Ácido aspártico	X		X			X
Cisteína	X					X
Ácido glutámico	X		X			X
Glutamina	X					X
Glicina	X					X
Histidina	X			X	X ^a	
Isoleucina		X			X	
Leucina		X			X	
Lisina	X			X	X	
Metionina		X			X	
Fenilalanina		X			X	
Prolina		X				X
Serina	X					X
Treonina	X				X	
Triptofano		X			X	
Tirosina	X					X
Valina		X			X	

^aIndispensable para niños, pero no para adultos.

3.2.5 Propiedades ácido-base

Los aminoácidos presentan características que se deben fundamentalmente a su naturaleza iónica anfotérica ácido-base. La palabra anfótero proviene del griego *anfi*, que significa ambos, por lo que a estos compuestos también se les conoce como sustancias anfifílicas, anfólitos o electrolitos anfóteros. Su estructura iónica se confirma por sus puntos de fusión o de descomposición que son relativamente elevados (> 200°C) o por su solubilidad en agua, que es mayor que en disolventes polares, ambas propiedades típicas de sustancias estabilizadas por fuerzas de atracción entre grupos de carga opuesta, como ocurre con los cristales de sales, por ejemplo el NaCl. Además, tienen constantes dieléctricas elevadas, y sus valores de momento dipolo son altos debido a la presencia de funciones negativas y positivas dentro de una misma molécula.

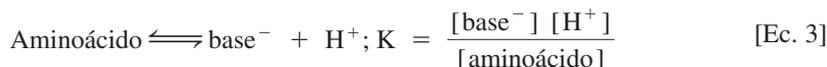
Su carácter anfotérico les confiere la capacidad de recibir y de donar electrones y alcanzar un punto isoeléctrico (pI) cuando presentan el mismo número de cargas positivas y negativas, por lo que su carga neta es cero. Los aminoácidos pueden tener, por lo tanto, tres estados que dependen del pH: a $\text{pH} < \text{pI}$ se encuentran en forma protonada o catiónica; en el pI su carga es cero, y a $\text{pH} > \text{pI}$ adquieren una carga negativa o aniónica. Es decir, no existe un pH en el cual estos anfóteros estén completamente ausentes de cargas eléctricas, ya que las presentan aun en el pI. En cualquiera de estos tres estados pueden ejercer fuerzas electrostáticas. El cuadro 3.1 muestra los valores del punto isoeléctrico de los aminoácidos.



La ionización de los aminoácidos es similar a la de cualquier otra molécula, y por lo tanto sigue la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{\text{forma no protonada (base)}}{\text{forma protonada (ácido)}} \quad [\text{Ec. 2}]$$

donde pK, por definición, es el logaritmo negativo de la constante de disociación (K) del grupo ionizable:



Los valores del pK de las distintas funciones ionizables de los aminoácidos se incluyen en el cuadro 3.1. Por ejemplo, el pK del carboxilo de la glicina es de 2.34, ya que a valores de pH menores de 2.34 este grupo se encuentra protonado como COOH, y que a pH mayores se encuentra como COO⁻. El pK del amino es de 9.78, ya que a $\text{pH} < \text{pK}$ toma la forma NH₃⁺ y a $\text{pH} > \text{pK}$, aparece como NH₂.

Además de los carboxilos y los aminos, otros grupos también ejercen una influencia en el comportamiento ácido-base de los aminoácidos: el imidazol de la histidina, el ε-amino de la lisina, el β-carboxilo del ácido aspártico, el sulfhidrilo de la cisteína, el γ-carboxilo del ácido glutámico, el guanidino de la arginina y el hidroxilo fenólico de la tirosina.

El punto isoeléctrico de los compuestos que contienen sólo dos grupos ionizables, un carboxilo y un amino, se puede calcular a partir de sus respectivos valores de pK:

$$\text{pI} = \frac{\text{pK amino} + \text{pK ácido}}{2} \quad [\text{Ec. 4}]$$

En la figura 3.7 se muestra la curva de valoración de la alanina, en la que se aprecia fácilmente el pI y los pK de los grupos carboxilo y amino al igual que sus formas aniónica y catiónica, en un intervalo de pH de 1 a 13. En este caso, la curva es muy sencilla debido a que se trata de un aminoácido con una estructura química simple. Ésta cambia considerablemente en aminoácidos más complejos, como los aromáticos, los ácidos o los básicos. La valoración de los péptidos y de las proteínas resulta aún más difícil debido al gran número de aminoácidos ionizables que contienen, los que además pueden interactuar con diferentes iones, o estar “enterrados” en el interior de la molécula y no estar disponibles para la valoración.

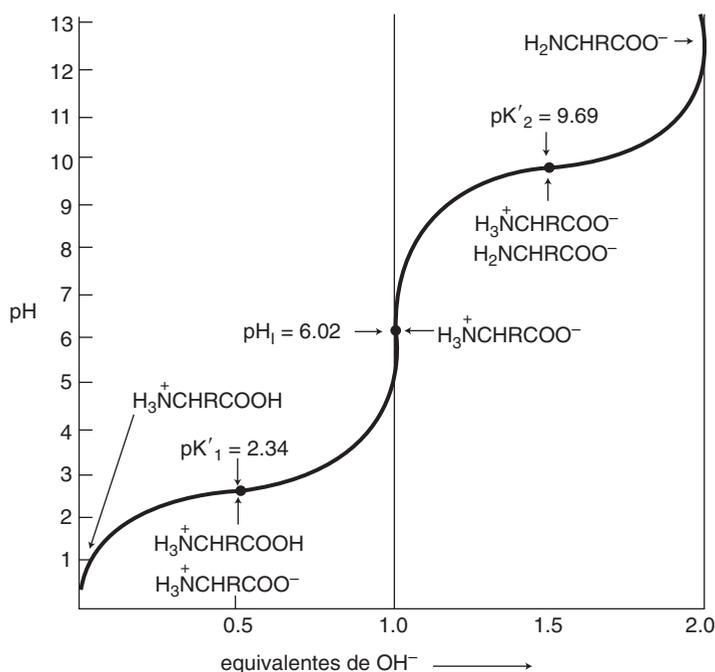


Figura 3.7 Curva de valoración de la alanina.⁷⁵

3.3 PÉPTIDOS Y ENLACE PEPTÍDICO

Los aminoácidos se unen covalentemente formando un enlace amida entre los grupos α -amino y α -carboxilo. Este enlace suele denominarse enlace peptídico, y los productos que se forman a partir de esta unión se llaman péptidos (figura 3.8).

Para la unión de dos aminoácidos, por ejemplo Gly más Ala, el producto es un **dipéptido** denominado glicil-alanina. La reacción puede considerarse una simple eliminación de una molécula de agua entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del otro. En la unión anterior se deja aún un grupo $-\text{H}_3\text{N}^+$ disponible en un extremo del dipéptido, y un grupo $-\text{COO}^-$ sin reaccio-

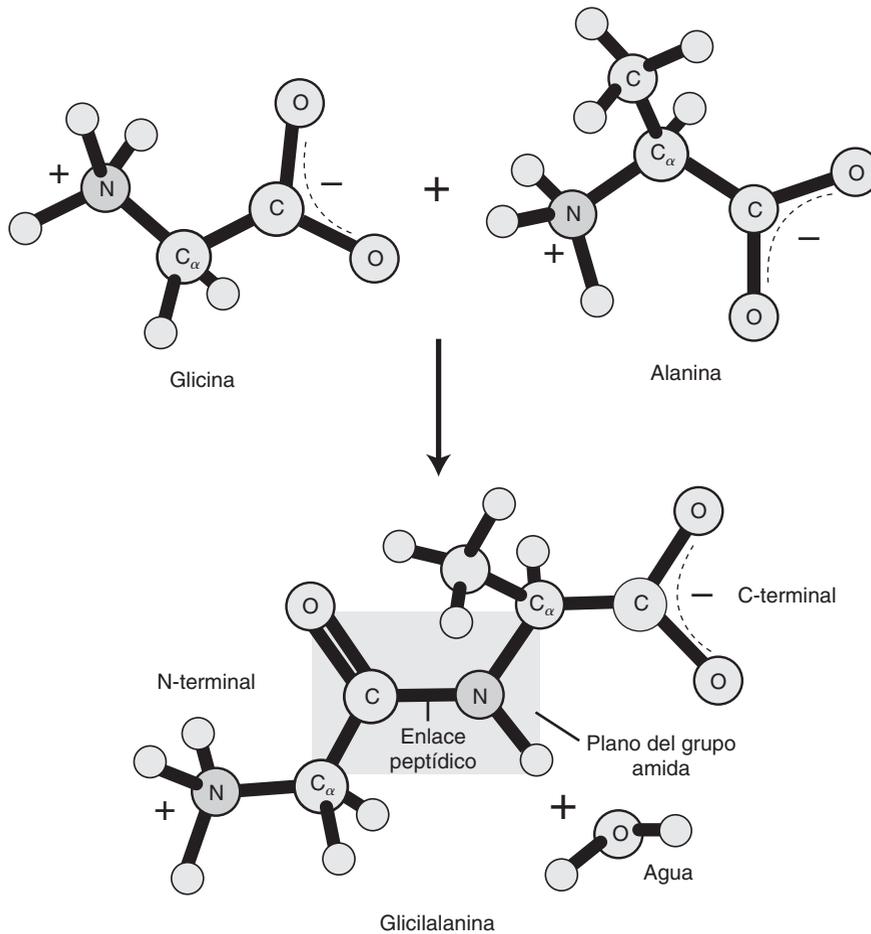


Figura 3.8 Formación de un péptido.⁹⁹

nar en el otro. En consecuencia, la reacción podría continuar añadiendo, por ejemplo, Glu a un extremo y Lys al otro para producir un tetrapéptido (figura 3.9).

Cada vez que se añade un aminoácido a la cadena debe eliminarse una molécula de agua. La porción de cada aminoácido que permanece en la cadena se denomina residuo de aminoácido como se mencionó en secciones anteriores. Colectivamente, las cadenas que contienen pocos residuos de aminoácidos se denominan oligopéptidos y una cadena más larga, se denomina polipéptido. La mayoría de los oligopéptidos y los polipéptidos conservan un grupo amino que no ha reaccionado en un extremo (amino terminal o N-terminal) y un grupo carboxilo sin reaccionar en el otro extremo (carboxilo terminal o C-terminal). Las excepciones son algunos **oligopéptidos cíclicos** pequeños, en los que se han unido los N-terminales y los C-terminales. Además, muchas proteínas tienen los N-terminales bloqueados por grupos N-formil o N-acetil, y unos pocos tienen los carboxilos C-terminales que se han modificado a amidas. La secuencia de un oligopéptido o polipéptido se escribe mediante

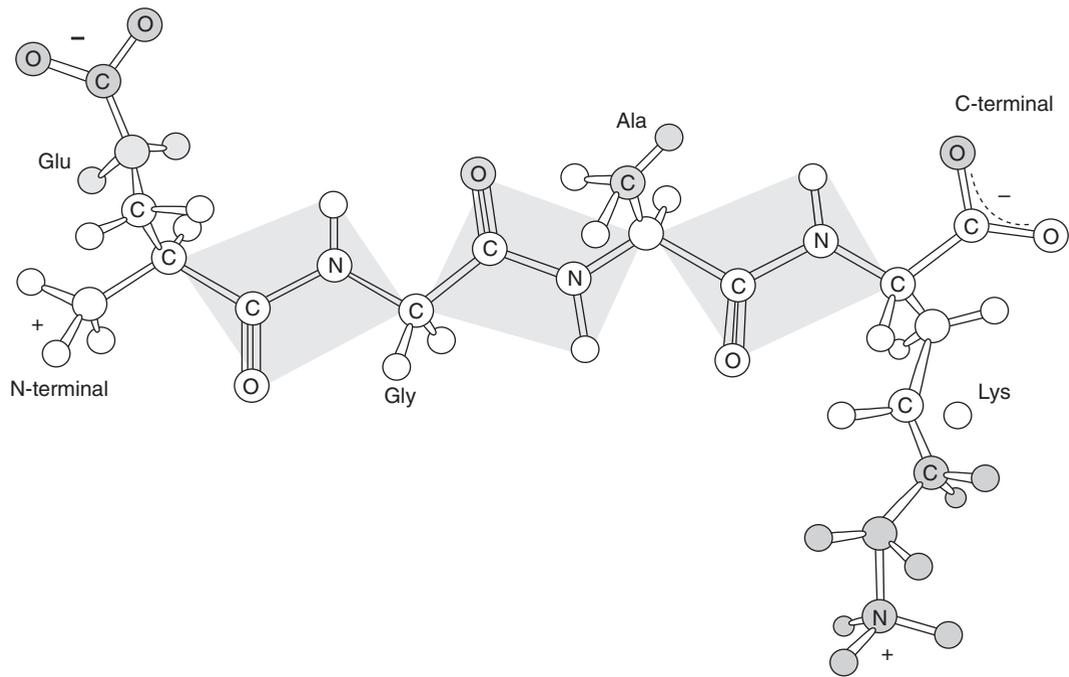


Figura 3.9 Estructura de un tetrapéptido.⁹⁹

las abreviaturas de los aminoácidos, de tres letras o una letra, convencionalmente con N-terminal a la izquierda y C-terminal a la derecha.⁹⁹

Ejemplos de péptidos en alimentos. Varios péptidos tienen funciones biológicas importantes: la anserina (β -alanil-1-metil-L-histidina) y la carnosina (β -alanil-L-histidina) se encuentran en alta concentración en diferentes tejidos animales con funciones de amortiguador de pH. En el pescado es más abundante la anserina en tanto que la carnosina abunda en el músculo de mamíferos, por lo que en un tiempo se utilizó el análisis por HPLC de estos dipéptidos para determinar el tipo de carne utilizada en un alimento (figura 3.10).

Otro péptido es el glutatión (γ -glutamilcisteílglicina) (figura 3.11) integrado por un residuo de ácido glutámico, cuyo carboxilo γ , en lugar del α de los enlaces peptídicos normales, se une a la cisteína y ésta a su vez a la glicina. Se encuentra en papas, frutos cítricos, uvas y en sangre; permite la desintoxicación de muchas sustancias a través de la enzima glutatión-S-transferasa, y se adiciona a los derivados cárnicos que serán curados ya que desempeña un papel muy importante en la transformación de los nitritos en nitrosomioglobina característica del color de los embutidos curados. Su degradación térmica produce compuestos que recuerdan el aroma de la carne, por lo que además se ha empleado como saborizante en aplicaciones cárnicas.

Desde luego existen muchos más péptidos en la naturaleza, algunos cumplen la función biológica de hormona, como es el caso de la oxitocina y la vasopresina.

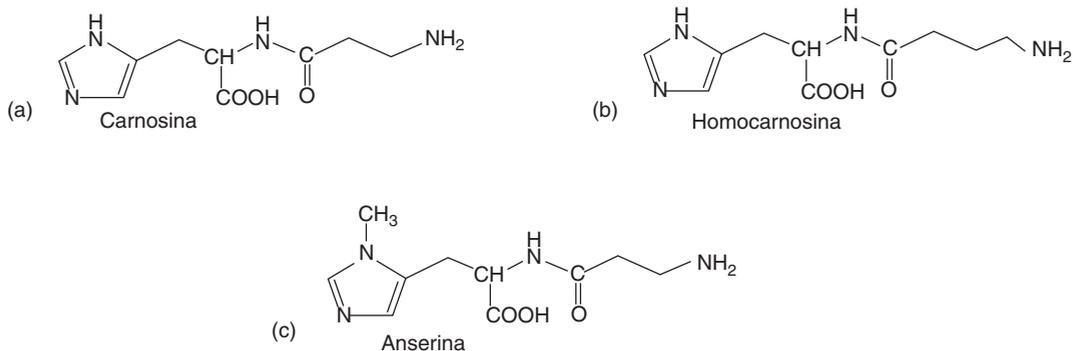


Figura 3.10 Estructuras de (a) carnosina, (b) homocarnosina y (c) anserina.

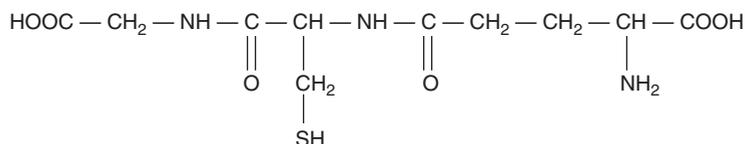


Figura 3.11 Estructura del glutatión.

3.3.1 Estabilidad y formación del enlace peptídico

Los análisis de difracción de rayos X de las proteínas han demostrado que el enlace peptídico tiene un carácter parcial de doble ligadura por la resonancia entre los átomos O-C-N (figura 3.12).

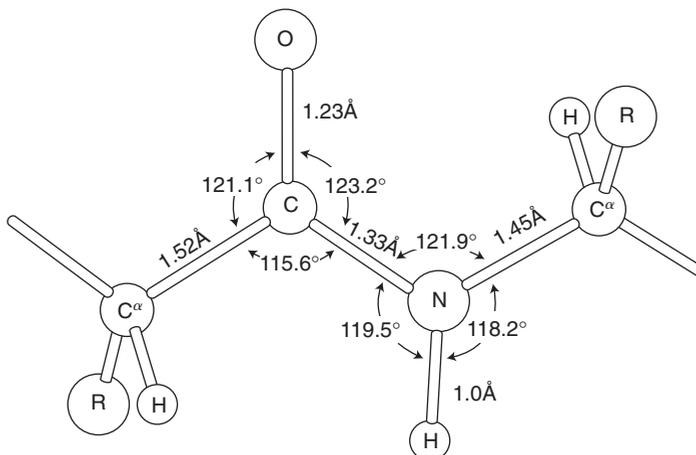


Figura 3.12 Geometría del enlace peptídico.¹³³

Siendo el enlace C-N de las proteínas más corto que el de otros compuestos orgánicos e inorgánicos semejantes, que además provoca que la unión peptídica no pueda rotar libremente, lo que limita su libertad de movimiento en la cadena polipeptídica (figura 3.13).

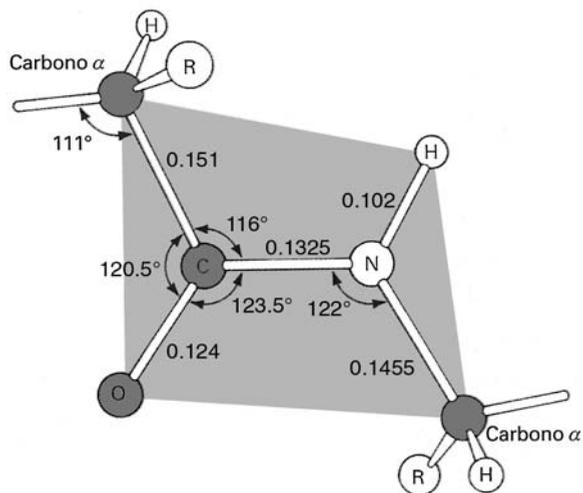


Figura 3.13 Estructura del enlace peptídico.⁹⁹

De hecho, los átomos O, C, N, H son casi coplanares. El enlace peptídico puede considerarse un híbrido de resonancia de dos formas (figura 3.14a):

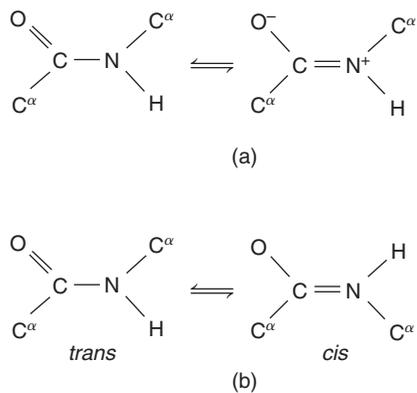


Figura 3.14 Formas coplanares en resonancia y formas *trans* y *cis* del enlace peptídico.

El grupo de átomos alrededor del enlace peptídico puede darse en dos configuraciones posibles, *trans* y *cis*. Normalmente son de la configuración *trans*, ya que la *cis* es poco estable, sobre todo cuando se trata de aminoácidos con R voluminosos (figura 3.14b).

La cadena polipeptídica en cada residuo tiene un potente donador para formar puentes de hidrógeno: (–NH–) y un importante aceptor de H: (–CO–), crucial para la estructuración tridimensional de las proteínas (figura 3.15). Los otros enlaces de la cadena C–C y C–N son normales. La cadena no es muy reactiva, excepto por su amino y carboxilo terminales.

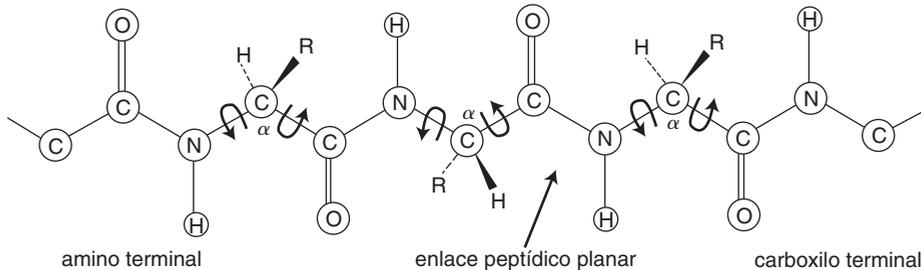


Figura 3.15 Enlaces peptídicos que muestran que sólo el C α tiene posibilidad de rotación.

Los seis átomos del enlace peptídico (figura 3.13) son coplanares, es decir, se localizan en un solo plano que le da rigidez y estabilidad a la estructura debido a la resonancia y limita las posibilidades de rotación o de flexión, por lo tanto, el número de formas estructurales que pueden adquirirse es reducido. Dichas restricciones son aún más notorias cuando los grupos R de las cadenas laterales presentan impedimentos estéricos. Por todo lo anterior, se concluyó que para obtener una mayor estabilidad, los polipéptidos requieren coplanaridad de los seis átomos que integran el enlace peptídico y para inducir una máxima interacción por puentes de hidrógeno entre ellos se requiere colinearidad.¹⁷³

La formación de un enlace peptídico en un entorno acuoso no está favorecido termodinámicamente, ya que el cambio de energía libre de esta reacción a temperatura ambiente en solución acuosa es de aproximadamente +10kJ/mol. En realidad la reacción favorecida en estas condiciones es la hidrólisis del enlace peptídico (figura 3.16).

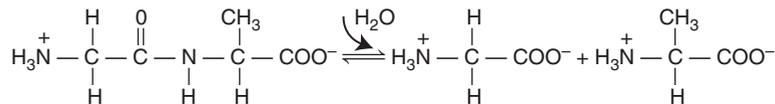


Figura 3.16 Hidrólisis del enlace peptídico.

El equilibrio se encuentra muy desplazado hacia la derecha, sin embargo, la reacción sin catalizar es sumamente lenta. Como los polinucleótidos, los polipéptidos son metaestables, sólo se hidrolizan rápidamente cuando están presentes catalizadores (figura 3.17).

La hidrólisis peptídica puede catalizarse de distintas maneras. Un método general, que fragmenta todos los enlaces peptídicos, consiste en calentar la proteína en un ácido mineral fuerte (normalmente HCl 6 M). Se logra una hidrólisis más específica mediante **enzimas proteolíticas** o **proteasas**. Mu-

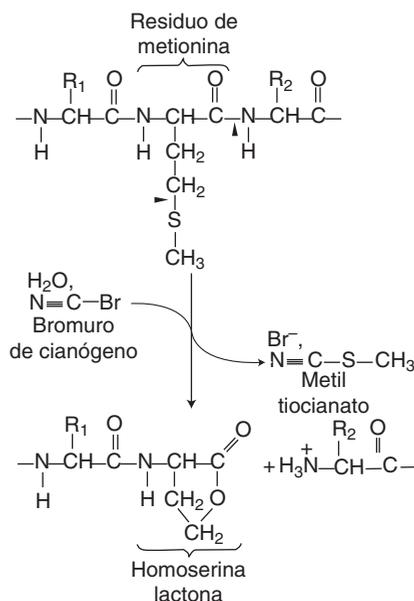


Figura 3.17 Hidrólisis peptídica con bromuro de cianógeno.⁹⁹

chas de estas enzimas son específicas con relación a los enlaces que fragmentan; algunas se secretan al tracto digestivo de los animales, donde fragmentan las proteínas para su posterior digestión; otras, como la papaína, se encuentran en algunos tejidos vegetales. La existencia de un conjunto de tales enzimas, con sitios de corte específico, es útil en bioquímica debido a que permite la fragmentación de polipéptidos de un modo bien definido. Una reacción no enzimática que rompe un enlace peptídico específico utiliza el reactivo bromuro de cianógeno ($\text{BrC}\equiv\text{N}$) que rompe específicamente el enlace peptídico en el lado del carboxilo de los residuos de Met (ver la figura 3.17).

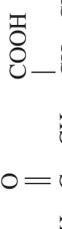
3.4

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

Los grupos amino, carboxilo de los aminoácidos libres y los sulfhidrilo, fenólico, hidroxilo, tioéter, imidazol y guanidino de los grupos R, en las proteínas son capaces de reaccionar químicamente con otras moléculas orgánicas.

La inestabilidad química de péptidos y proteínas ha sido revisada exhaustivamente,¹³⁷ y las reacciones típicas de las cadenas laterales se presentan en el cuadro 3.3. Algunas de estas reacciones se utilizan en la industria alimentaria para modificar las propiedades de hidrofobicidad e hidrofiliidad, y por consiguiente, las propiedades funcionales de las proteínas y péptidos. Asimismo es posible utilizarlas para cuantificar aminoácidos o residuos específicos en las proteínas, según se indica también en el cuadro 3.3. Por ejemplo las reacciones de los aminoácidos con la ninhidrina, el o-ftalaldehído, o con fluorescamina son utilizados regularmente en la cuantificación de aminoácidos.

CUADRO 3.3 Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas²⁸

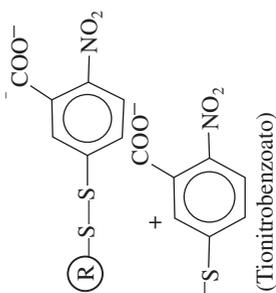
Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto	Comentarios
A. Grupos amino			
1. Alquilación reductiva	HCHO, NaBH ₄ (formaldehído)	$\text{R}-\text{NH} \begin{matrix} + \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	Útil para marcaje radiactivo de proteínas
2. Guanidación	$\text{NH}=\text{C}-\text{NH}_2$ (O-metilisourea) pH 10.6, 4°C por 4 días Anhídrido acético	$\text{R}-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}_2^+$	Convierte la cadena lateral de lisina en homocisteína
3. Acetilación	Anhídrido succínico	$\text{R}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$	Elimina carga (+)
4. Succinilación	Anhídrido succínico	$\text{R}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	Introduce carga (-) en los residuos de lisina
5. Tiolación	COOH  (Ácido tioparacético) 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzoceno (FDNB)	$\text{R}-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$	Elimina carga (+) e inicia grupo tiol en los residuos de lisina
6. Arilación	Ácido 2,4,6-trinitrobenzoceno sulfónico (TNBS)		Usado para la determinación de grupos amino
			El coeficiente de extinción es $1.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 367 nm; usado para determinar residuos de lisina reactiva en proteínas

CUADRO 3.3 (continuación)

Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto	Comentarios
7. Desaminación	1.5 M NaNO ₂ en ácido acético, 0°C	R—OH + N ₂ + H ₂ O	Hidrólisis del éster sucede a pH > 6.0
B. Grupos carboxilo	1. Esterificación	Ⓡ—COOCH ₃ + H ₂ O	Hidrólisis del éster sucede a pH > 6.0
2. Reducción	Borohidruro en tetrahidrofurano, ácido trifluoroacético	Ⓡ—CH ₂ OH	Sucede sólo con aminoácidos, no con proteínas
3. Descarboxilación	Ácido, álcali, tratamiento térmico	R—CH ₂ —NH ₂	Introduce grupo amino
C. Grupo sulfhídrido	1. Oxidación	Ⓡ—CH ₂ —SO ₃ H Ⓡ—CH ₂ —S—(CH ₂) ₂ —NH ₃ ⁺	Introduce grupo amino
2. Bloqueo	CH ₂ —CH ₂ NH (etilenimina) ácido yodoacético CH—CO CH—CO (Anhídrido maleico) <i>p</i> -mercuribenzoato	Ⓡ—CH ₂ —S—CH ₂ —COOH Ⓡ—CH ₂ —S—CH ₂ —COOH CH ₂ —COOH Ⓡ—CH ₂ —S—Hg—C ₆ H ₄ —COO ⁻ Ⓡ—CH ₂ —S—CH—CO—NH CH ₂ —CO	Introduce grupo amino Introduce dos cargas negativas por cada grupo SH bloqueado
N-Etilmaleimida			El coeficiente de extinción de este derivado a 250 nm (pH 7) es 7500 M ⁻¹ cm ⁻¹ ; esta reacción se usa para determinar contenido de SH en proteínas. Se usa para bloquear grupos SH

CUADRO 3.3 (continuación)		
Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto

Se libera una mol de tionitrobenzoato; la E_{412} de tionitrobenzoato es 13,600 $M^{-1} cm^{-1}$; esta reacción se usa para determinar grupos SH en proteínas



5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB)

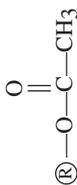
D. Serina y treonina



E. Metionina

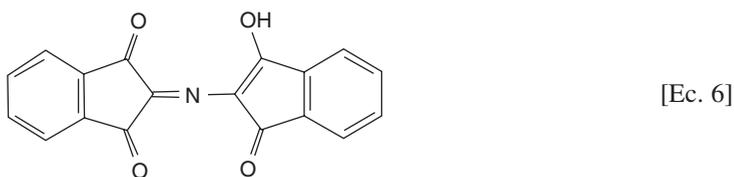
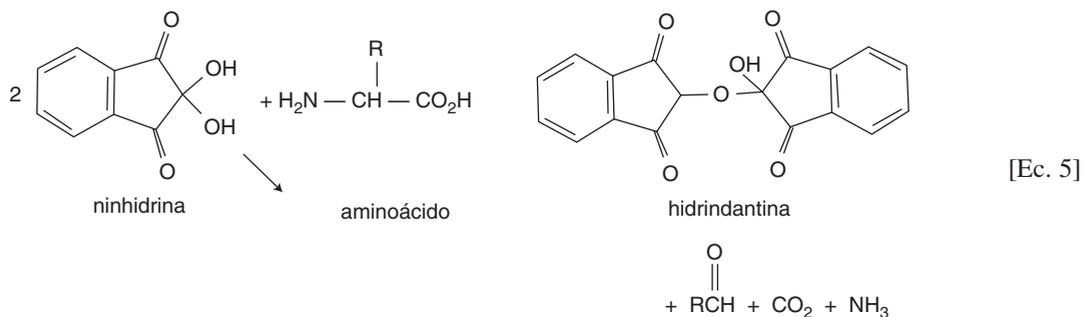


2. β -Propiolactona



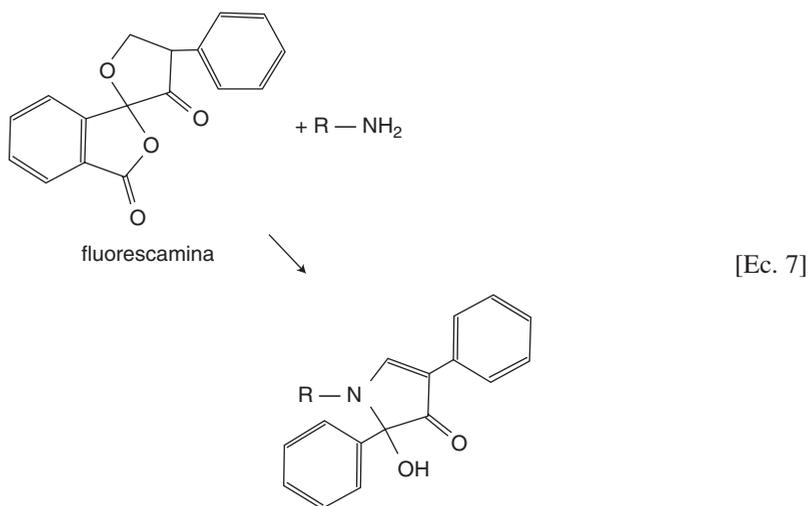
3.4.1 Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas

Reacción con Ninhidrina. Se utiliza a menudo para cuantificar aminoácidos libres, péptidos y proteínas. El aminoácido reacciona con un exceso de ninhidrina [Ec. 5], que le causa una desaminación oxidativa y la producción de amoniaco, el aldehído correspondiente, que tiene un átomo menos de carbono que el aminoácido original, CO₂ e hidrindantina que proviene de la reducción simultánea de la ninhidrina. El amoniaco liberado subsecuentemente reacciona con una molécula de hidrindantina, formando un producto color púrpura conocido como morado de Ruhemanns [Ec. 6], que tiene una absorbancia máxima a 570 nm. La prolina y la hidroxiprolina dan un producto amarillo que tiene una absorbancia máxima a 440 nm. Estas reacciones coloridas son la base para las detecciones en cromatografía en papel y de capa fina (TLC), así como para la determinación colorimétrica de aminoácidos que se utiliza en los analizadores de aminoácidos para lo cual la proteína se hidroliza primero hasta aminoácidos libres. Los aminoácidos libres son separados utilizando cromatografía de intercambio iónico/hidrofóbica. Los eluidos de las columnas reaccionan con ninhidrina y son cuantificados por medición de absorbancia a 570 y 440 nm. Este método es destructivo, así que el material detectado ya no se puede utilizar más adelante.



Reacción con fluorescamina

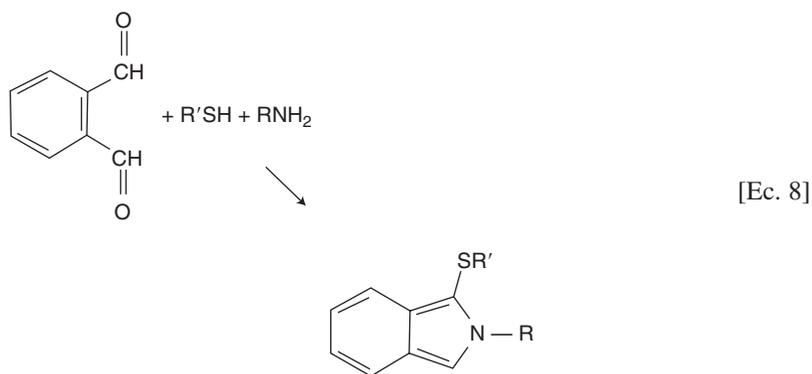
Los aminoácidos, péptidos y proteínas que contienen aminas primarias producen, con fluorescamina, un derivado altamente fluorescente con una máxima emisión a 475 nm cuando la excitación se hace a 390 nm [Ec. 7]. Este método se puede utilizar para cuantificar aminoácidos, proteínas y péptidos. Es mucho más sensible y no tiene las desventajas de la ninhidrina. El grupo amino que ha reaccionado puede ser recuperado con alto rendimiento por hidrólisis ácida y puede ser identificado por análisis subsecuentes. El exceso de fluorescamina es inestable en presencia de agua, se hidroliza a productos no fluorescentes y no reactivos, lo que permite que los péptidos detectados con fluorescamina puedan ser analizados directamente. Otra ventaja de este reactivo es su gran sensibilidad, la cual puede ser utilizada para detectar pequeñas cantidades de proteínas más que con ninhidrina.



Reacción con Orto-ftalaldehído

La reacción de aminoácidos con O-ftalaldehído (1,2-benzeno dicarbonal) en la presencia de 2-mercaptoetanol produce un derivado fluorescente que tiene una excitación máxima a 380 nm y una emisión de fluorescencia máxima a 450 nm [Ec. 8]. Es tan sensible que es posible cuantificar aminoácidos a niveles de picomoles (10^{-12} mol).

La ninhidrina, fluorescamina y O-ftalaldehído no son específicos para proteínas porque estos reaccionan con otros grupos amino.



Análisis de los aminoácidos de las proteínas

Este análisis se efectúa por métodos de cromatografía de intercambio iónico con dos resinas, una catiónica y otra aniónica, con capacidad de separar las moléculas del aminoácido por su afinidad. El paso previo es la hidrólisis de la proteína a sus aminoácidos constituyentes, en condiciones muy drás-

ticas, tanto ácidas como alcalinas. En el primer caso se somete la proteína a una temperatura de 120°C, con HCl 6N durante 10-24 horas. En estas condiciones, los enlaces peptídicos se hidrolizan totalmente. El inconveniente de este tipo de hidrólisis es que Trp se destruye por completo probablemente por su reacción con el cloro, también se destruye un porcentaje de Ser y Thr, además Asn y Glu se desamidán generando Asp y Glu respectivamente. No se produce un alto grado de racemización, a excepción de L-Cys.⁷² Sin embargo, Cys se oxida y se destruye, por lo que debe determinarse en una hidrólisis separada, con ácido per fórmico que la convierte en ácido cistéico (Cya). La hidrólisis en medio alcalino se lleva a cabo con NaOH a temperatura de ebullición. La principal ventaja de este método es que el Trp no se destruye, pero se produce una fuerte racemización de la mayoría de los aminoácidos y la destrucción de un porcentaje de Cys, cistina, Ser, Thr, Asn, Gln y Lys. Este método se emplea más bien cuando se desea determinar Trp.

Una vez hidrolizada la muestra, se separa en los aminoácidos constituyentes. Los analizadores de aminoácidos utilizan columnas de intercambio catiónico. Las clases de resina que se usan normalmente son de poliestireno sulfonado. Este tipo de resina separa los aminoácidos de dos modos: sus cargas negativas dejan pasar los aminoácidos ácidos y retienen los básicos. El pH del amortiguador eluyente se aumenta durante la elución para facilitar la separación. En segundo lugar, la naturaleza hidrofóbica del mismo poliestireno tiende a retener los aminoácidos hidrofóbicos como la leucina y la fenilalanina. Los analizadores de aminoácidos modernos están completamente programados y llevan a cabo la separación cromatográfica de los aminoácidos y su cuantificación. Un método que aumenta en popularidad es la HPLC. Sus ventajas son la rapidez y una resolución incluso mejor. Los aminoácidos que salen de la columna se detectan con cualquiera de los tres reactivos mencionados anteriormente. En la actualidad se cuenta con un nuevo sistema de microelectroforesis y detección de fluorescencia cuya sensibilidad está en el orden de atomoles (amol, o 10^{-18} mol). Esta cantidad corresponde sólo a unos pocos miles de moléculas. De hecho, las técnicas de análisis de aminoácidos han llegado hasta el punto de que la cantidad de proteína que contiene una mancha en una electroforesis en gel bidimensional puede analizarse con facilidad. Por supuesto, estos procedimientos no son sencillos ni presentan pocos problemas, como podría deducirse a partir del comentario anterior. Algunos aminoácidos presentan problemas en la reacción con los compuestos utilizados para la detección; en particular Pro, dado que es un aminoácido cíclico, suele reaccionar de modo diferente o no reacciona en absoluto. Las reacciones de degradación de los aminoácidos mencionadas anteriormente, pueden evitarse utilizando una hidrólisis enzimática, con una mezcla de enzimas proteolíticas, en lugar de la hidrólisis ácida. Sin embargo, este método también presenta inconvenientes porque a veces es difícil lograr una hidrólisis completa y las mismas enzimas deben eliminarse antes del análisis.

En el cuadro 3.4 se muestra el contenido de aminoácidos indispensables de la proteína de ajonjolí en comparación con el patrón general de referencia basado en los requerimientos de aminoácidos esenciales de niños preescolares (2 a 5 años), la cuenta química general de la proteína de ajonjolí, requerimiento de adultos y la cuenta química correspondiente.

Cuantificación de proteínas

Existen diversos métodos para la cuantificación de las proteínas, todos ellos basados en alguna de sus propiedades típicas, como puede ser la absorbancia de los grupos aromáticos a 280 nm, la reactividad del enlace peptídico o el contenido de nitrógeno total.

CUADRO 3.4 Contenido de aminoácidos indispensables de la proteína de ajonjolí, patrón general de referencia basado en los requerimientos de aminoácidos esenciales de niños prescolares (2 a 5 años) cuenta química general de la proteína de ajonjolí, requerimiento de adultos y cuenta química correspondiente

<i>Aminoácido esencial</i>	<i>Contenido en ajonjolí</i> ($mg_{aa}/g_{proteína}$) ^a	<i>Patrón general</i> ($mg_{aa}/g_{proteína}$) ^b	<i>Cuenta química general (%)</i> ^c	<i>Requerimiento de adultos</i> ($mg_{aa}/g_{proteína}$) ^b	<i>Cuenta química para adultos (%)</i> ^d
Histidina	34	19	178.39	16	211.84
Isoleucina	46	28	163.98	13	353.18
Leucina	91	66	134.04	19	479.50
Lisina	38	58	66.31	16	240.38
Metionina y cistina	72	25	288.46	17	424.21
Fenilalanina y tirosina	105	63	166.36	19	551.62
Treonina	47	34	138.57	9	523.50
Triptófano	18	11	161.71	5	355.77
Valina	59	35	168.96	13	454.88

^a Proteína = N × 5.3. Perfil de aminoácidos determinado por el Laboratorio Silliker, Inc.

^b Fuente: FAO/WHO/UNU, 1985.

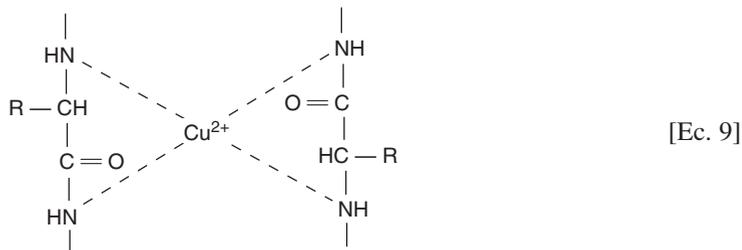
^c Calculada con respecto al patrón.

^d Calculada con respecto al requerimiento de adultos.

Absorbancia a 280 nm

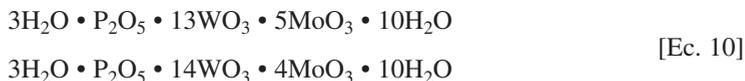
Las proteínas purificadas son fácilmente detectadas y cuantificadas por sus propiedades de absorbancia en UV a 280 nm, la que depende del número y posición de sus residuos de aminoácidos aromáticos Phe, Tyr, y Trp así como de puentes disulfuro entre los residuos de Cys; se debe conocer el coeficiente de absorción molar para poder calcular su concentración. Son los aminoácidos aromáticos Tyr, Trp y Phe los que contienen dobles ligaduras los que absorben en ultravioleta con $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 274.5, 278 y 260 nm, respectivamente. Se debe considerar que todos los aminoácidos, por su estructura química, absorben a 210 nm y se encontrarán interferencias si en la solución existen otras especies químicas que posean absorbancia en UV. Este método tiene una ventaja adicional porque la absorbancia de una proteína puede aumentar cuando se despliega, expone sitios aromáticos que en condiciones normales no absorberían a 280 nm. El desplegamiento hace posible calcular el coeficiente de absorción molar si se conoce el número de puentes disulfuro y el contenido de aminoácidos aromáticos.²⁴ Éste es el método más rápido, requiere de muy poca cantidad de proteína y no se afecta por la presencia de sulfato de amonio, utilizado frecuentemente para separar proteínas, mientras que en la mayoría de los métodos sí existe interferencia. Además la muestra no se destruye y puede ser usada en otros análisis. Tiene la limitante de que los ácidos nucleicos absorben a 260 nm, por lo que si se conoce la relación de absorción de la proteína a 280/260 nm es fácil distinguir la interferencia de ácidos nucleicos. Todas las mediciones de proteínas toman en cuenta sus características comunes, de tal manera que se obtengan respuestas generales; por ende las respuestas específicas de cada proteína dependerán de su composición de aminoácidos.¹⁵³ Con esta consideración, se utiliza generalmente tomar una proteína como la Albúmina Sérica Bovina (BSA), que es soluble en agua, para construir curvas patrón que sirvan de referencia para cuantificar otras proteínas, que serán más precisas mientras la proteína en cuestión se parezca más a la BSA.

La **reacción de biuret** es específica para la medición del enlace peptídico, por lo que sólo se recomienda para la cuantificación de proteínas, mas no de hidrolizados, a menos que se conozcan los tamaños moleculares y se adapte la proteína estándar de la curva. Se utiliza una solución diluida de sulfato cúprico en tartrato fuertemente alcalino, ésta se adiciona a la solución de proteína, resultando un compuesto de color entre púrpura y violeta que absorbe a 540 nm, obtenido probablemente por el acomplejamiento del Cu^{+2} con dos enlaces peptídicos adyacentes [Ec. 9].



Se llevan a cabo varias reacciones en condiciones alcalinas y el ión cúprico (Cu^{+2}) tiende a oxidar la cadena peptídica reduciéndose a Cu^+ . Dado que el grupo $-\text{NH}$ del enlace peptídico está involucrado en la reacción, los residuos de Pro no participan y las proteínas con alto contenido de la misma, producen respuestas bajas. La desventaja de la técnica de biuret es su baja sensibilidad, pues se requiere de 20-40 mg de proteína para una adecuada detección y existen varios pigmentos que absorben a 540 nm, longitud de onda de la medición. La presencia de NH_4^+ interfiere así mismo con la reacción. El desarrollo de colores diferente para cada proteína, y los lípidos e hidratos de carbono interfieren al formar complejos con el ión coordinado.

El ensayo clásico para medir proteínas es el **método diseñado por Lowry, Rosebrough, Farr y Randall llamado Folin-fenol**, basado en la reacción de biuret mejorada por la adición del reactivo de Folin-Ciocalteu, cuyos constituyentes activos son los ácidos mezclados fosfomolibdico-tungstíco [Ec. 10].



Esta mezcla es reducida por la proteína, a través del Cu^+ generado y la pérdida de uno o dos oxígenos de los tungstatos y molibdatos que generan un color azul con absorción máxima de 720-750 nm. La respuesta del color azul de diferentes proteínas en este ensayo es más variable que en la reacción de biuret, ya que Tyr, Trp, His y Asn son los residuos que participan en la reacción y Pro, como en el método de biuret, por su estructura cíclica evita que la cadena peptídica adyacente reaccione; este método ha sido modificado muchas veces. En general, la absorbancia se mide a 750 nm (alta sensibilidad) para proteínas concentradas y se requiere de una curva patrón que es recomendable hacer con la misma proteína que se cuantifica. La sensibilidad del método va de 0.2 a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Su principal desventaja es que varias sustancias no proteínicas (sacarosa, lípidos, amortiguadores de pH, monosacáridos y hexosaminas, sulfato de amonio, sulfhidrilos y fosfatos) interfieren produciendo un color azul o inhibiendo el desarrollo de color por la proteína.

El **método de Kjeldahl para la determinación de N total** es el más utilizado, e incluso se toma como referencia cuando se usan otras técnicas. El método no hace distinción entre el N que proviene de proteínas (de grupos amino y amida) y el no proteínico (urea, aminoácidos), lo que da lugar a errores en cálculo. El método consiste en la digestión de la muestra con H_2SO_4 y la formación de NH_4OH que es recibido en ácido para ser titulado con un álcali de concentración conocida. Los compuestos nitrogenados no proteínicos que causan una sobreestimación de la técnica son: glutatión, carnitina, carnosina, dopamina, urea, ornitina, colina y ácido aminobutírico. Deben aplicarse factores de conversión de N a proteína, que son específicos para los distintos tipos de proteínas. Se calculan al dividir 100 entre el porcentaje de N particular de la proteína en cuestión. El factor que se aplica sin discriminación es 6.25 resultante de una generalización del contenido de N de las proteínas de 16%, por lo que su factor de conversión será la $100/16 = 6.25$. Sin embargo, en términos estrictos debe calcularse el factor para cada proteína. Por ejemplo, en el caso de la leche el factor es 6.38, para algunas oleaginosas como el ajonjolí es de 5.8.⁴² El nitrógeno no proteínico puede ser analizado después de precipitar la proteína con ácido tricloroacético, con la desventaja de que pueden quedar en solución péptidos solubles, aproximadamente de 12 a 16 aminoácidos, que no se detectarían. Las desventajas del método son las siguientes: puede haber pérdidas de nitrógeno debido a la temperatura de digestión y al tipo de catalizador utilizado. Debe considerarse el N no-proteínico medido junto con el proteínico. El proceso es largo y se utilizan reactivos y condiciones un tanto peligrosas.

Métodos de tinción de proteínas

Un reactivo que se utiliza comúnmente para teñir proteínas es el azul brillante de Coomassie, en sus formas R250 y G250. Estos colorantes no reaccionan químicamente con las proteínas pero forman complejos no covalentes. Se considera que la interacción es principalmente iónica, involucrando los grupos básicos de las proteínas, por lo que el colorante no se unirá de la misma manera a todas las proteínas. Ambos colorantes son similares en estructura, pero tienen diferencias físicas y de procedimiento de tinción. El azul de Coomassie G250 se utiliza para cuantificar proteínas en solución ya que el complejo cambia sus propiedades de absorbancia: en condiciones ácidas su absorbancia máxima va de 465 a 595 nm. El azul de Coomassie R250 se utiliza principalmente para la tinción de proteínas en geles, esto hace que las proteínas queden fijas e insolubles en el gel. Es posible detectar aproximadamente $0.1 \mu\text{g}$ de proteína en geles de poliacrilamida.

Tinción con nitrato de plata

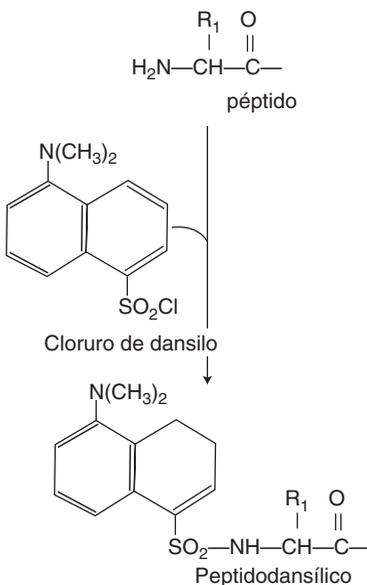
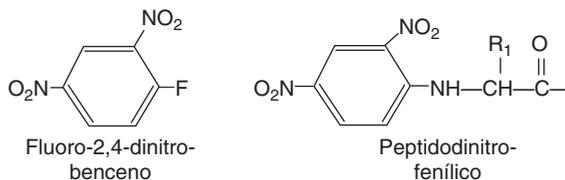
El más sensible de los reactivos para teñir proteínas fijadas en un gel o en un “blot” es la tinción de plata, el cual puede detectar menos que un nanogramo (10^{-9} g) de proteína. Se utiliza nitrato de plata en condiciones ácidas y la reacción está basada en los procesos fotográficos, donde al parecer se involucra a las cadenas laterales básicas de la proteína.

Determinación de amino y carboxilo terminales

Existen diversos métodos que requieren que ninguno de estos grupos se encuentre bloqueado. La **determinación de grupo amino** terminal involucra el marcaje químico de todos los grupos amino de la proteína, incluyendo los de Lys, para posteriormente someter a hidrólisis ácida a la proteína, a una separación por electroforesis o cromatografía en papel, para identificar a los aminoácidos que tienen

marcado el grupo α -amino. Los dos reactivos más usados son el **fluoro-2,4-dinitrobenenceno (DNF)** o reactivo de Sanger y el **cloruro de dansilo**. El α -amino derivado con DNF se colorea de amarillo vivo. El derivado del cloruro de dansilo, también llamado cloruro de dimetilaminonaftilsulfonilo, se obtiene en condiciones fuertemente alcalinas, con la ventaja de ser altamente fluorescente.^{24, 99}

La determinación de la composición proporciona una información limitada sobre una proteína, por lo que es más importante identificar la secuencia de los aminoácidos, para lo que se cuenta con dos métodos: la forma directa que consiste en llevar a cabo la secuenciación de la cadena polipeptídica en equipos automatizados llamados secuenciadores de proteínas. Por el tamaño de las moléculas, puede ser importante hidrolizarlas enzimáticamente con proteasas específicas, para posteriormente secuenciar e identificar más fácilmente porciones de 10 a 20 aminoácidos de los péptidos generados. La combinación de proteasas específicas y los péptidos generados alimentados a bases de datos que tengan la información de digestiones enzimáticas, permiten ir completando las secuencias y se ensaya el orden posible de los péptidos al compararlos con bases de datos que tengan la información de digestiones enzimáticas provenientes de proteínas cuya secuencia ha sido ya elucidada. El segundo método permite el análisis con espectrometría de masas de los péptidos generados y sus masas moleculares respectivas. El sistema más popular es el llamado "MALDI-TOF".⁹⁴



[Ec. 11]

Pehr Edman descubrió una secuencia de reacciones que permiten identificar los N-terminales y que al realizarse repetidamente permiten identificar la secuencia completa de los polipéptidos en cuestión. El reactivo utilizado por Edman es el fenilsiotiocianato que reacciona con el amino terminal para producir el feniltiocarbamilo del péptido (figura 3.18).

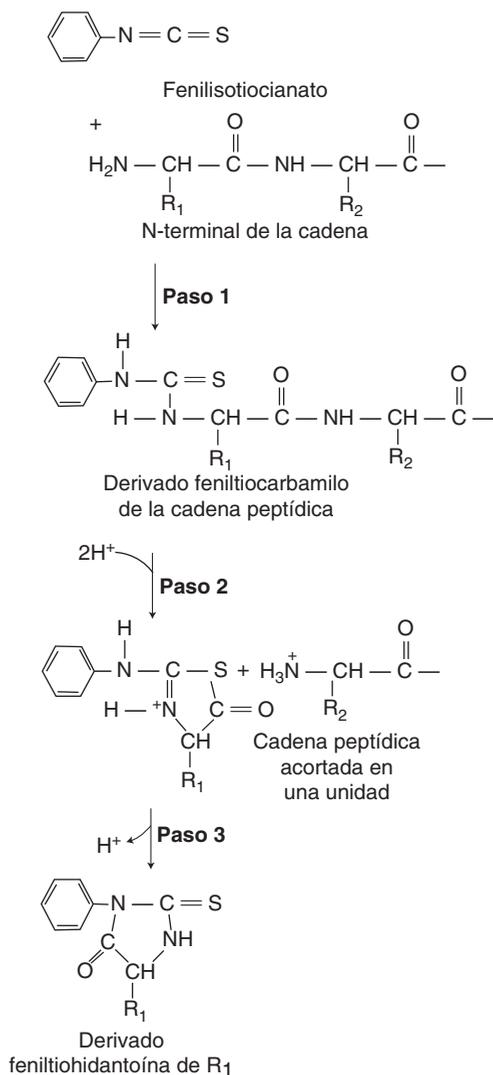


Figura 3.18 Degradación de Edman.⁹⁹

Posteriormente se trata con un ácido anhidro fuerte que rompe el enlace peptídico entre el aminoácido 1 y 2. El derivado del amino terminal se reordena para formar un derivado de feniltiohidantoína del aminoácido. De esta forma no sólo se marca el amino terminal, como sucede con el reactivo

de Sanger y el cloruro de dansilo, sino que también se acorta el polipéptido en un aminoácido. Cada aminoácido marcado se separa, y mediante la identificación secuencial de cada grupo amino terminal, es posible conocer el orden en que se encuentran los aminoácidos en una proteína, es decir, su estructura primaria, su secuencia. En el caso de una proteína desconocida que ha sido expresada, por ejemplo, por una célula modificada genéticamente, es deseable identificar su estructura primaria aplicando los métodos anteriormente citados, se recomienda identificar la secuencia de una porción de 10 a 20 aminoácidos a partir del N-terminal, de forma que puedan hacerse comparaciones contra bases de datos de esas porciones iniciales de la proteína registradas en la base como un primer indicio de su identidad. Asimismo, es posible someter a las proteínas a una hidrólisis con enzimas proteolíticas altamente específicas, para luego identificar los amino terminales de los péptidos generados, e ir armando el “rompecabezas” al compararlos con bases de datos que cuenten con información correspondiente a digestiones enzimáticas provenientes de proteínas cuya secuencia ha sido ya elucidada. Este procedimiento ha sido automatizado. El conocimiento de la secuencia de proteínas es cada vez más necesario para identificar la presencia de variantes naturales a la luz de los nuevos alimentos de origen transgénico en los cuales se debe poder identificar la proteína heteróloga ya que debe ser evaluada su seguridad para el consumo humano en los diferentes segmentos de una población en particular.

Electroforesis

Las proteínas, como ya se discutió son anfóteras debido a las cargas de algunas de sus cadenas laterales. Cuando las proteínas se someten a un campo eléctrico pueden migrar hacia el polo de carga contraria a su carga neta a un pH determinado, por un fenómeno conocido como electroforesis. La proteína se desplaza hacia el cátodo o el ánodo, dependiendo del balance global de grupos positivos y negativos a un pH determinado. La velocidad de migración está dada en función de la carga neta, y está influenciada por la forma de la proteína, sus dimensiones moleculares, la intensidad de la corriente aplicada y el material utilizado como soporte, que puede ser poliacrilamida o papel. Éste es el método analítico más ampliamente usado para la separación de proteínas y es muy útil para el análisis de proteomas. Pueden realizarse electroforesis en condiciones nativas en las que las proteínas migran conservando su diversidad y propiedades físicas, especialmente su punto isoeléctrico y peso molecular. Es posible utilizarla en una sola dimensión o en dos dimensiones (2D). Se les denomina 1D o 2D-PAGE (por sus siglas en inglés, Electroforesis en Gel de Poliacrilamida). Una vez realizadas las separaciones, generalmente se continúa con una digestión proteolítica y la separación de los fragmentos por electroelución o para su análisis por espectroscopia de masas (MS).

La PAGE puede llevarse a cabo en condiciones denaturalizantes si se utilizan tiol-reductores fuertes como mercaptoetanol y ditioneitol (DTT) y un detergente desnaturante fuerte: el dodecil sulfato de sodio (SDS) (figura 3.19).

El tratamiento con ambas sustancias las despliega y las cargas negativas conferidas por los grupos sulfato del SDS permite la migración de las moléculas hacia el ánodo, de acuerdo con su peso molecular exclusivamente. Las técnicas 2D permiten una segunda separación que discrimina proteínas que en 1D se traslapan, por ejemplo, cuando son especies moleculares múltiples, aun cuando se trate de proteínas purificadas. Para el primer paso en una 2D-SDS-PAGE se aplica una separación por carga eléctrica (isoelectroenfoque) y una segunda separación por peso molecular (Figura 3.20). Esta poderosa técnica se ha convertido en un sinónimo de Proteómica y el mejor método para la resolución de mezclas complejas de proteínas.

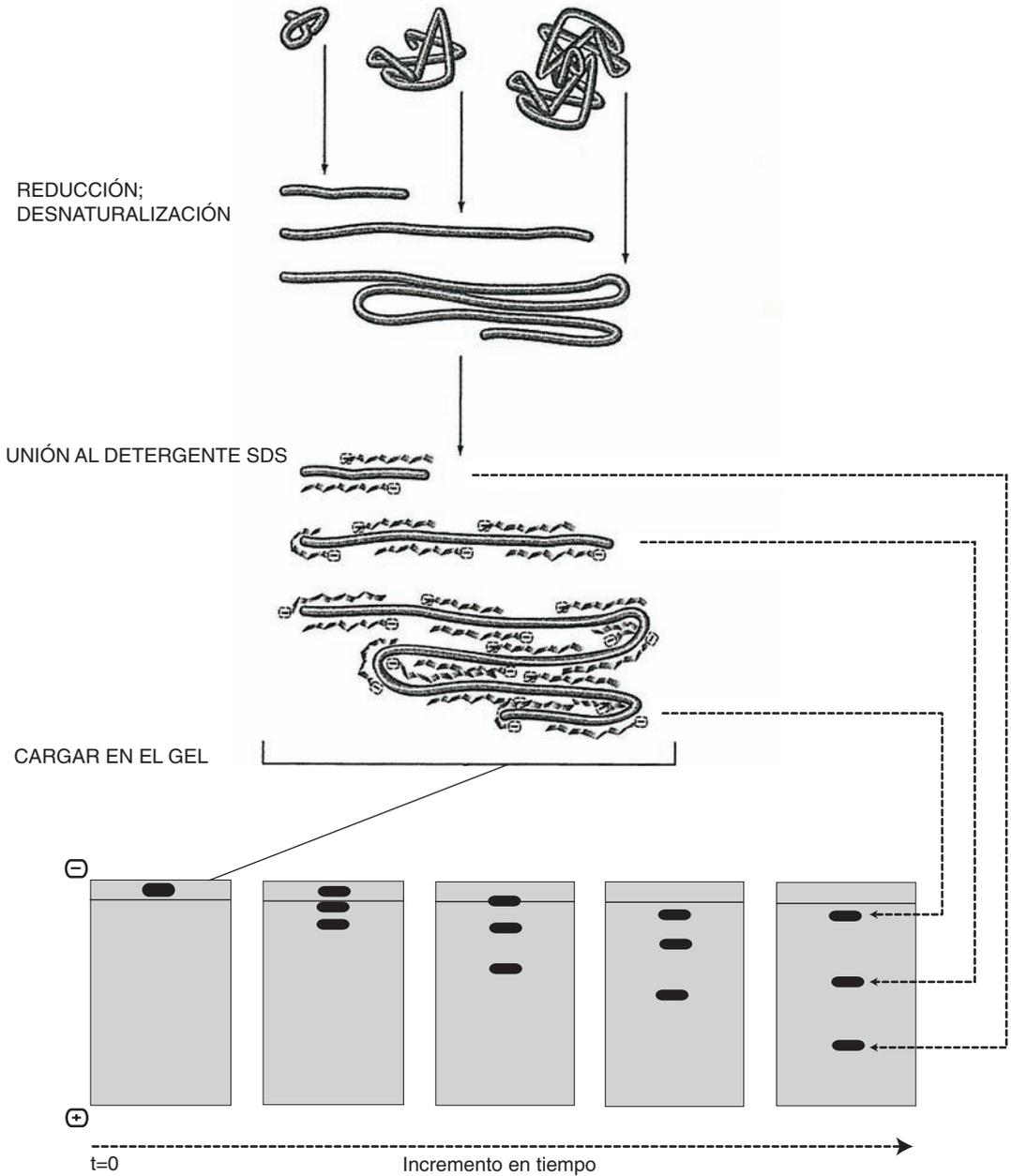


Figura 3.19 Esquema de la electroforesis desnaturizante en poliacrilamida (SDS-PAGE) en una dimensión (1D).
Fuente: Liebner.⁹⁴

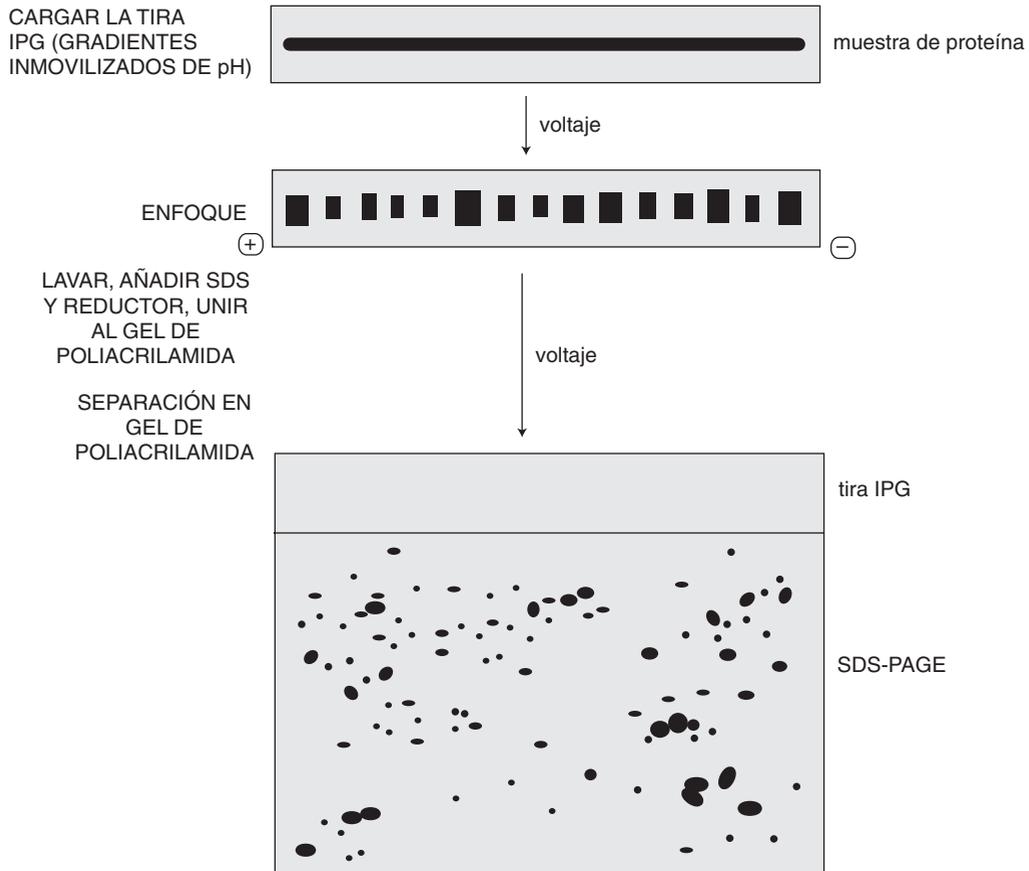


Figura 3.20 Esquema de la electroforesis desnaturalizante en poliacrilamida (SDS-PAGE) en dos dimensiones (2D).⁹⁴

Peso molecular

El peso molecular de las proteínas es muy variable, pero se puede considerar que va de un mínimo de aproximadamente 3,550 daltones (DA), para el caso del glucagon, hasta varios cientos de miles o incluso millones de Da en algunas fracciones de soya o gluteninas del trigo. Para su determinación se pueden emplear diversos métodos para los que hay que seleccionar cuidadosamente, no sólo el disolvente sino las condiciones de extracción y manejo, ya que las condiciones pueden disociar o desagregar los dímeros, trímeros, etc., en monómeros sencillos, o bien, producir reagrupamientos como sucede con las zeínas y otras proteínas vegetales a bajas temperaturas. Actualmente son la electroforesis y la filtración en gel. Los métodos más aplicados para el estudio del peso molecular.

3.5 ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL

La conformación asumida por las proteínas nativas comprende diferentes tipos dentro de su molécula, que definen sus propiedades inmunológicas, enzimáticas u hormonales. Una pérdida de conformación modifica estas propiedades, como puede suceder con la actividad biológica de las enzimas, que se basa en su conformación tridimensional, estabilizada por un delicado balance fisicoquímico en su molécula, sensible a cambios en su entorno, como se ilustra en la figura 3.21 con la termodesnaturalización de la ribonucleasa que no involucra la destrucción de los enlaces S-S.

3.5.1 Estabilidad de la estructura proteínica

Los cuatro niveles de estructuración están estabilizados por los diferentes tipos de uniones químicas que se muestran en el cuadro 3.5. Los enlaces covalentes son los responsables del enlace peptídico, son de menor longitud y los de mayor energía. Los puentes salinos o iónicos, también llamados interacciones electrostáticas, se crean por atracción coulombica entre grupos cargados con signo opuesto, y son las uniones polares más fuertes que existen. Los puentes de hidrógeno aun siendo más débiles desempeñan un papel primordial en la conformación 3D de una proteína por su abundancia. Las fuerzas atractivas de Van der Waals se establecen por la inducción de un momento dipolo entre grupos eléctricamente apolares.^{73, 109}

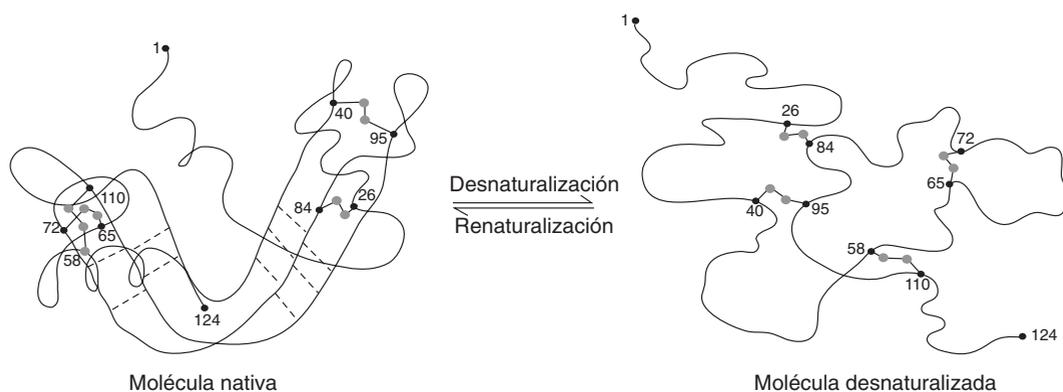


Figura 3.21 El delicado balance de la estructura de una proteína: termodesnaturalización de la ribonucleasa.⁹⁹

En el cuadro 3.6 se puede observar que de las uniones covalentes el enlace peptídico C-N es el más fuerte, comparado con el enlace disulfuro S-S que requiere de menor energía para su hidrólisis. Este último puede romperse sin causar necesariamente una pérdida de la conformación del polímero, y por lo tanto, de su funcionalidad.

CUADRO 3.5 Enlaces químicos encontrados en las proteínas y sus fuerzas de unión.

<i>Tipo</i>	<i>Mecanismo</i>	<i>Energía (kcal/mol)</i>	<i>Distancia de Interacción (Å)</i>	<i>Grupos que Interaccionan</i>
Covalente	Reparto de electrones	30-100	1-2	C-C, C-N, C=O, C-H S-S, C-N-C
Interacciones electrostáticas o puentes salinos	Atracción coulombica entre grupos con cargas opuestas	10-20	2-3	$-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$ $-\text{NH}_3^+$
Puentes de hidrógeno	El hidrógeno es compartido entre dos átomos electronegativos	2-10	2-3	$\text{N}-\text{H} \parallel \parallel \parallel \parallel \text{O}=\text{C}$, H $-\text{N}-\text{H} \parallel \parallel \parallel \parallel \text{O}-\text{H}$
Fuerzas de Van der Waals	Inducción mutua de momentos dipolo en grupos apolares	1-3	3-5	Grupos apolares

CUADRO 3.6 Energía de rompimiento de enlaces covalentes en proteínas.

<i>Enlace</i>	<i>Energía (kcal/mol)</i>
S-S	84
O-H	110
C-S	120
C-C	151
C-N	189

Un grupo más lo forman las interacciones hidrofóbicas que en realidad pueden considerarse como un caso de los puentes de hidrógeno, ya que se producen al exponerse grupos hidrofóbicos al solvente acuoso, que causan un aumento en la entropía (ΔS) porque las moléculas de agua se ordenan a su alrededor. Este aumento en entropía es termodinámicamente inconveniente, y se remedia al agruparse los grupos hidrofóbicos entre ellos para minimizar la superficie expuesta hacia el agua. En la figura 3.22 aparece un esquema de la interacción en un medio acuoso de las proteínas y se describe la hidratación hidrofóbica y la asociación de las zonas hidrofóbicas en agua.

3.5.2 Estructura primaria

El primer nivel de organización de una proteína es la secuencia de aminoácidos dictada por la secuencia de ADN del gen que la codifica, es decir, el orden en que se encuentran unidos los aminoácidos en la cadena polipeptídica. Ésta es una propiedad controlada genéticamente, altamente reproducible y única para cada proteína. Los cambios en sus secuencias conducen a la evolución de las proteínas.

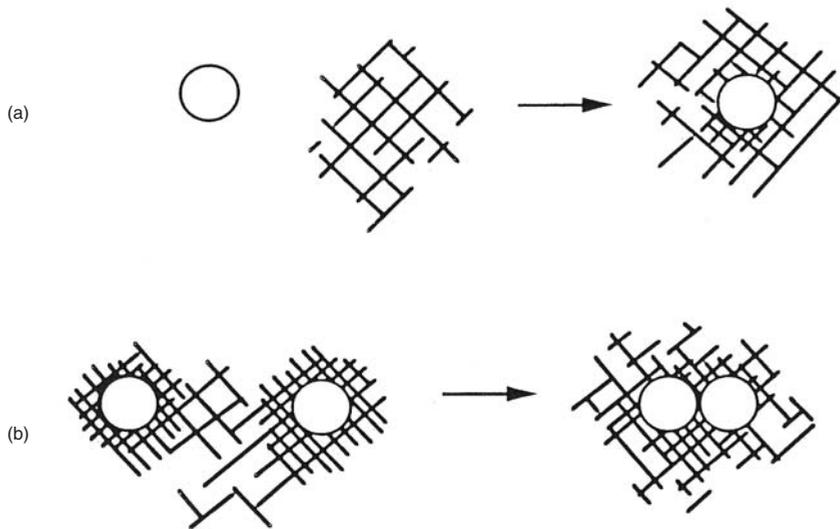


Figura 3.22 Esquema de la hidratación (a) y asociación (b) hidrofóbicas.²⁸

Algunos de estos cambios se llaman conservadores: preservan la naturaleza de la cadena lateral, como por ejemplo, un cambio de Asp por Glu, en donde se mantiene la carga negativa. Otros, los cambios no conservadores (Asp por Ala, por ejemplo) pueden tener consecuencias más graves. Existen relaciones genéticas cercanas entre especies, de forma que distintas proteínas presentan zonas altamente conservadas de aminoácidos, como la α -lactalbúmina de la leche de distintos animales y la lisozima del huevo de diferentes especies de aves presenta estructuras primarias muy semejantes que sólo varían en unos cuantos residuos (figura 3.23).

3.5.3 Estructura secundaria

Se refiere al ordenamiento regular y periódico de las proteínas en el espacio, a lo largo de su eje, y que se estabiliza por diversas fuerzas, de las cuales las electrostáticas, los puentes de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y las dipolo-dipolo son las más importantes (figura 3.24a).

La gran mayoría de estos polímeros produce α hélices en las que una vuelta completa consta de 3.6 aminoácidos, y sus cadenas laterales R quedan orientadas perpendicularmente hacia el exterior del eje central (figura 3.24a), presentan el menor grado de energía libre y es la forma más estable de estructura secundaria. Esta conformación helicoidal puede producirse con los isómeros L o D y además con un enrollamiento hacia la derecha o hacia la izquierda. Sin embargo, todas las proteínas nativas sólo contienen L-aminoácidos y son dextro hélices. En este tipo de estructura los carbonilos y los iminos de los enlaces peptídicos establecen puentes de hidrógeno intramoleculares entre las vueltas consecutivas de la cadena. Estas interacciones suceden cada 3.6 residuos y se efectúan entre el hidrógeno (N-H) de un enlace peptídico y el oxígeno carbonílico (C=O) del tercer aminoácido que le sigue. Los puentes de hidrógeno son paralelos al eje de la hélice y debido a su gran número, con-

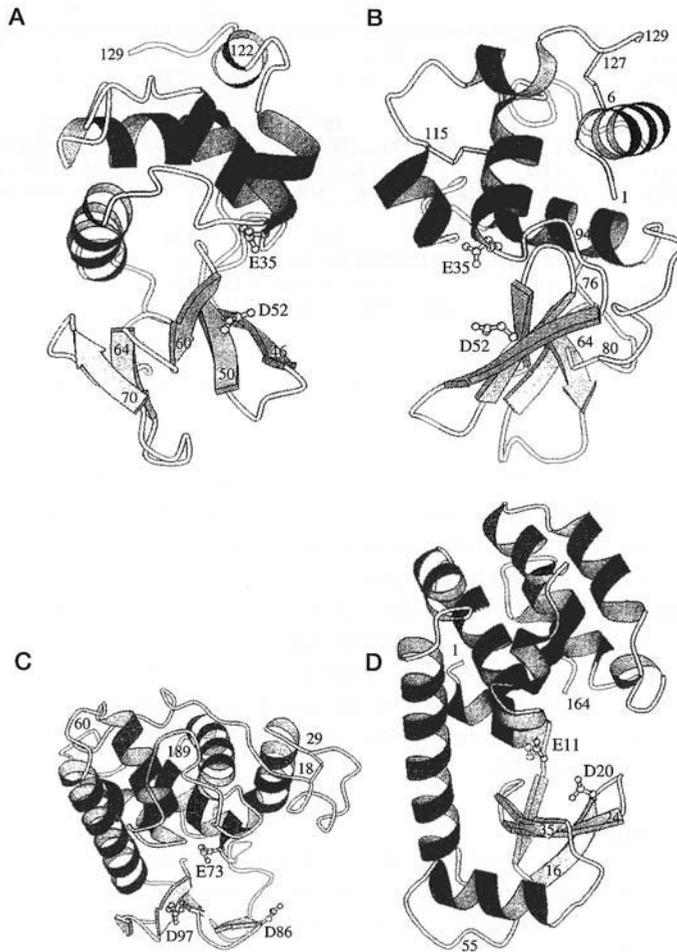


Figura 3.23 Estructuras estimadas de lisozimas tipo c, g, y v. (a) Lisozima de pollo con vista al sitio activo. (b) Resalte de los cuatro puentes disulfuro. (c) Lisozima de ganso. (d) Lisozima T4 de huevo.¹¹⁴

tribuyen de manera importante a la estabilización de la estructura, a pesar que en forma individual su energía es muy baja (figura 3.24a). En la figura 3.25 aparecen decritas las dimensiones de la α -hélice en específico las longitudes de un giro y de la longitud ocupada por un aminoácido.

Cuanto más interacciones de esta naturaleza existan, más estable es la estructura y trae como consecuencia que esos grupos hidrófilos no estén disponibles para reaccionar con las moléculas de agua, haciendo que el polímero sea poco soluble en este disolvente. La presencia de Ala, Leu, Phe, Tyr, Trp, Cys, Met, His, Asn, Glu y Val favorece las hélices, mientras que la Pro y la hidroxipro, las evitan, al igual que la Ser, Thr, Lys, Ile y los ácidos Glu y Asp (figura 3.26).

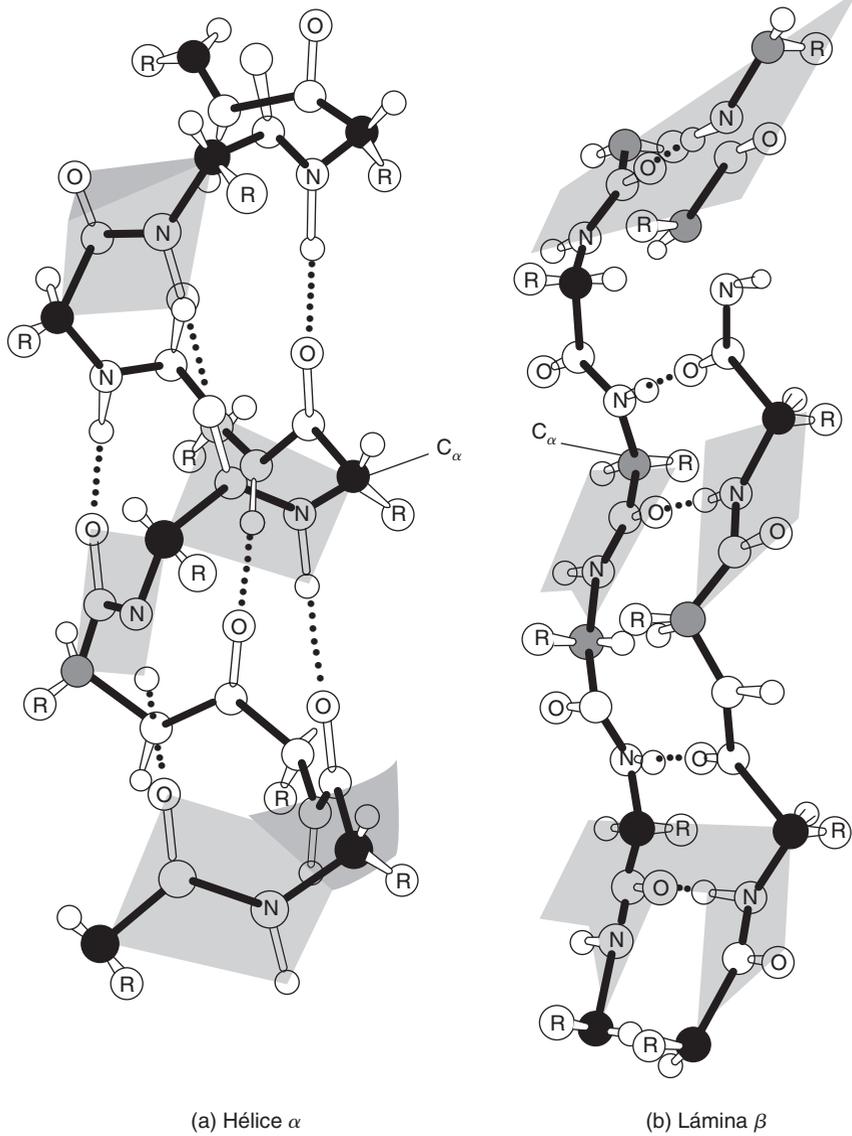


Figura 3.24 Hélice α y lámina β de la estructura secundaria de las proteínas.⁹⁹

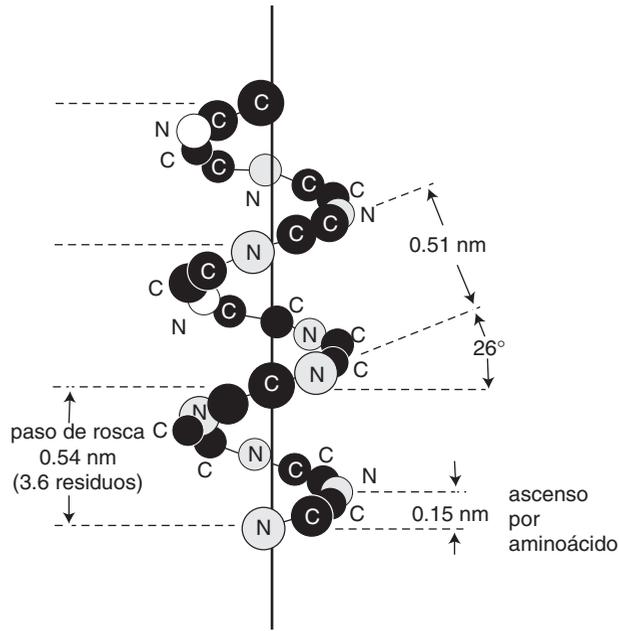


Figura 3.25 Dimensiones medias de la α -hélice.

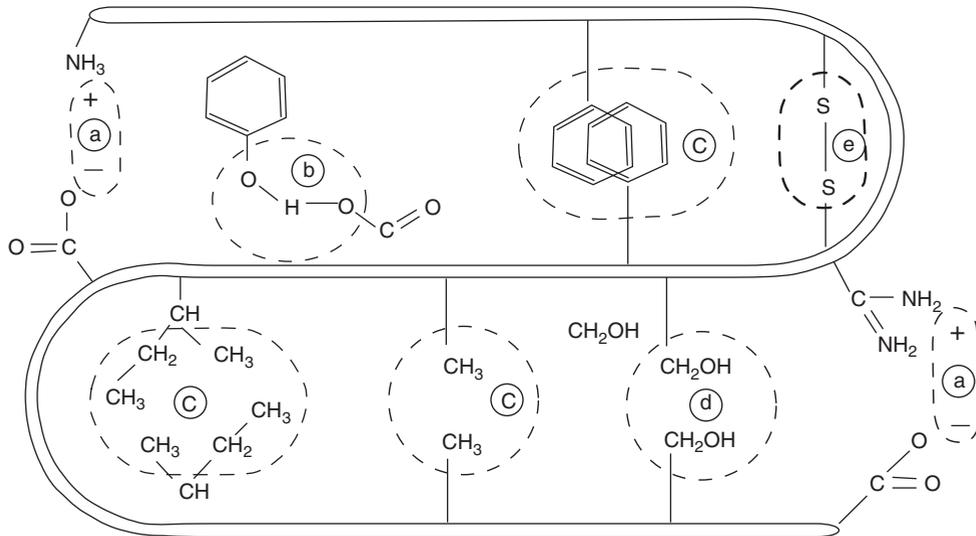


Figura 3.26 Enlaces que estabilizan la estructura secundaria y terciaria de las proteínas; (a), interacción electrostática; (b), puentes de hidrógeno; (c), interacción hidrófobo; (d), interacción dipolo-dipolo, y (e) enlace disulfuro.

Existen dos hélices polipeptídicas que se han definido posteriormente. La hélice 3_{10} se observa en algunas proteínas, pero no es tan común como la α -hélice (figura 3.27).

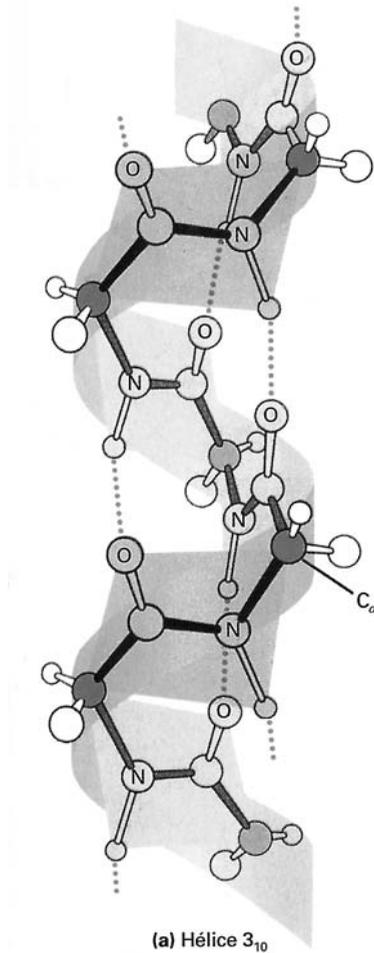


Figura 3.27 Estructura de la hélice 3_{10} .⁹⁹

Otro tipo de estructura secundaria es la conformación β (figura 3.24b) que se presenta en las queratinas y en otras proteínas clasificadas como fibrosas, como el pelo de los mamíferos y la seda. En esta conformación el polipéptido adopta una conformación en zigzag extendida, de tal manera que pueden existir varias moléculas alineadas paralela o antiparalelamente, con lo que producen láminas plegadas unidas transversalmente por puentes de hidrógeno intermoleculares. Todos los residuos presentan una rotación de 180° respecto al precedente, con lo que cada cadena se convierte en

una hélice $n=2$. Si las cadenas también están plegadas como en un acordeón, pueden producirse puentes de hidrógeno lineales entre cadenas adyacentes. Las cadenas polipeptídicas paralelas se desarrollan en la misma dirección del N terminal a C terminal, mientras que en las antiparalelas se extienden en direcciones opuestas (figura 3.28). Todas las uniones peptídicas contribuyen a la estabilización y cadenas laterales R se localizan por encima y por debajo de los planos de la lámina plegada. La secuencia de aminoácidos de cada una de estas proteínas favorece un tipo concreto de estructura secundaria, que a su vez confiere un conjunto concreto de propiedades mecánicas adecuadas a su función y aplicaciones.

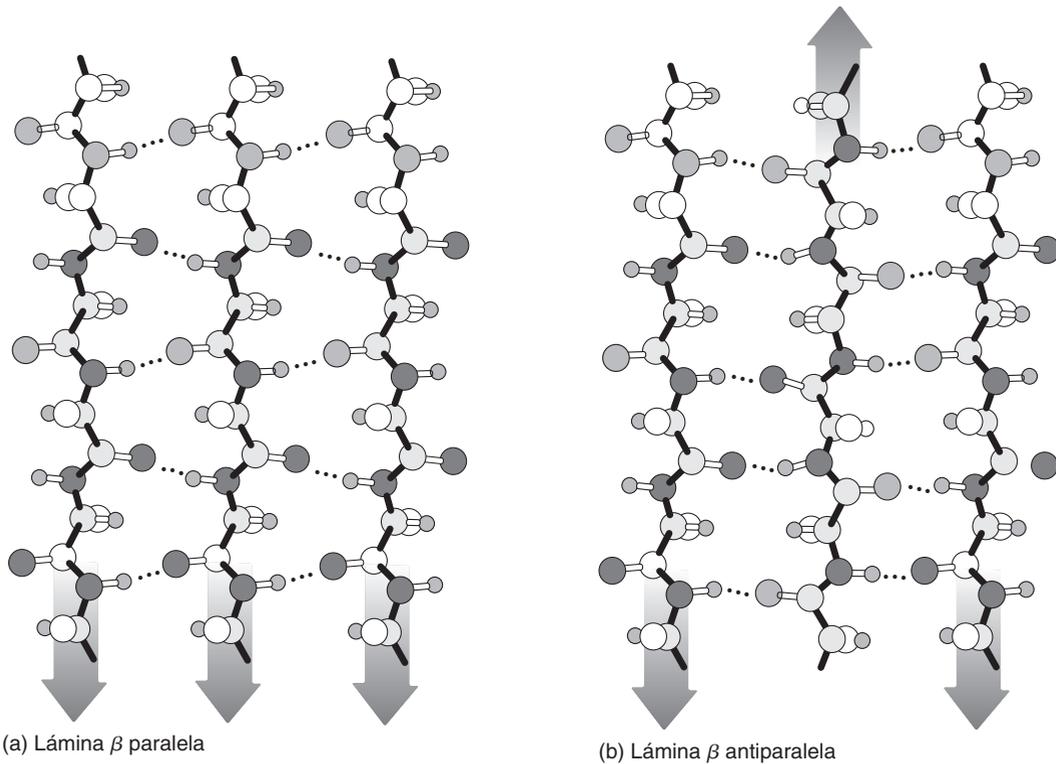


Figura 3.28 Estructura de conformación β de las proteínas: (a) antiparalela y (b) paralela.⁹⁹

Un tercer tipo de estructura secundaria se encuentra en las hélices de la colágena, proteína fibrosa del tejido conectivo que le confiere una alta rigidez y resistencia a la piel, los cartílagos. Debido a su elevado contenido de prolina y de hidroxiprolina, no desarrolla un α -hélice, sino una conformación que consiste en una triple hélice de cadenas polipeptídicas que se mantienen unidas por puentes de hidrógeno intermoleculares.

Finalmente, cuando no existen restricciones para que la proteína rote libremente, como son los puentes de hidrógeno, ésta adquiere varias conformaciones al azar, que sólo están controladas por el

pH, la temperatura, la fuerza iónica, los sólidos solubles y la constante dieléctrica del disolvente. La mayoría de las proteínas contienen más de un tipo de estructura secundaria en diferentes porcentajes, como se puede ver en el cuadro 3.7. Existen así mismo zonas de las proteínas que no contienen una forma estructurada y se describen como zonas aperiódicas.

CUADRO 3.7 Contenido de estructura secundaria en diferentes proteínas.

Proteína	α -Hélice (%)	Lámina β (%)	Giros β (%)	Aperiodicidad (%)
Deoxihemoglobina	85.7	0	8.8	5.5
Albumina sérica bovina	67.0	0	0	33.0
Quimotripsinógeno	11.0	49.4	21.2	18.4
Inmunoglobulina G	2.5	67.2	17.8	12.5
Insulina (dímero)	60.8	14.7	10.8	15.7
Inhibidor de tripsina bovino	25.9	44.8	8.8	20.5
Ribonucleasa A	22.6	46.0	18.5	12.9
Lisozima	45.7	19.4	22.5	12.4
Papaína	27.8	29.2	24.5	18.5
α -lactoalbumina	26.0	14.0	–	60.0
β -lactoglobulina	6.8	51.2	10.5	31.5
Proteína 11 S de soya	8.5	64.5	0	27.0
Proteína 7 S de soya	6.0	62.5	2.0	29.5
Faseolína	10.5	50.5	11.5	27.5

Los valores representan el número total de residuos de aminoácidos.²⁹

3.5.4 Estructura terciaria

Este término se refiere al modo en que la cadena polipeptídica se dobla sobre sí misma para producir una estructura plegada y compacta, característica de las proteínas globulares. La estructura terciaria de la β -lactoglobulina y faseolina, proteína de almacén de frijoles bayos, se muestra en la figura 3.29.

A diferencia de las proteínas fibrosas que presentan una estructuración lineal, las globulares tienen sus cadenas compactas con un alto grado de organización (figura 3.30).

Cuando las proteínas se disuelven en agua tienden a adquirir la estructura con la mínima energía libre, que en esas condiciones corresponde a su estado fisicoquímico más estable. De este modo, los aminoácidos no polares se orientan hacia el interior de la molécula mientras que los polares lo hacen hacia el exterior, en contacto con el disolvente. Es probable que en el interior de la molécula se presente una constante dieléctrica muy baja debido a los residuos hidrófobos y la exclusión del agua en las zonas más íntimas de las moléculas.⁴ Esta orientación y localización de los aminoácidos en áreas definidas provoca microambientes hidrofílicos e hidrofóbicos que permiten desarrollar muchas de las actividades biológicas de las proteínas.

La estructura terciaria de diferentes proteínas que contienen una sola cadena polipeptídica se compone de dominios que se definen como regiones de una secuencia polipeptídica que se pliegan en estructura terciaria de manera independiente. Podría pensarse que son una especie de “miniproteínas” y que todas juntas forman una sola proteína más grande. La estabilidad de cada dominio es indepen-

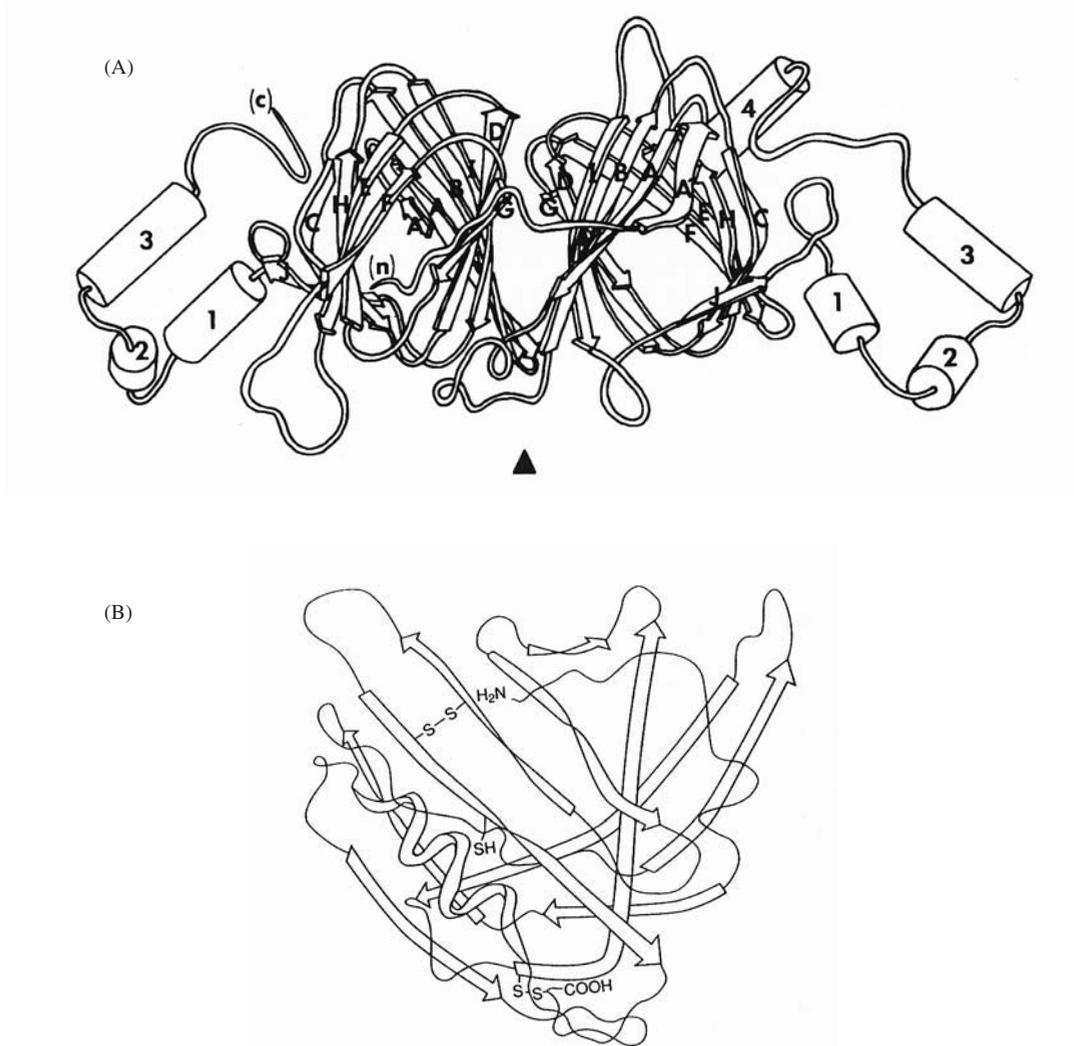


Figura 3.29 Estructuras terciarias de la faseolina (a)⁹⁰ y la β -lactoglobulina (b).¹²¹ Las flechas representan las placas β , y los cilindros a las α -hélices,

diente de otro. En la mayoría de las proteínas de una sola cadena, los dominios se pliegan independientemente y después interactúan con otros formando una estructura terciaria única para la proteína en cuestión. Generalmente, el número de dominios en una proteína depende de su peso molecular.²⁹

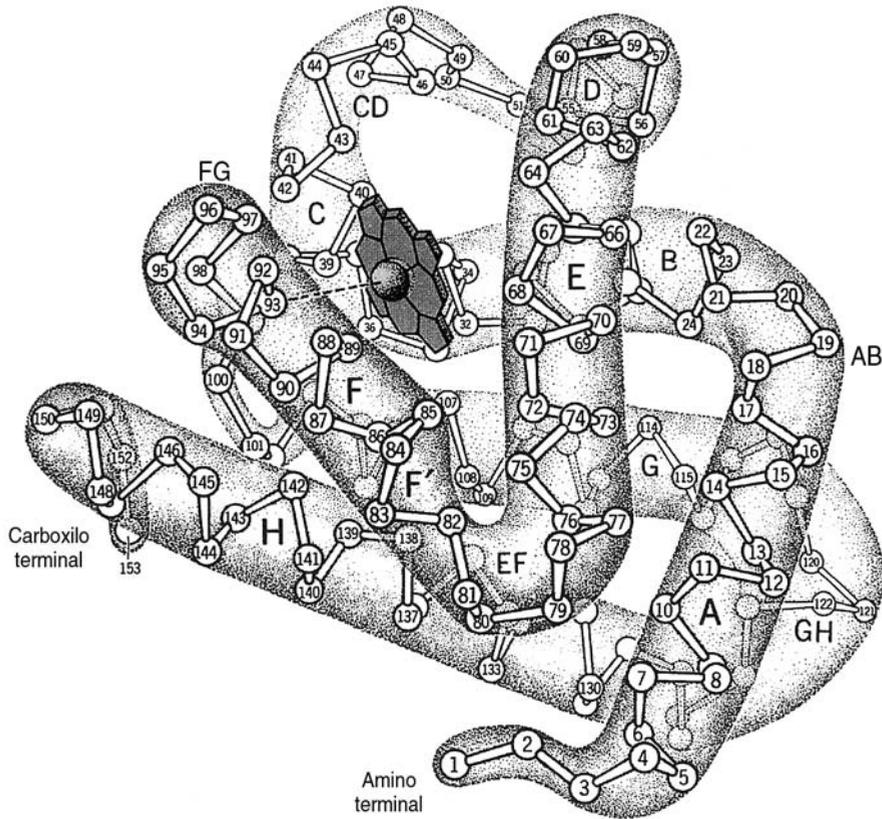


Figura 3.30 Representación esquemática de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de la mioglobina. Los puntos oscuros representan los átomos de carbono a de los aminoácidos. El grupo hemo se localiza en la parte central superior de la molécula.⁹⁹

3.5.5 Estructura cuaternaria

A diferencia de las anteriores, esta estructura no necesariamente existe en todos los polipéptidos y se refiere a la asociación de dos o más cadenas. Las interacciones que estabilizan las cadenas polipeptídicas plegadas en las proteínas con múltiples subunidades son de los mismos tipos que las que estabilizan la estructura terciaria: puentes salinos o interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrófobas y, en ocasiones, enlaces disulfuro. Estas interacciones proporcionan la energía necesaria para estabilizar la estructura de múltiples subunidades. Cada cadena polipeptídica es una unidad asimétrica en el agregado, pero la estructura cuaternaria global puede exhibir una amplia variedad de simetrías, en función de la geometría de las interacciones. Existen diferentes proteínas de importancia biológica que adoptan la forma de dímeros, trímeros, tetrámeros, etcétera. Cualquiera de estos complejos constituyen la estructura cuaternaria; son también llamados estructuras oligoméricas, y pueden formarse de subunidades de proteínas (monómeros) que

pueden ser iguales (homogéneos) o diferentes (heterogéneos); por ejemplo, la β -lactoglobulina existe como dímero en el intervalo de pH entre 5 y 8, y como un octámero en el intervalo de 3 a 5, y como un monómero arriba del pH 8, las unidades monoméricas de este complejo son idénticas. La hemoglobina es un tetramero formado de dos diferentes cadenas polipeptídicas y se les distingue como cadenas α y β .

Muchas proteínas alimentarias, especialmente de cereales, existen como oligómeros de diferentes polipéptidos. Estas proteínas contienen más del 35% de residuos de aminoácidos hidrófobos (Ile, Leu, Trp, Tyr, Val, Phe y Pro). Además contienen del 6 al 12% de Pro. Esto trae como consecuencia que las proteínas de cereales existan en estructuras complejas oligoméricas. Las principales proteínas de almacén de la soya, β -conglucina y glicina, contienen arriba del 41 y 39% de residuos hidrofóbicos respectivamente. La β -conglucina es una proteína trimérica formada de tres diferentes subunidades, y muestra un fenómeno complejo de asociación-disociación en función de la fuerza iónica. La glicinina está formada por 12 subunidades, seis de ellas son ácidas y otras, básicas. Cada subunidad básica está entrecruzada a una subunidad ácida por medio de puentes disulfuro. Los seis pares ácido-base permanecen juntos en un estado oligomérico por interacciones no covalentes, la glicinina también presenta complejos de asociación y disociación en función de la fuerza iónica (figura 3.57).

3.6 DESNATURALIZACIÓN

En el caso de las proteínas, la palabra desnaturalización indica que la estructuración se aleja de la forma nativa debido a un importante cambio en su conformación tridimensional, producido por movimientos de los diferentes dominios de la proteína, que conlleva un aumento en la entropía de las moléculas. Este cambio conformacional trae como consecuencia pérdidas en estructura secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no cambios en la estructura primaria, es decir, que la desnaturalización no implica una hidrólisis del enlace peptídico. Se afectan las interacciones no-covalentes, responsables de la estabilización de la estructura, así como la relación de dicha estructura con el solvente acuoso y en algunas ocasiones se afectan los puentes disulfuro. La conformación de una molécula de proteína depende, en gran medida, del ambiente que la rodea, y su estado nativo es el más estable en términos termodinámicos en las condiciones fisiológicas en que se encuentra. Pueden ocurrir modificaciones conformacionales debidas a cambios térmicos, químicos o efectos mecánicos inducidos por calentamiento o enfriamiento, o bien por tratamientos con agentes que forman puentes de hidrógeno, como la urea y el cloruro de guanidinio, cambios de pH, la aplicación de detergentes, cambios en la fuerza iónica por adición de sales, presencia de solventes orgánicos, o bien, la agitación. Aunque un cambio en la estructura podría conducir a un aumento en el ordenamiento, es decir, un aumento en α -hélice o β -lámina plegada, la desnaturalización generalmente se considera como una pérdida de la estructura ordenada. Es común relacionar la desnaturalización con daños a la proteína, ya que pueden perderse funciones fisiológicas, actividad enzimática o bien, modificarse sus propiedades funcionales al ocurrir agregación o insolubilización. La desnaturalización puede ser deseable cuando se habla de elevar la digestibilidad de las proteínas por cocción o por la desnaturalización de inhibidores de tripsina presentes en las leguminosas. También sirve para mejorar funcionalidad, como cuando se aumentan sus propiedades de espumado y emulsificación por el desdoblamiento de las moléculas que favorece la estabilización en interfases al lograr la exposición de sitios hidrofóbicos que interaccionan con la fase orgánica o hidrofóbica de una emulsión.

3.6.1 Termodinámica de la desnaturalización

La estabilización de una macromolécula es un proceso cooperativo, es decir, está dada por la intervención de múltiples enlaces no-covalentes, que son de baja energía pero muy frecuentes en la estructura. El estudio de la termodinámica de este proceso implica lograr realizarlo de forma reversible, lo que requiere que una vez eliminado el agente desnaturalizante, la proteína pueda regresar a su conformación original. El estado nativo o activo de una proteína puede ser detectado gracias a diferentes técnicas que observan el estado en equilibrio de las moléculas de proteína. Pueden ser técnicas ópticas, como la dispersión óptica rotatoria, el dicroísmo circular o la absorción UV. También pueden utilizarse procesos de transporte como mediciones de la actividad o propiedades de una proteína, y se utilizan la viscosidad, la sedimentación o la difusión, ya que los cambios en la forma de las proteínas por su desplegamiento o extensión causados por la desnaturalización afectan su comportamiento en cualquiera de estos procesos. Asimismo, puede utilizarse la Resonancia Magnética Nuclear, ya que los cambios en conformación modifican la orientación de los distintos grupos funcionales de las proteínas, lo que trae como consecuencia cambios en las señales requeridas para la medición. Otro método es la calorimetría, que permite analizar los cambios en absorción de calor ocasionados por los movimientos de los dominios en las moléculas proteínicas.

A través de lo anteriormente discutido se evidencia que la conformación de una proteína es consecuencia de la cooperación de una enorme cantidad de enlaces no-covalentes de baja energía, que se mantiene gracias a un delicado balance. Cuando se despliega una proteína globular, la pérdida de la estructura nativa aumenta, en forma significativa, el número de residuos de aminoácidos hidrofóbicos ahora expuestos al solvente. La agregación de las proteínas desplegadas es una consecuencia de la exposición de los residuos hidrofóbicos, cuyo contacto con el solvente acuoso no es termodinámicamente conveniente, dado que a su alrededor se ordenan las moléculas de agua y disminuye la entropía del sistema. Mientras no exista alguna molécula que estabilice esos sitios hidrofóbicos expuestos, la agregación será la forma en que se disminuya su exposición al agua, y esto trae como consecuencia una desnaturalización no reversible. Este efecto se ve incrementado con la concentración de proteína.

La desnaturalización presenta el comportamiento de un proceso cooperativo con la forma de una curva que súbitamente cambia de pendiente previo al punto en el que se alcanza el equilibrio entre la forma nativa y desnaturalizada. En el eje de las Y, de la figura 3.31, se muestra la medición de una actividad hipotética de la proteína en relación con un cambio de temperatura, de la concentración de un agente desnaturalizante o de pH en el eje de las X. La medición de actividad tiene dos estadios: Y_N y Y_D . De forma general, conforme se aumenta la temperatura o el pH, la concentración del agente desnaturalizante, al inicio del proceso se encuentra en valores bajos, los valores de Y se mantienen constantes hasta alcanzar un valor crítico a partir del cual disminuyen súbitamente pasando de Y_N a Y_D con una característica particular: esto sucede en un estrecho intervalo de valores de X, es decir, en un estrecho intervalo de valores de temperatura, o en su caso, de concentración del agente desnaturalizante. El abrupto cambio indica que el proceso de transición es cooperativo ya que sólo a partir de una cierta cantidad de calor aplicado en una termodesnaturalización se alcanza la transición térmica, al lograrse el rompimiento de un mayor número de enlaces, en cantidad suficiente como para lograr el desplegamiento repentino de la molécula. Este proceso ocurre con mayor frecuencia en el caso de las proteínas globulares, y de hecho se considera que en solución se encuentran constantemente en transición $N \rightleftharpoons D$ aunque sólo una pequeñísima porción de las moléculas (una en 10^9) se encuentra en forma “abierta” en una especie de “respiración” que implica la flexibilización de la molécula y una especie de apertura, lo que explica la labilidad de las proteínas globulares.

En el análisis de la termodinámica de la desnaturalización de un sistema proteínico se consideran sólo dos estadios N y D, para la transición entre las moléculas en estado Nativo (N) y desnaturalizado (D). Se describe de la siguiente manera:



Con una constante de equilibrio:

$$K_D = [D] / [N] \quad [\text{Ec. 13}]$$

El valor total de la actividad (Y) detectada en una mezcla de proteínas con una cierta proporción desnaturalizada, sería:

$$Y = Y_N f_N + Y_D f_D \quad [\text{Ec. 14}]$$

Donde f es la fracción de la proteína; Y_N y Y_D son las actividades detectables en cada uno de los estados.

Su balance de masa indica que:

$$f_N + f_D = 1 \quad [\text{Ec. 15}]$$

y su constante de equilibrio sería:

$$K = f_D / f_N \quad [\text{Ec. 16}]$$

de donde se deduce que:

$$Y = (Y_N + Y_D K) / (1 + K) \quad [\text{Ec. 17}]$$

con lo que es posible predecir, a una cierta temperatura constante o con una cierta concentración de desnaturalizante, el comportamiento Y de la proteína, si se conoce la actividad en estado desnaturalizado (Y_D). Para el caso de una enzima, frecuentemente $Y_D = 0$, ya que la enzima no mostraría actividad biológica si está desnaturalizada, por lo que la expresión se simplificaría a:

$$Y = Y_N / (1 + K) \quad [\text{Ec. 18}]$$

Entonces,

$$K = (Y_N - Y) / Y \quad [\text{Ec. 19}]$$

T_m , temperatura de fusión, o de "melting", es la temperatura en la cual la mitad de las moléculas se encuentran desnaturalizadas [D] y la otra mitad en estado nativo [N]. A altas temperaturas $K \gg 0$ y a bajas temperaturas $0 < K < 1$, si $Y = Y_N$.

Si $Y = Y_N f_N + Y_D f_D$, entonces de la combinación de [15] y [14],¹⁶⁸ resulta la fracción desnaturalizada como:

$$f_D = (Y_N - Y) / (Y_N - Y_D) \quad [\text{Ec. 20}]$$

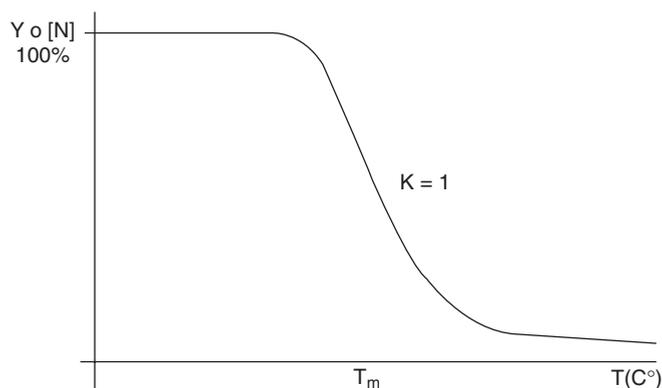


Figura 3.31 Esquema de la desnaturalización típica de una proteína donde Y representa una actividad hipotética o propiedad de la proteína, o bien, la concentración de la forma nativa de la proteína [N]. K = Constante de equilibrio y T_m = temperatura de “melting”.

Ahora puede recalcularse la K de equilibrio de la siguiente manera:

$$K = f_D / (1 - f_D) = f_D / f_N = (Y_N - Y) / (Y - Y_D) \quad [\text{Ec. 21}]$$

Y si se asocia al cambio de energía libre del Gibbs del proceso de desnaturalización mediante la ecuación:

$$\Delta G = -RT \ln K = -RT \ln [(Y_N - Y) / (Y - Y_D)] \quad [\text{Ec. 22}]$$

es posible graficar $-RT \ln K$ contra la concentración del agente desnaturalizante en la región de la transición conformacional dando por resultado una línea recta. La K_D de desnaturalización y la ΔG_D en agua pura se calcula del intercepto al origen, es decir, se calcula la energía libre de la desnaturalización en presencia de agua o del buffer, en ausencia del desnaturalizante.

3.6.2 Desnaturalización por cambios de temperatura

El caso particular de la desnaturalización térmica se analiza a continuación; partiendo de la ecuación 22:

$$\Delta G = -RT \ln K$$

y la ecuación:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad [\text{Ec. 23}]$$

entonces:

$$-\ln K = [\Delta H / RT] - [\Delta S / R] \quad [\text{Ec. 24}]$$

y si de la ecuación de van't Hoff se grafica $-\ln K$ vs $1/T$, el resultado es una línea recta (figura 3.32) de cuya pendiente puede calcularse la entalpía ΔH de la desnaturalización particular que se estudia.

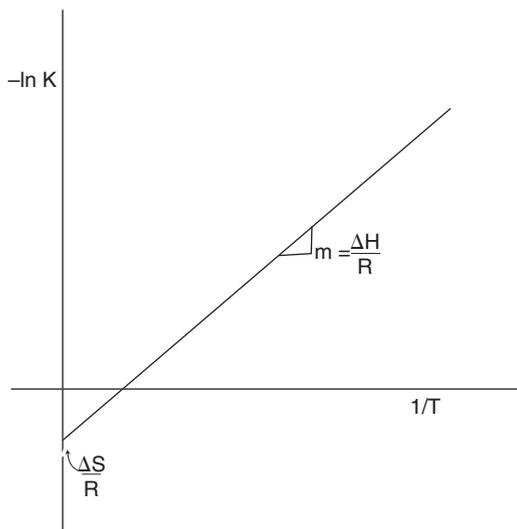


Figura 3.32 Gráfica de la ecuación de Van't Hoff, para el cálculo de ΔH y ΔS .

La aplicación de calor es uno de los agentes desnaturalizantes que se utilizan con mayor frecuencia en alimentos ya que facilita la digestión de las proteínas, y logra desnaturalizar los inhibidores de proteasas que frecuentemente se hallan en alimentos basados en proteínas de leguminosas. Ambos procesos facilitan la digestión por las enzimas hidrolíticas del tracto gastrointestinal. La aplicación de calor afecta la estabilidad de las interacciones no-covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el delicado balance de los enlaces que mantienen el equilibrio. Puesto que también se afectan las propiedades funcionales del alimento, es importante realizar un análisis de los procesos termodinámicos involucrados.

Como se mencionó anteriormente, cuando se calienta una proteína sufre una transición súbita y cuando se tiene la mitad de las moléculas en estado desnaturalizado se alcanza el equilibrio, que coincide con la temperatura de transición, de “melting” T_m o temperatura de desnaturalización T_D (figura 3.31). Los mecanismos involucrados en la desnaturalización son varios y complejos, e involucran principalmente a los enlaces no-covalentes. Los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van der Waals, y las interacciones electrostáticas por naturaleza son impulsados por la entalpía ΔH lo que implica que ocurren mediante procesos exotérmicos, y causa que se desestabilicen a altas temperaturas y se estabilicen a bajas temperaturas. Las interacciones hidrofóbicas son, por el contrario, producidas como una consecuencia de la entropía ΔS que aumenta mientras más cadenas laterales hidrofóbicas se expongan al contacto con el medio acuoso ya que las moléculas de agua se ordenan a su alrededor. Por lo tanto, se comportan de forma opuesta con un incremento en la temperatura, ya que se estabilizan a temperaturas altas por ser endotérmicas, y se desestabilizan a temperaturas bajas. Sin embargo, no pueden reforzarse de manera infinita pues las moléculas de agua ordenadas a su alrededor, y que dan lugar al aumento de entropía ΔS , también se desordenan al elevarse la temperatura cuando se sobrepasan valores entre 60 y 70°C cuando presentan su máxima estabilidad. La misma cadena de proteínas en su estructura terciaria guarda también un delicado balance, estabilizado por las interacciones no-covalentes. Su entropía conformacional se ve afectada por un aumento en el calor

que aumenta su energía cinética y facilita el desplegamiento. Entonces, en el proceso de termodesnaturalización, las interacciones hidrofóbicas se refuerzan conforme se eleva la temperatura por arriba de los 60 y 70°C, las otras interacciones no-covalentes se debilitan y la entropía conformacional va disminuyendo al irse desordenando la cadena polipeptídica y la temperatura de desnaturalización T_D se alcanza cuando la suma de las energías libres de todos los procesos involucrados es igual a cero y $K_D = 1$.²⁹

Es común suponer que si una proteína se mantiene a bajas temperaturas se podrá conservar mejor su estructura. Sin embargo, existen casos con un comportamiento opuesto como la carboxipeptidasa A que no puede almacenarse a temperaturas de congelación pues corre el riesgo de inactivarse; y la mioglobina cuya estabilidad es máxima a 30°C, y cuando su temperatura disminuye se desestabiliza, al igual que si se baja de cero grados, se desnaturaliza por frío. Es entonces la frecuencia de las distintas interacciones no-covalentes la que define la temperatura de mayor estabilidad, por lo que las proteínas con una mayor cantidad de interacciones hidrofóbicas se conservan mejor a temperatura ambiente que en refrigeración, como sucede también con la glicinina de soya.^{67, 108}

De lo anterior se deduce que un factor más, involucrado en la termodesnaturalización, es el contenido y tipo de aminoácidos predominantes en las proteínas. Las proteínas con altos contenidos de aminoácidos hidrofóbicos como Val, Leu, Ile y Phe resultan generalmente más estables.¹⁷⁹

La naturaleza también se ayuda de este tipo de estrategias para lograr mayor estabilidad térmica. En el cuadro 3.8 aparece el contenido diferencial de Lys y Arg de la gliceraldehído-3-fosfatodeshidrogenasa, enzima que está constituida por 321 a 331 residuos dependiendo de la especie de la que se obtenga.

CUADRO 3.8 Composición de aminoácidos básicos Lys y Arg de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa

Aa	<i>Langosta</i>	<i>Levadura</i>	<i>E. coli</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>B. stearo-thermophilus</i>	<i>Thermus aquaticus</i>	<i>Thermus thermophilus</i>
Lys	28	26	26	25	22	19	19
Arg	9	11	12	13	15	17	17
Lys + Arg	37	37	38	38	37	36	36

FUENTE: Ejemplos proporcionados en el curso de enzimología impartido por el Dr. A. M. Klivanov. Massachusetts Institute of Technology.

En el cuadro 3.8 se observa que en las diferentes especies no cambia radicalmente el número total de cargas positivas y, por lo tanto, tampoco cambia el número probable de puentes salinos de la molécula; lo que cambia es el tipo de aminoácido. La diferencia fundamental entre Lys y Arg es su pK_R , 11 para Lys, y 12.5 para Arg. La resistencia de la cadena lateral a la temperatura se manifiesta al mantenerse la carga sin protonar, y la posibilidad de formar un puente salino, cuando se trata de altas temperaturas.

Un segundo mecanismo indirecto causante de desnaturalización por frío, es el resultado de la congelación de los tejidos. La formación de hielo causa un aumento en concentración del sistema líquido alrededor de las zonas de hielo puro. En esta zona líquida se concentran todos los solutos que rodean normalmente a la proteína, incluyendo sales y posibles inhibidores o inactivadores de las proteínas. Además, el crecimiento de los cristales de hielo causan daño físico a los tejidos y se fuga el contenido celular donde generalmente se hallan proteasas que dañan a otras proteínas celulares. Este proceso no es ya una desnaturalización en el sentido estricto pues ya se involucra la hidrólisis de enlaces peptídicos.⁶⁸

Una aplicación práctica de la desnaturalización térmica se maneja durante el procesamiento de alimentos donde es necesario lograr la desactivación de algunas enzimas, como lipoxidasas y lipoxigenasas, en las verduras que serán congeladas. Asimismo, en la leche se utiliza la degradación de la fosfatasa alcalina como prueba de plataforma para demostrar que se ha realizado un tratamiento térmico y la enzima se usa como un indicador.

La desnaturalización térmica de las proteínas está fuertemente influida por el contenido de humedad: las proteínas deshidratadas son más resistentes a los tratamientos térmicos que las proteínas en solución. El fenómeno se explica por un efecto “plastificante” del agua que, en su ausencia involucra a una estructura estática cuyos dominios tienen movimientos restringidos. Otro efecto es el hinchamiento de la matriz de la proteína por hidratación, que facilita el acceso de las moléculas de agua al interior de la molécula disminuyendo las temperaturas de desnaturalización (T_d). La estrategia para proteger a una proteína en medio acuoso de la desnaturalización térmica generalmente recurre a la adición de azúcares que pueden actuar como protectores o bien por la adición de concentraciones moderadas de cloruro de sodio.^{26, 51} Una forma de corroborar el papel del agua para facilitar la desnaturalización se reporta en experimentos de entrecruzamiento de colágeno en los cuales se comprueba que la deshidratación de las fibras es la causante de la estabilización frente a la temperatura.¹⁰⁷ Conocer el comportamiento del agua en las proteínas que se diseñan por ingeniería de proteínas o por ingeniería genética es de importancia para lograr el comportamiento esperado respecto de su termoestabilidad en medio acuoso o en condiciones de deshidratación. Se sabe que ciertos aminoácidos como la lisina y la arginina permiten escudar los puentes de hidrógeno del esqueleto polipeptídico, de forma que se elimina el agua de ciertas zonas de la molécula que previamente formaba puentes de H con grupos amida ($-NH$) y carbonilo ($-C=O$), produciendo un efecto protector ante la termodesnaturalización.⁵⁴

3.6.3 Desnaturalización por cambios de pH

Un cambio en el pH del ambiente natural o fisiológico de las proteínas puede acarrear modificaciones importantes en su conformación debido a cambios en la ionización de las cadenas laterales cargadas porque se afecta el número de los puentes salinos que estabilizan la estructura nativa. Una desnaturalización alcalina implica la neutralización de la carga positiva de cadenas laterales de Lys, His y Arg, una desnaturalización ácida implica la protonación de cargas de Asp, Glu; ambos casos impiden la formación de una interacción electrostática. En los procesos tecnológicos que involucran la obtención de aislados proteínicos vegetales es el tratamiento alcalino el que se aplica con mayor frecuencia. Se utiliza para elevar la concentración de proteína y requiere de una solubilización alcalina a valores de pH cercanos a 10.⁹⁶ Con este proceso se busca modificar las estructuras originales de las proteínas para aumentar su potencial tecnológico y mejorar sus propiedades funcionales, aunque es frecuente encontrar en estas condiciones una porción de las moléculas que han sufrido hidrólisis. Además en esos valores de pH los grupos ionizables que adquieren cargas negativas traen como consecuencia una expansión de las moléculas causada por repulsiones intramoleculares debido a sus cargas iguales.

3.6.4 Desnaturalización por urea y cloruro de guanidinio

Ambos compuestos son, por naturaleza, formadores de puentes de hidrógeno (figura 3.33), y debido a su gran solubilidad en agua, es posible obtener soluciones hasta de 12 moles/L, que aunado a su pequeño tamaño molecular, les permite penetrar fácilmente en las moléculas proteínicas.

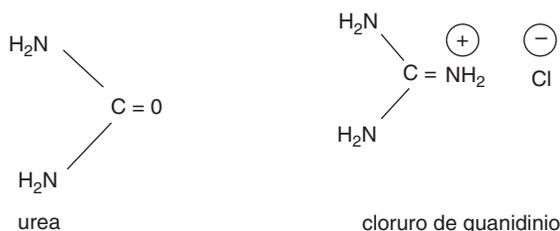


Figura 3.33 Estructuras de cloruro de guanidinio y urea.

Las interacciones que más se ven afectadas son los puentes de hidrógeno, y por ende las interacciones hidrofóbicas. Debido a su pequeño tamaño son capaces de interrumpir directamente los puentes de hidrógeno intramoleculares y pueden competir, con éxito por los puentes de hidrógeno, con el agua ligada al interior de las moléculas. Se considera que este agente desnaturalizante es el único que logra formar la cadena al azar, que se estabiliza en su nuevo estado desnaturalizado con los puentes de hidrógeno formados con la propia urea, en lugar de los antiguos puentes intramoleculares. Los puentes disulfuro no se ven afectados con estas sustancias.

3.6.5 Desnaturalización con detergentes

En el laboratorio es frecuente utilizar detergentes para el estudio de proteínas desnaturalizadas gracias a la capacidad de sus moléculas anfifílicas, como el dodecil sulfato de sodio (SDS) ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$). Cuando se encuentra en concentraciones por debajo de la concentración micelar crítica, solamente podrá penetrar a la molécula globular de proteína de manera superficial, mediante el acomodo de sus cadenas no polares hacia el interior de una molécula globular y las cabezas polares afectarán las interacciones electrostáticas del exterior. Sin embargo, si el detergente sobrepasa la concentración micelar crítica en el sistema, las micelas logran inducir el desplegamiento de la molécula porque logran estabilizar la forma desplegada del polipéptido mediante la formación de “micelas mezcladas” alrededor de las zonas hidrofóbicas que logran mantenerse “expuestas” al ambiente acuoso porque dichas micelas las estabilizan, de forma similar a la interacción de las proteínas con los lípidos.

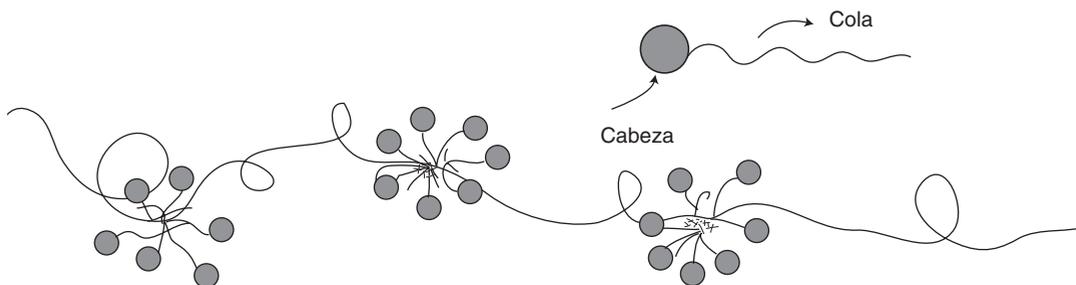


Figura 3.34 Esquema de una cadena proteínica abierta donde se muestran las zonas hidrofóbicas con la estructura de un detergente con “cabeza” polar y “cola” no polar que estabiliza, mediante la formación de “micelas mezcladas” la estructura desplegada de la proteína.

3.6.6 Desnaturalización con disolventes orgánicos

Se usan solventes orgánicos en el procesamiento de alimentos cuando se desea solubilizar sustratos, y para desplazar el equilibrio de algunas reacciones enzimáticas al disminuir la concentración de agua del sistema. Las proteínas disueltas en un sistema acuoso sufren cambios en su estructura tridimensional cuando son trasladadas a un sistema con un solvente distinto. La dirección del cambio, hacia una mayor o una menor solubilización, dependerá del tipo de solvente al que se le traslade. Hay dos mecanismos principales que explican este tipo de desnaturalización: la unión directa del solvente orgánico a la molécula de la proteína y el cambio en la constante dieléctrica del medio.

Al cambiar una proteína a un sistema con disolventes orgánicos se logra un desdoblamiento o desplegamiento parcial por el rompimiento de las interacciones hidrofóbicas originales, que puede volver a plegarse mediante interacciones hidrofóbicas y puentes de H que se mantienen, pero en una estructura distinta de la nativa.

El efecto de la constante dieléctrica sobre la solubilidad de las proteínas disueltas puede explicarse mediante la Ley de Coulomb que indica la relación de la fuerza de atracción entre partículas:

$$F = (q_1 \cdot q_2) / \epsilon r^2 \quad [\text{Ec. 25}]$$

Donde q es la carga de una partícula, r es la distancia entre las partículas y ϵ es la constante dieléctrica del medio.

Los sistemas acuosos son los más frecuentes en los alimentos. El agua es un compuesto que posee una constante dieléctrica (ϵ) relativamente alta: 78.5, si se compara con otros solventes orgánicos (cuadro 3.9), lo que indica que la atracción entre las partículas con cargas opuestas (que en el caso de las proteínas provienen las positivas de Lys, His y Arg, y las negativas de Asp y Glu) tiene más dificultades para lograrse en agua, que si se colocan en glicerol, metanol o etanol. Esta dificultad en la atracción de las partículas cargadas contribuye a la solubilización de la molécula. Por el contrario, cuando una proteína se coloca en un solvente de baja ϵ la atracción entre las partículas cargadas sobrepasa a la energía cinética a la que están sujetas por la temperatura del ambiente, y se insolubilizan, sobre todo cuando la distribución de las cargas opuestas en la molécula se encuentra en posiciones opuestas en la molécula, lo que incrementa el momento dipolo de la proteína y favorece la asociación molecular. Una molécula de proteína en un solvente acuoso logra disolverse mejor si tiene una distribución de las cargas más uniforme a lo largo y ancho de su superficie, y un menor momento dipolo.¹⁷¹ Los cambios de ϵ al cambiar de solvente a la proteína, en cuestión, modifican necesariamente la fuerza de atracción entre los residuos de las proteínas y esto explica la precipitación que sufren las proteínas cuando se añaden solventes miscibles, como metanol o etanol, a las soluciones acuosas de proteínas porque la atracción entre las partículas cargadas se refuerza.

CUADRO 3.9 Valores de constante dieléctrica ϵ de diversos solventes.

Clase I	ϵ	Clase II	ϵ
Agua	78.5	N-metilformamida	182.4
Glicerol	42.5	Dimetilformamida	36.7
Etilenglicol	37.7	Metanol	32.6
Formamida	109.5	Etanol	24.3
Propanodiol	32	Tolueno	2.4
Etilendiamina	14.2	CCl ₄	2.2
Ácido fórmico	58.5		

Lo anterior demuestra los cambios significativos en estructura y conformación que sufren las proteínas en solventes no acuosos. Sin embargo, debe considerarse que el agua se requiere absolutamente para las funciones catalíticas de las enzimas. El agua participa directa o indirectamente en las interacciones no covalentes (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones de Van der Waals) que mantienen la conformación nativa, catalíticamente activa de las enzimas. Pero fue alrededor de 1982 que se iniciaron estudios acerca del comportamiento y actividad enzimática en solventes orgánicos, al contrario de lo esperado hasta entonces. La remoción del agua, drásticamente distorsiona la conformación e inactiva a las enzimas; pero en realidad la cuestión no era si el agua se requiere o no para la reactividad, sino cuánta es necesaria. Es imposible pensar que la molécula de proteína es capaz de interactuar con las 55.5 moles de agua del solvente. En realidad, siempre que se mantengan las moléculas más cercanamente asociadas a la molécula proteínica, el resto del agua podría ser reemplazada por un solvente orgánico que permita disolver distintos tipos de sustratos o recuperar los productos de ciertas reacciones enzimáticas que no resulten fáciles de recuperar en un sistema acuoso, o bien, podría evitarse crecimiento microbiano de posibles contaminaciones. Puesto que la cantidad de agua de la monocapa es minúscula, esta situación sería similar a tener la enzima funcionando en un medio orgánico casi anhidro. Y son los hidrocarburos los mejores solventes orgánicos para las reacciones enzimáticas por su hidrofobicidad, pues no presentan incentivo para que el agua esencial que mantiene la conformación interna de la enzima se particione hacia el solvente, así que permanece en la enzima. Por el contrario, los solventes más hidrofóbicos que tienen más afinidad por el agua la retiran más fácilmente de las moléculas de la enzima. En el caso de utilizar solventes más hidrofílicos la solución es saturarlos de agua para evitar que la retiren de la enzima. Los solventes miscibles en agua serían los menos indicados ya que pueden particionar el agua esencial para el funcionamiento de la enzima hacia el solvente.⁸¹ Actualmente el campo de investigación de la actividad enzimática en solventes orgánicos es enorme gracias a las nuevas ventajas descubiertas en la década de 1980, que permitió recuperar a las enzimas de las reacciones en las que participan, porque son esencialmente insolubles en los solventes orgánicos, y por los interesantes rendimientos obtenidos en reacciones, reversas a las que se conocen en la actividad enzimática correspondiente pero llevadas a cabo en agua, porque el equilibrio termodinámico permite realizar síntesis con las enzimas hidrolíticas. Además se logra eliminar las reacciones laterales indeseables del agua en las que se incurre cuando el solvente es acuoso.

3.6.7 Efecto de la adición de sales en la solubilidad de las proteínas

La definición de una sal indica que es un electrolito fuerte, que se disocia fácilmente en agua donde es altamente soluble, y que no cambia apreciablemente el pH de sus soluciones. Son dos los efectos de añadir sales a una solución de proteínas: se producen interacciones electrostáticas de las sales con los residuos de aminoácidos cargados que en general se considera que estabilizan el plegamiento original de la molécula cuando se encuentran en bajas concentraciones, lo cual es lógico si se considera que las enzimas y proteínas en los organismos se encuentran rodeadas de un ambiente con concentración salina fisiológica. Cuando se trata de concentraciones más altas ($> 1M$) el segundo efecto sobresale, y depende de la naturaleza de la sal en cuestión, ya que de acuerdo con las series liotrópicas o caotrópicas de Hofmeister,^{29, 46} sales como Na_2SO_4 y NaF mejoran la estabilidad estructural de las proteínas mientras que sales como $NaSCN$ y $NaClO_4$ la debilitan. El mecanismo consiste en que los diferentes iones logran estructurar en mayor o en menor grado a las moléculas de agua a su alrededor, causando una interacción indirecta con la proteína. Por lo tanto, la conformación tridimensional

de las proteínas y su estabilidad se ve influida no sólo por la concentración, sino por la clase de iones presentes y de hecho, son los aniones los que tienen una mayor influencia que los cationes. Un ejemplo es la precipitación selectiva de proteínas, muy utilizada como proceso de separación de distintas proteínas y enzimas, con cantidades crecientes de sulfato de amonio (figura 3.35).

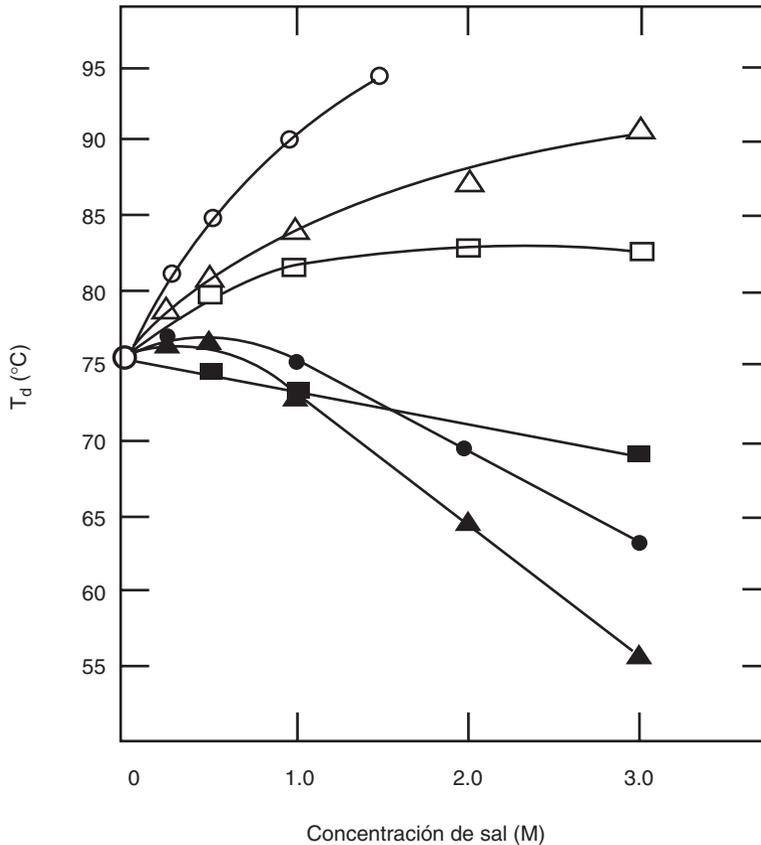


Figura 3.35 Efecto de varias sales de sodio en la temperatura de desnaturalización de la β -lactoglobulina.²⁶

De acuerdo con Damodaran,²⁶ al estudiar el efecto de la adición de diferentes sales de sodio, encontró que son los iones SO_4^{-2} los que más elevan la temperatura de desnaturalización de la β -lactoglobulina a pH 7.0, comparados con los iones $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{ClO}_4^- > \text{SCN}^-$ (figura 3.35). Lo anterior coincide con las series caotrópicas de Hofmeister donde los siguientes aniones presentan diferentes capacidades para desestabilizar la estructura de macromoléculas como las proteínas o el ADN: $\text{Cl}_3\text{CCOO}^- > \text{SCN}^- > \text{ClO}_4^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{-2} > \text{F}^-$. Del mecanismo se puede suponer que es la capacidad de las sales para provocar el ordenamiento del agua a su alrededor, lo que produce un cambio en las propiedades de hidratación de las moléculas de proteína y en la estructuración de la interfase agua-proteína. Damodaran indica que las sales que mejor estabilizan son las

que promueven la hidratación de las proteínas y que se unen a ellas de forma débil. Por el contrario, las que se unen fuertemente a las proteínas desestabilizan porque no logran hidratarlas eficientemente. El mecanismo involucra la capacidad de las sales para promover el ordenamiento de las moléculas del agua que no está íntimamente ligada a la proteína sino al agua que se encuentra en el seno del líquido rodeando a la proteína (agua “bulk”), por la formación de puentes de H a su alrededor, lo que promueve la estabilización de las proteínas. En contraste, las sales que desnaturalizan a las proteínas rompen la estructuración del agua “bulk” convirtiéndola en un mejor solvente para las moléculas apolares. En otras palabras, el efecto desnaturalizante de las sales caotrópicas está relacionado con la desestabilización de las interacciones hidrofóbicas intramoleculares y la estabilización de esas zonas hidrofóbicas ahora expuestas con las moléculas de agua y las sales que rompen estructura.

El efecto neto en la solubilidad de las proteínas dependerá de la naturaleza de la proteína y de la sal utilizada, obteniéndose una solubilización o “salting-in” cuando la presencia de los iones ayuda a la disolución de la molécula, o bien, de “salting-out”, cuando se precipitan otro tipo de proteínas. Las sales de iones divalentes como $MgCl_2$ y $(NH_4)_2SO_4$ son los más utilizados (figura 3.36).

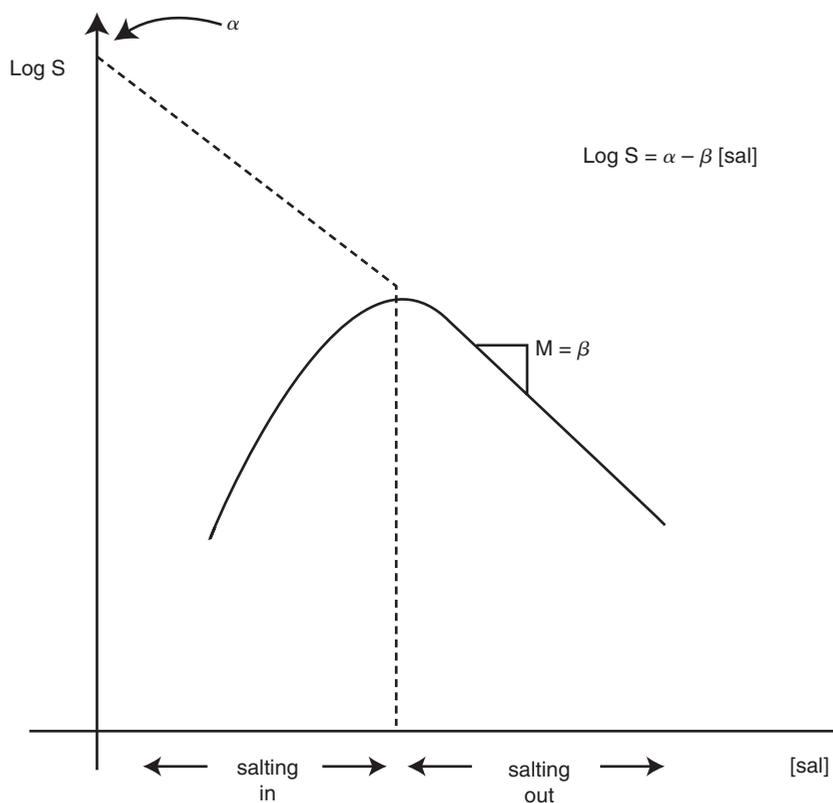


Figura 3.36 Efectos de la concentración de sales en la solubilidad de las proteínas

$$\text{Log } S = \alpha - \beta [\text{sal}] \quad [\text{Ec. 26}]$$

Donde: α = ordenada al origen o solubilidad teórica del polímero sin efecto de la sal.

β = independiente de T, pH o naturaleza de la proteína, sólo depende de la naturaleza de la sal utilizada.

El uso de sales para promover la cristalización de proteínas sigue siendo una técnica muy utilizada en cristalografía de rayos X, donde se requiere la formación de cristales altamente ordenados y no la formación de precipitados amorfos, lo que requiere de paciencia y tiempo para lograr la calidad apropiada de cristales.¹⁵⁷

3.6.8 Inactivación mecánica

Las proteínas, sobre todo las proteínas multiméricas son fuertemente afectadas por las fuerzas cortantes o por la agitación. Es el caso de los esfuerzos cortantes que se ejercen por ejemplo al bombear una solución proteínica a través de tuberías, donde al elevar el flujo se desdoblan las estructuras oligoméricas y el rompimiento de algunos enlaces puede acarrear desnaturalización. El caso de la agitación y mezclado, que son operaciones unitarias comúnmente aplicadas para la solubilización de sustratos o para mantener en suspensión algún componente del proceso, no necesariamente implica esfuerzos cortantes, pero sí la formación de interfases líquido-aire en procesos como el espumado cuando la proteína se desdobla y se adsorbe, por lo que estabiliza las burbujas de aire formadas. Para evitar este tipo de desnaturalización es necesario utilizar antiespumantes.

3.6.9 Proteólisis

En términos estrictos, la proteólisis no está considerada como una desnaturalización, ya que se fragmenta con ella el esqueleto polipeptídico y por lo tanto no se trata de un cambio de conformación, sino de un rompimiento irreversible de enlaces covalentes de la proteína. Así mismo, durante las operaciones del procesamiento de alimentos es frecuente encontrar consecuencias más severas para la estructura proteínica, como cuando se involucran la degradación proteolítica por la acción de proteasas que se encuentren como impurezas en los tejidos o en las preparaciones enzimáticas. En la naturaleza, la desactivación de proteínas llamada “recambio” tiene por objeto la renovación de las moléculas con actividad biológica, o bien para controlar la concentración enzimática en algún sistema, lo cual se logra precisamente a través de una degradación proteolítica. El recambio también evita la preservación de posibles errores de transcripción o traducción en la síntesis de proteínas, de forma que se puede corregir gracias a la relativamente corta vida de algunas enzimas fisiológicas como la ornitina descarboxilasa de rata que tiene una vida media de 11 min, la catalasa que perdura 30 horas o bien la lactato deshidrogenasa que permanece en el organismo alrededor de cuatro días.²⁹

3.7

MODIFICACIONES QUÍMICAS

El procesamiento de los alimentos frecuentemente induce cambios en las proteínas a través de las operaciones que involucran la aplicación de calor para cocer, evaporar, secar, pasteurizar o esterili-

zar, o bien en las operaciones de fermentación, irradiación, etcétera. La presencia de otros componentes en los alimentos, como pueden ser los lípidos que han sufrido reacciones de rancidez, o la presencia de azúcares reductores complica el cuadro, así como cuando se encuentra involucrada la acción de microorganismos. La aplicación de calor puede causar desnaturalización en las proteínas, cuando se aplican en forma moderada, y la formación de algunas sustancias tóxicas en casos más drásticos, pero es necesaria para mejorar la digestibilidad y las propiedades sensoriales de los alimentos, así como para evitar las reacciones de alergenicidad como sucede con algunas proteínas de soja y de leche. Resulta imposible separar los efectos benéficos de los dañinos, por lo que debe llegarse a un compromiso para minimizar las pérdidas de valor nutricional y la presencia de sustancias tóxicas, a fin de lograr una conservación adecuada del alimento y obtener buenas características sensoriales. Las proteínas, a pesar de sufrir de desnaturalización sufren sólo daños ligeros en su valor nutricional durante los tratamientos ácidos o alcalinos, a menos que éstos sean muy drásticos. Sólo se afecta su valor nutricional si se disminuye el contenido de aminoácidos indispensables.

3.7.1 Tratamientos térmicos moderados

Generalmente, estos tratamientos son benéficos y deseables debido a que la desnaturalización de las proteínas facilita su digestión y mediante el escaldado se logran inactivar enzimas como la polifenoloxidasasa para evitar un oscurecimiento no deseable como sucede con los champiñones, las papas, etcétera, y con el escaldado se inactivan las lipoxigenasas. También con la pasteurización se desactivan las lipasas de la leche. Otras moléculas de origen proteínico que es deseable inactivar son las toxinas microbianas como la de *Clostridium botulinum* y la de *Staphylococcus aureus* que, sin embargo, requieren temperaturas de 100°C y mayores respectivamente. En los alimentos de origen vegetal, sobre todo en el caso de las leguminosas, es deseable inactivar los inhibidores de tripsina y quimotripsina, y al aplicar tratamientos térmicos es posible también inactivar algunas lectinas (glicoproteínas) conocidas también como hemaglutininas. En otros alimentos como el huevo existen también factores como ovomucoides y ovoinhibidor, capaces de inhibir a tripsina, quimotripsina y a algunas proteasas fungales.

3.7.2 Pirólisis

Los tratamientos térmicos drásticos como el asado de carnes y pescados a la parrilla o al fuego directo y el horneado alcanzan temperaturas mayores de 200°C que dañan notablemente las superficies de los alimentos y los aminoácidos sufren pirólisis convirtiéndose en mutágenos de acuerdo a la prueba de Ames. Entre los más tóxicos están las carbolinas producidas a partir de Trp y los tóxicos a partir de Glu (figura 3.37).

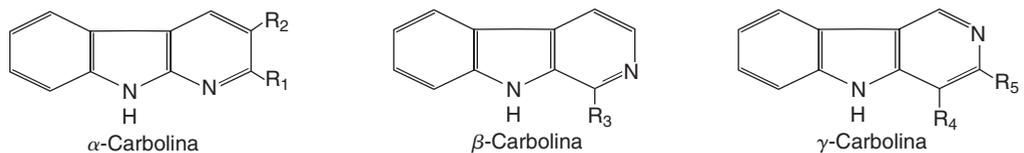


Figura 3.37 Estructura de las carbolinas.

Los imidoaazarenos son otros mutágenos indeseables en los alimentos. Proviene de la condensación de creatinina, azúcares y aminoácidos a temperaturas entre 190 y 200°C. Entre ellos se encuentran los productos derivados de la imidazoquinolina, que son potentes mutágenos en sus formas metiladas y dimetiladas (IQ, MeIQ y MeIQx). La formación de estos productos puede moderarse si se siguen los procedimientos recomendados para reducir su producción. Pero lo más importante es llevar una dieta variada y un estilo de vida saludable que permita minimizar sus efectos adversos (figura 3.38).

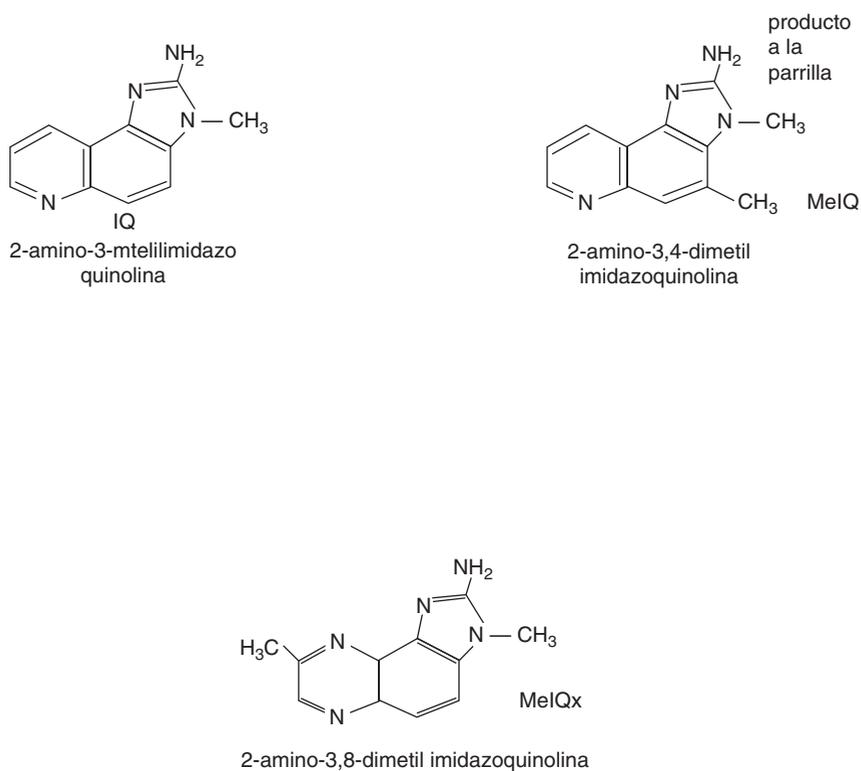


Figura 3.38 Amidoimidooazarenos formados a temperaturas de 190-200°C a partir de Gly, Thr, Ala, o Lys en condensaciones con creatinina y azúcares en pescado a la parrilla.

3.7.3 Racemización y formación de aminoácidos modificados

Es frecuente en los tratamientos alcalinos (figura 3.39) de acuerdo al siguiente mecanismo:

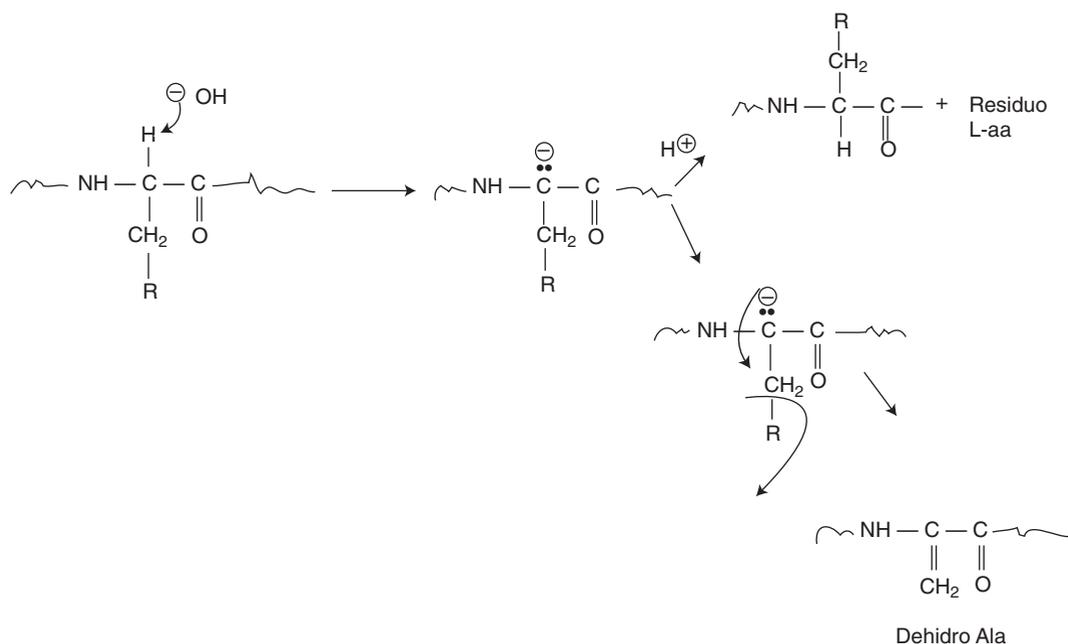


Figura 3.39 Racemización y β -eliminación en tratamientos alcalinos.

La racemización resulta más frecuente en las proteínas ($> 10x$) que en los aminoácidos libres sometidos al mismo tratamiento, ya que las fuerzas intramoleculares facilitan la reacción al disminuir la E_a necesaria para la reacción, y son los aminoácidos cuya cadena lateral facilita por atracción electrónica la eliminación alcalina del protón arriba descrito, los que más sufren la racemización.

La racemización puede llevar a la formación de aminoácidos raros como ornitina que tiene un grupo δ -amino (a partir de Arg) y la dehidroalanina (DHA) cuando el carbanión intermediario sufre β -eliminación como es el caso de Ser y fosfoserina (ver figura 3.39). Los tratamientos alcalinos también son utilizados para la producción de texturizados de proteína vegetal, y si se añan a un tratamiento térmico, se destruyen aminoácidos como Arg, Ser, Thr y Lys.

CUADRO 3.10 Disminución del valor nutricional de leche y Lys.

Tipo de leche procesada	Pérdida de Lys total (%)	Pérdida de Lys disponible (%)	Pérdida de Lys disponible en almacenamiento (%)
Leche cruda	0	0	---
Leche en polvo descremada (LPD) fresca	2.44 ^a	14.27 ^a	0
LPD almacenada seis meses	7.32 ^a (5) ^c	27.51 ^a	15.45 ^b
LPD almacenada 18 meses	12.20 ^a (10) ^c	29.22 ^a	17.44 ^b

^a Valores de la media significativamente diferentes de la leche cruda ($P < .01$).

^b Valores de la media significativamente diferentes de la leche descremada en polvo ($P < .01$).

^c Pérdida de lisina total en comparación con leche en polvo descremada no almacenada

Fuente: El *et al.* (1997) Int.J Food Sci Nutr 48(2): 109-111.

La consecuencia más directa de la racemización es una disminución del valor nutricional ya que los D-aminoácidos no son reconocidos por las enzimas digestivas, se absorben en menor proporción en la mucosa intestinal y no se pueden utilizar en los procesos fisiológicos.

Además la ornitina y la DHA se convierten en intermediarios de reacciones de entrecruzamiento.

3.7.4 Entrecruzamientos

Pueden ser considerados como interacciones proteína-proteína causadas por modificaciones químicas. Se encuentran naturalmente en las proteínas que presentan puentes S-S y otros tipos de enlaces como en proteínas resistentes a la proteólisis como el colágeno, la keratina y la elastina, que contienen ϵ -N-aspartil lisina y ϵ -N-glutamil lisina. Pero pueden formarse puentes similares a los enlaces peptídicos no naturales durante el procesamiento de los alimentos, lo que disminuye su valor nutricional, y es un fenómeno que sucede en proteínas que han sido tratadas con álcalis porque se forma la DHA, intermediario que reacciona con Lys, ornitina y Cys para dar lisinoalanina (LAL), ornitinoalanina y lantionina respectivamente (figura 3.40).

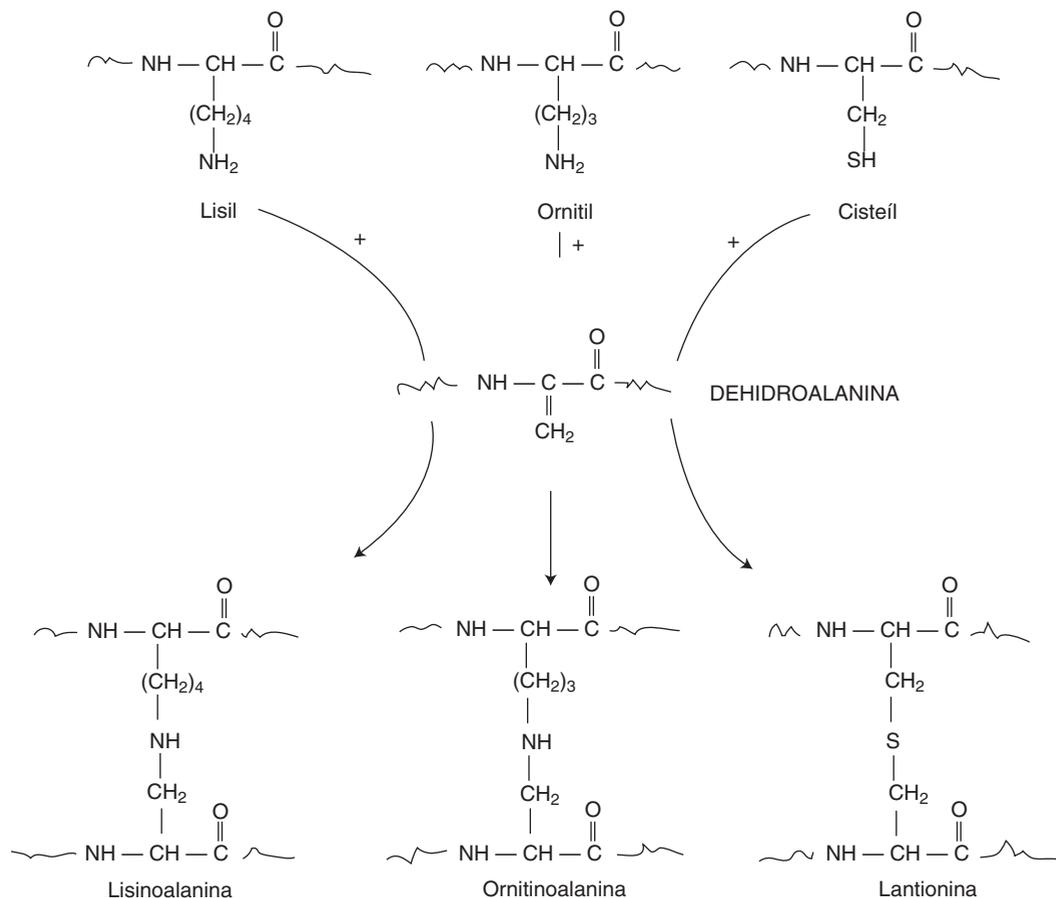


Figura 3.40 Reacciones de entrecruzamiento con la intervención de la dehidroalanina.

Además de perderse el valor nutricional de Lys, que es uno de los aminoácidos más deficientes en la dieta mexicana (el maíz, y los cereales en general, son bajos en este aminoácido) la LAL resulta tóxica; en ratas produce daño nefrotóxico, aunque en los seres humanos no se ha detectado una patología relacionada con LAL en los niveles consumidos en los alimentos procesados; sin embargo, es deseable minimizar su producción durante el procesamiento, sobre todo porque se pierde su valor como aminoácido indispensable. Otra forma de perder Lys en alimentos que han sido tratados en condiciones drásticas de esterilización es a través de entrecruzamientos artificiales, donde existe también la formación de ϵ -N aspartil lisina y ϵ -N glutamil lisina (figura 3.41).

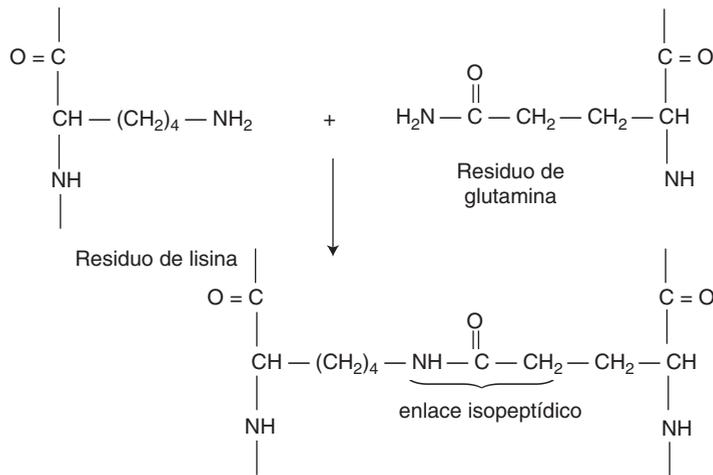


Figura 3.41 Esquema de la formación de enlaces isopeptídicos en Asp-Lys y Glu-Lys.

Los enlaces isopeptídicos formados de esta manera no son digeribles y se presentan con mayor frecuencia en alimentos altos en proteínas y bajos en carbohidratos, que de otra forma producirían reacciones de Maillard.

Los valores reportados de LAL en alimentos se encuentran por debajo de los valores necesarios para producir nefrotoxicidad en ratas, lo que requiere de 100 ppm de LAL pura o 3,000 ppm de LAL ligada a proteínas. Entre los alimentos con mayor contenido de LAL se encuentran los agentes para batido, es decir las bases de proteína que facilitan la incorporación de aire, gracias a que las proteínas que los componen han sido tratadas para facilitar el proceso. Por otro lado, la leche evaporada y el caseinato de Na son los alimentos con valores más altos de pérdida de Lys. En el caso particular de las tortillas, a pesar de llevarse a cabo un proceso de nixtamalización previo a su elaboración, consistente en una cocción fuertemente alcalina, los valores son de los más bajos entre los ejemplos reportados en el cuadro 3.11.

Las radiaciones ionizantes son capaces de formar indirectamente entrecruzamientos que dañan el valor nutricional de las proteínas. Un mecanismo lo constituye la producción de radicales libres de $\cdot OH$ provenientes de la ionización del agua, que pueden inducir la formación de entrecruzamientos en las proteínas de acuerdo al siguiente esquema simplificado:



Otra forma de entrecruzamientos no naturales es la causada por el intercambio S-S que ocurre por calentamientos moderados (70-0°C) causantes también de polimerización de las moléculas proteínicas, pero no daña el valor nutricional de los aminoácidos indispensables.

CUADRO 3.11 Valores de LAL en alimentos

Alimento	LAL ($\mu\text{g/g}$ proteína)
Papas fritas	390
Pretzels	500
Harina maíz sin nixtamalizar	560
Tortillas de maíz	200
Taco shells (tostadas)	170
Fórmula láctea infantil	150-640
Leche evaporada	590-860
Leche UHT	160-370
Leche HTST	260-1030
Leche secada por aspersión	0
Leche descremada evaporada	520
Análogo de queso	1070
Clara de huevo en polvo	160-1820
Caseinato de calcio	370-1000
Caseinato de sodio	430-6,900
Caseína ácida	70-190
Proteína vegetal hidrolizada	40-500
Agente para batido	6,500-50,000
Aislado de proteína de soya	0-370
Extracto de levadura	120

Fuente: Swaisgood y Catignani, 1991.

3.7.5 Reacciones de las proteínas con agentes oxidantes

Los aminoácidos más lábiles son Met > Cys > Trp cuando se aplican agentes oxidantes, frecuentemente utilizados para inhibir crecimiento microbiano en los procesos de alimentos: peróxido de hidrógeno e hipoclorito de Na. Met se transforma en sulfóxido de Met al añadir un átomo de oxígeno y en Met-sulfona al añadir dos de ellos. En caso extremo es posible formar ácido homocisteico (contiene un metileno más que el ácido cisteico) por la desmetilación de Met oxidada. En el caso de Cys y Cistina, se forman también una serie de compuestos que gradualmente adquieren átomos de oxígeno: Cys-sulfénico, Cys-sulfínico y Cys-sulfónico o ácido cisteico. A partir de la Cistina se forma Cistina mono o disulfóxido y Cistina disulfona (figura 3.42).

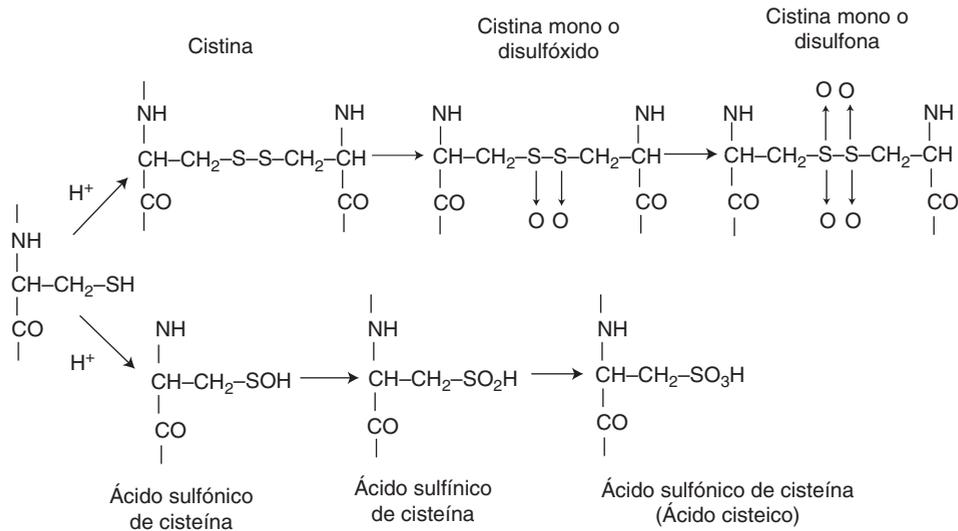


Figura 3.42 Diferentes formas de oxidación de la Cisteína.

El caso de Trp ha sido estudiado a través de aplicar en el laboratorio dimetilsulfóxido (DMSO), ácido per fórmico o N-bromosuccinimida (NBS) para obtener la molécula oxidada de β -oxindolalanina. Y es en los procesos de sanitización que frecuentemente se utiliza ozono o peróxido de hidrógeno los cuales en contacto con las proteínas pueden producir N-formil kinurenina y kinurenina, así como otros compuestos varios, todos sin el valor nutricional de Trp, que es un aminoácido difícil de proporcionar en la dieta mexicana tradicional basada en maíz y frijol (figura 3.43).

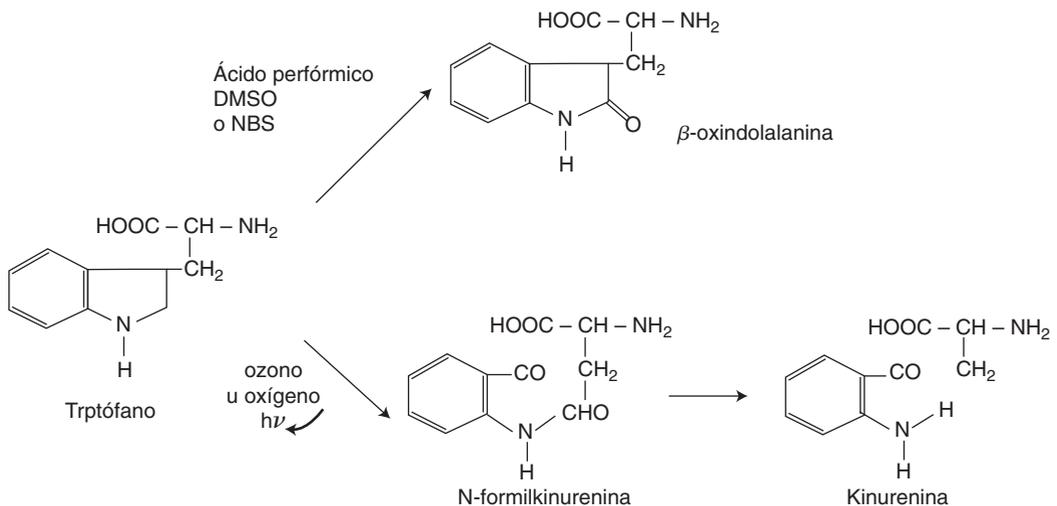


Figura 3.43 Formación de kinureninas a partir de Trp.

Otra fuente de agentes oxidantes son los lípidos peroxidados provenientes de alimentos en proceso de enranciamiento. Otro de los aminoácidos que se daña por procesos oxidativos es la Tyr cuando se aplican peróxido de hidrógeno y peroxidasa produciendo ditirosina, que se encuentra en proteínas al natural como la keratina, elastina y colágeno.

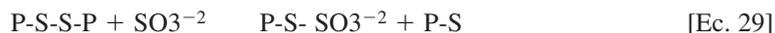
3.7.6 Reacciones con nitritos

Las N-nitrosaminas, consideradas entre los cancerígenos más importantes, se forman por la reacción entre nitritos y aminas secundarias, y en un menor grado aminas primarias y terciarias. Los aminoácidos libres son aminas primarias y pueden reaccionar con los nitritos en los procesos de alimentos que se llevan a cabo a pHs ácidos y con tratamientos térmicos.

En la producción de embutidos es indispensable la adición de nitritos con el fin de evitar el crecimiento de *C. botulinum* y la consecuente producción de su toxina, así como para la obtención del color rosado en las carnes curadas y embutidos. Los nitritos producen ácido nitroso que fácilmente reacciona con los residuos de Trp, Arg, Tyr y Cys principalmente para formar N-nitrosotriptofano, con Cys para obtener S-nitrosocisteína y con Pro para formar N-nitrosopirrolidina.²⁹ En embutidos, el mecanismo más favorecido es la reacción del ácido nitroso con los residuos de aminoácidos que actúan como aminas primarias, excepto Pro que puede considerarse con una amina secundaria.⁹⁹ Las glicosilaminas producidas en las reacciones de Maillard (productos de Amadori y de Heyns) reaccionan fácilmente con los nitritos. En un esfuerzo por minimizar la producción de la N-nitrosaminas al cocinar, asar a la parrilla o al fuego los embutidos, se añaden ácidos ascórbico y eritóbico para controlar la reacción.

3.7.7 Reacciones con sulfitos

En general, la adición de sulfito en los alimentos previene el oscurecimiento de Maillard, así como el oscurecimiento enzimático, pero logra reducir puentes disulfuro para producir la versión sulfonada de Cys involucrada en el S-S.



Los puentes disulfuro se restauran en las condiciones ácidas del estómago, además la Cys sulfonada no pierde su valor nutricional, aunque sí cambian las propiedades funcionales por la pérdida de estructura con la ruptura del S-S.²⁹

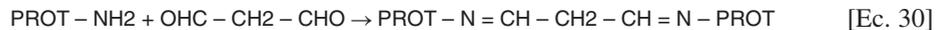
3.7.8 Reacciones carbonil amino

Estas reacciones, más conocidas como reacciones de oscurecimiento no enzimático o reacciones de Maillard, se presentan en los alimentos sometidos a altas temperaturas como el horneado, y que tienen un alto contenido de proteínas y carbohidratos, de forma que involucran al grupo aldehído reductor de los azúcares (aldosas y cetosas), de sustancias como el ácido ascórbico y de los carbonilos producidos por el enranciamiento de lípidos, y a los grupos amino libres de los aminoácidos, frecuentemente el ϵ -amino de Lys. Esto trae consigo una disminución en el valor nutricional de los alimentos, principalmente al disminuir la biodisponibilidad de Lys, que dependerá de la etapa particular del oscurecimiento: la base de Schiff que se genera en etapas tempranas de la reacción, se descompone en Lys y el azúcar en el medio ácido del estómago. A partir de las etapas de la formación de la ceto-

samina, es decir de los compuestos de Amadori y el rearrreglo de Heyns a aldosaamina, Lys pierde su biodisponibilidad. Posteriormente en la reacción se forman productos de condensación coloridos o melanoidinas, compuestos insolubles indeseables que se generan durante el almacenamiento de productos como la leche en polvo. Sin embargo, hay casos en los que las reacciones coloridas tienen efectos deseables en alimentos como el pan, las galletas y otros productos en los que también los aldehídos resultantes y volátiles forman parte del aroma característico. Estas reacciones deseables ocurren también en los dulces de leche y otros productos de confitería y galletería.

La degradación de Strecker es uno de los mecanismos que forma parte de las reacciones de Maillard. Proviene de la reacción de un aminoácido con un derivado α -dicarbonilo y que termina con la descomposición del aminoácido en un grupo aldehído, amoniaco y dióxido de carbono.²⁹ Cada aldehído da un aroma particular dependiendo del aminoácido que lo origina.

Otra fuente alternativa de grupos aldehídos, en sustitución de los azúcares, proviene del enranciamiento de los lípidos. El aldehído difuncional malonaldehído uno de los más importantes ya que es capaz de entrecruzar a las proteínas causando insolubilización, pérdida de digestibilidad, y consecuentemente una disminución de la biodisponibilidad.



Siendo un poderoso agente involucrado en el daño de los alimentos durante el enranciamiento de grasas, es uno de los indicadores más utilizado y se cuantifica utilizando ácido tiobarbitúrico.

De forma indirecta, durante las reacciones de Maillard se oxidan especialmente Met, Tyr, His y Trp a causa de la presencia de carbonilos insaturados y radicales libres provenientes del proceso de enranciamiento.

3.7.9 Formación de acrilamida en altas temperaturas

En 2002, investigadores suecos encontraron niveles significativos de acrilamida, compuesto altamente neurotóxico, teratógeno y mutágeno en productos ricos en carbohidratos, como pueden ser papas a la francesa, papas fritas, botanas, pan, pan tostado, etcétera (cuadro 3.12) como resultado de los procesos térmicos realizados a altas temperaturas

Los mecanismos propuestos implican a Asn como el aminoácido involucrado a través de reacciones de Maillard para formar un compuesto de Amadori que reacciona fácilmente con los extremos reductores de los almidones presentes hasta formar efectivamente la acrilamida.¹⁵⁶ (Figura 3.44).

Hay evidencias de que una disminución en los niveles de Asn permite reducir la formación de acrilamida y ya existen investigaciones tendientes a producir por ingeniería genética variedades de papas bajas en ese aminoácido. Asimismo, se ha encontrado que en los procesos tradicionales donde se fermenta la masa para el leudado se reducen significativamente los niveles de Asn disponibles para la posterior reacción química en el horneado, gracias a la fermentación ya que la levadura consume el aminoácido.⁴⁹ Las prácticas modernas de panificación en las que se alcanzan los niveles de azúcares fermentables utilizando enzimas, y no por fermentación, han desplazado a los métodos tradicionales y actualmente se generan niveles altos de acrilamida en el pan.

Los niveles medios de exposición³⁸ se encuentran por debajo de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso /día en adultos (con valores que van de 0.28 a 0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso/día) y cerca de 1.5 veces más para el caso de

CUADRO 3.12 Contenido de acrilamida³⁸

Alimentos	n	Mínimo	Mediana	Máximo	Desv. Std.
Alimentos y fórmulas infantiles	36	0.0	10.0	130.0	36.6
Papas a la francesa y fritas	97	20.0	318.0	2762.0	427.9
Alimentos altos en proteína	21	0.0	10.0	116.0	27.7
Panes y productos de pastelería ^a	49	0.0	34.0	432.0	107.9
Cereales y muesli	23	11.0	77.0	1057.0	249.1
Galletas y botanas	32	12.0	169.0	1243.0	331.1
Salsas y sazonadores	13	0.0	0.0	151.0	43.4
Nueces y mantequillas	13	0.0	89.0	0457.0	143.0
Productos de chocolate	14	0.0	20.5	909.0	243.6
Frutas y verduras enlatadas	33	0.0	10.0	1925.0	411.7
Café, molido	59	37.0	205.0	539.0	106.3
Café, extracto	20	3.0	6.5	13.0	2.4
Tortillas de maíz	–	<10	–	13	nd
Tortillas de maíz (fritas)	–	13	–	15	nd
Chips de tortillas y tostadas	–	111	220	337	nd

nd: No disponible.

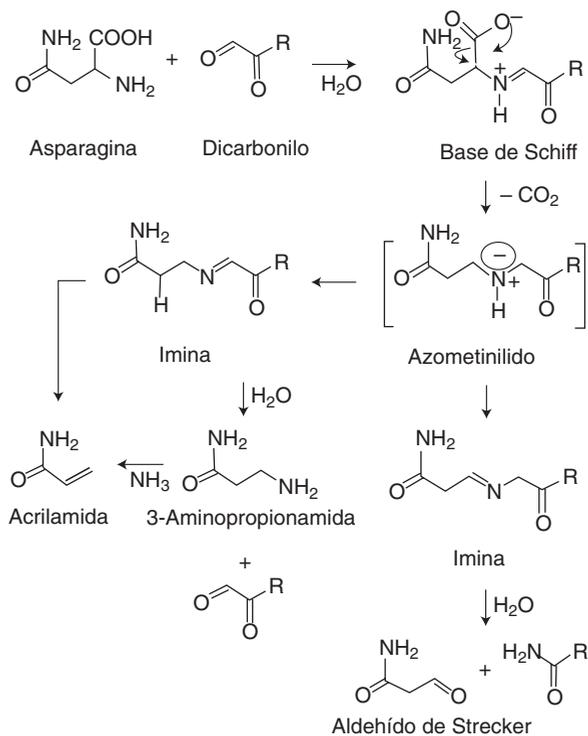


Figura 3.44 Mecanismo de la formación de acrilamida.

niños y adolescentes, dependiendo del estudio y de la categoría de edad considerada. En la actualidad, y dado el enfoque que se da a la nutrición y su relación directa con la salud, deben revisarse los posibles niveles de exposición causados por las prácticas actuales de alimentación que incurren en una mayor exposición de los sujetos en ciertos segmentos de la población. En el caso de niños pequeños, la exposición puede ser muy alta, ya que los niños de áreas urbanas tienen ante sí una enorme disponibilidad de productos procesados a altas temperaturas, como las papas y las botanas fritas. Los efectos potenciales en niños deben ser analizados cuidadosamente, por su bajo peso y por el potencial mutagénico de la acrilamida. Una dieta balanceada sigue siendo la mejor arma para lograr una buena nutrición.

3.7.10 Pérdida de aminoácidos por fraccionamiento (fraccionación)

Los aislados proteínicos son importantes productos en la industria alimentaria que se obtienen generalmente a partir de tratamientos alcalinos que solubilizan una buena porción de las proteínas vegetales y posteriormente se someten a operaciones como evaporación, ultrafiltración, precipitación isoeléctrica, etcétera, a manera de concentrarlas para obtener un producto con más del 90% de proteína a partir de fuentes como la soya (*Glycine max*),³⁰ que domina el mercado de este tipo de aditivos alimentarios, aunque existen también aislados comerciales de proteína de chícharo (*Pisum sativum*) y algunos experimentales de otras oleaginosas como el ajonjolí (*Sesamum indicum*).⁹⁶ Generalmente, al producirse cambios estructurales de las proteínas con estas operaciones se obtienen diferencias en las propiedades funcionales como la capacidad de emulsificación y de espumado, ya que las proteínas pueden estar más desplegadas, lo que facilita grandemente su buena funcionalidad en interfaces. Pero a la vez un aislado proteínico puede perder marcadamente aminoácidos indispensables, por lo que no siempre pueden utilizarse como ingredientes, en grandes cantidades como fuente de proteínas. La mayoría de las veces se utilizan como aditivos porque son sus propiedades funcionales las más atractivas, y no las nutricias. No puede descartarse la formación potencial de sustancias tóxicas a causa de los tratamientos químicos de los aminoácidos, como se discute en otras secciones de este capítulo.

3.8 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS

La funcionalidad de una sustancia se define como toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización.^{100, 48} Este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en alimentos, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas. Las características sensoriales resultan de más importancia para el consumidor que el valor nutricional, el que frecuentemente se altera para lograr buenas cualidades organolépticas, como textura, sabor, color y apariencia, las que a su vez son el resultado de interacciones complejas entre los ingredientes. Como ejemplo se puede señalar el caso de los productos de panadería, donde la viscosidad y la capacidad de formar pastas se relacionan justamente con las propiedades de las proteínas del gluten de trigo. Así mismo, las características de textura y succulencia

de los productos cárnicos son dependientes de las proteínas musculares (actina, miosina, actinomio-sina y proteínas de la carne solubles en agua). La textura y las propiedades de cuajado de los productos lácteos se deben a la estructura coloidal de las micelas de caseína; y la estructura de algunos pasteles y las propiedades espumantes de algunos postres o productos de confitería dependen de las propiedades de espumado y gelificación de las proteínas de la clara de huevo. Los comportamientos aquí descritos, se deben a la estructura tridimensional de las moléculas que componen el alimento.

El papel funcional de varias proteínas en diferentes alimentos se enlista en el cuadro 3.13.

CUADRO 3.13 Papel de las proteínas en sistemas alimenticios

<i>Función</i>	<i>Propiedad Física/Química</i>	<i>Alimento</i>	<i>Tipo de proteína</i>
Solubilidad	Hidrofilicidad, carga neta,	Bebidas.	Proteínas del suero. Proteínas aisladas de ajonjolí.
Viscosidad	Hidrofilicidad, hidrodinámica del tamaño y forma.	Sopas, salsas postres y aderezos.	Gelatina, soya.
Absorción de agua	Hidrofilicidad.	Salchichas, pasteles y panes.	Proteínas musculares y huevo.
Gelación	Atrapamiento de agua, formación de redes.	Cárnicos, geles, pasteles, panadería, quesos.	Proteínas musculares, proteínas del huevo y de la leche.
Adhesión-cohesión	Hidrofobicidad, interacciones iónicas y puentes de hidrógeno.	Cárnicos, salchichas, pastas, panificación.	Proteínas musculares proteínas del huevo, proteínas del suero.
Elasticidad.	Interacciones hidrofóbicas, puentes disulfuro.	Panadería y cárnicos.	Proteínas musculares. Gluten y proteínas de cereales
Emulsificación y espumado.	Hidrofobicidad, hidrofilicidad, flexibilidad y rigidez, tamaño, estructura. Adsorción interfacial y formación de películas.	Mayonesas, aderezos. Merengues, helados y productos batidos	Proteínas musculares, huevo, leche y soya. Aislados proteínicos de soya y ajonjolí. Leche y huevo.
Capacidad de ligar grasa y sabores.	Interacciones hidrofóbicas, atrapamiento.	Productos de panadería bajos en grasa, donas.	Proteínas lácteas, proteínas de huevo, gluten y proteínas de cereales.

Los sistemas alimentarios son complejos y ocurren en ellos diversos fenómenos simultáneamente. Por ejemplo, los atributos sensoriales de un pastel dependen de que ocurra gelificación, espumado y emulsificación de los ingredientes utilizados y lo ideal sería que un solo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes. Por ejemplo, la clara de huevo es capaz de generar gelificación, emulsificación, espumado, absorción de agua y coagulación por calor, lo cual la hace una proteína deseable en muchos alimentos. De otra manera, se debe conjuntar un amplio rango de propiedades fisicoquímicas cuando se parte de preparaciones complejas, consistentes en mezclas de diferentes proteínas.

La industria alimentaria se encuentra a la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios.¹³¹ Esta búsqueda se centra más hacia las proteínas vegetales, que tradicionalmente han desempeñado un papel importante en la nutrición humana, particularmente en países en desarrollo donde el consumo promedio de proteína es menor al requerido para garantizar un buen estado nutricional.^{76, 131}

La forma más común de comercializar estas fuentes proteicas es la producción de aislados proteicos que tienen diversas aplicaciones como ingredientes y aditivos alimentarios y cuyas propiedades dependen del número y tipo de proteínas presentes, así como de su pureza. Los de soya dominan el mercado, aunque existen otras opciones como los de canola, trigo, chicharo y almendras,¹³¹ y existe uno más, de proteínas de ajonjolí que se comercializa a nivel internacional.³⁷

La funcionalidad de una proteína no está del todo comprendida y hasta ahora no ha sido posible predecir su comportamiento en sistemas modelo, aunque se trabaja activamente en este sentido. La relación entre la composición de aminoácidos y las propiedades funcionales y fisicoquímicas se puede visualizar como una serie de eventos que están interrelacionados. Por ejemplo, a partir de la composición y de su secuencia de aminoácidos se pueden deducir propiedades fisicoquímicas como hidrofobicidad, hidrofiliidad, tamaño, forma, carga neta y distribución de la carga, actividad superficial y viscosidad,³⁰ que a su vez determinan las propiedades funcionales, como espumado, gelificación, formación de películas o estructuras vítreas, capacidad para ligar agua o aceite, emulsificación, etcétera. Sin embargo, los modelos de predicción de propiedades funcionales a partir de la información sobre sus aminoácidos son todavía limitados.¹⁵³ La consideración de otros parámetros, como la relación hidrofobicidad/hidrofiliidad, estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, flexibilidad/rigidez molecular y capacidad para interactuar/reaccionar con otros compuestos resultan cruciales para el mejor modelamiento así como para el desarrollo de nuevas aplicaciones.

Empíricamente las propiedades funcionales de las proteínas son una manifestación de dos aspectos moleculares de las proteínas: a) las propiedades hidrodinámicas, y b) propiedades de la proteína relacionadas con su superficie. Las propiedades funcionales como la viscosidad, gelación y texturización se relacionan con las primeras, que dependen del tamaño, forma y flexibilidad molecular. Las propiedades funcionales, como la humectabilidad, dispersabilidad, solubilidad, espumado, emulsificación y unión a sabores se relacionan con las propiedades de superficie de la proteína.³⁰ Aunque existen diversos métodos de clasificación^{13, 78, 125, 126} sólo se presenta a continuación la propuesta de Cheftel¹⁹ quien considera tres grandes grupos.

Propiedades de hidratación. Dependen de las interacciones proteína-agua y son: absorción de agua, capacidad de mojado (humectación), capacidad de hinchamiento, capacidad de retención de agua, adhesividad, dispersabilidad, solubilidad y la viscosidad como propiedad hidrodinámica.

Propiedades relacionadas con interacciones proteína-proteína. Se trata de las propiedades de precipitación, gelación, formación de estructuras como pueden ser la formación de masa, de fibras, de películas, la adhesión y la cohesión.

Propiedades de superficie. Dependen en forma importante de la composición superficial de la proteína, puesto que de acuerdo a la misma dependerá la capacidad de ligar grasas y sabores. La emulsificación y el espumado son dos propiedades relacionadas más directamente con los fenómenos de superficie.

En realidad, estos grupos de propiedades están interrelacionados; por ejemplo, la gelación involucra no solamente interacciones proteína-proteína sino también proteína-agua, en tanto la viscosidad y la solubilidad dependen de las relaciones entre proteína-agua y proteína-proteína.

3.8.1 Propiedades de hidratación

El agua es un componente esencial de los alimentos y modifica las propiedades fisicoquímicas de las proteínas, por ejemplo, al ejercer un efecto plastificante sobre las proteínas amorfas o semicristalinas modifica su temperatura de transición vítrea y de fusión (T_D). La transición vítrea se refiere a la conversión de un sólido vídrioso amorfo a un estado flexible plastificado, en tanto que la temperatura de fusión se refiere a la transición de un sólido cristalino a una estructura desordenada.²⁹

La dispersabilidad, la humectabilidad, el hinchamiento, la solubilidad, el “espesamiento” o aumento en viscosidad, la capacidad de atrapamiento de agua, la gelación, la coagulación, la emulsificación y el espumado, dependen todas de las interacciones proteína-agua. Las moléculas de agua se unen a diferentes grupos en las proteínas, como los grupos cargados mediante interacciones ion-dipolo. Así mismo, se unen al esqueleto del enlace peptídico, a los grupos amida de Asn y Gln, y al grupo hidroxilo de los residuos Ser, Thr y Tyr por interacciones dipolo-dipolo. En el caso de unión a los residuos no polares se induce una interacción dipolo-dipolo, o bien una “hidratación” hidrofóbica.

La **capacidad para ligar agua** de las proteínas se expresa como los gramos de agua por gramo de proteína cuando una proteína en polvo es equilibrada con vapor de agua a una humedad relativa del 90 al 95%. Se relaciona con la composición de aminoácidos: si hay una mayor concentración de aminoácidos cargados la capacidad de hidratación es mayor y puede ser calculada a partir de su composición de aminoácidos usando la siguiente ecuación empírica.⁸⁴

$$a = fC + 0.2 fN \quad [\text{Ec. 31}]$$

Donde a es gramos de agua/gramo de proteína, y fC , fP y fN son las fracciones de los residuos cargados, no polares, y polares, respectivamente. No obstante, el modelo es válido para proteínas monoméricas, ya que en el caso de las oligoméricas se presenta una interfase entre subunidad y subunidad, lo que provoca que los resultados experimentales sean mayores que los predichos por la ecuación.

En la mayoría de las proteínas se cuenta con una monocapa de agua con una actividad acuosa (a_w) de 0.05-0.03, en tanto las multicapas de agua se forman en un rango de actividad de agua de 0.3-0.7. El agua presente en la monocapa se asocia primariamente con los grupos iónicos, no se congela y no toma parte en las reacciones químicas como solvente: se le denomina agua “ligada” o tipo I. En una $a_w = 0.9$, las proteínas ligan arriba de 0.3-0.5 g agua/g de proteína. Los factores ambientales como pH, fuerza iónica, tipo de sales, temperatura y conformación de la proteína, influyen sobre la capacidad de ligar agua de las proteínas. Las proteínas presentan la menor capacidad de hidratación en

su punto isoeléctrico, en el que predominan las interacciones proteína-proteína. Por encima y por debajo del mismo se modifica la carga neta y pueden hincharse y unir más agua. En la mayoría de las proteínas a pH 9 y 10 se presenta la mayor capacidad por la ionización del hidroxilo de los residuos de Tyr. Arriba del pH 10 disminuyen los grupos cargados positivamente de los grupos ϵ -amino de Lys lo que se traduce en una reducción de la capacidad de ligar agua.

En una baja concentración de sales (< 0.2 M) se incrementa la capacidad de ligar agua y cuando hay altas concentraciones de sales, gran parte del agua existente se liga a los iones de la sal y se deshidratan las proteínas.¹⁷³ Conforme la temperatura se incrementa, disminuyen los hidrógenos unidos y la hidratación de los grupos iónicos disminuye. Por tanto, una proteína desnaturalizada suele unir 10% más de agua que su equivalente en estado nativo, aunado al hecho de que incrementa el área superficial de las proteínas, aunque también se debe señalar que se puede dar el fenómeno de agregación, con el consiguiente incremento de las interacciones proteína-proteína, y por ende, baja la capacidad de ligar agua.

No existe necesariamente una correlación entre la capacidad de ligar agua y la solubilidad.² En general, las proteínas desnaturalizadas presentan baja solubilidad a pesar de que unan la misma cantidad de agua que una proteína nativa, lo que indica que la solubilidad depende también de otros factores termodinámicos. Para las aplicaciones en alimentos la capacidad de retención del agua es más importante que la capacidad de ligar el agua, lo que se refiere a la capacidad de las proteínas para embeber agua y retenerla contra una fuerza gravitacional dentro de una matriz proteínica, como los geles de proteínas o en los músculos de carne o pescado. Por ejemplo, la capacidad de atrapar agua se asocia con la jugosidad y suavidad de carne picada para alcanzar la textura requerida en embutidos.^{132, 167, 174}

Solubilidad

Las propiedades funcionales de las proteínas a menudo se ven afectadas por la solubilidad de la proteína, especialmente en el caso del hinchamiento, espumado, emulsificación y gelificación.^{64, 167, 176} Las proteínas insolubles tienen un uso muy limitado en alimentos. La solubilidad de una proteína es la manifestación termodinámica del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y solvente-proteína, que a su vez dependen de la hidrofobicidad y naturaleza iónica de las mismas.⁶³

Las interacciones hidrofóbicas promueven las interacciones proteína-proteína que inciden en una disminución de la solubilidad, mientras que las interacciones iónicas promueven la relación proteína-agua que provoca un aumento de la solubilidad. El promedio de la hidrofobicidad se define como: $\Delta g = \Sigma \Delta g_{\text{residuo}}/n$, donde $\Delta g_{\text{residuo}}$ es la hidrofobicidad de cada residuo de aminoácido calculada a partir del cambio de energía libre al transferir de etanol a agua, y n es el número total de residuos en la proteína.

Por su parte, los residuos iónicos introducen dos clases de fuerzas repulsivas entre las moléculas de proteínas en solución: repulsión electrostática entre las moléculas de proteína debidas a una carga neta positiva o negativa en cualquier pH distinto del isoeléctrico, y repulsión entre las capas de hidratación alrededor de los grupos iónicos. La solubilidad dependerá de la frecuencia de las cargas, definida como:

$$\sigma = (n^+ + n^-)/n$$

donde n^+ y n^- son el número total de residuos cargados positiva o negativamente, donde n es el número total de residuos.

Se ha propuesto por Bigelow¹¹ que la solubilidad de la proteína será mayor cuanto menor sea la hidrofobicidad promedio y mayor la frecuencia de carga. Si bien, esta correlación es empírica, se presenta en la mayoría de las proteínas y el modelo puede ser mejorado si sólo se toman en cuenta la hidrofobicidad e hidrofiliidad superficiales y no las de toda la proteína, ya que sólo la superficie que está en contacto con el agua es la que ejerce las propiedades funcionales.

Clasificación de las proteínas con base en su solubilidad

A continuación se mencionan las cuatro categorías en que se clasifican las proteínas de acuerdo con las características de solubilidad:

Albúminas son las que se solubilizan en agua a pH 6.6 (albúmina sérica, ovoalbúmina, y α -lactoalbúmina).

Globulinas son las solubles en soluciones salinas diluidas a pH 7.0 (glicinina, faseolina y β -lactoglobulina).

Glutelinas son las solubles en soluciones ácidas (pH 2) y alcalinas (pH 12) (glutelinas de trigo).

Prolaminas son las solubles en etanol al 70% (zeína, gluten de maíz y las gliadinas del trigo).

Cabe mencionar que tanto las prolaminas como las glutelinas son proteínas altamente hidrofóbicas. La solubilidad de las proteínas se afecta por las condiciones de la solución, como el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de solventes orgánicos, además de las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de las moléculas.¹⁵¹

A continuación se detallan algunos efectos.

Solubilidad y pH

En los valores de pH por arriba y por debajo del pH isoelectrico, las proteínas tienen una carga neta positiva o negativa, respectivamente. En el punto isoelectrico las proteínas presentan una solubilidad mínima, que al graficar, permite observar curvas en forma de U. Algunas proteínas alimenticias, como β -lactoglobulina (pI 5.2) y albúmina sérica bovina (pI 5.3), son altamente solubles en su pH isoelectrico, porque no hay repulsión electrostática y contienen una alta concentración de residuos hidrofílicos en su superficie comparados con los no polares por lo que la proteína permanecerá soluble en su pI. No debe olvidarse que una proteína en su pI no es que no tenga carga, sino que las cargas positivas igualan a las negativas en su superficie. En este punto, si la hidrofiliidad y las fuerzas de repulsión por hidratación provenientes de estos residuos cargados son mayores que las interacciones hidrofóbicas proteína-proteína, la molécula se mantendrá soluble en su pI.

Muchas proteínas son altamente solubles a pH alcalino (8-9), al que normalmente se lleva a cabo la extracción de proteínas de fuentes vegetales, como sucede en la producción de asilados de soya o de otras leguminosas. La proteína se recupera del extracto por precipitación isoelectrica en el rango de pH de 4.5-4.8. El comportamiento ante el pH cambia si la proteína se trata térmicamente, como consecuencia de la desnaturalización debido al cambio de hidrofobicidad superficial por el desplegamiento, lo que acarrea un incremento en las interacciones proteína-proteína.⁸⁷

Así, por ejemplo, el aislado de proteínas del suero nativo es completamente soluble en el intervalo de pH de 2 a 9, pero cuando se calienta a 70°C por un minuto hasta 10 min se desarrolla un perfil de solubilidad en forma de U con un mínimo de solubilidad a pH de 4.5 (figura 3.45).

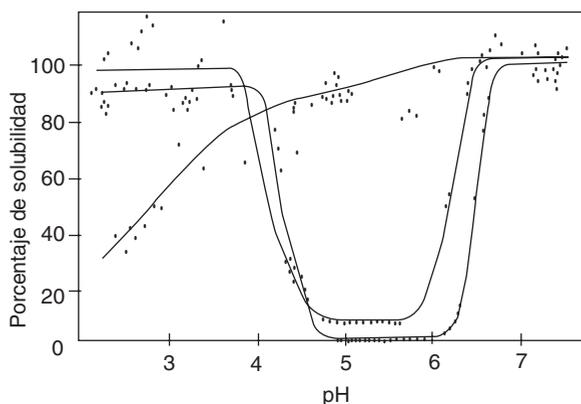


Figura 3.45 Perfiles de solubilidad respecto del pH para glicinina después de incubaciones a 0.6 mg/mL por 16 h a 20°C: I = (□) 0.5, (▲) 0.2 y (*) 0.03.⁸⁷

Solubilidad y fuerza iónica

La fuerza iónica de una solución salina se representa por la siguiente ecuación.

$$\mu = 0.5 \sum C_i Z_i^2$$

donde C_i es la concentración de un ión, y Z_i es su valencia. En una fuerza iónica baja (< 0.5), los iones neutralizan la carga en la superficie de la proteína. La solubilidad disminuye para las proteínas que contienen una alta incidencia de zonas no polares y se incrementa para las proteínas que no. El primer comportamiento es típico de las proteínas de soya,⁸⁶ y el segundo lo presenta la β -lactoglobulina. El descenso en la solubilidad es causado porque se incrementan las interacciones hidrofóbicas, en tanto la mayor solubilidad se debe a un descenso en la actividad iónica de la molécula. El efecto depende no sólo de la concentración de las sales cuando $\mu = 1$, sino del tipo de las mismas: las sales de sulfato y fluoruro bajan progresivamente la solubilidad (salting-out), mientras que las sales de tiocianato y perclorato incrementan la solubilidad (salting-in). A una μ constante la eficiencia de los iones sobre la solubilidad siguen el comportamiento descrito para las series de Hofmeister descritas arriba en la sección de desnaturalización de proteínas. Una variante de la ecuación manejada en la sección anterior se presenta enseguida para poder comparar solubilidades distintas en soluciones distintas: la solubilidad de las proteínas en soluciones salinas sigue la siguiente relación:

$$\log(S/S_0) = \beta - K_S C_S$$

donde S y S_0 son las solubilidades de las proteínas en la solución salina y en agua respectivamente, K_S es la constante de salting out, C_S es la concentración molar de la sal, y β es una constante. K_S es positiva para las sales tipo salting-out y negativa para las sales tipo salting-in.

Solubilidad y temperatura

A un pH y fuerza iónica constante, la solubilidad de muchas proteínas generalmente se incrementa someténdola a una temperatura entre 0 y 40°C. Se presentan excepciones cuando las proteínas son

altamente hidrofóbicas, como la β -caseína y algunas proteínas de los cereales, las cuales presentan relaciones negativas con temperaturas arriba de los 40°C. El aumento de la energía térmica causa desplegamiento de las proteínas (desnaturalización), ya que los grupos no polares son expuestos, se da la agregación y precipitación de la proteínas, y por lo tanto la solubilidad disminuye.⁸⁸

Solubilidad y solventes orgánicos

La adición de solventes orgánicos, como el etanol o acetona, incrementa las fuerzas electroestáticas intra e intermoleculares, tanto repulsivas como atractivas como se explica arriba en la sección de desnaturalización. Las interacciones electroestáticas intramoleculares repulsivas provocan que la molécula proteínica se despliegue, estado en el que se promueve la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre los péptidos ahora expuestos; además se promueven interacciones electroestáticas intermoleculares que son, por el contrario, atractivas entre los grupos con cargas opuestas. Estas interacciones intermoleculares polares favorecen la precipitación de la proteína en solventes orgánicos o reducen la solubilidad en un medio acuoso. Las interacciones hidrofóbicas entre los residuos expuestos pueden también contribuir a la insolubilización al promover agregación.

La solubilidad de las proteínas está íntimamente relacionada con el estado estructural, por lo que esta propiedad se puede utilizar como un indicador del grado de la desnaturalización durante los procesos de extracción, aislamiento y procesos de purificación, o como un indicador de las aplicaciones potenciales de las proteínas. Los concentrados de proteína y aislados preparados comercialmente muestran un amplio rango de solubilidad, que se puede expresar como Índice de Solubilidad de la Proteína (PSI) o Índice de Dispersabilidad de la Proteína (PDI) (porcentaje de proteína soluble presente en la muestra proteínica). El PSI de aislados proteínicos comerciales varía de 25 a 80%.²⁹

3.8.2 Propiedades interfaciales de las proteínas

Varios alimentos son productos tipo espuma o tipo emulsiones. Estos sistemas dispersos son inestables a menos que estén presentes sustancias anfífilas en la interfase. Las proteínas, al ser moléculas anfífilas, pueden llevar a cabo la estabilización al migrar espontáneamente a la interfase aire-agua o a la interfase agua-aceite puesto que su energía libre es menor en la interfase que en la zona acuosa. Las proteínas en la interfase forman películas altamente viscosas porque se concentran en esa zona y confieren resistencia a la coalescencia de las partículas de la emulsión durante el almacenamiento y el manejo, lo que no puede lograrse cuando se emplean surfactantes de bajo peso molecular; por esta razón las proteínas son ampliamente utilizadas para este propósito.

Las propiedades de actividad superficial de las proteínas no dependen sólo de la relación hidrofobicidad/hidrofilicidad, sino de la conformación de la proteína. En ello se debe considerar la relación de la estabilidad/flexibilidad de la cadena polipeptídica, la adaptabilidad a los cambios en el medio ambiente así como los patrones de distribución de los grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en la superficie de la proteína.³¹

Las proteínas presentan en su superficie activa tres atributos deseables: (a) capacidad para adsorberse rápidamente en una interfase, (b) capacidad para desplegarse rápidamente y reorientarse en una interfase y (c) capacidad aún en la interfase para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas. Un ejemplo del primero de ellos es la formación de una espuma y emulsión estables durante el batido o la homogeneización debido a la adsorción espontánea y rápida de las proteínas a la nueva interfase. Esto depende fundamentalmente del patrón de distribución de las zonas

hidrofóbicas e hidrofílicas en la superficie: si el número de zonas hidrofóbicas es alto y están distribuidas como parches con suficiente energía para interactuar, la adsorción espontánea hacia la interfase será más probable (figura 3.46). El número de segmentos peptídicos (componentes de una proteína) anclados en la interfase depende, en parte de la flexibilidad de la molécula: las moléculas altamente flexibles, como las caseínas, pueden realizar rápidamente cambios conformacionales, lo que a su vez facilitará la adsorción de nuevos polipéptidos, contrario a lo que ocurre con proteínas globulares más rígidas como la lisozima y las proteínas de la soya. Para estabilizar una emulsión, los dominios hidrofóbicos de la proteína deben orientarse hacia la fase oleosa. La facilidad con la que la proteína se despliegue (por ejemplo, se desnaturalice) para exponer sus dominios hidrofóbicos afectará sus propiedades emulsificantes.

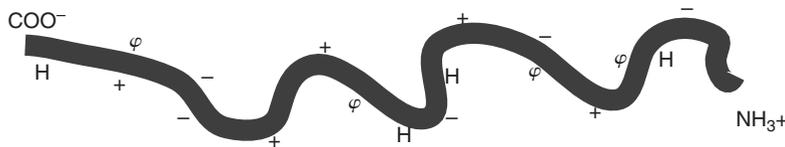


Figura 3.46 Interacciones covalentes y no covalentes involucradas en el desplegamiento: interacciones polares, fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, interacciones ácido-base, fenómenos de superficie y puentes de hidrógeno.

En una interfase, las cadenas polipeptídicas asumen una o más de las tres diferentes configuraciones siguientes: lineal, lazos, y colas (figura 3.47). Las lineales están en contacto directo con la interfase, en tanto que colas y lazos están suspendidos u orientados hacia la fase acuosa. Mientras más segmentos lineales haya, más fuerte es la unión y se disminuye la tensión interfacial.²⁷

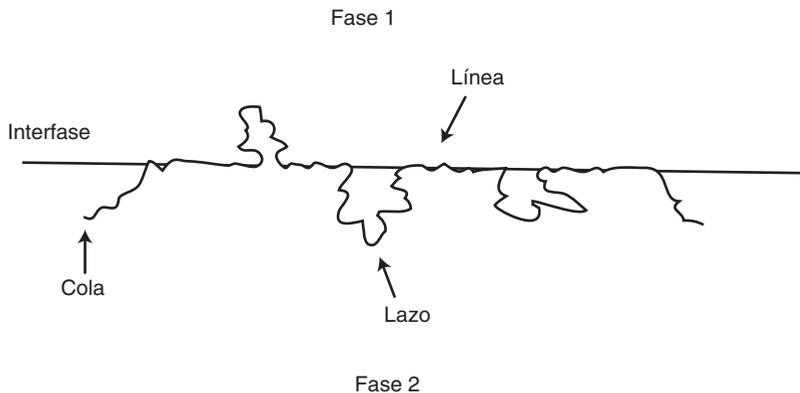


Figura 3.47 Distintas configuraciones de un polipéptido flexible en interfase.²⁹

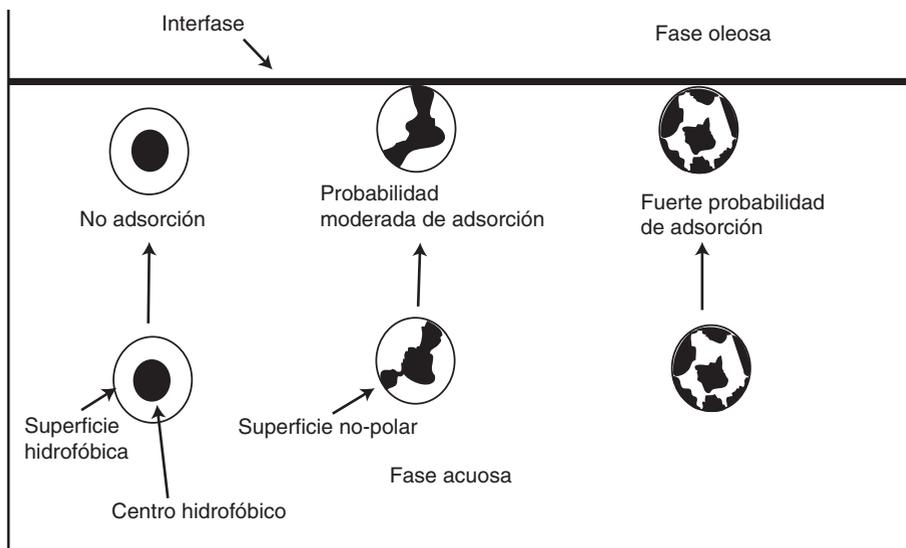
La fuerza mecánica de una película de proteína en una interfase depende de las interacciones de cohesividad intermolecular, que pueden ser interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Si ocurre polimerización interfacial de proteínas adsorbidas vía reacciones

de intercambio de disulfuro-sulfhidrido pueden aumentar las propiedades viscoelásticas. Se requiere de un balance adecuado de las fuerzas de atracción, repulsión e hidratación para formar películas viscoelásticas estables.

Si bien los principios básicos involucrados en la formación y estabilidad de emulsiones y espumas son muy similares, difiere la energética de los dos tipos de interfases, por lo que una proteína que es un buen agente emulsificante puede no ser un buen agente espumante, aunque el fenómeno no es del todo comprendido.

Propiedades emulsificantes

Para formular una emulsión se requiere: aceite, agua, un emulsificante y energía, generalmente mecánica. Las proteínas como surfactantes son las preferidas para formular emulsiones alimenticias (aceite-agua), debido a que su superficie es activa y favorece la resistencia a la coalescencia¹¹⁸ (figura 3.48). No pueden utilizarse en emulsiones agua/aceite ya que no son solubles en el aceite. Una gran cantidad de alimentos procesados y naturales son emulsiones, como leche, yema de huevo, leche de coco, leche de soya, mantequilla, margarina, mayonesa, productos untables, aderezos de ensaladas, helados, salchichas y pasteles. En todos ellos las proteínas son importantes como emulsificantes. En la leche cruda los glóbulos de grasa se estabilizan gracias a las lipoproteínas que forman parte de las membranas y tras la homogeneización éstas se reemplazan por una película de caseína y proteínas de suero, que son más resistentes que las naturales, por lo que la leche homogeneizada es más estable al cremado que la leche cruda.



Dependencia de la probabilidad de adsorción de una proteína del número de regiones hidrofóbicas en su superficie

Figura 3.48 Representación esquemática del papel de los parches hidrofóbicos en la superficie de las proteínas sobre la probabilidad de adsorción de las moléculas en la interfase aire-agua.²⁷

Métodos para determinar las propiedades emulsificantes

Las propiedades emulsificantes de las proteínas se pueden evaluar por diversos métodos, como la determinación de la distribución del tamaño de las gotas de aceite formadas, la actividad emulsificante, la capacidad emulsificante y la estabilidad de la emulsión. En el cuadro 3.14 se concentran los métodos comúnmente usados en el estudio de las emulsiones.

CUADRO 3.14 Métodos para determinar las propiedades emulsificantes

<i>Propiedad</i>	<i>Técnicas</i>
Medición del tamaño de gota	Microscopía óptica y de fluorescencia, contador Coulter, espectroturbidimetría.
Actividad Emulsificante (EA)	Tamaño de partícula, conductividad diferencial, turbidimetría.
Índice de Actividad Emulsificante (IAE)	Turbidimetría.
Capacidad Emulsificante (EC)	Cambio en la viscosidad, resistencia eléctrica y apariencia de la emulsión por su ruptura.
Estabilidad de emulsión (ES)	Centrifugación, calentamiento.
Hidrofobicidad superficial	HPLC, unión de ligandos hidrófobos, fluorescencia intrínseca, pruebas espectrofluorométricas.

Índice de actividad emulsificante. Las propiedades físicas y sensoriales de una emulsión estabilizada con proteínas dependen del tamaño de las gotas formadas y el total del área interfacial formada. Existen varios métodos para determinar el tamaño de la gota: microscopía de luz, aunque no es muy confiable, microscopía electrónica, métodos de dispersión de luz o contadores de tamaño de partícula (Coulter counter).¹²³

Proteína adsorbida. Para determinar la cantidad de proteína adsorbida, la emulsión se centrifuga, la fase acuosa se separa, y la fase de la crema se lava varias veces y se centrifuga para quitar cualquier proteína que se haya adsorbido débilmente. La cantidad de proteína adsorbida en las partículas de la emulsión se calcula a partir de la diferencia entre el total de la proteína inicial en la emulsión y la concentración presente en el fluido lavado de la fase de la crema. Generalmente, la carga de proteína está en el rango de 1-3 mg/m² de área interfacial. Para emulsiones altas en grasa con gotas de tamaño pequeño se requiere una mayor concentración de proteína para cubrir toda el área interfacial y así lograr estabilizar la emulsión.¹⁴⁰

Capacidad emulsificante. La capacidad emulsificante (EC) es el volumen (mL) de aceite que puede ser emulsificado por gramo de proteína, en un ensayo en el que se añade aceite paulatinamente y se reporta el volumen adicionado antes de que ocurra la inversión de la fase, caracterizada por una inversión de la emulsión de aceite en agua hacia agua en aceite. Este método involucra la adición del aceite o grasa fundida, a velocidad y temperatura constantes, sobre una solución acuosa de proteína con agitación continua con un homogeneizador. El punto de inversión de la fase se reconoce por un cambio abrupto en la viscosidad o color, o por un aumento en la resistencia eléctrica. Para una emulsión estabilizada con proteínas la inversión de la fase se presenta generalmente cuando la fase apolar dispersa está entre 0.65-0.85.¹⁰²

Estabilidad de emulsión. Las emulsiones estabilizadas por proteínas a menudo son estables por días y no se observa separación de la crema o de alguna fase aun si las emulsiones se encuentran almacenadas en condiciones ambientales. Para evaluar la capacidad de la proteína como estabilizadora de emulsiones se somete la emulsión a diferentes condiciones drásticas, como altas temperaturas o a una fuerza centrífuga. Si se utiliza la centrifugación, la estabilidad se expresa como la disminución del área interfacial de la emulsión, o como el porcentaje de crema separada, o bien, por la cantidad de aceite coalescido.²⁵

Factores que influyen en la emulsificación

Las emulsiones estabilizadas por proteínas se ven afectadas tanto por las propias características moleculares de la proteína como por factores intrínsecos, como el pH, la fuerza iónica, la temperatura, la presencia de surfactantes de bajo peso molecular, de azúcares, el volumen de la fase oleosa, el tipo de proteína, el punto de fusión del aceite empleado, así como los factores extrínsecos, como el tipo de equipo utilizado para formar la emulsión, velocidad de incorporación del aceite y el nivel de agitación. Esto dificulta la estandarización de los métodos y la comparación de resultados entre laboratorios.

Una propiedad que incide en las propiedades emulsificantes es la solubilidad, pero no se requiere una solubilización total de la proteína para lograr la emulsificación: se pueden tener buenos resultados en un rango de solubilidad desde un 25 hasta un 80%, aunque las proteínas altamente insolubles no funcionan como buenos emulsificantes. En emulsiones cárnicas, como salchichas, la solubilización de las proteínas miofibrilares en NaCl 0.5 M favorece sus propiedades emulsificantes.

El pH influye también pues se relaciona directamente con la solubilidad, y a un determinado pH algunas proteínas como la albúmina sérica, la gelatina y la clara de huevo presentan su máxima actividad emulsificante y su máxima solubilidad.

Hidrofobicidad. Las propiedades emulsificantes de las proteínas tienen una baja correlación con la hidrofobicidad superficial de las proteínas. Se han relacionado los valores de hidrofobicidad de la superficie de las proteínas y su capacidad para reducir la tensión superficial en las interfases aceite-agua así como para incrementar el índice de actividad emulsificante, y no se puede afirmar que mientras más hidrofóbica sea la proteína será mejor agente emulsificante. Los casos de proteínas como β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, proteínas de la soya y el gluten de trigo hidrolizado enzimáticamente resultan interesantes.^{75, 129} Estas proteínas presentan un buen IAE, por lo que se ha creído más importante conocer su flexibilidad molecular ya que la proteína debe ser capaz de hacer contacto con las dos fases, aceite y agua, modificando su conformación rápidamente para quedar colocada en la interfase. Si se desnaturaliza parcialmente la proteína sin llegar a la insolubilización, se logrará una mejora de las propiedades emulsificantes pues se incrementan la flexibilidad molecular y la hidrofobicidad superficial lo que favorece la formación de películas altamente viscoelásticas en la interfase aceite-agua.^{36, 128}

Propiedades espumantes. Las espumas consisten de una fase continua acuosa y una fase dispersa gaseosa (aire). Muchos alimentos procesados son productos tipo espumas: crema batida, helados de crema, pasteles, merengues, pan, soufflés, mousses y malvaviscos. Las propiedades de textura son únicas debido a la dispersión de numerosas burbujas de aire pequeñas y a la formación de una película delgada en la interfase líquido-gas llamada frecuentemente lamela. En la mayoría de estos pro-

ductos, las proteínas son los principales agentes con actividad superficial que ayudan en la formación y estabilización de la fase gaseosa dispersa. Generalmente, las espumas estabilizadas por proteínas se forman por burbujeo, batido, o agitación de una solución proteínica.

Las propiedades espumantes son evaluadas por diferentes principios. La capacidad espumante de una proteína se refiere a la cantidad de área interfacial que puede ser creada por la proteína, que se puede expresar en diversas formas, como sobrerrendimiento o poder de espumado.^{77, 79}

$$\text{Sobrerrendimiento} = \frac{\text{Volumen de espuma} - \text{Volumen del líquido inicial}}{\text{Volumen del líquido inicial}} \times 100 \quad [\text{Ec. 32}]$$

El poder espumante, **FP**, se expresa como:

$$\text{FP} = \frac{\text{Volumen del gas incorporado}}{\text{Volumen del líquido}} \times 100 \quad [\text{Ec. 33}]$$

El poder espumante generalmente aumenta con la concentración de proteína hasta un valor máximo. Esto se ve afectado por el método que se utilice para formar la espuma. Al igualar las concentraciones de diversas proteínas se obtiene su FP y así se pueden comparar sus propiedades espumantes, que se ilustran en el cuadro 3.15.

CUADRO 3.15 Comparación del poder espumante de proteínas en solución

<i>Tipo de Proteína</i>	<i>Poder espumante a una concentración de proteína al 0.5% (w/v)</i>
Albúmina Sérica Bovina	280 %
Aislado proteínico de Suero	600 %
Albúmina de huevo	240 %
Ovoalbúmina	40 %
Plasma bovino	260 %
β -Lactoglobulina	480 %
Fibrinógeno	360 %
Proteína de Soya (hidrolizada enzimáticamente)	500 %
Gelatina (obtenida por proceso ácido de piel de puerco)	760 %

Cálculos realizados con base en la ecuación [32].¹²⁷

Estabilidad de la espuma. Se refiere a la capacidad de la proteína para estabilizar la espuma contra la gravitación y el estrés mecánico y se expresa como el tiempo necesario para que se drene el 50% de líquido de una espuma o para la reducción del 50% del volumen de la espuma. Estos métodos son empíricos y no proporcionan información fundamental sobre los factores que afectan la estabilidad de la espuma. La medición más directa de la estabilidad de una espuma es la reducción del área interfacial de la espuma en función del tiempo. Los métodos están descritos por Yu (1991)¹⁷⁶ y Zhu (1984).¹⁷⁹

Factores ambientales que influyen en la formación y estabilidad de la espuma

pH. Diversos estudios han mostrado que las proteínas que estabilizan espumas son más estables en el pH isoelectrico de la proteína que en cualquier otro pH, si no hay insolubilización. La clara de huevo presenta buenas propiedades espumantes en un pH de 8-9 y su punto isoelectrico es en el pH de 4-5. En el pH isoelectrico o cerca de éste, la reducida presencia de interacciones de repulsión promueven interacciones favorables proteína-proteína y la formación de una película viscosa en la interfase, lo que favorece tanto la capacidad de espumado como la estabilidad de la espuma. Si la proteína es poco soluble en su pI, como la mayoría de las proteínas en alimentos lo son, entonces sólo la fracción soluble de la proteína se verá involucrada en la formación de la espuma, y aunque la cantidad de espuma formada sea baja la estabilidad será alta. Aunque la fracción insoluble no contribuye a la capacidad de espumado, la adsorción de las partículas de proteína insoluble pueden estabilizar la espuma, probablemente por un aumento en las fuerzas de cohesión en la película de proteína.

Sales. El efecto de las sales sobre las propiedades espumantes de las proteínas depende del tipo de sal y las características de solubilidad de la proteína en esa solución salina. La capacidad de espumado y la estabilidad de la espuma de la mayoría de las proteínas globulares, como albúmina sérica bovina, albúmina de huevo, gluten y proteínas de soya, aumentan conforme se incrementa la concentración de NaCl. Este comportamiento se atribuye generalmente a la neutralización de las cargas por los iones salinos. Sin embargo algunas proteínas, como las del suero, presentan el efecto opuesto. Tanto la capacidad de espumado como la estabilidad de la espuma disminuyen conforme se incrementa la concentración de la sal por efecto “salting-in”, especialmente la β -lactoglobulina por NaCl. Las proteínas que son “salting-out” de una solución salina dada, generalmente presentan mejores propiedades espumantes, mientras que las que son “salting-in”, generalmente presentan propiedades espumantes pobres. Los cationes divalentes como el Ca^{2+} y el Mg^{2+} , mejoran notablemente la capacidad de espumado y estabilidad de la espuma en un rango de concentración de 0.02-0.4 M., ya que favorecen el entrecruzamiento de las moléculas de proteína en la formación de la película con mejores propiedades viscoelásticas.¹⁷⁹

Azúcares. La adición de sacarosa, lactosa y soluciones azucaradas pueden perjudicar la capacidad espumante, pero mejorar la estabilidad de la espuma, pues incrementan la viscosidad de la fase “bulk” y se reduce la velocidad de drenado del fluido de la lamela. En alimentos tipo postres-espumas, como los merengues, soufflés y pasteles, es adecuado agregar azúcar después del batido, ya que entonces se permite la adsorción de la proteína debido a que se despliega para formar una película estable. Así mismo, la adición de azúcar incrementa la estabilidad al aumentar la viscosidad del líquido en la lamela.

Lípidos. Los lípidos, especialmente los fosfolípidos, cuando se presentan en una concentración mayor al 0.5% afectan desfavorablemente las propiedades espumantes de las proteínas, debido a que su superficie es más activa que la de las proteínas, se adsorben en la interfase aire-agua compitiendo con las proteínas e inhiben su adsorción durante la formación de la espuma. La película de lípidos no es cohesiva ni viscoelástica, por lo que no puede resistir la presión interna de las burbujas de aire, las que se expanden y se colapsan durante el batido.

Concentración de proteína. Una mayor concentración de proteína da firmeza a la espuma. Esta firmeza se logra con un tamaño menor de burbuja y una mayor viscosidad. Al aumentar la viscosidad

se facilita la formación de multicapas cohesivas de la película de proteína en la interfase.¹⁷ La albúmina sérica fácilmente forma espumas y las estabiliza a concentraciones de proteína tan bajas como 1%, en tanto que el aislado proteínico de suero y la conglicina de soya requieren un mínimo de 2 al 5%, y los aislados de ajonjolí de 2-3% (datos no publicados por las autoras) para formar espumas relativamente estables. La mayoría de las proteínas presentan capacidad de espumado en un rango de concentración del 2 al 8%. La concentración interfacial de las proteínas en la espuma es aproximadamente de entre 2-3 mg/m².

Temperatura. Una desnaturalización parcial de las proteínas puede favorecer las propiedades espumantes hasta cierto punto, ya que si se sobrecalientan pueden perderse al ocurrir reacciones proteína-proteína vía intercambio de disulfuro, o su reversión a sulfhidrilos.¹¹¹ Esto aumenta el peso molecular y tamaño del polímero, lo que impide la adsorción en la interfase. Algunos alimentos tipo espuma como los malvaviscos, pasteles y pan, se calientan después de que se forma la espuma y el calor provoca una expansión del aire y una disminución de la viscosidad, lo que puede ocasionar ruptura y colapso de la espuma. En estas circunstancias la integridad de la espuma depende de la gelación de la proteína en la interfase, lo que permite desarrollar suficiente fuerza mecánica para estabilizar la espuma. La gelatina, el gluten y la clara de huevo tienen tanto la capacidad de espumado como gelificante, por lo que son ingredientes adecuados para la aplicación en estos alimentos.

3.8.3 Unión de sabores

Las proteínas son inodoras pero pueden unir compuestos de sabor, y por lo tanto, afectar las propiedades sensoriales de los alimentos. Varias proteínas, especialmente las proteínas de oleaginosas y los concentrados proteínicos de suero, presentan sabores indeseables, lo cual limita su uso en aplicaciones de alimentos. Los aldehídos, cetonas y alcoholes generados por la oxidación de los ácidos grasos insaturados son los principales responsables de sabores indeseables al unirse a las proteínas. Por ejemplo el sabor “afrijolado” y a hierba de las preparaciones de proteína de soya se atribuyen a la presencia del hexanal. La afinidad de esta unión es tan fuerte que resiste la extracción con solventes.

La propiedad de las proteínas de ligar sabores tiene aspectos deseables, porque pueden utilizarse como acarreadores de sabor o modificadores del sabor en alimentos procesados. Esto es particularmente útil en los análogos de carne que contienen proteínas vegetales. Para que la proteína funcione como un buen acarreador de sabor, además de unir fuertemente los sabores, debe poder retenerlos durante el proceso y liberarlos durante la masticación. La afinidad por los compuestos del sabor varía de acuerdo al tipo de proteína y a los cambios que sufra durante el procesamiento del alimento.²⁹

Interacciones termodinámicas de las proteínas y los sabores

El mecanismo de unión del sabor a las proteínas depende del contenido de humedad de la muestra de proteína, estas interacciones son normalmente no covalentes. Las proteínas en polvo se ligan a los sabores mediante interacciones de Van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. El atrapamiento físico entre los capilares y hendiduras de la matriz sólida del polvo, puede también contribuir a las propiedades de sabor. En alimentos líquidos o con alta humedad, el mecanismo de unión al sabor primero involucra interacciones no polares del ligando con las zonas hidrofóbicas o hendiduras sobre la superficie de las proteínas. Además de las interacciones hidrofóbicas, los compuestos de sabor con cabezas polares, como los grupos hidroxilo y carboxilo, también pueden inte-

ractuar con las proteínas vía puentes de hidrógeno e interacciones electroestáticas. Después de la unión a las regiones hidrofóbicas de la superficie, los aldehídos y las cetonas pueden ser capaces de difundirse al interior hidrofóbico de la molécula de proteína. Los aldehídos pueden unirse covalentemente al grupo amino de la lisina, y esta interacción no es reversible, aunque la mayor parte de las uniones que pueden contribuir al aroma y sabor de un producto proteínico son no covalentes.

La difusión de los compuestos de sabor en el interior de la proteína puede romper las interacciones hidrofóbicas entre los segmentos de proteínas, y por lo tanto desestabilizar la estructura de la proteína. El sabor que se une a los grupos reactivos, como los aldehídos, puede unirse covalentemente al grupo ϵ -amino de los residuos de lisina, lo que modifica la carga neta de la proteína y, por lo tanto, causa el desplegamiento de la proteína. Este fenómeno resulta en una exposición de nuevos sitios hidrofóbicos para la unión de ligandos. En el caso de proteínas oligoméricas, como las de soya, los cambios conformacionales pueden involucrar tanto disociación como desplegamiento de subunidades. Las proteínas desnaturalizadas generalmente presentan un gran número de sitios de unión con constantes de asociación débiles.

Factores que influyen en la unión del sabor

Los sabores volátiles interactúan con las proteínas hidratadas principalmente vía interacciones hidrofóbicas y por lo tanto, cualquier factor que las afecte, o que afecte la hidrofobicidad de la superficie, a su vez influirá en la unión del sabor.¹⁵⁸ La temperatura tiene poco efecto en el proceso de unión al sabor, a menos que ocurra un desplegamiento térmico de la proteína. Esto sucede porque el proceso de asociación está impulsado por entropía y no por entalpía. Las proteínas desnaturalizadas térmicamente presentan una mayor capacidad para unir sabores; sin embargo, la constante de unión es generalmente más baja comparada con la proteína en estado nativo. El efecto de las sales sobre la unión del sabor se relaciona con las propiedades de “salting-in” y “salting-out”, ya que las sales que promueven la solubilización desestabilizan las interacciones hidrofóbicas y bajan la unión al sabor, y ocurre lo contrario con las sales que producen “salting-out”. El pH afecta la unión del sabor porque tiene efectos sobre la conformación, favoreciéndose la unión al sabor a valores de pH alcalinos más que a ácidos, ya que la proteína tiende a desnaturalizarse más fácilmente en los primeros.

3.8.4 Viscosidad

La aceptación de alimentos líquidos y semisólidos por parte de los consumidores de productos tipo salsas, sopas, bebidas, etcétera, depende de la viscosidad y consistencia del producto. La viscosidad, que se define como la resistencia de una solución a fluir bajo una fuerza aplicada o un esfuerzo de cizalla. Para el caso de una solución ideal,⁸⁵ el esfuerzo de cizalla es directamente proporcional a la velocidad de corte. Es decir, que la fuerza por unidad de área, F/A , es directamente proporcional al gradiente de velocidad entre las capas del líquido, dv/dr , expresada como:

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dr} \quad [\text{Ec. 34}]$$

La constante de proporcionalidad η se conoce como el coeficiente de viscosidad. Los fluidos que obedecen esta expresión son llamados fluidos Newtonianos. La conducta del flujo de las soluciones se afecta principalmente por el tipo de soluto. El alto peso molecular de los polímeros solubles incre-

menta notablemente la viscosidad aun en bajas concentraciones, aunque depende de sus propiedades moleculares como el tamaño, forma, flexibilidad e hidratación. Cuando se comparan proteínas con el mismo peso molecular, las soluciones de macromoléculas con estructura al azar presentan mayor viscosidad que las que tienen estructuras compactas. De hecho, la mayoría de las soluciones de macromoléculas, incluyendo las de proteínas, no presentan conducta Newtoniana, especialmente a altas concentraciones. Para estos sistemas, el coeficiente de viscosidad baja cuando la velocidad del corte aumenta. Esta conducta se conoce como comportamiento pseudoplástico o “shear thinning” y obedece la siguiente ecuación de Lapanje.⁸⁸

$$\frac{F}{A} = m \left(\frac{dv}{dr} \right)^n$$

Donde m es el coeficiente de consistencia y n es un exponente conocido como “Índice de conducta del flujo”.

El comportamiento pseudoplástico se explica por la posibilidad de que las moléculas de proteína, que son grandes, puedan orientar su eje mayor respecto de la dirección del flujo de su solución. La desagregación de proteínas multiméricas contribuye a este comportamiento. Al cesar el esfuerzo de cizalla o detenerse el flujo, las proteínas requieren de un tiempo de relajación para perder la orientación que habían ganado, si es que recobran su estado original. Las soluciones de proteínas fibrilares como la gelatina o la actomiosina usualmente permanecen orientadas, y por lo tanto, no recobran rápidamente su viscosidad original, a diferencia de las soluciones de proteínas globulares como la proteínas de suero y de soya que recobran su viscosidad rápidamente cuando el flujo se detiene. Estas soluciones se llaman tixotrópicas.

El coeficiente de viscosidad de la mayoría de las soluciones de proteínas sigue una relación exponencial con la concentración de la proteína debido a las interacciones proteína-proteína e interacciones entre las esferas de hidratación de las moléculas de las proteínas. En altas concentraciones de proteínas o en geles donde las interacciones proteína-proteína son numerosas y fuertes, se observa un comportamiento viscoelástico. En este caso se requiere, para iniciar el flujo, de una fuerza específica también conocida como “yield stress”.⁹

La viscosidad de las soluciones de proteínas es una manifestación de interacciones complejas, que incluyen el tamaño, la forma y las interacciones con el solvente de la proteína, el volumen hidrodinámico y la flexibilidad molecular en el estado hidratado, que resulta mucho más voluminoso que cuando se trata de la proteína no hidratada.

3.8.5 Gelación

Un gel es una fase intermedia entre un sólido y un líquido. Técnicamente, se define como “un sistema substancialmente diluido el cual no muestra flujo en estado estacionario”.⁴⁷ Se logra al entrecruzar el polímero mediante uniones, covalentes o no covalentes, para formar una red capaz de atrapar agua y sustancias de bajo peso molecular.

La gelación de proteínas se refiere a la transformación de una proteína en el estado “sol” a un estado “gel”, que se facilita por calor, enzimas, o cationes divalentes bajo condiciones apropiadas y que inducen la formación de una estructura de red, cuyos mecanismos de formación pueden diferir considerablemente.^{46, 161} La mayoría de los geles de proteínas se preparan calentando la solución de

proteína, lo que induce una desnaturalización que puede ser considerada un estado “progel”, que es un líquido viscoso en el que ocurren algunos eventos de polimerización de la proteína. Ésta se despliega y se exponen numerosos grupos funcionales, como los puentes de hidrógeno y los grupos hidrofóbicos. Un segundo estado es la formación de una red de proteína entre las moléculas desplegadas, a menudo irreversible. Cuando el progel se enfría, a temperatura ambiente o de refrigeración, baja la energía cinética y esto facilita la formación de uniones estables no covalentes gracias a la exposición de grupos funcionales de varias moléculas, lo que constituye la gelificación.^{28, 136, 144, 177}

Las interacciones involucradas en la formación de la red son principalmente puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas y electroestáticas, cuya contribución varía con el tipo de proteína, condiciones de calentamiento, el grado de desnaturalización y las condiciones ambientales. Los geles que se forman sustancialmente por interacciones no covalentes (principalmente por puentes de hidrógeno) son térmicamente reversibles y cuando se calientan de nuevo se funden en un estado de progel, como se observa comúnmente con los geles de gelatina. Los geles formados principalmente por interacciones hidrofóbicas son resistentes a elevadas temperaturas y son irreversibles como los geles de clara de huevo. Las proteínas que contienen grupos de cisteína y cistinas polimerizan vía interacciones sulfhidrido-disulfuro y son térmicamente irreversibles. Ovoalbúmina, β -lactoglobulinas y geles de proteínas de suero forman geles de este tipo.^{105, 111, 144}

Las proteínas forman dos tipos de geles principalmente: geles opacos o coágulos, y geles translúcidos. El tipo de gel que se forme está dictado por las propiedades moleculares de la proteína y sus condiciones de solución. Las proteínas con grandes cantidades de aminoácidos no polares se agregan al desnaturalizarse, formando agregados insolubles que se asocian al azar formando geles tipo coágulo, irreversibles. Estas proteínas van formando el gel aun cuando se está calentando la solución, porque la velocidad de agregación y formación de red es mayor que la de desnaturalización. La red que se obtiene es desordenada y dispersa la luz, lo que da una apariencia opaca.

Por el contrario, las proteínas con cantidades pequeñas de aminoácidos no polares forman complejos solubles al desnaturalizarse. La velocidad de asociación de estos complejos solubles facilita la formación de un gel ordenado translúcido.

Por lo general, un gel translúcido atrapa hasta un 98% de su peso en agua, gracias a numerosos puentes de hidrógeno formados con los grupos $-\text{NH}$ y $-\text{C}=\text{O}$, entre otras interacciones, y que permiten que el agua atrapada tenga una a_w casi tan alta como la del agua libre. Esto no ocurre con los geles translúcidos, que atrapan una menor cantidad de agua, que más bien se retiene en los capilares de la estructura del coágulo.

La estabilidad de un gel ante fuerzas mecánicas y térmicas depende del número y tipo de entrecruzamientos formados por cadena monomérica. Termodinámicamente, un gel será estable sólo cuando la suma de las energías de interacción de un monómero en un gel sea mayor que su energía cinética térmica. En un estudio a nivel molecular del material agregado se encontró que el desdoblamiento de las proteínas en la formación de geles es limitado, ya que se conservan porcentajes significativos de estructuras ordenadas. Además se ha encontrado que durante el proceso de desdoblamiento/agregación puede surgir nueva estructura secundaria (por ejemplo: hojas beta). Se concluyó que los tipos usuales de fuerzas físicas, como las interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e incluso enlaces covalentes, que estabilizan la conformación nativa de la proteína, también desempeñan un papel importante en la estabilización de las redes proteínicas en los geles. Estos últimos frecuentemente son permanentes, es decir, que la agregación es irreversible, pero la fuerza de los geles generalmente disminuye a medida que los geles preparados por calentamiento

to y posterior enfriamiento a temperatura ambiente, son sometidos a calor nuevamente, y de hecho se conocen algunos ejemplos de geles “fundidos”.²²

La capacidad de las proteínas de formar agregados ha sido explotada por el ser humano para producir alimentos con características estructurales y de texturas diversas. Los sistemas alimenticios en los que más se utilizan estas propiedades funcionales son los productos lácteos, quesos en los que la hidrólisis limitada de la proteína es crucial para generar las redes tridimensionales del gel. Otros productos que requieren de gelificación son los embutidos, proteína de pescado triturada y calentada, proteínas vegetales texturizadas por extrusión o hilado, masas para panificación y algunos alimentos tradicionales como el tofu. La gelificación no sólo se utiliza para formar geles sólidos viscoelásticos, sino también para mejorar la absorción de agua, los efectos espesantes, la fijación de partículas (adhesión), y para estabilizar emulsiones y espumas.⁴⁶

3.9

PROPIEDADES NUTRICIONALES

Las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos que podrán ser utilizados para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas. Cuando se ingieren aminoácidos en exceso o cuando el aporte de hidratos de carbono y grasa de la dieta no es suficiente para cubrir las necesidades energéticas las proteínas se utilizan en la producción de energía.⁹⁸

De los veinte aminoácidos de origen proteínico son ocho los considerados como indispensables para los adultos ya que deben ser suministrados por la dieta porque su velocidad de síntesis en el organismo humano es despreciable, los cuales son: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina. Los niños requieren además de histidina. El resto de los aminoácidos son denominados no indispensables porque el organismo puede sintetizarlos eficazmente a partir de los indispensables, siendo estos: glicina, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, cisteína, prolina, tirosina y serina.

Existen dos factores que determinan el valor nutricional de fuentes proteínicas en cuanto a que éstas cubran los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos garantizando un crecimiento y mantenimiento adecuado del individuo, que son: el contenido proteínico y la calidad de la proteína. Respecto al primero se ha sugerido que en los alimentos que forman la base de la dieta, el porcentaje debe asemejarse al de los cereales (8-10%) para satisfacer las necesidades proteínicas de los adultos en tanto se consuma una cantidad adecuada para cubrir los requerimientos energéticos. En lo referente a la calidad de la proteína, ésta depende tanto de la proporción de aminoácidos indispensables que contiene en relación con los requerimientos humanos, como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las estructuras corporales y que puede verse afectada tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta.

Existen varios factores que pueden ocasionar una baja biodisponibilidad de aminoácidos, como la inaccesibilidad de la proteína a las proteasas debida a su conformación, la dificultad para digerir proteínas que fijan metales, lípidos o celulosa, la presencia de factores antinutricionales que también la reduzcan, así como el tamaño y el área superficial de la proteína y el procesamiento al que haya sido previamente sometida.^{19, 98}

En general se reconoce que las proteínas de origen animal son de mejor calidad que las de origen vegetal; sin embargo se sostiene que las provenientes de leguminosas a pesar de ser ligeramente

deficientes en metionina tienen una calidad aceptable.^{98, 112} Las proteínas halladas en oleaginosas presentan bajos niveles de metionina y lisina, y las de los cereales son bajas en lisina, triptofano y treonina. Adicionalmente se ha señalado que la biodisponibilidad de aminoácidos de origen animal es generalmente mayor que la de aquéllos de origen vegetal. Las deficiencias en aminoácidos de una fuente proteínica pueden corregirse mediante dos estrategias: ya sea administrando en la dieta proteínas cuya composición de aminoácidos sea complementaria, o suplementándola con aminoácidos libres. Si se opta por la segunda alternativa es necesario controlar la adición del L-aminoácido libre ya que una suplementación excesiva puede producir un antagonismo aminoacídico o incluso producir efectos tóxicos.¹⁹

3.9.1 Evaluación de la calidad proteínica

El primer objetivo al evaluar la calidad de una proteína es otorgarle una calificación con base en su valor nutritivo potencial, de esta manera se puede construir un registro de las proteínas y en el caso de que la proteína o el alimento sufran cambios en el valor nutritivo a través del proceso y almacenamiento será más fácil detectar el cambio en su calificación. El segundo objetivo es que se pueda predecir la contribución nutritiva al alimento por parte de la proteína, o mezcla de proteínas alimenticias.¹¹³ Para cubrir estos objetivos se han desarrollado diversos métodos para evaluar su calidad nutricional.

La medición más exacta de la calidad de nuevas fuentes proteínicas para uso humano se obtiene mediante estudios clínicos realizados en sujetos, miembros de una población dada en los que se mide ya sea el crecimiento u otros indicadores metabólicos, como es el caso del Balance de Nitrógeno (NB) en que se evalúa el nitrógeno retenido. En el año de 2003 Morens y sus colaboradores evaluaron la calidad nutricional de una dieta alta en proteína en humanos midiendo la concentración del nitrógeno en suero después de ingerir dietas ricas en proteína, los resultados indicaron que al evaluar una dieta alta en proteína de soja el nitrógeno retenido es menor con respecto a una dieta alta en proteína de leche. No obstante, esta clase de análisis no puede llevarse a cabo de manera rutinaria tanto por razones de ética como de costo, por lo que ha sido necesario desarrollar otro tipo de técnicas, como bioensayos, métodos químicos, métodos enzimáticos y métodos microbiológicos.^{14, 19, 141}

Los bioensayos se basan ya sea en la determinación del crecimiento o en la retención de nitrógeno, en función del consumo de proteína, en donde las ratas son los animales experimentales más utilizados. Los métodos químicos por su parte miden el contenido de aminoácidos indispensables y lo comparan con los patrones de referencia establecidos por instituciones internacionales. Los métodos enzimáticos estiman la digestibilidad de la proteína *in vitro* mediante la acción de proteasas. Los métodos microbiológicos evalúan el crecimiento de microorganismos cuyos requerimientos de aminoácidos indispensables son similares a los del ser humano.¹⁹

Entre los estudios que se han desarrollado, la Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) es un bioensayo que ha sido ampliamente utilizado desde 1919, mediante el cual se evalúa la ganancia de peso por gramo de proteína consumido, verificada por ratas jóvenes a las cuales se les administra una dieta de prueba.¹⁶ Se requirieron estudios en colaboración para lograr estandarizar ciertos parámetros como la cantidad de proteína administrada, la duración del ensayo, etcétera,³³ finalmente al publicarse en el manual de la American Official Analytical Chemists (AOAC)⁵ se estableció entre otras cosas la duración de 28 días del ensayo y la composición de la dieta, cuyo contenido proteínico fue fijado en 10%. No obstante después de dicha publicación se han realizado distintos estudios buscando obtener una mayor precisión.⁶⁰ A pesar de ser un método oficial en Estados Unidos y Ca-

nadá, ha causado una gran controversia tras décadas de uso. Se ha postulado que no es adecuado para la evaluación de nuevas fuentes proteínicas, principalmente porque los valores obtenidos no son directamente proporcionales a la calidad ya que no considera la contribución de la proteína al mantenimiento del organismo.^{14, 141}

Existe otro bioensayo, desarrollado en 1957 y conocido como Relación Neta de la Proteína (NPR) cuya duración original era de 10 días aunque tras estudios más recientes se ha recomendado extenderlo a 14 días. En éste se incluye un lote de ratas al que se administra una dieta sin nitrógeno, llamado grupo metabólico. Se considera que la pérdida de peso de este lote es un indicador de la proteína requerida para el mantenimiento de los lotes de prueba, expresando entonces el valor de NPR como el incremento de la ganancia de peso del grupo de prueba más el valor absoluto de la pérdida de peso del grupo metabólico, dividida entre la proteína consumida por el grupo de prueba. A pesar de haberse sugerido su inclusión como método oficial tras demostrarse una mayor precisión que la obtenida mediante PER y una mejor exactitud al tomar en cuenta el mantenimiento, esto nunca ocurrió y otras variantes fueron desarrolladas. El R-NPR (Porcentaje de la Relación Neta de la Proteína) ha sido calculado por algunos investigadores como el porcentaje del NPR de la proteína de prueba con respecto al de la caseína, encontrándose una mayor reproducibilidad en los resultados,⁶¹ sin embargo, otros autores han sugerido hacer este cálculo pero usando una dieta con caseína suplementada con metionina como referencia al reconocer que los requerimientos de aminoácidos azufrados de las ratas no son cubiertos por una dieta con 10% de proteína proveniente de caseína (ANRC) Animal National Research Council.¹⁴² Posteriormente se introdujo un nuevo cálculo, el CRNPR es decir: Corrected Relative Net Protein Ratio,¹⁴³ que trató de corregir la subestimación de la calidad de proteínas de prueba debido a la diferencia en el requerimiento de aminoácidos azufrados entre ratas y humanos, multiplicando el valor de R-NPR por un factor constante de 1.5, lo cual ha sido criticado por no discriminar entre distintos niveles de deficiencias de aminoácidos azufrados.¹⁴¹

Existen otros bioensayos como la Utilización Neta de la Proteína (NPU) que evalúa el nitrógeno corporal en función del ingerido,¹⁶ y dos métodos donde se estima la pendiente de la curva de crecimiento de ratas en respuesta a la administración de diferentes niveles de proteína son: el Valor Relativo de la Proteína (RPV) y el Valor Relativo del Nitrógeno (RNV), cuyo uso no es apropiado como método de rutina debido a la dificultad experimental que representan, y en el caso de los dos últimos la necesidad de aplicación de métodos estadísticos complejos.⁶¹

Teóricamente, una buena manera de evaluar la calidad de una proteína sería analizando químicamente su contenido de aminoácidos y comparándolo con los requerimientos de los seres humanos.¹⁴¹ Durante mucho tiempo, en la práctica no se contó con los medios para determinar de manera reproducible la composición aminoacídica de las proteínas, ni tampoco los requerimientos humanos con exactitud. Sin embargo, en 1985 se publicó un patrón basado en el requerimiento de aminoácidos indispensables de niños en edad preescolar así como los requerimientos de otros grupos concretos, por parte de la FAO/WHO/UN.⁴²

Recientemente se han cuestionado los criterios de digestibilidad.¹⁴⁶ Al considerar los requerimientos, correspondientes a niños preescolares y adultos, mostrados en el cuadro 3.16 se vio la posibilidad de utilizar del factor conocido como Cuenta Química (CQ), mediante la cual se calcula el cociente del contenido de cada aminoácido indispensable de la proteína de prueba, entre el contenido del mismo aminoácido en el patrón para niños preescolares; aquél que presente el menor cociente se conoce como aminoácido limitante y es el que determina el valor de la CQ.¹⁹ Cabe aclarar que éste sería válido para niños y adultos, mientras que para lactantes debe utilizarse otro patrón cuya composición se basa en la composición de la leche materna.

CUADRO 3.16 Patrón de referencia basado en los requerimientos de aminoácidos indispensable de niños preescolares (2-5 años) y requerimientos de adultos⁴²

<i>Aminoácido indispensable</i>	<i>Patrón general (mg_{aa}/g proteína)^a</i>	<i>Cuenta Química General (%)^b</i>	<i>Requerimiento de adultos (mg_{aa}/g proteína)^a</i>	<i>Cuenta química para adultos (%)^c</i>
Histidina	19	178.39	16	211.84
Isoleucina	28	163.98	13	353.18
Leucina	66	138.04	19	479.50
Lisina	58	66.31	16	240.38
Metionina y cistina	25	288.46	17	424.21
Fenilalanina y tirosina	63	166.36	19	551.62
Treonina	34	138.57	9	523.50
Triptofano	11	161.71	5	355.77
Valina	35	168.96	13	454.88

^a Fuente FAO/who/UNU.

^b Calculada con respecto al patrón.

^c Calculada con respecto al requerimiento de adultos (mg aa/g proteína).

No obstante, como se había discutido anteriormente, la biodisponibilidad de los aminoácidos depende de la digestibilidad de cada proteína. Por ello también se han desarrollado diferentes técnicas para su evaluación, como la Digestibilidad Verdadera (DV),¹⁰³ donde se determina la cantidad de nitrógeno absorbida por ratas con respecto a la ingerida, al administrar una dieta con 10% de proteína y descontando el nitrógeno excretado por un grupo metabólico, técnica que fue adoptada por la AOAC.⁶

Como alternativas más simples que el bioensayo existen distintos métodos enzimáticos para estimar la digestibilidad *in vitro*, ya sea por una caída de pH tras la adición de una mezcla enzimática, o según la cantidad de NaOH requerida para mantener constante un cierto valor de pH durante una digestión hecha en laboratorio. Se ha reconocido la utilidad de estas técnicas¹² pero no se les ha utilizado ampliamente porque no puede asumirse que todos los aminoácidos liberados a partir de la digestión *in vitro* serán absorbidos y utilizados al ingerir el alimento que contenga la proteína en cuestión.³⁹ Debido al conocimiento generado en torno a la evaluación de la calidad de nuevas fuentes proteínicas, la necesidad de encontrar un consenso sobre el método más representativo de los requerimientos de aminoácidos indispensables para los seres humanos, fue causa de numerosas consultas tanto por parte del Comité de Proteínas Vegetales del Codex Alimentarius como por parte de la FAO/WHO, quienes tras analizar toda la información, coincidieron en reconocer que lo más apropiado hasta el presente es efectuar una corrección a la CQ, multiplicando dicho valor por el de la DV,^{14, 113, 141} siguiendo los lineamientos descritos anteriormente, parámetro que se conoce como PDCCEAS (Cuenta Química con Digestibilidad Verdadera), que es el término que más se usa en la actualidad.

Se ha avanzado mucho en el conocimiento del papel metabólico de las proteínas y en su papel para mantener la salud. Por parte de las autoridades sanitarias, se recomienda que la ingesta diaria se mantenga al mínimo para prevenir una desnutrición proteica, puesto que el consumo de carbohidratos satisface ampliamente los requerimientos energéticos, y son mucho más económicos que las proteínas. Un consumo elevado de proteína puede ser negativo, ya que no se emplea eficientemente y su

degradación provoca una carga excesiva al organismo.¹¹⁶ Sólo se recomienda en ciertos estados críticos (embarazo, lactancia, crecimiento y ciertas enfermedades). Si ocurre que el consumo de proteína es superior al de la recomendación diaria y se incluye en una dieta restringida en energía, puede ocurrir una pérdida de peso corporal y de grasa en el organismo, sin ir acompañada de pérdida de masa muscular, a diferencia de las dietas isocalóricas con alto contenido de carbohidratos⁹¹ aunque no dejan de existir controversias. Una ventaja adicional de las dietas altas en proteína es que no incrementan los niveles de insulina.

Es importante también hacer notar que el impacto de las proteínas es diferente, dependiendo de su composición de aminoácidos. Aquéllas que tienen altos niveles de aminoácidos ramificados, en particular de leucina, desempeñan un papel particular al no ser metabolizadas en el hígado sino en músculo, en donde se canalizan a síntesis de proteínas y producción de energía. El papel de la leucina es crítico al ser detectado por las vías de señalización de insulina y participar en la iniciación de síntesis de proteínas, aunque en humanos, a diferencia de lo reportado en ratas, el efecto parece ser el evitar la pérdida de proteínas, más que en estimular síntesis.⁹⁹ En este proceso también son importantes los aminoácidos indispensables. Por tanto, el consumo de proteínas ricas en aminoácidos ramificados e indispensables, o con altos niveles de leucina, puede ser benéfico para la salud, y éste sería, el caso de las proteínas de suero lácteo.⁴¹

Por otra parte, los efectos de péptidos y proteínas en la salud van más allá de satisfacer el estado nutricional. Es bien conocido el efecto de alergia e hipersensibilidad, que en alimentos puede manifestarse de diferentes maneras. Una de las más importantes es la reacción con inmunoglobulinas IgE, si bien existen muchas reacciones de hipersensibilidad con etiología e inmunología desconocida. En niños, un problema que puede ser serio es el síndrome de enterocolitis inducido por proteína alimenticia, de la que pueden ser responsables proteínas lácteas, soya o productos sólidos. En adultos, uno de los ejemplos más estudiados es el de la enfermedad celíaca producida por intolerancia a las gliadinas de trigo. Estos problemas de intolerancia pueden conducir a vómito, diarrea y deshidratación, que a la larga generan problemas de desnutrición.¹¹⁹

3.10 PROTEÍNAS DE ALGUNOS ALIMENTOS

A continuación se describen las características más importantes de las proteínas y péptidos importantes en alimentos. Se abordará inicialmente el campo de las proteínas de origen animal y posteriormente las de origen vegetal, y se incluirán algunos ejemplos de proteínas de origen microbiano. Las proteínas desempeñan varios papeles en los sistemas alimenticios al formar parte de estructuras que se ingieren como tales, o al usarse como ingredientes, aditivos (catalizadores, conservadores, agentes ligantes, emulsificantes, para la formación de películas), así como por sus propiedades funcionales. Las proteínas resultan útiles tanto en forma nativa como modificada por tratamientos químicos o enzimáticos.⁵² En el mercado se busca constantemente la incorporación de nuevas fuentes de proteína, y su introducción dependerá de aspectos de inocuidad y el costo/beneficio de la explotación de las mismas, particularmente a nivel regional. Desde un punto de vista nutricional, cabe señalar que existe una distribución heterogénea en el patrón de consumo de proteínas, pues así como en Occidente se ingieren en exceso, en otras regiones existe deficiencia (cuadro 3.17). En occidente, el consumo de proteínas rebasa los requerimientos nutricionales y energéticos,⁸² dado que se basa en proteínas animales, las cuales contienen una alta calidad nutricional.

CUADRO 3.17 Consumo diario de proteína per capita en diferentes regiones del mundo

Región	Consumo promedio (g/día)
Europa Occidental	105.0
Europa Oriental	86.0
América del Norte	103.0
Latinoamérica	73.5
África	58.0
Promedio mundial	72.4

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

Los productos animales considerados como fuentes de proteínas son el huevo, la leche y la carne de diversas especies. Todos ellos forman parte de la alimentación humana desde hace miles de años y tradicionalmente han constituido en Occidente fuentes de proteína de calidad. Su presencia en la dieta es parte de la historia evolutiva del hombre si bien, actualmente su abundancia en la dieta es muy cuestionada. La principal objeción se debe a la grasa que normalmente acompaña a la carne, y a los enormes cambios en el patrón de vida, de las poblaciones primitivas de cazadores que realizaban un altísimo nivel de actividad física, a la vida sedentaria actual, por lo que la presencia de lípidos en estos productos constituyen actualmente un riesgo para el sistema cardiovascular.⁸⁹ Los componentes animales de la dieta son, además, controvertidos por problemas asociados a alergias en el caso de la leche y el huevo, porque se han presentado problemas sanitarios y toxicológicos como el caso de *Salmonella* en huevo,¹⁰¹ el caso de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE),¹³⁹ o presencia residual de hormonas en la carne de animales criados con técnicas modernas,¹³⁴ así como por la relación hallada entre la ingesta y la incidencia de cáncer.¹⁸ No obstante, las proteínas presentes en estos sistemas constituyen, sin duda, garantía de calidad nutricional y sus propiedades funcionales pueden ser ampliamente explotadas. Además, ofrecen excelentes modelos de estudio para investigación básica y aplicada.

3.10.1 Proteínas del huevo

Hace miles de años que el huevo de gallina forma parte de la alimentación humana y recientemente se emplean sus subproductos procesados como ingredientes. Está constituido por 10.5% de cáscara en tanto la parte comestible está formada por 58.5% de albúmen o clara y 31.0% de yema, cuyos componentes son proteínas y lípidos que les confieren alto valor nutritivo. El perfil de aminoácidos es similar al de las proteínas de suero de leche y la composición global se ilustra en el cuadro 3.18.

La composición detallada de la clara de huevo aún no está del todo definida. La aplicación de las técnicas proteómicas y genómicas ofrece ahora nuevas herramientas para abordar los estudios sobre composición de los alimentos y ha reflejado una gran microheterogeneidad y la presencia de varias isoformas entre las proteínas más conocidas; se han encontrado numerosas proteínas pequeñas ácidas, no reportadas previamente, como la proteína Ch21.³⁴ Se trata de una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa compuesta al menos por 13 proteínas glicosiladas, algunas de las cuales con actividades biológicas: enzimas, como lisozima, glicosidasa, catalasa, peptidasa y esterasa; inhibidores, como el ovonihibidor, la avidina y el inhibidor de papaína y ficina; o algunos anticuerpos que protegen el desarrollo del embrión al prevenir ataque microbiano. Las principales propiedades se presentan en el cuadro 3.19 y a continuación se describen algunas de las características más importantes:

CUADRO 3.18 Composición global del huevo (excluyendo la cáscara)

Componente	Huevo entero (%)	Yema (%)	Clara (%)
Agua	74.0	50.0	87.8
Proteínas	12.9	16.0	10.9
Hidratos de carbono	0.4	0.6	0.2
Lípidos	11.5	30.6	0.2
Cenizas	0.7	2.0	0.3

CUADRO 3.19 Proteínas del albumen de huevo

Fracción	% Albumen (base seca)	Punto Isoeléctrico	PM	Viscosidad intrínseca	Características
Ovoalbúmina	54.0	4.6	44 500	0.043	Fosfoglicoproteína, de fácil desnaturalización, tiene 4 -SH
Ovotransferrina (Conalbúmina)	13.0	6.1	76 000	0.084	Glicoproteína que acompleja Fe y otros metales
Ovomucoide	11.0	4.1	28 000	0.055	Glicoproteína, inhibidor de tripsina
Ovomucina	3.5	4.7	110 000	2.10	Glicoproteína, fibrosa, viscosa
Lisozima (globulina G ₁)	3.4	10.7	14 300	0.027	Globular, 4 -SH, acción lítica
Globulina G ₂	4.0	5.5	30 000		
Globulina G ₃	4.0	4.8			
Ovoinhibidor	1.5	5.1	49 000		Inhibe tripsina y quimotripsina
Ovogluco proteína	1.0	3.9	24 400	0.0651	Glicoproteína
Ovoflavoproteína	0.8	4.0	32 000		Une riboflavina
Ovomacroglobulina	0.5	4.5	830 000		Glicoproteína
Avidina	0.05	10.0	68 300		Une biotina

La ovoalbúmina es la proteína más abundante y está tanto glicosilada como fosforilada en sus residuos de serina. Estas modificaciones permiten separarla en tres fracciones: A₁, A₂ y A₃; asimismo, la presencia de cuatro grupos sulfhidrido la hacen muy reactiva y fácilmente desnaturizable. Durante el almacenamiento, por un mecanismo de intercambio de disulfuros y sulfhidridos se convierte en una forma más estable, la S-ovoalbúmina, a la que se le atribuyen las reacciones de hipersensibilidad que presentan algunas personas después de consumir huevos. Se trata de una forma termoestable, denominada ovoalbúmina HS, que tiene una T_m de 83°C, presente en distintas fracciones del huevo y que se forma a partir de la forma nativa o N-ovoalbúmina. La forma HS es la dominante y es crucial para la embriogénesis.¹⁵²

La conalbúmina, también llamada ovotransferrina, es la segunda proteína en orden de importancia. Contiene manosa y glucosamina, numerosos enlaces disulfuro (13 por molécula) y presenta la característica de ligar o quelatar el hierro y otros iones metálicos, como aluminio, cobre y zinc. Se considera que esta acción secuestradora inhibe el crecimiento de microorganismos que requieren de dichos elementos para su desarrollo, particularmente en el caso de virus.¹⁶²

El ovomucoide tiene un elevado porcentaje de carbohidratos (hexosaminas, 14%; hexosas, 7% ácido siálico, 0.7%) que representa hasta 25% de la proteína; contiene ocho enlaces disulfuro por molécula, pero no tiene triptofano o tirosina; es estable al calor y tiene la capacidad de inhibir la tripsina. Los carbohidratos presentes contribuyen a la estabilización térmica de la proteína.⁵⁸

La ovomucina presenta aproximadamente 30% de carbohidratos similares a los que se encuentran en el ovomucoide y junto con la lisozima le confiere al albumen las características espesas y gelatinosas. Durante el almacenamiento la relación de estos dos polipéptidos sufre alteraciones que se reflejan en una disminución de la viscosidad. La ovomucina es responsable en gran medida de las propiedades funcionales de la clara, como es la capacidad de espumado, y se considera que tiene una actividad biológica contra varios virus.

La lisozima es una glucoproteína de 129 aminoácidos con actividad enzimática, de N-acetilmuramida-glucana-hidrolasa, también conocida como muramidasa (EC 3.2.1.17). Es una de las pocas proteínas con un punto isoeléctrico alcalino debido a su elevado contenido de aminoácidos básicos. La estructura tridimensional de la lisozima ha sido resuelta con técnicas de cristalización y difracción de rayos X, y constituye uno de los ejemplos más explorados para el análisis estructural de proteínas. Se trata de una molécula muy estable ya que existen cuatro enlaces disulfuro intramoleculares (figura 3.23). La lisozima actúa como antimicrobiano ya que causa la lisis de las células de bacterias Gram positivas (estafilococos y estreptococos) y de algunas negativas al hidrolizar el enlace β -(1,4) entre el ácido N-acetil-murámico y la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa de los mucopolisacáridos de la pared celular, aunque también se han identificado decapeptidos en algunos dominios con actividad bactericida independiente a la de la muramidasa.¹²⁴

Además de las anteriores, existen otras proteínas en menor concentración, como las globulinas G₂ y G₃, que son glucoproteínas cuya función biológica se desconoce y que tienen la característica de ser buenos agentes espumantes. El ovoinhibidor evita la acción de diversas enzimas proteolíticas, principalmente las que tienen un residuo de serina en su centro activo; su papel funcional en el albumen no se conoce. La ovoflavoproteína es una glucoproteína con ocho grupos disulfuro que tiene la particularidad de unirse fuertemente a la riboflavina, pero el complejo se disocia durante el calentamiento. La ovomacroglobulina, de muy alto peso molecular, 760,000-900,000 Da, está glicosilada y contribuye a las propiedades de espumado del albumen, pero se desconoce su actividad biológica. Finalmente, la avidina es un tetrámero con un punto isoeléctrico alcalino, que presenta la capacidad de ligar una molécula de biotina por cada monómero, mediante uniones no covalentes, lo que le confiere mayor estabilidad a la desnaturalización; el complejo se disocia durante los tratamientos térmicos comunes que recibe el huevo cuando se va a consumir. Perteneció a una familia de genes en la que se encuentran al menos siete variantes que difieren en estabilidad a temperatura, resistencia a proteólisis y capacidad de unión a biotina.⁷⁰

El comportamiento durante el proceso de gelificación también depende de la presencia de otras moléculas, como el tipo de azúcar presente.¹⁵⁹ Los fenómenos de la agregación y la coagulación de estas proteínas se han estudiado ampliamente: se ha comprobado que el pH, la temperatura y las sales influyen en este proceso; se ha encontrado también que la rigidez de los geles es mayor cuando se producen a temperaturas de 85°C, pH 9.0 y una concentración de cloruro de sodio de 0.08M. La

sensibilidad difiere de proteína a proteína, y por ejemplo, a medida que aumenta la acidez, la ovotransferrina, la ovomacroglobulina, la ovoalbúmina y las globulinas se vuelven más inestables a las altas temperaturas, pero no el ovomucoide y el ovoinhibidor. La agregación y la gelificación dependen de la formación de enlaces de estructura tipo beta. No todas las proteínas de la clara tienen la capacidad de gelificar y si lo hacen puede ocurrir por mecanismos distintos.⁸

Las proteínas de la clara se emplean por sus propiedades funcionales, entre las que destaca la formación de espumas; en este proceso, los polipéptidos se desnaturalizan y forman la interfase aire/líquido estable propia de este estado de dispersión. Sin embargo, la magnitud y tipo de cambios conformacionales varían de acuerdo a la proteína: se modifican las proporciones de hélices en la ovoalbúmina, se altera de manera importante la hidrofobicidad de la ovotransferrina, en tanto que la lisozima casi no se modifica.⁹²

La ovoalbúmina es la responsable de la cantidad de espuma producida, mientras que la ovomucina actúa como agente estabilizador de la misma; ambas fracciones pierden estas características cuando se contaminan con los lípidos de la yema. Los daños térmicos a las proteínas ocasionan una reducción del espumado, sobre todo si se calientan a temperaturas superiores a 60°C, pero la adición de ciertas sales y de sacarosa ejerce un efecto protector. Cuando se calienta la espuma el aire se expande y si no se ha generado daño a las proteínas, la estructura se mantiene. En la actualidad, es frecuente el uso de preparaciones de huevo o proteínas deshidratadas como ingredientes, y para prevenir el daño que se puede generar por reacciones de Maillard, antes de la deshidratación de la clara se lleva a cabo un tratamiento con la glucosa oxidasa para eliminar la glucosa.

Por otra parte, las proteínas de la yema sirven fundamentalmente como fuente de nitrógeno para el embrión. Se pueden separar por centrifugación, para obtener el plasma y los gránulos, en los que se distribuyen tres tipos de componentes: los gránulos de la yema, que son partículas insolubles, que consisten principalmente de lipovitelina y fosfovítina, se sintetizan en el hígado —regulados por hormonas— como una proteína precursora llamada vitelogenina, soluble en la sangre y que se fragmenta enzimáticamente para dar lugar a los fragmentos que precipitan como gránulos en la yema. En el plasma se encuentran los otros dos grupos: las livetinas, que son proteínas séricas que se encuentran en sangre y se desconoce el mecanismo por el que llegan a la yema, otras son conocidas como α y β —fosvítina. Finalmente se encuentran las lipoproteínas de baja densidad, que constituyen el porcentaje mayoritario de peso seco (60%). Se sintetizan y ensamblan en el hígado como proteínas de muy baja densidad, y la más importante es la apoproteína apo B, que se introduce a la yema por endocitosis. Posteriormente, se rompe enzimáticamente para dar lugar a las otras apoproteínas (apovitelinas III a VI). Este grupo de lipoproteínas puede contener hasta 89% de lípidos (fosfolípidos y lípidos neutros) que pueden auxiliar en la función emulsificante con la lecitina.¹⁵ Se cree que las proteínas de la yema podrían tener una actividad antitrombótica, al inhibir la agregación plaquetaria y la formación de fibrina.²⁰ Debe señalarse que las proteínas del huevo, en particular las de la clara, se consideran alérgenos importantes al reaccionar con inmunoglobulinas IgE.

3.10.2 Proteínas de la carne

La carne es un medio muy útil y eficiente de abasto de proteína, puesto que animales y humanos comparten muchas necesidades nutricionales y fisiológicas. Proviene de los músculos esqueléticos de diversos animales y se caracteriza por su estructura fibrosa y su textura. En Occidente, la carne de bovino es la de mayor consumo, seguida por la de porcino, ovino y caprinos, y constituye una excelente fuente de proteínas de alta calidad, especialmente apreciadas por poblaciones urbanas. El

promedio de consumo alcanza 90 kg anuales por persona en los países industrializados, aunque en Africa es sólo de 10 kg. El consumo promedio ha tenido un aumento creciente desde 1960, si bien, recientemente se han expresado inquietudes sobre su inocuidad, tanto por la presencia de patógenos y productos tóxicos en la misma, como por una aparente asociación entre el incremento de consumo y el incremento de cáncer colorrectal, muy discutida. Existen otros factores económicos y filosóficos que abogan contra el consumo de la misma. No se puede negar la calidad de su proteína en términos nutricionales pero no debe olvidarse que las mismas forman parte de un sistema complejo, en el que están presentes además, otros compuestos que repercuten en color y sabor, así como en sus posibles efectos negativos en la salud, particularmente los lípidos.¹⁶⁵ Hay otros efectos positivos, como la existencia de micronutrientes biodisponibles, particularmente hierro, ácido fólico, selenio y zinc (cuadro 3.20).¹⁰

CUADRO 3.20 Análisis químico representativo de carnes

Componentes	(%)
Agua	70
Proteínas	20
Grasa	6
Sustancias nitrogenadas no proteínicas	1.5
Hidratos de carbono y sustancias no nitrogenadas	1.5
Sales inorgánicas	0.7

Los músculos están compuestos de una estructura ordenada de fascículos, fibras, fibrillas y filamentos, rodeadas de tejido conjuntivo denominado endomisio. Los fascículos agrupan varias fibras, las que corresponden a las unidades celulares: son multinucleadas y extremadamente largas en proporción a su diámetro y sufren cambios tras la muerte del animal. En los músculos esqueléticos es posible distinguir estrías, separadas por una distancia que corresponde a la longitud del sarcómero, propiedad tecnológica importante pues generalmente las pequeñas corresponden a carne dura.

El contenido proteínico de estos tejidos es alto, cercano al 70% de la materia seca (cuadro 3.20), independientemente del tipo de animal del que provengan (porcinos, vacunos, ovinos, etcétera). Los tipos de proteína presente se han clasificado en tres grandes grupos, de acuerdo a su función biológica y su solubilidad: proteínas contráctiles o miofibrilares, proteínas sarcoplásmicas o solubles y proteínas del estroma o insolubles. En el cuadro 3.21 se muestran las concentraciones de estas proteínas.

Proteínas contráctiles o miofibrilares. Son las que conforman estructuralmente el tejido muscular y, además, las que transforman la energía química en mecánica durante la contracción y relajación de los distintos músculos. Es la fracción más abundante ya que equivale a 50% del total de proteínas de la carne; son solubles en soluciones salinas concentradas y sus principales componentes son la miosina, la actina, la tropomiosina, la troponina y la actinina.

La miosina representa un porcentaje alto de las proteínas miofibrilares, tiene una estructura helicoidal con 55% de α -hélice, integrada por dos cadenas fibrosas rígidas semejantes enrolladas entre sí, que terminan en una doble cabeza constituida a su vez por cuatro cadenas polipeptídicas. La mo-

lécua en su conjunto mide 1,600 Å de longitud, 20 Å de diámetro, y tiene una cabeza de 50 Å; su peso molecular es de 480,000, es rica en lisina y en ácido glutámico. La cabeza tiene actividad enzimática y posibilidad de interactuar con la actina para producir la actomiosina; hidroliza el ATP en ADP y fosfato inorgánico, con liberación de la energía necesaria para el trabajo mecánico del músculo, en una reacción que se activa por iones calcio, pero que se inhibe por el magnesio. Aproximadamente se unen 400 moléculas de miosina en un arreglo cabeza-cola para producir un filamento grueso que es el responsable directo de las contracciones musculares.

La actina es la segunda proteína miofibrilar de importancia que presenta dos fracciones: la G (actina globular) y la F (actina fibrosa); la primera tiene un peso molecular de 46,000 daltones y consta de 450 aminoácidos aproximadamente; es esférica con un diámetro de 55 Å, presenta 30% de conformación de α -hélice y contiene una molécula de ATP; la actina F se produce por la polimerización de la fracción G en presencia de magnesio y se combina con la miosina para formar la actomiosina.

El complejo de actomiosina se disocia en presencia de ATP y de iones magnesio, tiene una mayor actividad enzimática para hidrolizar ATP, que se favorece por la presencia de Ca y Mg; esta molécula está directamente relacionada con el fenómeno de la contracción y de la relajación muscular.

Proteínas sarcoplásmicas o solubles. Estos polipéptidos también se conocen con el nombre genérico de miogeno; son fundamentalmente globulinas y albúminas pertenecientes a los sistemas que intervienen en el metabolismo celular, como el de la glucólisis, al igual que enzimas como las catepsinas, la creatina kinasa y la mioglobina. Este grupo de proteínas se caracteriza por ser buenos agentes emulsificantes y por retener una gran cantidad de agua, lo que evita pérdidas de humedad durante el proceso de cocción de los distintos productos cárnicos, tienen la capacidad de coagular y formar geles cuya textura es muy deseable en diversos alimentos.

Proteínas del estroma o insolubles. Éste es un grupo muy abundante de polipéptidos; conforman el tejido conectivo fuerte de los tendones, la piel, el hueso y las capas más rígidas que envuelven y soportan los músculos, como el endomisio, el perimisio y el epimisio. En conjunto, este grupo de compuestos representa aproximadamente 35% de las proteínas totales de un animal vivo, pero en cuanto a tejido muscular (carne) sólo equivale a 3% (cuadro 3.21).

El colágeno que es la proteína más abundante en un vertebrado, está constituido por diversas fracciones: contiene 33% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina y 10% de hidroxiprolina, es deficiente en aminoácidos indispensables, principalmente lisina y triptofano. Su monómero, llamado tropocolágeno, es una molécula de forma cilíndrica de 2800 Å de largo y 15 Å de diámetro, integrada por tres cadenas polipeptídicas de peso molecular de 100,000 daltones cada una, que se enrollan a lo largo de un eje para producir una triple hélice; las tres proteínas se enlazan entre sí a través de muchas uniones intermoleculares cruzadas que le confieren gran rigidez a la estructura y solubilidad muy baja; a su vez, la interacción de las moléculas de tropocolágeno produce fibras que dan origen al colágeno propiamente dicho.

El colágeno insoluble es factor definitivo de la dureza de la carne. Cuando se hidroliza se produce el ablandamiento de este producto, muy deseable para su consumo. Para este efecto, se han usado diversas enzimas proteolíticas, como la bromelina, la ficina y la papaína (capítulo 6), de las cuales la última es la más comercial y la más barata; sin embargo, como su acción se ejerce básicamente sobre las proteínas miofibrilares actina y miosina, una actividad intensa puede provocar cambios indeseables. Existen enzimas colagenasas provenientes de microorganismos como *Clostridium histolyticum*, que tienen un potencial para el ablandamiento.

CUADRO 3.21 Distribución de las proteínas en el tejido muscular

Tipo de proteínas	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Contráctiles o miofibrilares		
Miosina	5.0	25.0
Actina	2.5	12.5
Tropomiosina	0.8	4.0
Troponina	0.8	4.0
Actinina	0.3	1.5
Otras*	0.6	3.0
Total	10.0	50.0
Sarcoplásmicas o solubles		
Enzimas	6.0	30.0
Mioglobina	0.6	3.0
Otras	0.4	2.0
Total	7.0	35.0
Proteínas del estroma o insoluble		
Colágena	1.5	7.5
Elastina	0.1	0.5
Otras	1.4	7.0
Total	3.0	15.0

* Tropomiosina, conectina, actinina, desmina, etcétera.

La suavidad de la carne es una sensación que se debe básicamente a diferentes factores físicos y bioquímicos de las proteínas miofibrilares (del tejido muscular) y la colágena (del tejido conectivo). Los tratamientos térmicos afectan de manera distinta cada una de estas fracciones, ya que, por ejemplo, cuando la penetración de calor es lenta, se provoca más granulación y coagulación de las proteínas miofibrilares y menos ruptura de las fibras rígidas. La composición de las fibras de los diferentes músculos esqueléticos es uno de los factores más importantes que afecta los eventos bioquímicos asociados con la conversión del músculo a carne. En general, los músculos compuestos mayoritariamente por fibras de metabolismo glicolítico rápido (Tipo II) son más susceptibles a la glicólisis *post mortem* que las tipo I, cuyo metabolismo es lento y oxidativo. Además, el nivel de actividad de ATPasa de miosina se relaciona con el tipo de cadena pesada de miosina presente en cada músculo.¹⁴⁵

Una metodología que se ha empleado recientemente consiste en acentuar la sensación de frescura, suavidad y jugosidad de la carne mediante la inmersión en salmueras, que incrementarían el volumen hasta en un 12% y que contienen sal, fosfatos y algunos otros ingredientes de sabor.¹⁷⁴ En este proceso, son las proteínas miofibrilares las que tienen un papel fundamental en la unión del agua que conferirá las propiedades deseadas, el fenómeno es promovido por la interacción con fosfatos, en especial el pirofosfato. Debe indicarse que frecuentemente se añaden con el mismo fin otras proteínas de origen vegetal, como la soya, así como hidrocoloides como carragenina, y alginatos. El mecanismo por el que se logra la textura deseada es diferente porque, como se verá más adelante, las proteínas de soya son muy hidrofílicas y altamente solubles.

3.10.3 Gelatina

La gelatina es una proteína derivada de la hidrólisis selectiva del colágeno, que es el componente orgánico más abundante en huesos y piel de mamíferos, que tiene aplicaciones en alimentos, farmacia y adhesivos,^{135, 181} para lo que se requieren diferentes grados de calidad y pureza. Se puede elaborar a partir de restos de pollo, o de ganado bovino o porcino, y en los últimos tiempos se han hecho esfuerzos para diferenciarlos, por el riesgo de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE), a partir del análisis de la composición de péptidos y aminoácidos.¹¹⁷

Hay dos procesos de producción: el ácido y el básico. En el primero se tratan huesos y piel en una solución ácida diluida por un período predeterminado; se lava con agua fría y se genera un producto con un punto isoelectrico de 6-9. En el proceso alcalino, los huesos desmineralizados se suspenden en una solución de sosa por un período de 60 días, en tanto las pieles se remojan por períodos menores. Periódicamente se cambia la solución de remojo y al final se lava exhaustivamente para eliminar toda la sosa residual. El punto isoelectrico del producto está entre 4.8 y 5.2. Tras cualquiera de estos dos procesos, se extrae la proteína con agua, a temperatura controlada, menor a 80°C en esta etapa ocurre una alteración de la triple hélice d en la que se rompen enlaces intermoleculares e intramoleculares y se producen cadenas menos estructuradas, que corresponden propiamente a la gelatina. Cuando el colágeno se calienta en exceso, más allá de la temperatura óptima, se obtiene un producto amorfo, sin ninguna ordenación, que se usa como pegamento y que comúnmente se llama cola.

Tras estos procesos se obtiene una solución proteínica diluida (4.7%), que se filtra, desmineraliza y se concentra en evaporadores al vacío de efectos múltiples, hasta alcanzar niveles de 25-30%. Se esteriliza con procedimiento UHT, se enfría, se extruye y se seca. La vigilancia de la calidad microbiológica durante el proceso es crucial para la del producto final, pues frecuentemente se encuentran microorganismos con actividad proteolítica que la deterioran.³² Las condiciones de procesamiento influyen decididamente en las características de la gelatina y deben cuidarse desde la inspección veterinaria de los animales, lo cual es más crítico desde los brotes de BSE. En general, se busca obtener cadenas de alto peso molecular que faciliten la gelificación. La formación de sus geles termorreversibles se afecta con el pH, la fuerza iónica, la concentración, el punto isoelectrico de la gelatina, etcétera. Por su naturaleza química, esta proteína está sujeta a reacciones de deterioro, como la hidrólisis, por acción de ácido, enzimas y microorganismos, que pueden destruir la estructura tridimensional que conforma el gel. La carne que se somete a un tratamiento térmico en el hogar sufre una transformación de colágeno en gelatina, misma que se observa fácilmente cuando el producto se enfría.¹⁴⁹

3.10.4 Proteínas de pescado: surimi, hidrolizados de pescado

En general, el contenido de proteínas de los peces es muy variable; va de 12 a 23% (base húmeda) y están distribuidas como sigue: de 70 a 80% son globulinas, de 10 a 20% son albúminas y de 2 a 4% son queratinas y colágena. Por consiguiente, la cantidad de tejido conectivo es muy baja comparada con la que se encuentra en la carne, razón por la cual el pescado es más fácil de cocinar y de consumir.

Existe una captura de más de 120 millones de toneladas de peces de diversas especies provenientes de lagos, ríos, mares y océanos, muchas de las cuales no son aprovechadas para el consumo humano pues pueden ser producto de técnicas pesqueras ineficientes. Por ejemplo, en la captura del camarón se atrapa también un alto volumen de fauna de acompañamiento de escaso valor comercial. Si bien una gran parte se devuelve al mar, existen procesos comerciales para fabricar harinas desgrasadas,

con aplicaciones diversas para complementación de alimentos para ganado con base en cereales, entre otros. Las principales limitantes para su explotación es el sabor, la inestabilidad al deterioro oxidativo y una baja funcionalidad. Existen tecnologías de extracción de proteínas que pretenden mejorar las propiedades funcionales: extracción ácida, extracción alcalina y el proceso de surimi (figura 3.49a y 3.49b).

Su producción se ha generalizado, ya que facilita la formación de geles y ha dado lugar a una amplia gama de productos imitación angulas y camarones, que son adecuados para el consumo humano.

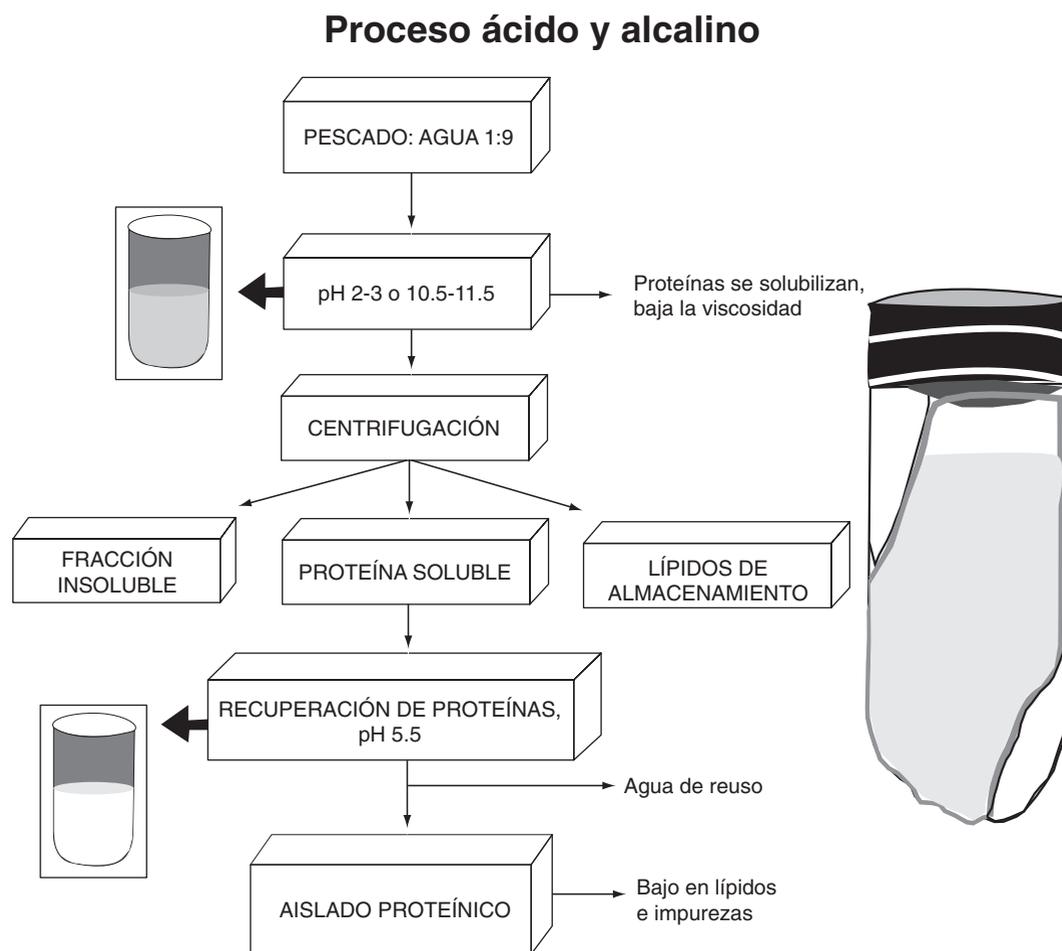
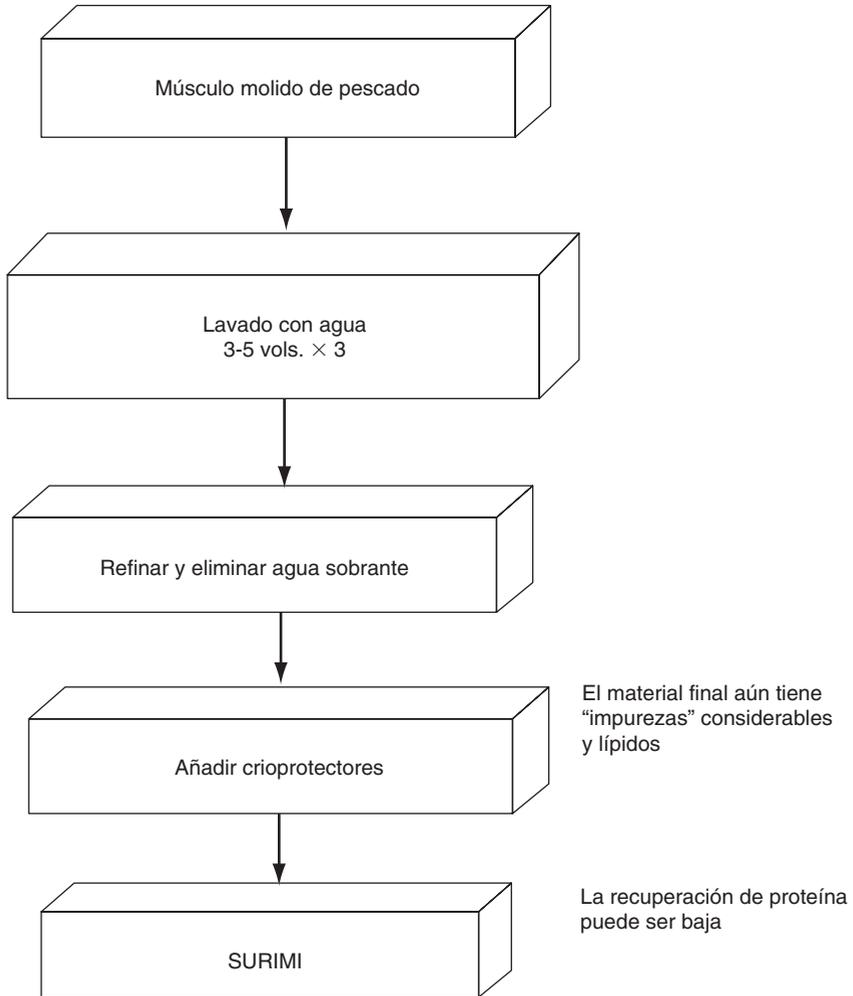


Figura 3.49 Proceso de obtención de surimi. (a) El proceso ácido y alcalino.

Proceso convencional



Fuente: LAFBR FSHN Dept. University of Florida

Figura 3.49(b) El proceso convencional.

El proceso es sencillo, puesto que implica el corte de la carne en pequeños tamaños, un lavado extensivo con agua, adición de crioprotectores y otros aditivos, como pueden ser almidones, saborizantes o proteínas vegetales o animales que mejoren su funcionalidad y promuevan una buena textura de gel.

Por otro lado, las técnicas de extracción proteínica por cambios de pH desarrolladas por Hultin y Kelleher (2000),⁶⁹ basados en la solubilidad de las proteínas a pH extremos, tanto ácidos como alcalinos, han permitido incrementar los rendimientos de extracción. Tanto las proteínas miofibrilares como las sarcoplásmicas son altamente solubles a pH ácido (3.0) y alcalino (10.5), lo que garantiza una separación eficiente, liberando lípidos, membranas, huesos, etcétera. En cada especie se debe ajustar al pH de máxima solubilización. Normalmente se solubilizan primero las proteínas miofibrilares y las sarcoplásmicas se precipitan con NaCl. Estas proteínas recuperadas se pueden someter al proceso de elaboración de surimi tras la adición de sal (2%), enfriamiento y moldeado, y en algunas especies se alcanzan rendimientos de casi 40%. Al llevar la preparación al punto isoeléctrico y precipitar, se libera casi el 100% de las proteínas. Aún queda por mejorar la funcionalidad de las proteínas recuperadas.

3.10.5 Proteínas lácteas

Composición y propiedades fisicoquímicas

Las proteínas lácteas se agrupan en dos grandes conjuntos: las caseínas (80%) y las proteínas del suero (20%). A pesar de que se encuentran entre las proteínas más estudiadas, la generación de información con nuevas metodologías ofrece cada día más detalles acerca de su composición y propiedades. Por otra parte, los avances tecnológicos que permiten la separación y purificación han permitido también generar nuevas aplicaciones y usos.

La Asociación Americana de Ciencia de Lácteos elaboró recientemente una clasificación de estas proteínas, que se presenta en el cuadro 3.22. Ésta toma en cuenta los conocimientos genómicos, proteómicos y las propiedades inmunológicas de las mismas.⁴⁴

El papel de las proteínas en la tecnología de productos lácteos se analiza en el capítulo correspondiente, y a continuación se consideran algunos ejemplos de la aplicación de este grupo de proteínas como ingredientes, con detalles sobre su funcionalidad y bioactividad. Es de señalarse que la leche ha sido considerada un alérgeno importante y por la presencia de lípidos en su composición su consumo se desalentó durante algún tiempo. Recientemente, se ha reconsiderado el papel funcional de la misma y se pretende extraer componentes funcionales a partir de las diferentes fracciones.^{97, 170}

Las técnicas de fraccionación permiten diseñar formulaciones con proteínas lácteas para las que se han encontrado funciones biológicas especiales. Por ejemplo, se ha visto que la caseína tiene actividad antimutagénica,⁵⁵ no genera respuestas inmunes a nivel gastrointestinal en niños autistas, a diferencia de otras proteínas lácteas o de la gliadina.⁷⁴ De la misma manera, se propone el fraccionar las proteínas de suero por diversas metodologías cromatográficas para separar las proteínas más ricas en aminoácidos ramificados, en virtud de su relación con el metabolismo proteínico y su posible efecto antiobesidad.⁴¹ Entre otros usos propuestos para las proteínas lácteas se encuentra el de la formación de películas comestibles y biodegradables, ya que esto contribuiría a reducir los residuos generados tanto por la industria láctea como a disminuir la cantidad de envases sintéticos. Se han elaborado preparaciones tanto con caseinatos como con proteínas de suero,¹⁴⁸ que compiten con otros elaborados con proteínas vegetales. Los resultados obtenidos hasta ahora no compiten aún con las películas de polivinilo, pero se han obtenido resultados interesantes empleando soluciones de proteína al 2.5% en combinación con glicerol.

CUADRO 3.22 Clasificación de las proteínas de leche de bovino y algunas de sus propiedades

Proteína (abreviación sugerida)	Composición de leche desgrasada		Variantes genéticas ¹	Peso molecular ²	Punto Isoiónico ³	Punto Isoeléctrico ⁴	A1% I cm ⁵	H _φ ⁵ Promedio (kcal/res.)
	(g/L)	(g/L)						
α _{s1} -Caseína (α _{s1} -CN)	12-15		B	23,615	4.92-5.05	4.44-4.76	10.05	1,170
α _{s2} -Caseína (α _{s2} -CN)	3-4		C	23,542	5.00-5.35	...	10.03	1,170
β-Caseína (β-CN)	9-11		A	25,226	1,111
		A1	24,023	5.41	1,322
κ-Caseína (κ-CN)	2-4		A2	23,983	5.30	483-5.07	4.6-4.7	1,335
		B	24,092	5.53	—	4.7	1,326	
β-Lactoglobulina (β-LG)	2-4		A	19,037	5.77 (5.35)	5.45-5.77	—	1,205
		B	19,006	6.07 (5.37)	5.3-5.8	10.5	1,224	
α-Lactalbumina (α-LA)	0.6-1.7		A	19,363	5.35	5.13	9.6	1,211
		B	18,277	5.41	5.13	10.0, 9.6	1,217	
Albumina sérica (SA)	0.4		B	14,178	—	4.2-4.5	20.1-20.9	1,120
Inmunoglobulina G1 (IgG1)	0.3-0.6		A	66,399	5.13	4.7-4.9	6.3-6.9	1,120
Inmunoglobulina G2 (IgG2)	0.05		...	161,000	—	5.5-6.8	13.6	...
Inmunoglobulina A7 (IgA)	0.01		...	150,000	—	7.5-8.3	13.6	...
Inmunoglobulina M (IgM)	0.09		...	385,000-417,000	12.1	...
Componente de secreción (SC)	0.02-0.1		...	1,000,000	12.1	...
Lactoferrina (LF)	0.02-0.1		...	63,750	7.48	...	15.5	...
						8.81	9.91	1,053

Fuente: Modificado de Farrell et al., 2004.

¹ Variantes principales.² Calculado como peso de la fórmula (3 lugares decimales) a partir de la composición. Todos los grupos ácidos están protonados; todos los grupos básicos no están protonados. En caso de conocerse se consideraran los principales enlaces disulfuro; k-CN no tiene disulfuros, pero su piroglutámico N-terminal está incluido. Las inmunoglobulinas representan un intervalo.³ Eigel, W. N., J. E. Butler, C. A. Ernstrom, H. M. Farrell, Jr., V. R. Harwalkar, R. Jenness and R. M. Whitney, 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. Fifth revision. J. Dairy Sci. 67:1599-1631.⁴ Absorbancia de una solución al 1% medida con un paso de luz de 1 cm a 280 nm, excepto cuando se indique lo contrario.⁵ Hidrofobicidad promedio calculada utilizando energías libres de transferencia de cadenas laterales de los aminoácidos desde un ambiente orgánico a un ambiente de composición acuosa de varias proteínas (Bigelow, C. C. 1967. On the average hydrophobicity of proteins and the relation between it and protein structure. J. Theoret. Biol. 16:187-211).

3.10.6 Proteínas vegetales

Las proteínas vegetales constituyen una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, explotándose tanto las propiedades funcionales como los beneficios nutricionales de cada grupo de proteínas. Inclusive, se pueden emplear ya para el diseño de empaques biodegradables. Las proteínas vegetales se obtienen principalmente de semillas de leguminosas, cereales, oleaginosas y en baja proporción de hojas verdes. Existe una gran variabilidad de niveles de proteína aun en variedades de la misma especie, lo que depende de factores genéticos, climáticos y ecológicos. Las posibilidades de aprovechamiento en la industria de alimentos dependen tanto de su resistencia al procesamiento como de la presencia de compuestos antinutricionales en la fuente vegetal de interés.

Este grupo de proteínas se ha estudiado desde hace más de 250 años, en particular lo referente a las proteínas de semillas. Inicialmente se han clasificado y agrupado en términos de solubilidad con el procedimiento de Osborne, como se describió párrafos antes, o según su función: estructurales o metabólicas, de defensa, resistencia a estrés o de almacenamiento. Los criterios más recientes, elaborados tras la descripción completa del genoma de algunas plantas, como *Arabidopsis*, para la que se han encontrado más de 25,000 proteínas, definen a las familias de proteínas vegetales en términos de sus relaciones estructurales y evolutivas, lo que no ha sido simple ya que el número de familias, secuencias y motivos es muy elevado,¹⁶⁹ por ejemplo, la superfamilia de prolaminas incluye a las proteínas de almacenamiento en cereales, a una variedad de proteínas de bajo peso molecular ricas en S y algunas glicoproteínas de pared, proteínas de transferencia de lípidos, inhibidores de alfa amilasa y/o de tripsina y albúminas 2S, muchas de las cuales son alergénicas. Otra superfamilia importante es la de las cupinas, que incluye a las principales globulinas con función de almacenamiento, como las de soya, nuez, etcétera. También puede mencionarse a la de cisteína-proteasa C1, que incluye a enzimas como la papaína y la proteína alergénica de kiwi.

La función biológica de las principales proteínas vegetales que se explotan comercialmente es formar parte del endospermo de la semilla, a la que nutren durante la germinación y desarrollo, procesos durante los que se modifican los niveles de las diferentes proteínas. El grupo proteínico preponderante varía de acuerdo al grupo de plantas del que se trate: en el caso de los cereales dominan las glutelinas, en las leguminosas las globulinas.

Los ingredientes vegetales ocupan un lugar importante en la dieta de la población menos favorecida en términos económicos, y por otro lado entre quienes por diferentes razones (filosóficas, religiosas, económicas, visión de salud) optan por regímenes alimentarios libres de productos animales. Su valor agregado puede incrementarse al obtener y explotar componentes por su composición y funcionalidad, rubro en el que han adquirido gran importancia los aislados proteínicos de diferentes fuentes, en especial los de soya.

A pesar de la gran cantidad de plantas utilizables para alimentación, en el mercado hay pocas variedades que se explotan ampliamente, como se puede apreciar en el cuadro 3.23 En particular, las últimas dos décadas han visto el crecimiento del mercado de la proteína de soya, que en 2004 alcanzó un área cultivada a nivel mundial de 86 millones de hectáreas, siendo un 56% de ellas manipuladas genéticamente, lo que le convierte en el cultivo transgénico más extendido a nivel comercial en el mundo. A pesar de ello, existen alternativas de aislados proteínicos de especies como chícharo, canola, lupinos y ajonjolí, entre otros, por los altos contenidos proteínicos que poseen las semillas, como se presenta en el cuadro 3.24.⁵⁹

CUADRO 3.23 Producción mundial de cereales y granos

<i>Tipo de grano</i>	<i>Toneladas métricas (millones)</i>
Cereales	
Maíz	586.1
Arroz	569.9
Cebada	157.0
Sorgo	69.1
Leguminosas	
Soya	129.1
Frijoles secos	18.4
Chícharos, secos	10.5
Garbanzos	8.0
Broad bean secos	3.2
Lentejas	3.0
Oleaginosas	
Algodón	56.4
Colza	30.6
Girasol	24.7

Fuente: www.fao.org.

CUADRO 3.24 Contenido proteínico de las principales semillas cultivadas

<i>Cultivo^a</i>	<i>Proteína total</i>
	<i>Cereales</i>
Cebada	8.2-11.6
Maíz	7.2-9.4
Mijo ^b	10.0-11.0
Avena	12.1-14.2
Arroz	7.5-9.0
Sorgo ^b	9.0-15.0
Trigo	11.0-14.0
	<i>Pseudo cereales</i>
Amaranto ^c	13.2-18.2
Trigo sarraceno	13.8
Quinoa	12.0-20.0
	<i>Leguminosas</i>
Garbanzo	20.0-28.0
Haba	20.0-30.0
Lenteja	23.0-29.0
Frijol	19.0-21.0
Chícharo	21.0-28.0
Cacahuete	25.0-28.0
Soya	32.0-42.0
	<i>Oleaginosas</i>
Algodón	17.0-21.0
Colza	20.0-25.0
Ajonjolí	25.0
Girasol	27.0

Fuente: Segura-Nieto M. y Jiménez-Flores R. Genetic Modification of Plant Seed Protein Food Production. pp. 411-492. En Paredes-López Octavio, Editor. (1999). Molecular Biotechnology of Plant Food Production. Ed. Technomic Publishing Company Inc. Pennsylvania, USA. 621 pp.

En muchos alimentos importantes, como pan y tortilla, la estructura de las redes proteínicas resulta fundamental para las propiedades del producto. A continuación se describen los casos más importantes.

3.10.7 Proteínas de cereales

Las proteínas de reserva más abundantes en los cereales se denominan glutelinas, aunque puede haber algunas diferencias entre especies. En las leguminosas, las globulinas constituyen el 70% del total, en tanto las glutelinas y albúminas contribuyen con porcentajes que oscilan entre el 10 y 20% para cada una. El contenido total proteínico es de alrededor del 12%, que resulta bajo si se compara contra el de las leguminosas, que oscila entre el 18 y 25 por ciento.

Trigo

Los cereales, particularmente los provenientes del grano entero y conocidos como integrales, poseen una amplia gama de nutrimentos de interés: fibra, antioxidantes fenólicos, almidones, etcétera. Este cereal se usa fundamentalmente en panificación, que involucra una fermentación que produce esponjamiento de la masa, característica que sólo el centeno comparte parcialmente con él. Los demás cereales (avena, sorgo, cebada, maíz, arroz y mijo), no la tienen. Para fabricar el pan se mezcla la harina de trigo con todos los ingredientes necesarios, como agua, azúcar, mantequilla, sal, levadura. Se prepara la masa y se deja reposar para que los azúcares, al fermentar, produzcan el anhídrido carbónico que hace aumentar el volumen, y finalmente se cuece.

Esta capacidad de esponjamiento se debe principalmente a las proteínas, pero también influyen otros constituyentes como el almidón y los lípidos.¹³⁵ Las harinas de trigo contienen de 10 a 12% de proteínas, que al igual que las del maíz, son básicamente glutelinas y en menor proporción existen también otras, como albúminas y globulinas, que sólo representan aproximadamente 15% del total y cuyo peso molecular promedio es de 12,000 Da. La separación de cada una de las fracciones que integran las proteínas del trigo se puede efectuar con base en su solubilidad en diferentes solventes.

Las glutelinas del trigo reciben el nombre de gluteninas, mientras que las prolaminas, el de gliadinas, y ambas suman 85% de la fracción proteínica. Éstas, junto con los lípidos y el agua forman el llamado gluten, responsable de las propiedades de cohesividad y de viscoelasticidad de la masa de panificación. Las gliadinas, que son solubles en etanol al 70%, representan 50% del total de las proteínas; son heterogéneas ya que contienen de 40-60 polímeros, que por electroforesis se han dividido en cuatro grupos (α , β , γ y ω), en una proporción de 15, 30, 30 y 25%, respectivamente. Sus cadenas simples tienen estructuras primarias con diferente composición de aminoácidos y su peso molecular varía de 15,000 a 80,000 Da, con un promedio de 36,000. Su conformación se estabiliza mediante enlaces disulfuro intramoleculares; al hidratarse forman una masa viscosa extensible, fluida pero poco elástica y son las responsables de la expansión de la masa durante la elaboración del pan. Cuando existe un exceso de gliadinas en relación con las gluteninas, el gluten se vuelve débil, permeable y no retiene el anhídrido carbónico; entonces la masa en lugar de esponjarse se colapsa.

Se han identificado también 15 gluteninas en forma monomérica que con pesos moleculares que van de 12,000 hasta 135,000 y que se caracterizan por su elevado número de enlaces disulfuro (aproximadamente 50 por molécula) que le confieren una gran estabilidad y permiten la asociación para formar polímeros de un peso molecular de varios millones (figura 3.50).

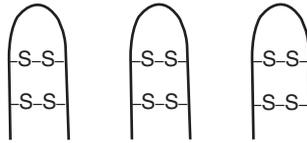


Figura 3.50 Enlaces disulfuro intramoleculares de la gliadina de trigo.

Son insolubles en soluciones salinas neutras y en etanol al 70%, solubles o dispersables en ácidos y en bases débiles; al hidratarse producen una masa muy tenaz, elástica y cohesiva. La elaboración de pan requiere de una fuerza específica de gluten, que balanceada en la proporción de las diferentes proteínas permiten la cohesividad apropiada, pues un exceso de gluten inhibe la expansión de la masa y reduce el volumen final de la hogaza (figura 3.51).

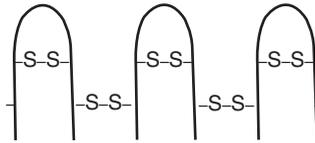


Figura 3.51 Enlaces disulfuro intra e intermoleculares de la glutenina de trigo.

El gluten en su conjunto tiene una composición de aminoácidos de aproximadamente 6% ionizables, 45% polares y 49% apolares; se caracteriza por su elevado contenido de prolina y de glutamina (14 y 37%, respectivamente, del total de aminoácidos). Su alta proporción de Pro evita la conformación helicoidal, lo que a su vez acarrea que el grupo amida de la Gln fácilmente establezca puentes de hidrógeno inter e intramoleculares. Su baja concentración de aminoácidos ionizables y el alto porcentaje de hidrofóbicos lo hace poco soluble a pH neutro. Además el gluten es rico en residuos de cisteína que permite formar enlaces disulfuro intra e intermoleculares. Es durante el amasado, manual o mecánico, que las gluteninas y las gliadinas se desnaturalizan y establecen enlaces disulfuro, y mediante interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas permiten que estos polímeros se orienten longitudinalmente; los esfuerzos mecánicos inducen un intercambio de grupos azufrados entre las múltiples cisteínas. El resultado de este proceso es la formación de una red elástica y cohesiva necesaria para el esponjamiento ocasionado por la generación del CO_2 de la fermentación.

La tenacidad de las harinas se debe a la composición del gluten; las conocidas como fuertes producen masas cohesivas, que requieren tiempos de mezclado largos, y las llamadas débiles, que no desarrollan una estructura adecuada y colapsan al amasarse. Es práctica común el empleo de agentes oxidantes y reductores para regular la cantidad de los enlaces disulfuro cruzados que son parcialmente responsables de las propiedades reológicas de la masa. Los agentes oxidantes más utilizados son los peróxidos, los bromatos, los persulfatos y el ácido dehidroascórbico. Entre los reductores destacan los sulfitos, la cisteína, el glutatión o cualquier otro compuesto que tenga grupos sulfhidrilo libres, como la β -lactoglobulina de la leche (figura 3.52).

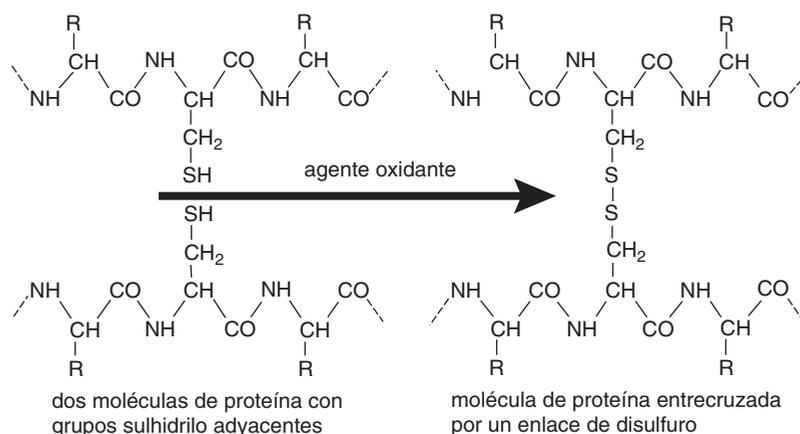


Figura 3.52 Acción de agentes oxidantes sobre la harina en la formación de enlaces disulfuro intermoleculares entre proteínas adyacentes.

Por su parte, las albúminas y las globulinas del trigo desempeñan un papel importante en la formación de la costra del pan debido a que favorecen las reacciones de oscurecimiento no enzimático responsables del color y el aroma típicos de estos productos. Cabe indicar que tanto las gliadinas como las gluteninas contienen una cantidad muy baja de lisina, ya que 85% de este aminoácido se localiza en las albúminas y las globulinas.

Respecto de la toxicidad de las proteínas del gluten es la llamada enfermedad celiaca, la que se caracteriza por una mala absorción intestinal que acarrea problemas nutricionales. Parece ser que es la gliadina la fracción que provoca atrofia de las vellosidades del intestino delgado, lo que provoca que algunos nutrientes (*por ejemplo* vitaminas), no se absorban adecuadamente y que se presente desnutrición y avitaminosis. Ésta es una enfermedad hereditaria.¹²⁰ Estos efectos pueden ser atenuados al modificar las proteínas.

Proteínas del maíz

El maíz representa en muchos países, como México, el principal alimento para gran parte de la población, sobre todo la de escasos recursos económicos; se consume en formas muy variadas, como tortillas, tamales, atole, pinole, etcétera (cuadro 3.25).

CUADRO 3.25 Cambios de composición en el maíz durante la nixtamalización

	<i>Sin tratar</i>	<i>Nixtamalización</i>
Proteína (%)	11.0	10.6
Fibra cruda (%)	2.3	2.0
Extracto etéreo (%)	5.1	4.5
Cenizas (%)	1.7	2.3
Calcio (%)	76	1,230

El maíz es deficiente en lisina y en triptofano y la relación de concentraciones de leucina/isoleucina es muy elevada, estos factores, aunados a su estructura terciaria rígida, hacen que su calidad nutricional sea reducida (figura 3.53).

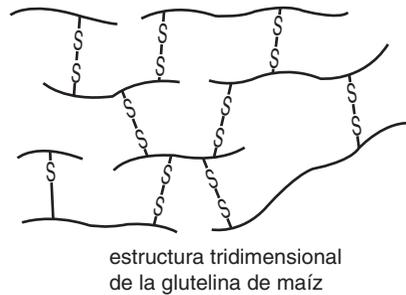


Figura 3.53 Estructura tridimensional de la glutelina de maíz.

En México, antes de consumirse, el maíz se somete a un proceso térmico-alcalino fuerte conocido como nixtamalización (palabra del náhuatl, derivada de *nextli* que significa cenizas o cenizas de cal y *tamalli*, masa de maíz). En su forma tradicional, primero se hierve el maíz en agua en una proporción de 1:3 (peso:volumen) a la que se ha añadido 1-3% de cal, con lo cual se alcanza un pH que varía de 11 a 13. El tiempo de cocimiento, que fluctúa entre 20 y 40 minutos, depende de las variedades de maíz, pues las variedades de endospermo suave requieren menos tiempo que las de endospermo duro. La dureza del grano está dada por la composición y grosor del pericarpio, y de la relación de concentración de amilosa y amilopectina. Después de este corto tiempo de ebullición, se deja reposar de 10 a 14 horas. El agua de cocción llamada “nejayote”, se elimina y después el maíz se lava con agua para eliminar el exceso de álcali, y mejorar el sabor de la tortilla que de otra forma sería alcalino. El nejayote es un contaminante importante por su alta demanda biológica de oxígeno y su pH de aproximadamente 8.5 (figura 3.54).

El maíz ya lavado se muele en un molino de piedras que, por la fricción, genera una gran cantidad de calor que incrementa considerablemente la temperatura de la masa obtenida. Finalmente, esta masa sirve para preparar un gran número de alimentos, entre los que destaca notablemente la tortilla; para su fabricación, se requiere un cocimiento a 170-190°C durante 4 a 5 minutos, mismo que se lleva a cabo en planchas metálicas o de barro. Como se observa, para fabricar la tortilla el maíz se somete a tratamientos drásticos, poco comunes en la industria alimenticia: primeramente el térmico-alcalino, seguido del calentamiento en el molino y por último, el de la cocción final en la plancha, todos ellos tratamientos severos. Para ser aceptada, la tortilla debe reunir ciertas características de aroma y de sabor. Además debe contar con buena flexibilidad y una textura adecuadas para poderla doblar y enrollar para comerla sin romperse. Sus propiedades sensoriales y mecánico-plásticas dependen de muchos factores entre los que destacan la variedad del maíz, la temperatura, el tiempo de cocción y el pH.

Cuando en lugar de la tradicional cal se utilizan iones monovalentes como álcali (NaOH o KOH), no se obtienen buenos resultados, sobre todo en lo relacionado con las propiedades plásticas de la tortilla; el almidón no contiene grupos ionizables, pero en condiciones fuertemente alcalinas y

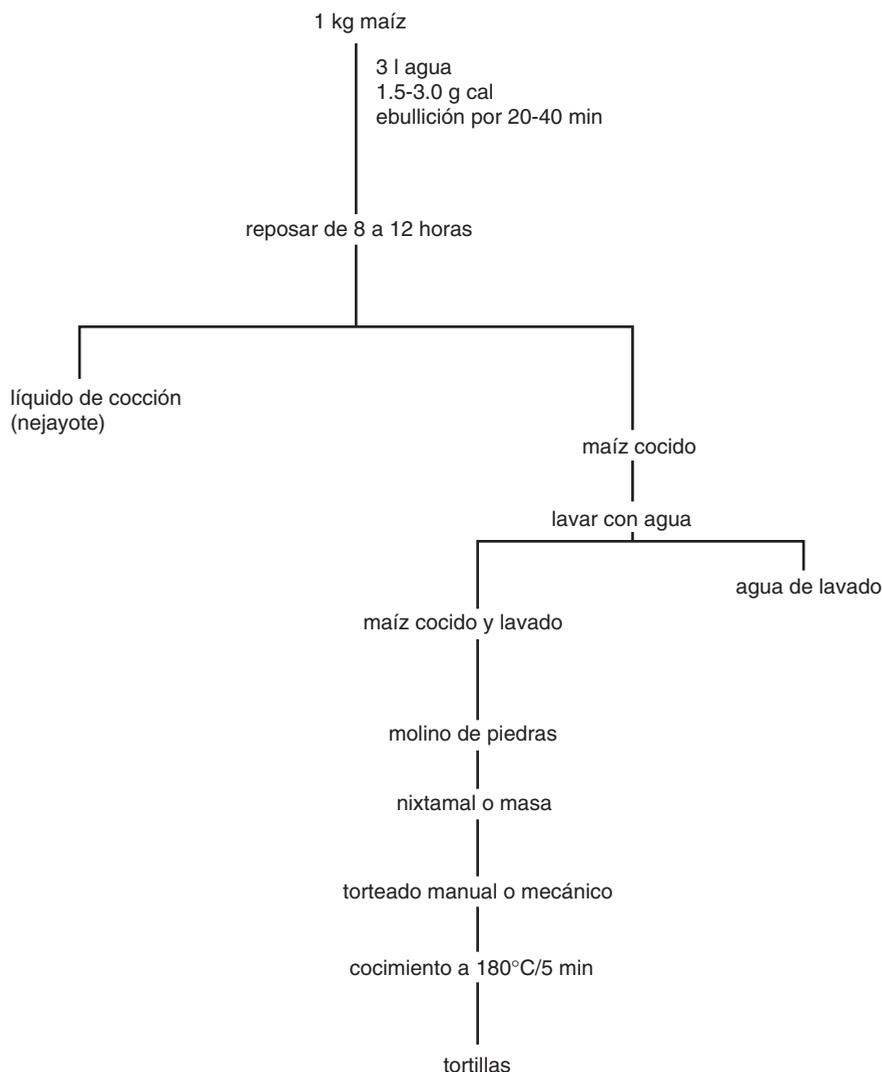


Figura 3.54 Elaboración de tortillas a partir de maíz; las condiciones indicadas varían de acuerdo con el tipo de maíz que se nixtamalice.

a temperaturas elevadas (como las de la nixtamalización), puede ocurrir la disociación de los hidroxilos y producir cargas negativas en las moléculas de glucosa; éstas, a su vez, interaccionan mediante los iones divalentes calcio o magnesio y crean una estructura continua; es algo semejante a lo que ocurre en la gelificación de las pectinas de bajo metoxilo (capítulo 2).

Durante las distintas etapas del proceso de nixtamalización, y debido a los múltiples factores que intervienen en ella, puede ocurrir una gran variedad de reacciones físicas y químicas. Los parámetros más importantes a controlar son: los tiempos de remojo, la concentración de álcali, la velocidad de

incremento de temperatura, entre otros. La composición química de cada variedad de maíz, como el contenido de carbohidratos, de proteínas y de algunos otros componentes debe también considerarse, pues todo ello repercute en las características de la masa y de la tortilla. Un ejemplo reciente lo constituye el establecimiento de las condiciones de nixtamalización para las variedades de maíz QPM (variedades de mejor calidad proteica en cuanto a contenido de lisina y triptofano), cuyo procesamiento debe ser diferente.¹⁰⁶

Algunos de los cambios que suceden durante la nixtamalización ya han sido estudiados: se gelatiniza el almidón, se hidroliza la hemicelulosa del pericarpio y se destruyen algunos aminoácidos y vitaminas; por otra parte, en el nejayote se solubilizan minerales, grasas, vitaminas y algunas proteínas, como las albúminas y las globulinas. A pesar de ser un tratamiento severo, la nixtamalización tiene beneficios, ya que mejora la calidad nutritiva del maíz, debido a las siguientes transformaciones: la biodisponibilidad de la lisina de la glutelina se incrementa considerablemente, así como la del triptofano y; lo mismo ocurre con la niacina, que originalmente se encuentra en forma no disponible biológicamente; la destrucción de leucina hace que la relación de este aminoácido con la isoleucina mejore considerablemente y se incrementa el aprovechamiento de ambos; la gelatinización del almidón propicia que éste sea utilizado por el organismo humano.

Por lo mencionado anteriormente, algunos autores consideran que fue precisamente la nixtamalización del maíz lo que hizo que florecieran las culturas precolombinas. En otros pueblos como por ejemplo Egipto, donde se consume sólo cocido sin adición de álcalis se desarrollaba la pelagra, enfermedad mortal causada por la deficiencia de niacina; en cambio, los maíces preparados por este método no la provocan ya que la niacina se hace disponible, así como el triptofano (precursor de esta vitamina), además de que se corrige la relación desequilibrada de leucina/isoleucina.

En resumen, a pesar de que el maíz nixtamalizado pierde algo de proteína, fibra, grasa y vitamina, su calidad nutritiva es mayor que la de la materia prima; cabe mencionar que gracias a este proceso, un amplio sector de la población mexicana satisface sus necesidades diarias de calcio; aproximadamente 40% del utilizado en la nixtamalización se retiene en el grano y en sus derivados.

Es probable que debido a las condiciones térmico-alcálicas drásticas a que se somete el maíz se favorezcan otras reacciones como las de racemización de aminoácidos, la síntesis de enlaces isopeptídicos y la formación de lisinoalanina, como ya se discutió en secciones anteriores; sin embargo, cabe indicar que la producción de lisinoalanina es mucho más fácil con álcalis de cationes monovalentes que con divalentes, puesto que con calcio no se lleva a cabo tan fácilmente como con hidróxido de sodio. Aun cuando la nixtamalización mejora la calidad nutritiva del maíz, es un producto deficiente en lisina, pero rico en metionina; por otra parte, como en México también es costumbre consumir el frijol (*Phaseolus vulgaris*) que es deficiente en metionina, pero rico en lisina, la mezcla de estos dos productos se complementa muy adecuadamente, de tal forma que con el consumo de ambos en una proporción de 50% cada uno se obtienen los mejores resultados (figura 3.55).

Se ha propuesto la fortificación de las tortillas con harina de soya, lo que incrementa la utilización biológica y el índice PDCCEAS (Cuenta química con digestibilidad verdadera) de las tortillas elaboradas, con efectos notables si la dieta se mantiene por más de una generación en animales de laboratorio.³

Proteínas de arroz

El arroz es uno de los granos con mayor consumo a nivel mundial y su procesamiento genera muchos desperdicios, provenientes principalmente de la cascarilla. Las proteínas se localizan en diferen-

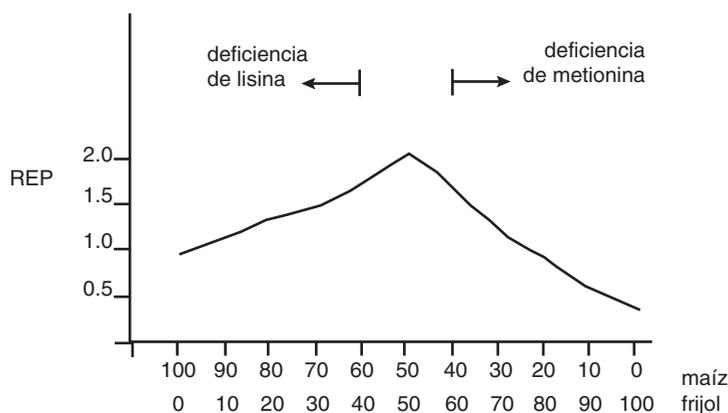


Figura 3.55 Valores de la relación de eficiencia proteínica (REP) de diferentes mezclas de maíz y de frijol.

tes partes del grano, incluyendo el endospermo y precisamente la cascarilla. La extracción de proteína mejora en forma notable cuando se emplean enzimas para facilitar el proceso. Los aislados proteínicos a partir de este grano tienen la ventaja de ser incoloros, ricos en aminoácidos indispensables, hipoalérgicos e hipocolesterolémicos, pero su funcionalidad depende fuertemente del proceso de obtención del aislado.¹

Proteínas de otros cereales

Entre los cereales y pseudocereales raramente comercializados a niveles extendidos cabe mencionar algunos como el amaranto, que es originario de México. Existen múltiples variedades de amaranto, de las cuales la más común en México es *Amaranthus hypochondriacus*. Su consumo data de tiempos precolombinos cuando se le conocía como “huautli”, que significa alegría, probablemente en alusión a lo colorido de la planta. A la llegada de los españoles, este cereal perdió importancia pues los conquistadores lo asociaban con costumbres paganas. Sin embargo se continuó su cultivo, aunque en pequeñas parcelas. La semilla se obtiene de la planta madura, que alcanza más de dos metros de altura a los ocho meses; su composición promedio es de 12 a 16% de proteínas, de 62 a 69% de almidón, de 6 a 7.5% de lípidos, de 2 a 3% de azúcares, de 4 a 7% de fibra y de 3 a 3.5% de cenizas. Una particularidad más sobresaliente es su alto contenido de lisina, que va de 5 a 6.2 g/100 g de proteína. Su patrón de aminoácidos y la biodisponibilidad de éstos hace que su PER sea de 2.1, comparada con el estándar de caseína de 2.4, cifra muy superior a la del maíz. Su factor de conversión de nitrógeno a proteína ha sido calculado en 5.85. Al igual que muchos productos de origen vegetal, el amaranto contiene compuestos indeseables que deben eliminarse para incrementar su calidad nutritiva; entre éstos destacan los inhibidores de proteasas y las saponinas.

El uso más común del amaranto en México es en la elaboración del dulce llamado alegría, que consiste en mezclar las semillas previamente tostadas y “reventadas” (en un comal de barro o en una plancha metálica) con miel o piloncillo; también se ha empleado para fabricar otros productos típicos, como galletas, atoles, pinole, etcétera.

La evaluación de diversas variedades y extractos proteicos de amaranto indica que los aislados proteínicos del mismo pueden ser de interés como ingredientes en alimentos, en particular para mejorar las propiedades de las masas de panificación con albúminas provenientes de este pseudoce-real,¹⁵⁴ particularmente por sus capacidades de espumado e independientemente de sus propiedades nutricionales.

Proteínas de leguminosas

Las leguminosas comprenden cerca de 20,000 especies y tienen gran importancia tradicional en la dieta tanto oriental como occidental. Las familias correspondientes son leguminosas y fabáceas, y las principales especies que se explotan son frijol (*Phaseolus vulgaris*), chícharo (*Pisum sativum*), lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*), cacahuete (*Arachis hypogaea*), haba (*Vicia faba*) y soya (*Glycine max*). Su superficie cultivada correspondía al 13% del área sembrada mundialmente en 2004 y se produjeron 300 millones de toneladas métricas, que proveen (a nivel mundial) el 30% del nitrógeno de la dieta.⁵³ Son particularmente importantes en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza, ya que la gran mayoría tiene la capacidad de asociación con bacterias simbióticas que contribuyen a fijar nitrógeno atmosférico, por lo que su producción puede llevarse a cabo con menor cantidad de fertilizantes que la que usan los cereales, por ejemplo.⁵⁶ Existe, además, un gran número de especies no explotadas que podrían introducirse como alimento o sus derivados, como diversas especies de lupinos o frijoles silvestres, así como posibilidades de explotar generando productos de mayor valor agregado, como los aislados proteicos, especies explotadas tradicionalmente como comestibles, como el caso del chícharo.⁵⁹

Proteínas de la soya

La soya constituye actualmente la leguminosa de mayor valor económico en los Estados Unidos, además de ser de gran importancia en la dieta oriental, como se mencionó con anterioridad. Paulatinamente, se ha incrementado el área de cultivo en América Latina.¹⁶⁶ Las proteínas de la soya han cobrado especial importancia por poseer diversos efectos fisiológicos, como la capacidad de reducir el colesterol sanguíneo, de reducir la grasa corporal e inclusive la FDA ha aprobado la reivindicación de que su consumo previene enfermedades coronarias.⁴³ Otros posibles beneficios serían el alivio de síntomas de osteoartritis.⁷ El rápido crecimiento del mercado ha generado una enorme gama de productos, buscando mejorar funcionalidad y reducir defectos, como el sabor “a verde” o “afrijolado”, la generación de flatulencia por su contenido de oligosacáridos no digeribles, así también se busca diversificar sus aplicaciones. Una de las herramientas disponibles para generar nuevos productos de soya o de otras fuentes vegetales es la proteólisis selectiva, empleando proteasas vegetales como la papaína o enzimas microbianas, y enriqueciendo las fracciones en alguna de las globulinas: β -conglícinina o glicinina para mejorar la capacidad de gelificación, emulsificación y espumado.¹⁶³ Las propiedades nutricionales y digestibilidad de las proteínas de soya pueden ser mejoradas por procesos que destruyen los factores antinutricionales, como el inhibidor de tripsina, y liberan péptidos que se asimilan mejor.⁶⁶

Las principales proteínas de almacenamiento en soya son la β -conglícinina (7S), deficiente en aminoácidos azufrados, y la glicinina (11S), rica en los mismos. Ambas son consideradas como excelentes fuentes de proteína dietaria. La glicinina comprende del 25 al 30% de la proteína de la soya y está formada por un hexámero de peso molecular aproximado de 360,000 Da. Este multímero, a su

vez, se forma por subunidades codificadas por varios genes y se han identificado al menos seis especies hexaméricas. Cada subunidad se sintetiza como un precursor que se modifica postraduccionally para dar lugar a una subunidad ácida de peso molecular aparente 30,000 Da, unida por un puente disulfuro a una subunidad básica de 20,000 Da. Los estudios cristalográficos han mostrado que se trata de una proteína con estructura tipo barril, con alfa hélice de doble hebra, en la que las subunidades se sostienen por hélices alfa, así como un porcentaje elevado de estructura desordenada.¹⁰⁸ Existen numerosos estudios que tratan de identificar la relación entre estructura y funcionalidad de las proteínas de soya. Las diferentes presentaciones comerciales varían en la concentración selectiva de diferentes fracciones, en la presencia de otro tipo de proteínas, lípidos y carbohidratos, lo que permite tener una amplia y variada gama de usos.

3.10.8 Proteínas edulcorantes

Con el afán de obtener compuestos edulcorantes naturales que sustituyan a la tradicional sacarosa, se han identificado diversas proteínas que tienen la particularidad de causar la sensación de dulzura, entre ellas se encuentran principalmente las taumatinas, la mabinlina, pentadina, brazéina, curculina y la monelina. Además, la miraculina, que aunque no tiene sabor es capaz de modificar la percepción tanto de dulce como de amargo. La explotación comercial de estas proteínas ha sido limitada, precisamente debido su carácter proteínico y a su susceptibilidad a la desnaturalización, lo que alteraría sus propiedades edulcorantes. Todas estas proteínas han sido aisladas de plantas tropicales, no comparten homología de secuencias ni similitud estructural. Aunque por lo menos la taumatina es homóloga a otras proteínas vegetales.⁴⁵ No se han explotado comercialmente a excepción de la taumatina, comercializada como Talina, aunque se considera que tienen un cierto potencial de explotación como productos recombinantes.

Las taumatinas se encuentran en el llamado katemfe, que es la parte gelatinosa que cubre las semillas o los frutos de la planta marantácea africana *Thaumatococcus danielli*. Cuentan con cinco grupos de tripéptidos idénticos a los que se encuentran en la monelina, por lo que se consideran los responsables de la interacción con el receptor y la generación del sabor dulce. La molécula es muy soluble en agua y contiene ocho enlaces disulfuro que le confieren una alta resistencia a la desnaturalización térmica y si ésta ocurre se pierde el poder edulcorante, que es entre 1600 y 2700 veces el de una solución de sacarosa al 10% y se capta sin dejar resabio o sabores extraños, como los que se perciben con la sacarina; también tiene la característica de reducir hasta 10 veces el umbral de captación de los sabores frutales y de menta, por lo que se considera como potenciador de sabor dulce o salado, desde niveles de 0.1-0.5 ppm., además de enmascarar sabores metálicos o amargos. Puede ayudar a reducir el uso de edulcorantes, y por tanto tener un papel importante en el mercado de productos de bajas calorías y para diabéticos. Se introdujo al mercado desde la década de 1970, aunque su uso principal es para acentuar sabores, más que como edulcorante, que incluso le permite resistir tratamientos UHT y amplios rangos de pH. Además, puede estabilizarse con formulaciones que contengan gomas. Tiene carácter GRAS y por su origen puede ser etiquetado como natural, lo que le abre nichos de mercado interesantes.

Finalmente, la monelina es un complejo proteínico de peso molecular de aproximadamente 11,000 Da, con un punto isoeléctrico de 9.03 y se extrae de la baya menispermácea *Dioscoreophyllum cumminsii*, no contiene histidina ni hidratos de carbono y sus cadenas polipeptídicas A y B, formadas por 44 y 50 aminoácidos, respectivamente, están unidas por enlaces no covalentes. Es soluble en agua, se desnaturaliza a pH extremos y con tratamientos térmicos intensos. Su poder edulcorante

es, de aproximadamente 2,500 veces el de la sacarosa y la sensación de dulzura puede durar hasta 60 minutos. Actualmente no tiene una aplicación comercial.

Se ha identificado una proteína receptora de tipo α -helicoidal. El conocimiento de la estructura tridimensional de las proteínas empleando metodologías como difracción de rayos X ha permitido detectar la secuencia y los residuos implicados en la iniciación de la percepción de dulzor, lo que no ha sido posible con moléculas más pequeñas. Es importante señalar que la pérdida de la estructura tridimensional por desnaturalización o rompimiento de los puentes disulfuro resulta en pérdida del poder edulcorante. El receptor identificado es el mismo que para el aspartamo. Se considera que las proteínas descritas afectan la quimiorrecepción por su estructura y por la distribución de cargas eléctricas en la molécula. Actúan como puentes entre las moléculas de sabor y los receptores gustativos.

Sin ser edulcorante, es de interés en el área de sabores la miralina o miraculina, glucoproteína que se extrae de la pulpa de la fruta tropical *Synsepalum dulcificum* con carbonato de sodio a pH 10.5; su peso molecular es de 44,000 Da. Aunque de forma pura no tiene sabor dulce, transforma la percepción de los compuestos ácidos en muy dulces; esto se debe probablemente a que se une a los receptores de los corpúsculos gustativos y modifica su función. Tiene el inconveniente de que es muy sensible y tiende a la desnaturalización de manera rápida, lo que ha limitado su explotación comercial. Sin embargo se han desarrollado grandes áreas de cultivo en África y se han diseñado procesos de extracción rápida y liofilización, que ofrecen mayores posibilidades de explotación comercial.

3.10.9 Péptidos de importancia en el campo de alimentos

Además de las proteínas, recientemente se ha comprendido la importancia de cadenas de aminoácidos más pequeñas, los péptidos, en diversas funciones de importancia para el campo de alimentos. Algunos son producidos originalmente como moléculas pequeñas y otros son productos derivados del metabolismo o del procesamiento enzimático de las proteínas. Los campos de incidencia son varios:

a) Péptidos y bioconservación

Los microorganismos y, en especial, las bacterias lácticas, producen una gama de sustancias antimicrobianas cuyo valor ecológico es el de controlar a los competidores en el ambiente. Entre ellas destacan las bacteriocinas, sustancias de naturaleza peptídica, lineales o circulares, que se presentan en una amplia gama de secuencias y con mecanismos de acción diferentes. Normalmente cada cepa produce una bacteriocina específica con un espectro de acción reducido y generalmente dirigido a parientes cercanos. Sin embargo, se conocen casos en que se despliega actividad anti-*Listeria* que resulta de gran interés para la industria de alimentos, así como el caso de actividad contra microorganismos Gram positivos. Sus propiedades fisicoquímicas son también muy heterogéneas. La bacteriocina que se produce a nivel comercial es la nisina, péptido producido por *Lactococcus lactis*, se pueden destacar también las presentadas en el cuadro 3.26.

De acuerdo al grupo al que pertenecen pueden contener aminoácidos modificados, por lo que también se denominan lantibióticos. Pueden ser lineales o circulares, su peso molecular va de 3 a 30 kDA, pueden tener asociados lipopolisacáridos y patrones diferentes de resistencia a proteasas. A la fecha, el único tipo autorizado para aplicación comercial es la nisina, pero se cree que la demanda de conservadores naturales se incrementará y que pronto se producirán varios de ellos a mayor escala.

CUADRO 3.26 Péptidos microbianos útiles en bioconservación

<i>Bacteriocina</i>	<i>Microorganismo productor</i>
Clase I	
Nisina	<i>Lactococcus lactis</i>
Lactocina S	<i>Lactobacillus sake</i>
Lactocina481	<i>Lactococcus lactis</i>
Clase II	
Pediocina	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Sakacina	<i>Lactobacillus sake</i>
Enterocina A	<i>Enterococcus faecium</i>
Lactococina G	<i>Lactobacillus sake</i>
Plantaricina EF	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Clase III	
Helveticina	<i>Lactobacillus helveticum</i>

Fuente: Naidu, A. S. (2000). Natural food antimicrobial systems. CRC Press. EUA.

b) Péptidos y regulación del apetito

Ha sido demostrado que una familia de receptores hipotalámicos de péptidos regula la sensación de saciedad y la ingesta alimentaria.¹⁵⁰ Existen varias secuencias de péptidos Y(NPY) que pueden ser empleados tal cual o modificados químicamente, por pegilación y succinilación, para tratar de incrementar su vida media y prolongar su efecto, y también se han explorado modificaciones enzimáticas.¹⁴⁷ El diseño de péptidos, la identificación de funciones y el desarrollo de presentaciones no tóxicas, con la farmacocinética ideal, representa un área de oportunidad para nutriólogos, fisiólogos así como para la introducción al mercado de formulaciones alimentarias que los contengan para atender los problemas de salud relacionados con obesidad.

c) Péptidos bioactivos

Se denomina actividad biológica a la que ejercen las proteínas más allá de sus propiedades nutricionales o funcionales. En particular, los denominados péptidos bioactivos tienen en general de 2 a 9 aminoácidos, contienen residuos hidrofóbicos además de lisina, arginina y prolina. Se generan por acción de proteasas sobre diversas proteínas alimentarias, en las que parecen estar encriptados,¹⁰⁴ pero son resistentes a la actividad de peptidasas y llevan a cabo diferentes funciones: péptidos antihipertensivos, que son inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I (ACE), que se han obtenido a partir de leche, maíz y pescado; péptidos con actividad opioide que se derivan del gluten de trigo o caseína tras una digestión con pepsina y contienen tirosina en el extremo amino terminal, lo que puede ocurrir también en el tracto digestivo.²³ También se pueden generar péptidos con actividad inmunomoduladora a partir de hidrólisis con tripsina de proteínas de suero, soya y arroz: su función es estimular aniones superóxido (ROS) que desencadenan la respuesta inmune y sustancias vasoactivas.¹³⁸ A partir de la leche se pueden generar péptidos que permiten la peroxidación de los ácidos grasos indispensables y la función puede mejorarse por modificaciones, como la introducción de un residuo de leucina o prolina en el extremo amino terminal de un dipéptido His-His, lo que ade-

más conduce a sinergia con antioxidantes como BHT. Por otra parte, los hidrolizados trépticos de caseína que generan caseínofosfopéptidos tienen actividad antioxidante tanto hidrofílica como lipofílica, puesto que secuestran iones metálicos y hacen “quenching” con especies ROS. También se pueden formar estos péptidos durante la fermentación de los productos lácteos, lo que debe todavía ser explorado a detalle,¹⁵⁵ inclusive para la reducción de alergenicidad de β -lactoglobulina y estimulación de respuesta inmune tras fermentación, por ejemplo, con *Bifidobacterium lactis*.¹³⁰ La principal limitante para la aplicación de los péptidos bioactivos es la falta de métodos de separación cromatográfica a gran escala.⁸⁰

3.10.10 Proteína microbiana

En los años setenta se consideró que la capacidad de los microorganismos para crecer en diversos sustratos, particularmente los residuos agroindustriales, podría ser explotada para producir biomasa microbiana conocida como “proteína unicelular”, a partir de bacterias, hongos y levaduras. En principio, al deshidratarlos podrían obtenerse formulaciones con 80% de proteína de buena calidad. Al paso de los años los procesos no han demostrado muchas posibilidades de factibilidad técnico-económica y, en cambio, se han documentado problemas de posible toxicidad por el alto contenido de ácidos nucleicos así como por alergenicidad.

Existen pocos productos explotados a nivel comercial en los Estados Unidos y en Europa. El de mayor éxito es la llamada micoproteína, que se texturiza a partir de *Fusarium graminearum*, el estadio conidial del ascomiceto *Gibberella zeae*, que existe como saprobionte en el suelo y parasita al trigo y otros cereales. Las hifas que son angostas, ramificadas y septadas tienen forma fibrosa naturalmente, lo que es un buen comienzo para texturizarlas en un producto final masticable apropiado para producir análogos de carne, que tienen el nombre comercial Quorn™. El contenido nutricional de la micoproteína (cuadro 3.37) tiene las ventajas de no poseer casi grasa y no ser de origen animal, tiene un alto contenido proteínico, similar a la leche descremada, es alto en fibra y contiene elementos traza y vitaminas B. Se procesa generalmente con una pequeña cantidad de clara de huevo para mejorar rendimientos y al producto en sí.¹⁷¹

CUADRO 3.37 Análisis nutricional de micoproteína Quorn™ recién cosechada

Constituyente	Masa (g por 100g)
Proteína	11.8
Fibra dietaria	4.8
Grasa	3.5
Carbohidratos	2.0
Sodio	0.24
Colesterol	0.0
Agua	75.0

El resto de la masa incluye una amplia variedad de minerales y vitaminas, particularmente zinc y vitamina B₁₂, así como ácidos nucleicos.

En Brasil se ha realizado el análisis de aislados proteicos obtenidos de *Saccharomyces cerevisiae*, tanto en términos nutricionales como funcionales. Comparan en forma interesante con aislados

de soya formas modificadas por fosforilación y pueden representar una alternativa interesante como fuente proteica en virtud de la disponibilidad de residuos de levadura en diferentes procesos.¹⁷⁵

En Noruega se produce proteína bacteriana (Bioprotein™) a partir de gas natural y bacterias metanotróficas, pero se ha documentado una cierta alergenicidad por lo que su uso se ha restringido a la alimentación animal, a pesar de la buena composición alcanzada. Un caso de interés para México sería el del alga azul-verde espirulina (*Spirulina maxima*) que crece naturalmente en el Lago de Texcoco, México. Su composición en la forma comercial de deshidratado es de 65% de proteína, 8% de lípidos, 15% de hidratos de carbono, 6% de cenizas y 6% de humedad. Sin embargo, aún se comercializa sólo como fuente de minerales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agboola, S., Ng, D. y Mills, D. (2005). Characterization and functional properties of Australian rice protein isolates. *J. Cereal Sci.* 41, pp. 283-290.
2. Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, y Rao, R. M. (1999). Solubilized Wheat Protein Isolate: Functional Properties and Potential Food Applications. *J. Agric. Food. Chem.* 47, pp. 1340-1345.
3. Amaya-Guerra, C. A. Alanis-Guzman, M.G. Serna Saldívar, S.O. (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular and quality protein maize. *Plant Foods Hum. Nutr. Spring* 59 (2): pp. 45-50.
4. Anfinsen, C.B. y Seberaga, H.A. (1975). Experimental and theoretical aspects of protein folding. *Adv. Prot. Chem.* 29: p. 205.
5. AOAC (1990) Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15ª ed. Virginia pp. 342, 1095, 1096, 1105, 1106.
6. AOAC (1995) Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16ª ed. Virginia: p. 62.
7. Arjmandi, B.H., Khalil, D.A., Lucas, E., Smith, B., Sinichi, N., Hodges, S., Juma, S., Munson, M., Payton, M. Tivis R. y Sanborg, A. (2004). Soy protein may alleviate osteoarthritis symptoms. *Phytomedicine* 7/8: pp. 567-575.
8. Azakami, H., Mukai, A. y Kato, A. (2005). Role of amyloid type cross beta structure in the formation of soluble aggregate and gel in heat induced ovalbumin. *J. Agric. Food Chem.* 53(4); pp. 1254-1257.
9. Bienvenue, A., Jiménez-Flores, R., y Singh, H.(2003). Rheological properties of concentrated skim milk: influence of heat treatment and genetic variants on the changes in viscosity during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:6488-6494.
10. Biesalski, H. (2005). Meat as a component of a healthy diet- are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat science* 70 (3), pp. 529-534.
11. Bigelow, C.C. (1967). On the average hydrophobicity of proteins and the relation between It and protein structure. *J. Theor. Biol.*, 16:187-211.
12. Bodwell, C.E., Carpenter, K. J. y MacDonough, F.E. (1989) A collaborative study of methods of protein evaluation: introductory paper. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39:3.
13. Bourgeois, C. M. y Le Roux, P. 1986. Proteínas animales. 1a. ed. Ed. El Manual Moderno. México, D. F.
14. Boutrif, E. (1999) Recent developments in protein quality evaluation. <http://www.fao.org/docrep/u590t07htm>.
15. Burley, R.W. Evans, A.J., Pearson, J.A., (1993). Molecular aspects of the synthesis and deposition of hens' egg yolk with special reference to low density lipoprotein. *Poult. Sci.* May;72(5):850-5.

16. Campbell, J. A. (1963) PAG(WHO/FAO/UNICEF) Methodology of Protein Evaluation. A. Critical Appraisal of Methods for Evaluation of Protein in Foods. Nutrition Document R.6/Add.1, Reunión en Ginebra, Agosto.
17. Carrera Sánchez, C., Rodríguez Patino, J. M. (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids* 19:407-416.
18. Chao, A., Thun, M. J., Connell, C. J., McCullough, M. L., Jacobs, E. J., Flanders, D., Rodríguez, C., Sinha, R. Calle, E. E. (2005) Meat consumption and risk of colorectal cancer. *Journal of the American Medical Association* 293 (2) pp. 172-182.
19. Cheftel, J. C., Cuq, J. L. y Lorient, D. 1989. *Proteínas alimentarias*. Ed. Acirbia. Zaragoza España. p. 346.
20. Cho, H.J., Ham, H. S., Lee, D.S., Park, H. J. (2003). Effects of proteins from hen egg yolk on human platelet aggregation and blood coagulation. *Biol Pharm Bull.* Oct;26(10):1388-1392.
21. Christensen, H. R., Larsen, L. C., Frokiaer, H. (2003). The oral immunogenicity of BioProtein, a bacterial single-cell protein, is affected by its particulate nature. *British Journal of Nutrition.* 90 (1):169-178.
22. Clark, A. H. y Tuffnell Lee, C. D. (1986). Gellation of globular proteins. Cap. *Functional properties of food macromolecules*. Mitchell J. R. y Leward D. A. (Eds.) Elsevier Applied Science. London. pp. 203-272.
23. Clare, D.A. y Swaisgood, H.E. (2000). Bioactive milk peptides: a prospectus. *Journal of Dairy Science* 83, pp. 1187-1195.
24. Creighton, Thomas E. 1993. *Proteins. Structure and Molecular Properties*. 2th ed. W. H. Freeman and Company. Nueva York. 507 pp.
25. Dagorn-Scaviner, C., Gueguen, J. y Lefebvre, J. (1987) Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food. Chem.* 26 (3):716.
26. Damodaran, S. (1989) Influence of protein conformation and its adaptability under chaotropic conditions *Int. J. Biol Macromol* 11:2-8.
27. Damodaran, S. (1990). Interfaces, protein films, and foams. *Adv. Food Nutr. Res.* 34:1-79.
28. Damodaran, S. (1994). Structure-function relationship of food proteins. En *Protein functionality in food systems*. Marcel Dekker Inc. Nueva York. USA.
29. Damodaran, S. (1996). En Fennema, O. (Ed.) *Food Chemistry*. Marcel Dekker. pp. 321-429.
30. Damodaran, S. y Paraf, A. 1997. *Food proteins and their applications*. Marcel Dekker. U.S.A. pp. 1-24.
31. Dauphas, S., Mouhous-Riou, N., Metro, B., Mackie, A. R., Wilde, P. J., Anton, M., Riaublanc, A. (2005). The supramolecular organization of β -casein: effect on interfacial properties. *Food Hydrocolloids* 19:387-393.
32. De Clerck, E. De Vos, P. (2002). Study of the bacterial load in a gelatine production process focussed on *Bacillus* and related endospore forming genera. *Syst. Appl. Microbiol. Dic;* 25(4):611-7.
33. Derse, P.H. (1960) Evaluation of Protein Quality (Biological Method). *JAOAC*, 43:1.
34. Desert, C. Guerin-Dubiard, C. Nau, F. Jan, G. Val, F. Mallard, J. (2001). Comparison of different electrophoretic separations of hen egg white proteins. *J Agric Food Chem.* Oct; 49(10):4553-61.
35. Di Cagno, R., De Angelis, M., Auricchio, S., Greco, L., Clarke, C., De Vincenzi, M., Giovannini, C., D'Archivio, M., Landolfo, F., Parrilli G., Minervini, F., Arendt, E., y Gobbetti, M. (2004). Sourdough bread made from wheat and nontoxic flours and started with selected lactobacilli is tolerated in celiac sprue patients. *Appl. Environ Microbiol.* Febrero, 70 (2):1088-1096.
36. Dickinson, E., y Matsumura, Y. (1991). Time-dependent polymerization of β -lactoglobulin through disulphide bonds at the oil-water interface in emulsions. *Int. J. Biol. Macromol.* 13:26-30.
37. Distribuidora Internacional de Productos Agrícolas S. A de C. V. <http://www.dipasa.com>.
38. Dybing, E., P.B. Farmer, M. Andersen, T.R. Fennell, S.P.D. Lalljie, D.J.G. Müller, S. Olin, B.J. Petersen, J. Schlatter, G. Scholz, J.A. Scimeca, N. Slimani, M. Törnqvist, S. Tuijelaars, P. Verger. (2005) Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. *Food Chem. Toxicol.* 43:365-410.
39. Eggum, B. O., Hansen, I. y Larsen, T. (1989) Protein Quality and Digestible Energy of Selected foods Determined in Balance Trials with Rats. *Plant Foods Hum. Nutr.* 39:13.
40. El, S.N. y Kavas, A. (1997) Available Lysin in dried Milk after processing. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 48(2): 109-111.

41. Etzel, M. (2004). Manufacture and use of dairy protein fractions. *J. Nutr.* 134:996-1002.
42. FAO/WHO/UNU (1985) Energy and Protein Requirements Report of a Joint FaO/WHO/UNU Expert consultation. World Health Organization Technical Report Series 724. WHO, Génova, Suiza, pp. 121-123.
43. FDA (1999). (<http://www.fda.gov>. Talk paper 20 de octubre de 1999).
44. Farrell, H.M., Jiménez Flores, R., Bleck, G.T., Brown, W.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E. (2004). Nomenclatura of the proteins of cow's milk-Sixth Revision. *J. Dairy Sci* 87, pp. 1641-1674.
45. Faus, I. (2000). Recent developments in the characterization and biotechnological production of sweet tasting proteins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53(2); pp. 145-151.
46. Fennema, Owen. R. 1996. En Fennema O. (Ed.). *Food Chemistry*. 3th edition Marcel Dekker, Inc. Nueva York. USA. 1067 pp.
47. Ferry, J. D. (1961). *Viscoelastic Properties of Polymers*, Wiley, Nueva York, p. 391.
48. Fligner, K. L. y Mangino, M. E. 1991. "Relationship of Composition to Protein Functionality". En *Interactions of Food Proteins*, ACS Symp. Ser. (Parris y Barford Eds.) USA. 300 pp.
49. Fredriksson, H., Tallving, J., Resén, J. y Aman, P. (2004). Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*. Vol. 81. No. 5. pp. 650-653.
50. Friedman, M. (2003) Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide. A review. *J. Agric. Food Chem.* 51, pp. 4504-4526.
51. Fujita, Y., y Noda Y. (1981). The effect of hydration on the thermal stability of ovalbumin as measured by means of differential scanning calorimetry. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 54:3233-3234.
52. Gamvros, R. y Blekas, G. (2000). Legal aspects and specifications of biopolymers used in foods. En: Doxastakis, G. y Klossoglou, V. *Novel macromolecules in food systems*. Elsevier. pp. 419-439.
53. Gepts, P., Beavis, W., Brummer, C., Shoemaker, R., Stalker, T., Weeden, N. y Young, N. (2004). Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiol.* 137, pp. 1228-1235.
54. Ghosh, T. y Garde, S. y García, A. E. (2003). Role of backbone hydration and salt-bridge formation in stability of α -helix in solution. *Biophys J.* 85 (Noviembre) 3187-3193.
55. Goepfert, A., Koeman, J., van Boekel, M., Alink, G. (1997). Impact on digestion on the antimutagenic activity of the milk protein casein. *Nutr. Res.* 17 (8); pp. 1363-1379.
56. Graham, P. y Vance, C-. (2003). Legumes: importante and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131, pp. 872-877.
57. Gossett, P.W., Rizvi, S.S.H., y Baker, R.C. (1984). Quantitative analysis of gelation in egg protein systems. *Food Technol.* 38(5). Mayo, 1984. pp. 67-96.
58. Gu, J., Matsuda, T., Nakamura, R., Ishiguro, H., Phkubo, I., Sasaki, M. y Takahashi, N. (1989). Chemical deglycosylation of hen ovomucoid: protective effect of carbohydrate moiety on tryptic hydrolysis and heat denaturation. *J. Biochem* 106(1); pp. 66-70.
59. Gueguen J. y Cerletti P. Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin. In Hudson, B.J. F. Editor. (1994). *New and developing sources of food proteins*. 1st ed. Chapman & Hall, Great Britain; pp. 145-183.
60. Hackler, L. R., Bodwell, C.E., Happich, M.L., Phillips, J. G., Derse, P.H. Elliott, J.G., Hartnagel, Jr. R.E., Hopkings, D.T., Kapiszka, E.L., Mitchell, G.V., Parsons, G.F., Prescher, E.E., Robaidek, E.L. y Womack, M. (1984) Protein efficiency ratio: AACC/ASTM Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67 (1):225.
61. Happic, M. L., Bodwell, C. E., Hackler, L. R., Phillips, J. G., Hartnagel, Jr. R. E., Hopkins, D. T., Kapiszka, E. L., Mitchell, G. V., Parsons, G. F., Prescher, E. E., Robaidek, E. S. y Womack, M. (1984). Net protein ratio data: AACC-ASTM Collaborative Study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67 (2):255.
62. Harwalkar, V.R. y Ma, C. Y. (1989). Effects of medium composition, preheating, and chemical modification upon thermal behavior of oat globulin and β -lactoglobulin, in *Food Proteins*. (J.E. Kinsella, y W.G. Soucie, Eds.), American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, pp. 210, 231.

63. Hayase, F., Kato, H. y Fujimaki, M. (1973). Racemization of amino acid residues in proteins during roasting. *Agric. Biol. Chem.* 37:191-192.
64. Hettiarachchy, N. S.; Griffin, V. K.; Gnanasambandam, R. (1996) Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ. *Cereal Chem.* 73: (3), pp. 364-367.
65. Hoffman, D.R. (1983). Immunochemical identification of the allergens in egg white, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 71:481.
66. Hong, K.J., Lee, C.H., Kim, S.W., (2004). *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *J Med Food.* 2004 Winter;7(4):430-5.
67. Huang, L., Mills, C.E.N., Carter, J. M. y Morgan, M.R.A. (1998). Analysis of Thermal Estability of soya globulins using monoclonal antibodies. *Biochim Biophys Acta.* 1388:215-226.
68. Huang T. Nicodemus J. Zarka D.G. Thomashow MF, Wisniewski M., Duman J. G. (2002). Expression of an insect (*Dendroides canadensis*) antifreeze protein in *Arabidopsis thaliana* results in a decrease in plant freezing temperature. *Plant Mol. Biol.* Octubre, 50 (3):333-44.
69. Hultin and Kelleher (2001). Process for isolating protein from a muscle source and protein composition US Patent 6288216.
70. Hytonen, V.P., Maatta, J.A., Nyholm, T.K., Livnah, O. Eisenberg-Domovich, Y., Hyre, D., Nordlund, H.R., Horha, J., Niskanen, E.A., Paldanius, T., Kulomaa, T., Porkka, E.J., Stayton, P.S., Laitinen, O.H, Kulomaa, M.S. (2005). Design and construction of highly stable, protease-resistant chimeric avidins. *J Biol Chem.* 2005 Marzo, 18;280(11):10228-33.
71. Jackson, T. A. (1971). Preferential polymerization and adsorption of L-optical isomers of amino acids relative to D-optical isomers on Kaolinite templates. *Chemical Geology.* 7 (4):295-306.
72. Jacobson, S.J. (1974). Mechanism of cystine racemization in strong acid, *J. Org. Chem.* 39:1074.
73. Jones, R.T. (1964). The structure of proteins. En *Symposium on Foods, Proteins and their Reactions*, H.W. Schultz y A.F. Anglemeier, (Eds.) The Avi Publishing, Westport, Conn.
74. Jyonouchi, H., Geng, L., Ruby, A., Reddy, C y Zimmerman-Bier, B. (2005). Evaluation of an association between gastrointestinal symptoms and cytokine production against common dietary proteins in children with autism spectrum disorders. *J. Pediatr.* 146 (5); pp. 605-610.
75. Kato, A., y Nakai S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochim. Biophys. Acta* 624:13-20
76. Khalid, E. K., Babiker, E. E., EL Tinay, A. H. (2003). Solubility and functional properties of Sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry* 82, pp. 361-366.
77. Kinsella, J.E. (1976). Functional properties of food proteins: A review. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7:219-280.
78. Kinsella, J. E. (1979). Chemical Modification for improving functional properties of plant and yeast proteins. *Am. Chem. Ser.* pp. 37-63.
79. Kinsella, J.E., Damodaran, S and German J.B. (1985). Physicochemical and functional Properties of oil-seed proteins with emphasis on soy proteins. En *New Protein Foods: Seed Storage Proteins* (Altshul, A.M., and Wilcke, H. L. Eds), Academic Press. London, pp. 107-179.
80. Kitts, D.D. y Weller, K. (2003). Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr Pharm. Des.* 9(16), pp. 1309-1323.
81. Klibanov, A.M. (1986) Enzymes that work in organic solvents. *Chem Tech.*, pp. 354-359.
82. Krauss, R., Eckel, R., Howard, B. Appel, L., Daniels, S., Deckelbaum, R., Erdman, J., Kris-Etherton, P., Goldberg, I., Kochten, T., Lichtenstein, A., Mitch, W., Mullis, R., Robinson, K., Wilye R., St. Jeor, S., Suttie, J., Tribble, D., Bazzarre, T. (2001) AHA Scientific Statement: AHA dietary guidelines. Revision 2000. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heart Association. *J. Nutr.* 131, pp. 132-146.
83. Kristinsson, H. G. Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40 (1):43-81.

84. Kunts, I.D. (1971). Hydration of macromolecules. III. Hydration of polypeptides. *J. Am. Chem. Soc.* 93:514-516.
85. Lachance, P.A. and Molina M. R (1974). Nutritive value of a fiber-free coconut protein extract obtained by an enzymic-chemical method. *J. Food Sci.* 39:581-585.
86. Lakemond C. M. M., De Jongh H.H.J., Hessing M. Gruppen H., y Voragen A. G. J. (2000 a). heat denaturation of soy glycinin: influence of pH and ionic strength on molecular structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48 (6) 1991-1995.
87. Lakemond, C. M. M., De Jongh, H. H. J., Hessing, M., Gruppen, H., and Voragen, A. G. J. (2000 b). soy glycinin: influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures. *J. Agric Food Chem.* 48 (6), 1985-1990.
88. Lapanje, S. (1978). *Physicochemical Aspects of Protein Denaturation*, Wiley-Interscience, Nueva York.
89. Larsen, C. (2003). Animal source foods and human health during evolution. *J. Nutr.* 3893S-3897S.
90. Lawrence, M.C., Susuki, E., Varghese, J.N., Davis, P.C., Van Donkelaar, A., Tulloch, P.A., y Colman, P.M. (1990). The three-dimensional structure of the seed storage protein Phaseolin at 3Å resolution. *EMBO J.* 9:9-15.
91. Layman, D. (2003). The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *J. Nutr.* 133, 261S-267S.
92. Lechevalier, V., Croguennee, T., Pezennee, S., Guérin-Dubiard, C., Pasco, M., Nau, E. (2003). Ovalbumin, ovotransferrin, lysozyme: three model proteins for structural modifications at the air-water interface. *J. Agric. Food Chem.* 51(21); pp. 6354-6361.
93. Leser, C., Hartmann, A.L., Praml, G., Wutrich, B. (2001). The “egg-egg” syndrome: occupational respiratory allergy to airborne egg proteins with consecutive ingestive egg allergy in the bakery and confectionery industry. *J. Investig Allergol Clin Immunol.* 11 (2):89-93.
94. Liebler, D. C. (2002). *Introduction to Proteomics*. 1th. ed. Humana Press. Totowa, New Jersey. USA, p. 198.
95. Lijinsky, W. (1999) N-Nitroso compounds in the diet. *Mutat. Res.* 443:129-139.
96. López, G., Flores, I. Gálvez, A. Quirasco, M. y Farrés A. (2003). Development of a liquid nutritional supplement using a *Sesamun indicum* L. protein isolate. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. Lebensm. Wiss. Technol.* 36:67-74. 3003.
97. Majjala, K. (2000). Cow milk and human development and well being. *Livestock prod. sci* 65 (1/2), 1.18.
98. Mataix, J. y Carazo, E. (1995) *Nutrición para Educadores*. Editores Díaz De Santos. S. A., España, p. 2.
99. Mathews, C. K. y Van Holde K. E. (2001). *Bioquímica*. 2ª. ed. McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U. Madrid, España. p. 1283.
100. Mathews, D.E.(2005). Amino acid administration in humans. *J. Nutr* 135(6). 1580S-1584S.
101. Mazurek, J., Holbert, L., Parrish, M. K. y Salehi, E., (2005). Raw eggs-lessons learned from an outbreak of *Salmonella* serotype *enteritidis* infections associated with meringue pie. *J. Public Health Manag Pract* 11(3), pp. 201-207.
102. McClemens, D. J. (1999). *Food emulsions: principles, practice and techniques*. Washington: CRC Press.
103. McDonough, F.E., Steinke, F.H., Sarwarg, G., Eggum, B.O., Bressani, R., Huth, P.J., Barbeau, W.E., Mitchell, G.V. y Phillips, J.G. (1990). In vivo rat assay for true protein digestibility: collaborative study. *J. AOAC Int.*
104. Meisel, H. y Bockelmann, W. (1999). Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and tropho-functional properties. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, pp. 207-215.
105. Meng, G-T., Ching, K-M., Ma, C-Y. (2002). Thermal aggregation of globulin from an indigenous Chinese legume, *Phaseolus angularis* (red bean). *Food Chemistry*, (79):93-103
106. Milan-Carrillo, J., Gutierrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E.O., Garzón-Tiznado, J. A., Reyes-Moreno, C. (2004). Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays* L). optimization of alkaline processing. *Plant Foods Hum. Nutr.* Verano, 59(1):35-44.
107. Miles, C.A., Nicholas, C. A., Rodin, V. V., y Bailey, A. J, J. (2005). The increase in denaturation temperature following cross-linking of collagen is caused by dehydration of the fibres. *Mol. Biol.*, 346, 551-556.

108. Mills, E., Marigheto, N., Wellner, N., Fairhurst, S., Jenkins, J., Mann, R. y Belton, P. (2003). Thermally induced structural changes in glycinin, the 11S globulin of soya bean (*Glycine max*)- an *in situ* spectroscopic study. *BBA* 1648, 105-114.
109. Miller, G.A. y Lachance, P.A. (1973). Proteins. chemistry and nutrition. *Food Prod. Develop.*, 7(12):23.
110. Mills, C. E. N., Marigheto, N. A., Wellner, N., Fairhurst, S. A., Jenkins, L. A., Mann, R. y Belton, P. S. (2003). Thermally induced structural changes in glycinin the 11S globulin of soya bean (*Glycine max*)- and *in situ* spectroscopic study. *Biochim Biophys Acta.* 1648:104-114.
111. Molina Ortiz, S. E., Wagner, R. J. (2002) Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. *Food Research International* 35 (6), pp. 511-518.
112. Morens, C., Bos, C., Pueyo, M. E., Benamouzig, R., Gausserés, N., Luengo, C., Tomé, D., y Gaudichon, C. (2003). Increasing habitual protein intake accentuates differences in postprandial dietary nitrogen utilization between protein sources in humans. *The American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr.* 133:2733-2740.
113. Moughan, P. J. (2005). Dietary protein quality in humans—an overview. *J. AOAC Int.* 88 (3):874-876.
114. Naidu, A. S. (2000). Natural food antimicrobial systems. CRC Press. USA., 818 pp.
115. Nakamura, R., Sugiyama, H. y Sato, Y. (1978) Factors contributing to the heat-induced aggregation of ovalbumin”, *Agr. Biol. Chem.*, 42:819.
116. National Research Council. Food and Nutrition Board (1989). Recommended dietary allowances, 10th Ed. National Academy Press, Washington, D.C.
117. Nemati, M., Oveisi, M. R., Abdollahi, H., Sabzevari, O. (2004). Differentiation of bovine and porcine gelatins using principal component analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* Feb 18;34(3):485-492.
118. Nio, N., Motoki, M., y Takinami K. (1986). Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase. *J. Agric. Biol. Chem.* 50:851-855.
119. Nowak, W., Sampson, A., Wood, H., R. y Sicherer, S. (2003). Food protein induced enterocolitis syndrome caused by solid food proteins. *Pediatrics* 111(4), 829-835.
120. Papadopoulos, G. K., Wijmenga, C., y Koning, F. (2001). Interplay between genetics and the environment in the development of celiac disease: perspectives for a healthy life. *J. Clin. Invest.* Noviembre 1; 108 (9):1261-1266.
121. Papiz, M.Z., L. Sawyer, E.E., Eliopoulos, A.C.T. Nort, J.B.C. Findlay, R. Sivaprasadarao, T.A. Jones, M.E. Newcomer, y P.J. Kraulis (1986) The structure of β -lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein. *Nature* 324:383-385.
122. Paredes-López Octavio, Editor. (1999). Molecular biotechnology of plant food production. Ed. Technomic Publishing Company Inc. Pennsylvania USA, p. 621.
123. Pearce, K.N., y Kinsella J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins. Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* 26:716-722.
124. Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Klauser, S., Hunziker, P., von Fellenberg R. (1997). Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme. *J Appl Microbiol.* Mar;82(3):372-8.
125. Phillips, R. D. y Beauchat, L. R. (1985). Enzyme Modification of Proteins. En: *New Protein Foods 4*, Food Sci, & Tech. A Ser. of Monogr. Academic Press. Nueva York, pp. 275-298.
126. Pomeranz, Y. 1985. “Proteins General” En *Functional Properties of Food Components*; Food Sci. & Tech. A Ser. Of Monogr. Academic Press. Nueva York, pp. 155-187.
127. Poole, S., West, S.I., y Walters, C.L. (1984). Protein-protein interactions: Their importance in the foaming of heterogeneous protein systems. *J. Sci. Food Agric.* 35:701-711.
128. Popineau, Y., Bollecker, S., Thebaudin, J. (1988) Caractérisation biochimique et fonctionnelle des protéines de gluten désamidées partiellement en conditions ménagées. *Science des Aliments* 8 (4):411.
129. Popineau, Y, Blandine J., Larré C. y Bérot S. (2002). Foaming and emulsifying properties of fractions of gluten peptides obtained by limited enzymatic hydrolysis and ultrafiltration. *J. Cereal Sci* 35:327-335.
130. Prioult, G., Pecquet, S., Fliss, I (2005). Allergenicity of acidic peptides from bovine β -lactoglobulin is reduced by hydrolysis with *Bifidobacterium lactis* NCC362 enzymes. *Int Dairy J.* 15:439-448.

131. Pszczola, D. E. (2004). Ingredients. *Food Technol* 58; 2:56-69.
132. Quinn, J.R. y Paton, D. (1979) A Practical measurement of water hydration capacity of protein materials. *Cereal Chemistry*. 56 (1):38.
133. Ramachandran, G.N. Kolaskar, A.S. Ramakrishnan, C. Sasisekharan, V. (1974). The mean geometry of the peptide unit from crystal structure data. *Biochim. Biophys. Acta.*, 359:298-302.
134. Ramos, F., Silveira, I., Silva, J.M., Barbosa, J., Cruz, C., Martins, J., Neves, C., Alves, C. (2004). Proposed guidelines for clenbuterol food poisoning. *Am J Med.* 1;117(5):362.
135. Regand, A., Goff, H. D. (2002). Effect of biopolymers on structure and ice recrystallization in dynamically frozen ice cream model systems. *J Dairy Sci.* 2002. Noviembre; 85(11):2722-32.
136. Renkema, J. M. S., Catriona, M. M., Lakemond, H. De Jongh, H. J., Gruppen, H. Vliet, T. V. (2000). The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *J. Biotechnol.* (79):223-230.
137. Reubsæet, J. L. E., Beijnen, J. H., Bult, A., Van Maanen, R. J., Marchal, J.A.D., Underberg, W. J.M. (1998). Analytical techniques used to study the degradation of proteins and peptides: chemical instability. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17:955-978.
138. Ringseis, R., Matthes, B., Lehman, V., Becker, K., Schops, R., Ulbrich, Hofmann, R y Eder, K (2005). Peptides and hydrolysates from casein and soy protein modulate the release of vasoactive substances from human aortic endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1721, pp. 89-97.
139. Roma, A. A., Prayson, R. A., (2005). Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: how safe is eating beef? *Cleve Clin J Med.* Marzo; 72(3):185-6, 189-90, 192-194.
140. Saito, M., Chikuni, K., Monma, M. and Shimizu, M. (1993). Emulsifying and oil binding properties of bovine serum albumin and its enzymatic hydrolyzate. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57 (6):952-956.
141. Sarwar, G. y McDonough, F. E. (1990) Evaluation of Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method for Assessing Protein Quality of Foods. *J. AOAC Intl* 73 (3):347.
142. Sarwar, G. y McLaughlan, J. M. (1981) Relative net protein ratio method for evaluating protein quality. *Nutrition Report International*, 23(6):1157.
143. Sarwar, G., Peace. R.W. y Botting, H.G. (1985) Corrected relative net protein ration (CRNPR) Method based on differences in rat and human requirements for sulfur amino acid. *J. AOAC Intl.* 68 (4):689.
144. Sathe, S. K. y Sze, K. W. C. (1997). Thermal aggregation of almond protein isolate. *Food Chem.* (59) 1:95-99.
145. Sazili, A., Parr, T., Sensky, P., Jones, S., Bardsley, R. y Buttery, P., (2005). The relationship between slow and fast myosin heavy chain content, calpastatin and meat tenderness in different ovine skeletal muscles. *Meat Sci* (69), pp. 17-25.
146. Schaafsma, G. (2000). The protein digestibility-Corrected Amino Acid Score. *J. Nutr.* 130:1865S-1867-S.
147. Schechter, Y., Tsubery, H., Mironchik, M., Rubinstein, M., y Fridkin, M. (2005). Reversible pegylation of peptide YY₃₋₃₆ prolongs its inhibition of food intake in mice. *FEBS Lett*, 579, 2439-2444.
148. Schou, M., Longares, A., Montesinos-Herrero, C., Monahan, F., O'Riordan, D. y O'Sullivan, M. (2005). Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. *LWT* 38, pp. 605-610.
149. Schrieber, R., Seybold, U. (1993). Gelatine production, the six steps to maximum safety. *Dev Biol Stand.*, 80:195-8.
150. Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte, D.J., Seeley, R.J. y Baskin. D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, pp. 661-671.
151. Shewry, P. R., Franklin J., Parmar, S., Smith S. J. y Mifflin B. J. (1983). The effects of sulphur starvation on the amino acid and protein compositions of barley grain. *J. Cereal Sci.*, 1:21-31.
152. Shinohara, H., Iwasaki, T., Miyazaki, Y., Matsuo, K., Aoki, T., Matsumoto, M., Oka, T., Kurisaki, J., Mizumachi, K., Kusakabe, T., Koga, K., Sugimoto, Y. (2005). Thermostabilized ovalbumin that occurs naturally during development accumulates in embryonic tissues. *Biochim Biophys Acta.* 2005. 25;1723(1-3): 106-113.
153. Siebert, K. (2003). Modeling protein functional properties from amino acid composition. *J. Agric. Food Chem* 51, 7792-7797.

154. Silva-Sánchez, C. González-Castañeda, J. de León-Rodríguez, A., Barba de la Rosa, A. P. (2004). Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two Mexican varieties. *Plant Foods Hum Nutr.* Fall; 59(4):169-174.
155. Smacchi, E., and Gobetti, M., (2000). Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzymes. *Food Microbiology* 17, pp. 129-141.
156. Stadler, H.H., Robert, F. Reidiker, S., Varga, N., Davidek, T, Devaud, S. Goldmann, T., Hau, J. and Blank, I. (2004) In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.* 52, pp. 5550-5558.
157. Stryer, L. 1988. *BIOCHEMISTRY*. 3th ed. W. H. FREEMAN AND COMPANY. Nueva York. USA.1089
158. Suh, H. J., Bae, S. H., and Noh, D. O. (2000). Debittering of corn gluten hydrolysate with active carbon. *J. Sci. Food Agric.* 80:614-618.
159. Sun, Y., Hayakawa, S., Izumori, K., (2004). Modification of ovoalbumin with a rare ketohexose through the Maillard reaction: effect on protein structure and gel properties. *J. Agric. Food Chem.* 52(5); 1293-9.
160. Swaisggod and Catignanin (1991) Protein digestibility: in vitro methods of assessment. *Adv. Food Nutr. Res.* 35:185-236.
161. Tay, S. L., Guo, Q. X., Conrad, O. P. (2005). Aggregation profile of 11 S, 7S and 2S coagulated with GDL. *Food Chem.* 91(3); 457-462.
162. Thakurta, P. G. Choudhury, D., Dasgupta, R., Dattagupta, J. K. (2004).Tertiary structural changes associated with iron binding and release in hen serum transferrin: a crystallographic and spectroscopic study. *Biochem Biophys Res Commun.* Abril 16;316(4):1124-1131.
163. Tsumura, K., Saito, T., Tsuge, K., Ashida, H., Kugimiya, W., e Intuye, K. (2005). Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. *Lebensm. Wiss. U Technol.* 38, 255-261.
164. US Food and Drug Administration, (2004) Exploratory Data on Acrylamide in Food. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html>.
165. Valsta, L., Tapanainen, H y Mansito, S (2005). Meat fats in nutrition: a review. *Meat Sci* 70(3); pp. 525-530.
166. Vanden Bosch, K.A. y Stacey. G. (2003). Summaries of legume genomics projects from around the globe. Community resources for crops and models. *Plant Physiol.* 131, pp. 840-865.
167. Vani, B.; Zayas, J. F. (1995). Wheat germ protein flour solubility and water retention. *J. Food Sci.* 60, pp. 845-848.
168. Vázquez, R. (2002). Termodinámica biológica. AGT Editor, SA. México DF. pp. 75-76.
169. Veeramachaneni, V. y Makalowski, W. (2004). Visualizing Secuence Similarity of Protein Families. *Genome Res* 14:1160-1169.
170. Walzem, R., Dillard, C. y German, J. (2002). Whey components: millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: what we know and what we may be overlooking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutrit* 42(4), pp. 353-375.
171. <http://web.ukonline.co.uk/webwise/spinneret/edexcel/biotechnol/myco.htm>.
172. Weber, G. (1992) Protein interactions. Chapman and Hall. Gran Bretaña. pp. 158-159.
173. Wetlaufer, D. B. (1973). Symposium: Protein interactions in biosynthesis. protein structure and stability. Conventional wisdom and new perspectives, *J. Food Sci.*, 38:740.
174. Xiong Youling, L. (2005). Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. *Food Research International* 38, pp. 281-287.
175. Yamada, E. A., Sgarbieri, V. C. (2005). Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. *J Agric Food Chem.* Mayo 18;53(10): 3931-3936.
176. Yu, M. A., y Damodaran, S. (1991). Kinetics of protein foam destabilization: Evaluation of a method using bovine serum albumin. *J. Agric. Food Chem.* 39:1555-1562.
177. Zayas, J. F. (1997). Functionality of proteins. Springer-Verlag. Capítulo 6. Gelling properties of proteins, U.S.A.

178. Zhu, H., and Damodaran, S. (1994 a) Effects of calcium and magnesium ions on aggregation of whey protein isolate and its effect on foaming properties. *J. Agric. Food Chem.*, 42:856-862.
179. Zhu, H., and Damodaran S. (1994 b). Heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties. *J. Agric. Food Chem.*, 41:846-855.
180. Zuber, H. (1998). Temperature adaptation of lactate dehydrogenase. Structural, functional and genetic aspects. *Biophys. Chem.*, pp. 171-179.
181. Zwiorek, K., Kloeckner, J., Wagner, E., Coester, C., (2005). Gelatin nanoparticles as a new and simple gene delivery system. *J Pharm Sci. Febrero* 3;7(4):22-28.

4

Lípidos

- 4.1 Introducción
 - 4.2 Clasificación
 - 4.3 Análisis físicos y químicos
 - 4.4 Manufactura de grasas y aceites
 - 4.5 Procesos de modificación de grasas y aceites
 - 4.6 Sistemas grasos en alimentos
 - 4.7 Deterioro de los lípidos
 - 4.8 Determinación de la oxidación
 - 4.9 Aspectos nutricionales
- Referencias bibliográficas



4.1 INTRODUCCIÓN

La palabra lípido proviene del griego *lipos*, que significa grasa y cuya aplicación no ha sido bien establecida; originalmente se definía como “una sustancia insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo”; con esta consideración de solubilidad, existen muchos otros compuestos, como terpenos, vitaminas y carotenoides que también están incluidos. Sin embargo, algunos autores consideran como lípidos sólo a aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas; según esta definición, los aceites y las grasas se consideran por antonomasia como lípidos.

Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Desempeñan

muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que las proteínas y los hidratos de carbono que producen 4 kcal/g (17 kJ/g) cada uno; muchos cumplen una actividad biológica, unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrientes, otros son ácidos grasos indispensables, vitaminas y hormonas, algunos son pigmentos, etcétera. También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales ya que, por ser malos conductores del calor, el tejido adiposo mantiene estable la temperatura del organismo.

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y de nutrición (cuadro 4.1); no hay una distinción entre ambos grupos, aun cuando algunos consideran que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a “temperatura ambiente”, mientras que los aceites son líquidos. Sus principales fuentes son las semillas oleaginosas y los tejidos animales, terrestres y marinos, ya que las frutas y las hortalizas presentan normalmente muy bajas concentraciones, con algunas excepciones como el aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces.

CUADRO 4.1 Contribución de los lípidos en tres atributos de los alimentos⁴⁵

Calidad:

- Textura, dan consistencia y estructura a muchos productos
- Lubricación y saciedad al consumirlos
- Color, debido a los carotenoides
- Sabor, gracias a las cetonas, aldehídos y derivados carbonilos

Nutrición:

- Fuente de energía importante por la β -oxidación
- Vehículo de vitaminas liposolubles
- Son ácidos grasos indispensables, linoleico y linoléico
- Promueven la síntesis de miscelas y de bilis
- Facilitan la absorción de las vitaminas liposolubles

Biológico:

- Fuente de vitaminas A, D, E y K
- El colesterol es precursor de la vitamina D₃, de corticosteroides y de ácidos biliares
- El ácido linoleico es componente de las acilglucoceramidas de la piel
- El inositol favorece la transmisión de señales
- El ácido araquidónico es precursor de eicosanoides y lipoxinas
- El ácido docosahexanoico forma parte de las membranas celulares
- Los ácidos poliinsaturados son moduladores en la síntesis de eicosanoides
- Los fosfolípidos acetílicos ayudan a la agregación de las plaquetas

4.2

CLASIFICACIÓN

El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarlas resulta difícil; existen diversos métodos para hacerlo, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos se basan en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan.

CUADRO 4.2 Clasificación de los lípidos

- A. Lípidos simples. Ésteres de ácidos grasos y alcoholes.
 1. Grasas y aceites. Ésteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos.
 2. Ceras. Ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos.
- B. Lípidos compuestos. Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.
 1. Fosfoglicéridos. Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinado con una base de nitrógeno.
 2. Glucolípidos. Compuestos de hidratos de carbono, ácidos grasos y esfingosinol, llamados también cerebrósidos.
 3. Lipoproteínas. Integradas por lípidos y proteínas.
- C. Lípidos asociados.
 1. Ácidos grasos (derivados de los lípidos simples).
 2. Pigmentos.
 3. Vitaminas liposolubles.
 4. Esteroles.
 5. Hidrocarburos.

Una manera de clasificarlos es dividirlos en tres grandes grupos, en función de su estructura química (cuadro 4.2). Los simples abarcan las grasas y los aceites y, por lo tanto, resultan los más abundantes e importantes para el tecnólogo de alimentos, por lo que son la base de estudio de este capítulo. Los lípidos compuestos son aquellos que están integrados por una parte lipídica y otra que no lo es, unidas covalentemente, como los fosfolípidos y los glucolípidos. También se incluyen las lipoproteínas pero, dado que sus integrantes (proteínas y lípidos) se enlazan hidrofoba y electrostáticamente, algunos autores no las consideran en este grupo; su importancia biológica es enorme puesto que, entre otras cosas, son parte de la membrana celular y de los complejos que forman con el colesterol. Por último, los lípidos asociados o derivados son todos los que no se ubican en ninguna de las subdivisiones anteriores; en esta categoría están los ácidos grasos libres, carotenoides, vitaminas liposolubles, colesterol, etcétera.

Otra clasificación se basa en su capacidad para producir jabones: aquellos que los forman se llaman saponificables y los que no, insaponificables; la saponificación es una reacción de esterificación que se usa en los análisis de lípidos, y consiste en hacerlos reaccionar con hidróxidos de potasio o sodio para generar ésteres de los ácidos grasos (jabones). Los lípidos saponificables comprenden grasas, aceites, ceras y fosfolípidos, mientras que los insaponificables son básicamente esteroles, hidrocarburos, pigmentos y prostaglandinas.

También se dividen en polares y no polares; los primeros (ácidos grasos, fosfolípidos, esfingolípidos, etcétera) se orientan espontáneamente con el grupo polar hacia el agua, pues en su molécula contienen una parte hidrófila y otra hidrofoba, mientras que los segundos (colesterol, hidrocarburos, etcétera) permanecen asociados y no se orientan en la interfase acuosa.

Por otra parte, debido a que las grasas y los aceites son los lípidos más comunes y más importantes para el tecnólogo de alimentos, se les ha clasificado en función de su origen y de su contenido de ácidos grasos; así tenemos que se les divide en: grasas animales (sebo, manteca de cerdo, huevo); aceites marinos (fauna de acompañamiento de la pesca); grasa de la leche (mantequilla); grasas vegetales (cacao); aceites con ácido láurico (coco y palmiste); aceites con ácidos oleico y linoleico (maíz, girasol, algodón); y aceites con ácido linolénico (soya).⁸⁶

4.2.1 Ácidos grasos

En forma pura, todas las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos (o triglicéridos), los que a su vez son ésteres de ácidos grasos con glicerol; por consiguiente, dichos ácidos representan un gran porcentaje de la composición de los triacilglicéridos y en consecuencia de las grasas y los aceites. Las diferencias de estabilidad a la oxidación, de plasticidad, de estado físico, de patrón de cristalización, de índice de yodo, de temperaturas de solidificación y de fusión, de las grasas y los aceites se deben fundamentalmente a sus ácidos grasos constituyentes.

Originalmente, estos ácidos se definieron como ácidos monocarboxílicos de cadena alifática con número par de átomos de carbono, que podían ser saturados o insaturados; sin embargo, en la actualidad se han identificado muchos otros, como cíclicos, ramificados, hidroxilados, con un número non de átomos de carbono, etcétera, de tal manera que se conocen más de 400 que se localizan en la leche, en algunos vegetales y en ciertos microorganismos. Aun cuando son muchos, la mayoría se encuentra en muy bajas concentraciones e influyen poco en las características físicas y químicas de los productos que los contienen.

El número de ácidos grasos que comúnmente se localizan en los alimentos es muy reducido y sólo resaltan unos cuantos (cuadros 4.3 y 4.4); por lo general están esterificados, integrando los triacilglicéridos y cuando llegan a presentarse en estado libre es porque ocurrió una hidrólisis del enlace éster; son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal, con un número par de átomos de carbono, ya que su metabolismo se lleva a cabo mediante moléculas de carbono pares, como es la acetilcoenzima A.

La relación de ácidos grasos en los aceites vegetales es realmente sencilla; por ejemplo, en el cromatograma normal de la canola aparecen siete picos equivalentes a siete ácidos grasos, mientras que en el de pescado se observan 25 o más, muy diferentes a los encontrados en los animales terrestres, con cadenas que van de 12 a 26C, aun cuando la mayoría son de 16 a 20.

Diversos factores determinan la composición de las grasas y los aceites. Así, la yema de huevo incrementa su linoleico a medida que la dieta de las aves es más rica en ácidos poliinsaturados, lo que se ha aprovechado para tener en el mercado huevos con un alto contenido de ácidos insaturados y menos colesterol; sin embargo, la concentración del palmítico y del esteárico no cambia con la alimentación. En la leche ocurre algo similar: se eleva el linoleico y el linolénico cuando a la vaca se le suministran poliinsaturados protegidos con una proteína; de esta manera atraviesan el rumen sin ser alterados, y se incorporan en la síntesis de los correspondientes triacilglicéridos. En los peces, los ácidos muy insaturados se reducen (p. ej., C22:6) mediante una dieta pobre y de acuerdo con la temperatura del agua y de otros factores ambientales.

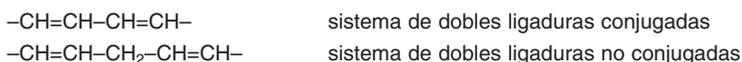
Los ácidos grasos se producen industrialmente a partir de diversas fuentes de grasas, y se utilizan en la elaboración de aditivos para la industria alimentaria. Los de 16 a 18 átomos de carbono, palmítico, oleico y esteárico, se emplean como emulsionantes en forma de sus respectivos ésteres. Además, las sales de calcio y de magnesio del palmítico y del esteárico se usan como antiaglomerantes en vegetales deshidratados y en otros productos secos porque son insolubles en agua y, al recubrir las partículas sólidas, repelen el agua y evitan la aglomeración.

Para su estudio, los ácidos grasos se han dividido en dos grandes grupos, los saturados y los insaturados.

4.2.1.1 Ácidos grasos saturados

Varían de 4 a 26 átomos de carbono y su temperatura o punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena; así, los de C4 a C8 son líquidos a 25°C, mientras que los de C10 en adelante son sólidos (cuadro 4.3), y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular.

gaduras, y siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los de una insaturación se llaman monoenoicos o monoinsaturados, y a los de más de una se les denomina polienoicos o poliinsaturados; en el primer caso, la mayoría presenta la doble ligadura entre los carbonos 9 y 10. Además de los nombres triviales, su nomenclatura consiste en indicar el tamaño de la cadena, la localización o número de las dobles ligaduras y añadiendo la terminación “enoico”. En forma natural, los poliinsaturados tienen sus dobles ligaduras como no conjugadas, es decir, están separadas por un grupo metileno, como ocurre con los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico; lo contrario a esta distribución es la conjugación, en la que no existe dicho metileno de por medio.



Como se mencionó, generalmente el conteo de los átomos de carbono se inicia por el carboxilo; sin embargo, por razones de actividad biológica, los poliinsaturados se numeran de acuerdo con la posición del primer doble enlace con respecto al grupo metilo y se dividen en dos grandes grupos: los omega-6, ω_6 (n-6), que lo tienen en el sexto carbono, como el ácido linoleico, y los ω_3 (n-3), con su primer doble enlace en el tercer carbono, como el ácido linolénico. El símbolo ω precede al número del carbono del doble enlace más cercano al grupo metilo final. Así, el oleico, que es el *cis*-9-octadecenoico, tiene un doble enlace en el carbono 9 a partir del metilo, y puede nombrarse como C18:1 ω_9 , que significa que es un ácido de 18 átomos de carbono, con una sola insaturación, la cual está a 9 carbonos del grupo metilo.

En el aceite de pescado se presenta una mezcla muy compleja de ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados; contiene un alto porcentaje, 10-15%, de 20:5 ω_3 , n-3 (5,8,11,14,17-eicosapentaenoico, EPA), de 22:6 ω_3 , (4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico, DHA), de 18:3 ω_3 , n-3 (linolénico) y de 22:5 ω_3 , n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoico). El DHA abunda en el cerebro y en el tejido nervioso, y una buena fuente son los aceites de pescados de agua fría, como el salmón, el bacalao y la sardina. En las especies marinas existe una relación entre el grado de insaturación y la temperatura en que habita el pez; a medida que las aguas son más frías, las dobles ligaduras aumentan para que los lípidos permanezcan líquidos. Por esta razón, entre todos los aceites comestibles, los de pescado son los más sensibles a la oxidación y particularmente su fracción de fosfoglicéridos, que es la más insaturada.

Por otra parte, en las grasas y aceites de tierra, el linoleico (18:2 ω_6) es el más común, seguido del oleico (cacahuete, oliva, aguacate, etcétera) y el linolénico (soya).

CUADRO 4.4 Ácidos grasos insaturados

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	C ₁₅ H ₂₉ COOH	-0.5
Oleico*	Octadeca-9-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	13
Linoleico*	Octadeca-9:12-dienoico	C ₁₇ H ₃₁ COOH	-5.0
Linolénico*	Octadeca-9:12:15-trienoico	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-11.0
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	C ₁₉ H ₃₁ COOH	-49.5
Vaccénico	<i>trans</i> -Octadeca-11-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	40.0
Gadoleico	Eicosa-11-enoico	C ₁₉ H ₃₇ COOH	23.5
Erúxico	Docosa-13-enoico	C ₂₁ H ₃₉ COOH	38.0

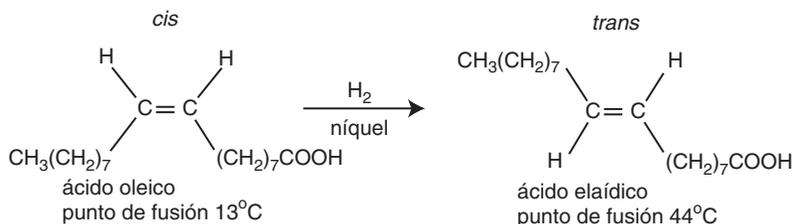
*Ácidos grasos insaturados más comunes en alimentos.

En los últimos años se han llevado a cabo diversas modificaciones genéticas que han permitido desarrollar semillas con perfiles de ácidos grasos distintos; algunos ya son una realidad comercial, mientras otros están en proceso de desarrollo. Por ejemplo, el aceite de soya bajo en linolénico (<3%) y alto oleico (>80%); la palma baja en palmítico y en esteárico y alta en oleico; oleína de palma con bajo punto de enturbiamiento (<5°C); canola alta en oleico y baja en linolénico; girasol sin ceras, etcétera. Estas modificaciones, en general, le confieren más estabilidad a los aceites y facilitan su procesamiento industrial, en detrimento, en ocasiones, de su valor biológico por la reducción del contenido de ácidos grasos indispensables.

Las insaturaciones presentan dos tipos de isomerismo: a) geométrico, *cis-trans*; y b) posicional, según sea la localización de la doble ligadura en la cadena de átomos de carbono.

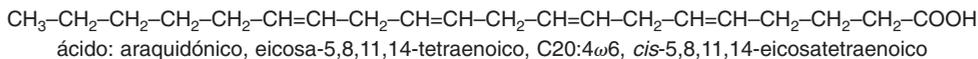
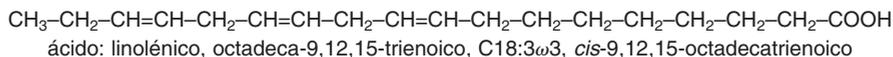
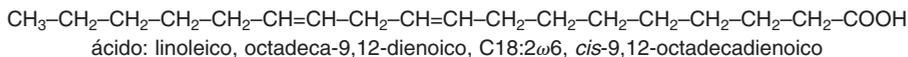
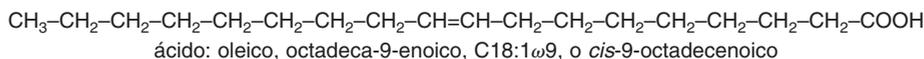
En estado natural, la mayoría de ellos son *cis*, mientras que los *trans* se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales y en algunas provenientes de rumiantes, como el sebo; la mantequilla contiene aproximadamente 4-6% de *trans* que se sintetizan por un proceso de biohidrogenación en el rumen de la vaca. Cabe indicar que los *trans* son termodinámicamente más factibles y estables que los isómeros *cis*; sus cadenas lineales y rígidas tienen un menor ángulo de la doble ligadura, lo que provoca una asociación y empaquetamiento molecular compacto (cristal) semejante a un saturado.

Dicho empaquetamiento hace que los *trans* presenten temperaturas de fusión mayores que los correspondientes *cis*, para el mismo tamaño de molécula; esto se observa entre el punto de fusión del ácido oleico (*cis*) de 13°C y el del ácido elaídico (*trans*, que se sintetiza en la hidrogenación comercial), que funde a 44°C.



Los ácidos con ramificaciones presentan puntos de fusión bajos debido a que sus protuberancias impiden que se asocien entre sí y formen estructuras ordenadas de mayor punto de fusión.

Desde hace algunas décadas, el consumo de ácidos grasos *trans* se ha incrementado, debido al aumento en el uso de grasas hidrogenadas, en lugar del tradicional sebo de res.



Cuando se tiene una doble ligadura, como en el oleico, solamente hay dos posibilidades isoméricas: *cis* o *trans*. Sin embargo, con dos insaturaciones se generan cuatro posibles isómeros: *cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis* y *trans-trans*; la situación se hace mucho muy compleja con más dobles ligaduras. Muchos de estos isómeros se sintetizan en la hidrogenación de los aceites y su presencia influye considerablemente en sus características físicas y químicas; su determinación se puede llevar a cabo con diversos métodos espectroscópicos.

Por su parte, el isomerismo posicional está relacionado con la localización de las dobles ligaduras en la cadena hidrocarbonada. Los sistemas no conjugados son los más comunes; sin embargo, con tratamientos térmicos se transforman en conjugados que son más reactivos y fácilmente oxidables. Para los monoinsaturados se observa que la doble ligadura puede encontrarse en diferentes posiciones isoméricas; por ejemplo, el ácido vaccénico (*trans*-octadeca-11-enoico, de la manteca) y el ácido petroselínico (*cis*-octadeca-6-enoico, de varias semillas), son los isómeros posicionales del ácido oleico (*cis*-octadeca-9-enoico). De igual manera, el ácido elaeostearico (octadeca-9,11,15-trienoico) es el isómero posicional del ácido linolénico (octadeca-9,12,15-trienoico).

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	ácido oleico	pf 13°C
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_9-\text{COOH}$	ácido vaccénico	pf 40°C
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$	ácido petroselínico	pf 30°C

En general, los aceites líquidos a temperatura ambiente presentan más insaturados que las grasas sólidas; los de peces de agua fría tienen el mayor porcentaje de insaturados, el pollo más que el cerdo, y éste, a su vez, más que la res. Hablar de aceites o grasas saturadas e insaturadas es incorrecto puesto que todas contienen ambos grupos de ácidos grasos, únicamente en distinta proporción (cuadro 4.5).

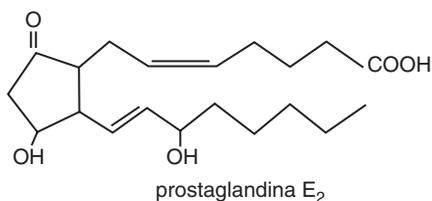
CUADRO 4.5 Composición de ácidos grasos de algunas grasas y aceites*

	<i>butírico</i>	<i>caproico</i>	<i>caprílico</i>	<i>cáprico</i>	<i>laúrico</i>	<i>mirístico</i>	<i>palmitico</i>	<i>estearico</i>	<i>oleico</i>	<i>linoleico</i>	<i>linolénico</i>
	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	14.0	16.0	18.0	18.1	18.2	18.3
algodón							21	2	28	44	
cacao							25	35	32	3	
cacahuete							11	3	52	30	
canola							6	2	57	20	9
cártamo							6	2	12	76	
coco			6	4	47	19	8	3	6	2	
girasol							7	5	22	61	
maíz							6	2	35	52	
manteca de cerdo							26	14	44	9	
manteca de vaca	4	2	1	3	3	14	37	12	13	2	
palma						3	52	5	18	12	2
palmistre					48	16	8	3	16		
oliva							12	3	75	7	
soya							10	2	19	62	3

* No suma el 100%.

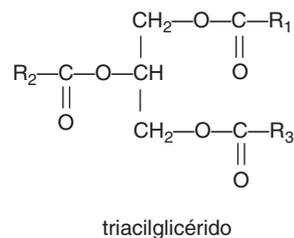
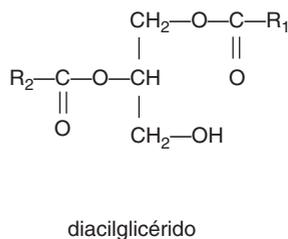
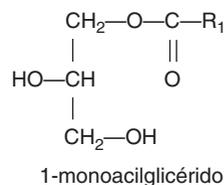
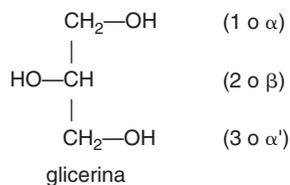
Los aceites ricos en linoleico y linolénico, como soya, maíz y canola (cuadro 4.5), presentan puntos de fusión bajos, con elevados índices de yodo que indican una gran susceptibilidad a las reacciones de oxidación.

Al igual que ocurre con algunos aminoácidos, el linoleico y el linolénico están considerados como ácidos grasos indispensables, por lo que se requiere un consumo continuo; se recomienda que representen de 1 a 2% de los lípidos totales ingeridos.⁴⁶ Forman parte constitutiva de la membrana de diferentes tejidos celulares, son precursores del ácido araquidónico necesario para darle rigidez a la mitocondria y son empleados en la síntesis de las hormonas prostaglandinas. Contribuyen al mantenimiento de la piel, del pelo y del sistema reproductivo, así como en la regulación del metabolismo del colesterol; ayudan a la absorción de nutrimentos, a la regulación de la contracción muscular y de la presión arterial, y fortalecen el crecimiento de las células sanas.



4.2.2 Acilglicéridos

Son lípidos neutros o sin carga, derivados de la reacción de esterificación entre el glicerol y una, dos o tres moléculas de ácidos grasos en las posiciones 1, 2 y 3, o α , β , y α' del glicerol. Por mucho, los triacilglicéridos son los más importantes. La nomenclatura llamada numeración estereoespecífica (en inglés se nombra como “*sn*”, de *stereospecific numbers*), se basa en que los sustituyentes de la molécula se designan 1, 2 y 3, y el 2 está a la izquierda del plano de átomos de carbono.



4.2.2.1 Mono y diacilglicéridos

Representan una fracción pequeña de los constituyentes de las grasas y los aceites y, cuando se encuentran en una proporción mayor, indican una hidrólisis de los triacilglicéridos y de la consecuente

liberación de ácidos grasos por acción de las lipasas (sección 4.7.1). En forma natural, ambos grupos de sustancias se asocian con las membranas de los glóbulos de grasa, como ocurre con la leche.

Se sintetizan por una reacción de esterificación directa entre el glicerol y los ácidos grasos, aunque comercialmente este proceso se efectúa por medio de interesterificaciones entre grasas y glicerol (sección 4.5.2). Los mono y diacilglicéridos, y sus derivados, se usan ampliamente como emulsionantes pues tienen una parte hidrófoba y otra hidrófila y su capacidad emulsificante depende de sus ácidos grasos y de sus otros sustituyentes.

4.2.2.2 Triacilglicéridos (o triglicéridos)

Son los acilglicéridos más abundantes en la naturaleza y los principales constituyentes de todas las grasas y los aceites, incluyendo el tejido adiposo de los mamíferos, ya que representan más del 95% de su composición. La nomenclatura depende de sus ácidos, de tal manera que cuando contienen sólo uno se conocen como triacilglicéridos simples y cuando poseen dos o tres se consideran como mixtos; los nombres de los primeros se forman añadiendo el sufijo “ina” a la raíz que denota el ácido en cuestión, por ejemplo, la triestearina, la tripalmitina y la trioleína, corresponden a triacilglicéridos que contienen sólo esteárico, palmítico y oleico, respectivamente. También se pueden nombrar usando la terminación “acilglicérido”, en cuyo caso se llamarían: triestearilacilglicérido, tripalmitilacilglicérido y trioleilacilglicérido.

La nomenclatura de los mixtos se basa en indicar consecutivamente los tres ácidos grasos, utilizando la terminación “il” o “ato” para cada uno. Con la numeración estereoespecífica, un triacilglicérido con linoleico, esteárico y palmítico en posiciones 1, 2 y 3 respectivamente, se denomina *sn*-gliceril-1-linoleato-2-estearato-3-palmitato, que equivale al linoleo-estearo-palmitina, o 1-linolil-2-estearil-3-palmitina. Con dos ácidos iguales y uno desigual se designan con el prefijo “di”, o bien se numeran las posiciones donde se encuentran dichos ácidos: β -palmitil- α , α' -diestearina equivale a la 2-palmitil-1,3-diestearina, o de manera abreviada, diestearopalmitina o palmitidildiestearina. La figura 4.1 es una representación estereoquímica de un triacilglicérido formado por los ácidos oleico, esteárico y palmítico.

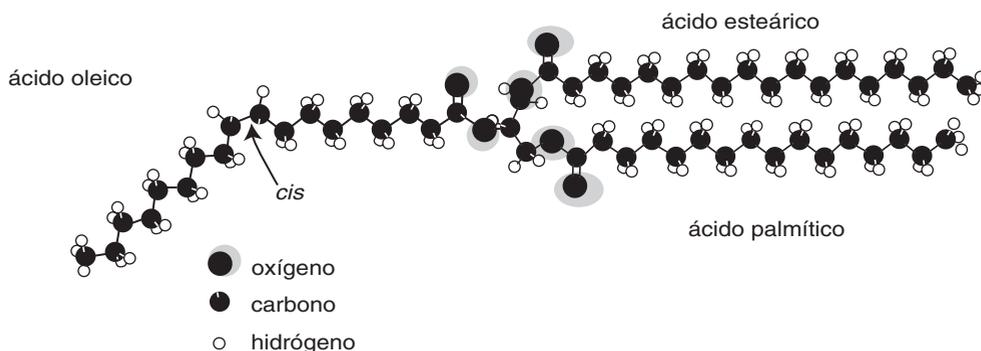


Figura 4.1 Estructura estereoquímica de un triacilglicérido con los ácidos oleico, esteárico y palmítico.

Las características físicas y químicas de los triacilglicéridos dependen del tipo, la concentración y la forma de distribución de sus ácidos grasos en las tres posiciones. Las posibles combinaciones de ubicación de los ácidos grasos en el glicerol son muy variadas; por ejemplo, en caso de tener sólo dos ácidos (A y B) se obtienen seis combinaciones isoméricas: AAB, ABA, ABB, BBA, BAA y BAB, y cuando se tienen tres, se forman hasta 18 isómeros. Para la manteca de cacao que tiene 10 ácidos grasos como principales constituyentes, se pueden integrar más de 500 posibles triacilglicéridos; sin embargo, en la naturaleza no existe tan amplia variedad de ellos y, en este caso, el 67.5% corresponde a los disaturados palmítico-oleico-palmítico, palmítico-oleico-esteárico y esteárico-oleico-esteárico.

La distribución de ácidos en los triacilglicéridos mixtos ha sido motivo de investigaciones que han derivado en diferentes hipótesis; una es la del “triacilglicérido simple”, que supone que cada triacilglicérido contiene un solo tipo de ácido graso, por lo que debe existir igual número de triacilglicéridos que de ácidos grasos. Otra, la de “distribución homogénea”, establece que los ácidos están equitativamente distribuidos en concentraciones iguales.

La “distribución al azar” se basa en que la probabilidad de que un ácido graso se encuentre en un triacilglicérido depende de su concentración; por ejemplo, en una grasa con 50% de ácidos saturados (S) y 50% de insaturados (I), los posibles triacilglicéridos (T) se calculan de la siguiente manera:

$$TS_3 = (0.5)^3 \times 100 = 12.5\%$$

$$TS_2I = (0.5)^2 \times (0.5) \times 3 \times 100 = 37.5\%$$

$$TSI_2 = (0.5)^2 \times (0.5) \times 3 \times 100 = 37.5\%$$

$$TI_3 = (0.5)^3 \times 100 = 12.5\%$$

donde TS_3 , es un triacilglicérido con tres ácidos saturados, TS_2I con dos saturados y uno insaturado, etcétera. Muchos lípidos se desvían en lo referente a TS_3 (cuadro 4.6), por lo que esta teoría se abandonó. Las fracciones TS_2I y TI_2S están en dos formas isoméricas; $TSIS$, $TSSI$ y $TISI$, $TIIS$, respectivamente. El cuadro 4.6 muestra la concentración de algunos de estos isómeros separados por cristalización fraccionada de cinco grasas.

La teoría llamada “distribución 1,3-al azar, 2-al azar” considera que las posiciones 1 y 3 están ocupadas por el mismo tipo de ácido, mientras que la 2 lo está por otro diferente. Otra teoría, la “1-al azar, 2-al azar, 3-al azar”, establece que la distribución de los ácidos grasos en cada una de las posiciones del glicerol es totalmente aleatoria.

La determinación de esta distribución se efectúa con un análisis estereoespecífico que aprovecha la especificidad de varias enzimas hidrolíticas y de algunos agentes químicos que actúan sobre los triacilglicéridos y producen 1,2-diacilglicérido, 2,3-diacilglicérido, 2-monoacilglicérido y ácidos grasos libres. A su vez, cada una de estas fracciones tiene una capacidad diferente de reaccionar con otros compuestos, o de ser atacada por enzimas específicas como las fosfolipasas que actúan en la posición 2 de los diacilglicéridos.

Existen ciertas tendencias naturales de distribución; en las grasas de origen animal, el palmítico y el esteárico están en las posiciones 1 y 3, mientras que la 2 contiene un insaturado; la excepción es la manteca de cerdo que concentra el palmítico en el carbono 2, el esteárico en el 1 y el linoleico y linolénico en el 3. En la leche, los ácidos $C < 10$ se ubican principalmente en la posición 3. En algunos aceites vegetales, los insaturados se presentan en la 2, mientras que los saturados se distribuyen entre la 1 y la 3, aunque esto no es una regla general. La manteca de cacao tiene un alto porcentaje, 67.5% (cuadro 4.6), de los disaturados TS_2I , en los que el oleico se encuentra en la posición 2 y los saturados en la 1 y 3. Los aceites de soya y de cacahuate presentan una alta proporción de TI_3 .

CUADRO 4.6 Tipos de triacilglicéridos y sus formas isoméricas en diferentes grasas⁹¹

Grasas	Tipo (% en peso)				Isómeros (% en peso)			
	TS ₃	TS ₂ I	TSI ₂	TI ₃	TSIS	TSSI	TISI	TIIS
Cerdo	2.5	22.4	55.7	19.4	1.0	21.4	46.9	8.8
Cacahuate	0.1	9.9	42.5	47.5	9.3	0.6	0.7	41.8
Res	12.6	43.7	35.3	8.4	30.6	13.1	3.4	31.9
Cacao	7.1	67.5	23.3	2.1	65.0	2.5	0.2	23.1
Soya	0.0	3.7	31.0	65.3	3.7	0.0	0.0	31.0

Cada fracción de triacilglicéridos tiene una temperatura de fusión diferente, como por ejemplo, en el caso de la palma en que se han aislado seis grandes grupos (cuadro 4.7) mediante una cristalización controlada; el número de dichas fracciones depende de las condiciones de fraccionamiento, como se describe en la sección 4.5.3.

Con base en todo lo revisado hasta ahora, se puede concluir que las características de las grasas y de los aceites dependen totalmente de sus triacilglicéridos, los que a su vez dependen de cuatro factores relacionados con los ácidos grasos que contienen: su localización en los triacilglicéridos, el grado de insaturación, el tamaño de la cadena y la presencia de isómeros.

CUADRO 4.7 Composición de triacilglicéridos del aceite de palma

	Temperatura de fusión (°C)
Tripalmitina	65.0
Dipalmitoestearina	63.0
Dipalmitoleína	34.5
Oleopalmitoestearina	31.0
Palmitodioleína	18.0
Oleína y linoleína	15.0

4.2.2.3 Polimorfismo

Las cadenas de ácidos grasos, cuando se enfrían, se alinean y forman una estructura compacta llamada cristal; este proceso implica la remoción de calor y, por lo tanto, la reducción de la dinámica de las moléculas, con lo que se provoca que se acerquen unas a otras. Cuando la distancia entre ellas es menor a 5 Å, las fuerzas débiles no polares de Van der Waals provocan la formación cristalina. Si los triacilglicéridos son simples (un solo ácido graso), la interacción es muy fuerte y da lugar a un empaquetamiento muy compacto, por lo que se forma un solo tipo de cristal; por el contrario, si son mixtos (varios ácidos grasos), como ocurre con las grasas naturales, el empaquetamiento no es tan homogéneo por tener ácidos grasos con diversas características de tamaño, de insaturación, de isómeros, etcétera, que interrumpen una ordenación como en el primer caso y se produce más de un tipo de cristal.

La creación de los cristales es un proceso dinámico ya que éstos cambian de patrón cristalográfico hasta llegar a un estado termodinámicamente más estable; a la propiedad de un compuesto para cristalizar en distintas formas, manteniendo su composición química, se le llama polimorfismo. Cada

crystal tiene un tamaño y forma determinados que se reflejan en su textura y en su punto de fusión; su formación está influida por el calentamiento y enfriamiento a que se someten las grasas y la temperatura final que se alcanza. El polimorfismo se observa en el estado sólido sin que exista fusión del lípido.

El estudio de los cristales se ha efectuado principalmente mediante técnicas de difracción de rayos X, pero también de espectroscopia infrarroja, de resonancia magnética nuclear y de calorimetría diferencial de barrido. Cada cristal presenta dos patrones de difracción de rayos X distintos: el primero se refiere al ancho de las celdas unitarias de los cristales, se relaciona con el grado de interacción y con la forma de acoplamiento de las cadenas alifáticas; el segundo está en función de la longitud, de la multiplicidad y de la inclinación de la cadena sobre su base.

Con estos análisis se han identificado hasta siete distribuciones de empaquetamiento, entre las que destacan la hexagonal, la triclínica y la ortorrómbica, y normalmente se les designa como α , β y β' (figura 4.2). La primera, α , es la menos densa y por tanto la de menor punto de fusión; la β , por ser un cristal triclínico, tiene el empaquetamiento más denso, con hileras paralelas de ácidos grasos, presenta el mayor tamaño y punto de fusión, es la más estable de las tres formas y a la que termodinámicamente se tiende; la β' tiene características intermedias entre las dos anteriores.

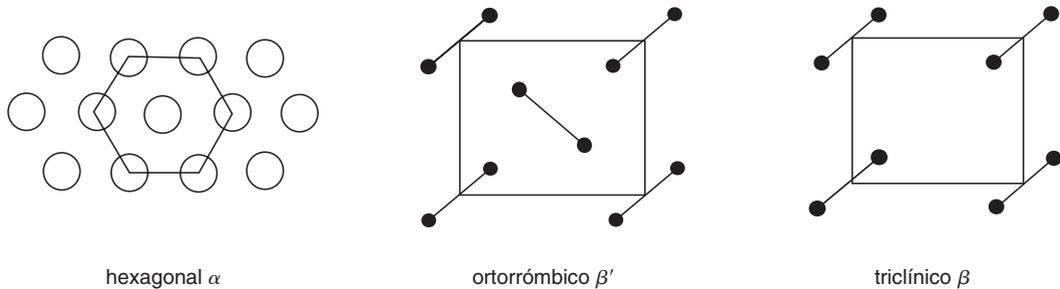


Figura 4.2 Sistemas de cristalización de grasas.

Si una grasa es enfriada rápidamente, se forman cristales α pequeños, transparentes, tersos, suaves, de forma de aguja, frágiles y de 1μ de longitud aproximadamente; por su alto grado de desorden, por tener cadenas orientadas al azar y en todas direcciones y por no estar bien empaquetados, estos cristales son inestables y se transforman en β' , que son más grandes y con una mejor orientación y uniformidad; éstos, a su vez, tienden a cambiarse a la forma β de un tamaño de hasta 50μ , aun cuando en ocasiones llegan a crecer más.

El tamaño del cristal y su orientación determinan la textura, la tersura, la sensación oral y las propiedades funcionales de la grasa; el orden cristalino interno de los ácidos grasos define el punto de fusión, el cual aumenta con el tamaño del ácido graso que contenga, sin importar el polimorfo de que se trate. En general, en la literatura se considera que el punto de fusión de las grasas es el del polimorfo más estable, que corresponde al β .

En la triestearina existe una diferencia hasta de 19°C entre los puntos de fusión de las tres formas α , β' y β (54 , 64 y 73°C , respectivamente), en la trilaurina de 31°C (15 , 35 , 46°C) y en la tripalmitina de 22°C (44 , 57 , 66°C). Los estudios con triacilglicéridos monoácidos resultan sencillos, ya que sólo existe un ácido graso; sin embargo, éstos se dificultan cuando se trata de una grasa o un

aceite con muchos ácidos y consecuentemente con un gran número de posibles acilglicéridos. A pesar de esta complejidad, en cada lípido siempre predomina un grupo de triacilglicéridos que son los que determinan el tipo de polimorfo que se produce. Como regla general, mientras más semejantes sean dichos triacilglicéridos y menos ácidos grasos se tengan, más se propician los cristales estables y grandes β , como ocurre con los aceites de maíz, soya, cártamo, oliva, ajonjolí, girasol, cacahuete, coco y con las mantecas de cacao y de cerdo. Por el contrario, los β' son de menor tamaño y se inducen cuando la mezcla de triacilglicéridos tiene una composición más heterogénea, con muchos ácidos grasos, como en la leche, la margarina, el algodón, el sebo, la palma y la soya hidrogenada. Cabe resaltar el hecho de que el aceite de soya, con pocos ácidos grasos, forma cristales β , patrón que cambia a β' al hidrogenarse, debido al gran número de *trans* y de otros isómeros posicionales que se sintetizan en el proceso.

De todas las grasas comerciales, la manteca de cacao presenta el caso extremo de polimorfismo con cristales de muy distintos puntos de fusión; ésta se usa en los chocolates, por lo que debe fundir a temperaturas cercanas a la del cuerpo humano para que al ingerirla se licue en la boca. Esta grasa se caracteriza por su alto contenido de TS₂I que representa 67.5% de sus triacilglicéridos (cuadro 4.6); cristaliza hasta en seis distintas formas polimórficas, clasificadas como I, II, III, IV, V y VI, con puntos de fusión ascendentes: 17, 22, 26, 28, 32 y 36°C, respectivamente. Las formas II, IV, V y VI se producen por la fuerte influencia de la 2-oleopalmitoestearina y de la 2-oleodiestearina, mientras que la I y III son posiblemente mezclas formadas con el resto de los triacilglicéridos. Su punto de fusión es muy bajo, considerando que no tiene ácidos grasos de cadena corta, y su reducido índice de yodo (aproximadamente 40) la hace altamente resistente a las reacciones de oxidación. Cuando se enfría bruscamente, se producen cristales inestables, los cuales se licuan si se sube la temperatura de manera rápida a 25-30°C; sin embargo, si este calentamiento es muy lento, se inducen los cristales de mayor punto de fusión, que son los deseables en la industria de la confitería.⁸⁶

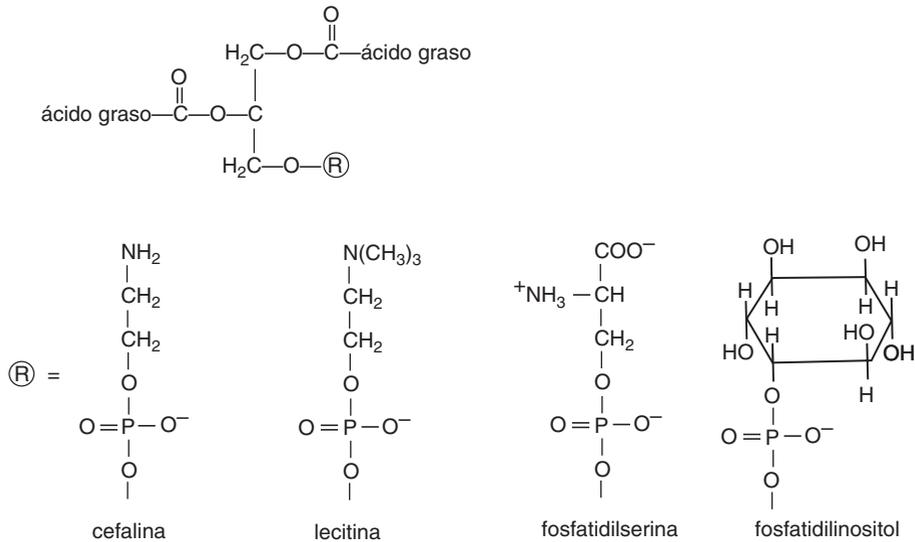
En la fabricación de chocolates se requiere de un atemperamiento para obtener la forma cristalina más adecuada de la grasa, de manera que no sufra transformaciones polimórficas durante el almacenamiento; el proceso consiste en mantener la mezcla de manteca de cacao y azúcar por arriba del punto de fusión de la forma VI, enfriarla a 27°C y, posteriormente, calentarla lentamente a 32°C. La llamada eflorescencia grasa (*fat bloom*) es un defecto del chocolate que consiste en la deposición de cristales blancos o grises en la superficie, lo cual provoca un aspecto muy indeseable debido a una transformación polimórfica.

El polimorfismo también se presenta en la elaboración de las grasas vegetales o *shortenings*, las margarinas, los sebos y otros derivados lipídicos. La reducción de este fenómeno se logra mediante un proceso de atemperado propio para cada sistema.

4.2.3 Fosfoglicéridos

Son diacilglicéridos cuyo glicerol está esterificado a una molécula de ácido fosfórico que, a su vez, se enlaza a una base nitrogenada (colina o etanolamina), a la serina o a un alcohol, como el inositol. Por tener un átomo de carbono asimétrico son ópticamente activos, aunque la mayoría pertenece al enantiómero de la serie α . El ácido graso en C1 o C3 es saturado (p. ej., el palmítico o esteárico) o monoinsaturado (oleico), mientras que el de C2 es insaturado (linoleico o linoléico). Los fosfoglicéridos tienen mucha importancia biológica, ya que intervienen en diversos pasos del metabolismo, son parte integral de las membranas y de otros constituyentes de las células, y representan hasta el 90% de los lípidos de la mitocondria.

La yema del huevo contiene aproximadamente un 66% de triacilglicéridos, 5% de colesterol y 28% de fosfoglicéridos (o fosfolípidos), los que a su vez están constituidos por 73% de fosfatidilcolina (lecitina), 15% de fosfatidiletanolamina (cefalina), 6% de lisofosfatidilcolina, 2.5% de esfingomielina, 2% de lisofosfatidiletanolamina y 1% de plasmalógeno. Como ya se indicó, los fosfolípidos de pescados de agua fría contienen una alta proporción de ácidos poliinsaturados, como el C22:6, fácilmente oxidables; cuando el pez se somete a una dieta pobre, los fosfoglicéridos se reducen, ya que se usan como fuente de energía y de esta manera el aceite se vuelve más estable a la oxidación.¹ En el caso de la leche, estos compuestos equivalen al 0.5-1.0% del total de la fracción grasa y están integrados por 35% de lecitina, 32% de cefalina, 23% de esfingomielina y otros; se localizan fundamentalmente en la membrana de los glóbulos de grasa (aproximadamente 60% del total), en donde desempeñan un papel emulsionante.



El tejido muscular presenta de 0.5 a 1.0% de los fosfolípidos antes mencionados, y sus ácidos grasos son mucho más insaturados que los de los triacilglicéridos del músculo y que los del propio tejido adiposo; la oxidación puede iniciarse precisamente en esta fracción de la carne.

Los fosfolípidos se oxidan fácilmente, pero en algunos casos funcionan como antioxidantes naturales que protegen a los lípidos que los contienen; es decir, de acuerdo con su concentración, pueden actuar como antioxidantes o como prooxidantes.

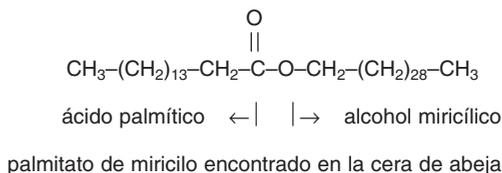
La lecitina desempeña un papel muy importante en las propiedades de textura de los alimentos, actúa como emulsionante debido a que su molécula contiene una parte hidrófoba y otra hidrófila. El grupo fosfato y la base nitrogenada interactúan con la fase acuosa, mientras que las cadenas hidrocarbonadas lo hacen con la lípida, con lo cual se logra un contacto físico más estrecho entre las dos fases inmiscibles. Comercialmente se obtiene como subproducto de la refinación del aceite de soya y es en realidad una mezcla de aceite con diversos fosfátidos (cuadro 4.8); su uso más importante es como emulsionante, sobre todo en productos infantiles y de confitería.

CUADRO 4.8 Composición aproximada de la lecitina comercial de la soya

Fracción	%
Aceite de soya	36
Lecitina	17
Cefalina	15
Fosfatidilinositol	11
Fitoglucolípidos y otros fosfátidos	14
Hidratos de carbono	5
Humedad	2

4.2.4 Ceras

A diferencia de los acilglicéridos, las ceras son ésteres de un alcohol monohidroxilado de cadena larga con un ácido graso. Son muy resistentes a la hidrólisis, funcionan como agentes protectores en la superficie de las hojas, los tallos y los frutos, al igual que en el pelo, la lana y las plumas de los animales y en los peces; son sólidos en frío, pero líquidos y moldeables en caliente y su temperatura de fusión varía de 40 a 100°C.^{32, 54} Cubren la epidermis de las frutas, regulan su transpiración, actúan como barrera para gases atmosféricos indeseables, son repelentes al agua y las protegen contra los insectos. En la manzana se encuentran en una concentración de 1.5 mg/cm² de epidermis, y son ricas en ácidos grasos de 16 a 36 átomos de carbono; cabe aclarar que estos compuestos generalmente están asociados con parafinas, alcoholes, esteroides, cetonas y otras sustancias de alto peso molecular.



Tanto el aceite de maíz como el de girasol contienen ceras que deben ser eliminadas mediante el proceso de hibernación (sección 4.4.5), ya que de otra manera provocan turbiedad en el producto refinado.

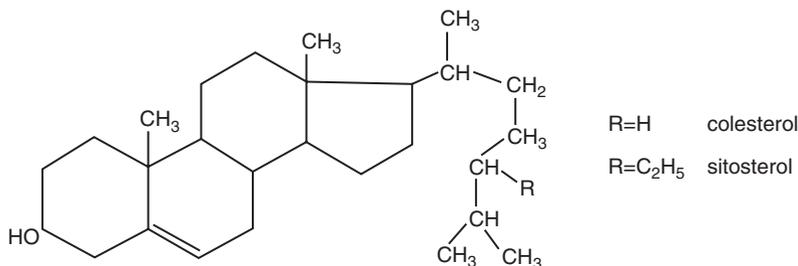
4.2.5 Esteroides

Son sustancias integradas por el grupo perhidrociclopentanofenantreno, una cadena hidrocarbonada y un grupo alcohol, y se encuentran tanto en el reino vegetal como en el animal. En el primer caso reciben el nombre genérico de fitosteroides, entre los que destaca el β -sitosterol (80% de todos los esteroides vegetales), seguido del estigmasterol (15%), del campesterol, del resveratrol y de otros; aparentemente funcionan de la misma manera que lo hace el colesterol en el tejido animal, es decir, estabilizando la membrana y controlando su permeabilidad; son estables a las altas temperaturas, inodoros e insaboros, y algunos actúan reduciendo la oxidación de los aceites. Se encuentran en almendras (70-100 mg/100g), en cacahuates (50-90 mg/100 g), en frutas, verduras, semillas, leguminosas, etcétera.

Por su parte, el colesterol es el más abundante de los esteroides del tejido animal (representa el 95%); está presente como integrante de las membranas celulares y es de vital importancia para el hombre en la síntesis de un gran número de hormonas, así como de la vitamina D y de las sales biliares. Hay que observar que del colesterol que se encuentra en la sangre del humano (150 a 250 mg por 100 mL), sólo aproximadamente el 35% proviene de la dieta y el resto es sintetizado en el hígado según la ruta del ácido mevalónico, en una proporción de más de un gramo por día.

En la yema del huevo, el colesterol está esterificado y representa el 5% del total de los lípidos, lo que equivale aproximadamente a 210-240 mg por cada huevo. En la leche está en una concentración de 120-150 mg por litro, del que el 85% se asocia principalmente a la membrana del glóbulo de grasa, por lo que el contenido de grasa se relaciona con el de colesterol; un vaso con leche entera de 250 mL contiene aproximadamente 35 mg de colesterol. La carne de bovino y la de pescado presentan cerca de 75 mg de este esteroide por cada 100 g de porción comestible.

El consumo excesivo de colesterol, pero principalmente de ácidos grasos saturados, incrementa el contenido del primero en la sangre, lo que a su vez puede provocar la deposición de plaquetas lipídicas y el endurecimiento de las arterias (arterosclerosis), lo que ocasiona que no circule suficiente sangre y, en consecuencia, oxígeno al corazón.



Los fitosteroles, al ser antagonistas con el colesterol, han mostrado ser agentes muy poderosos para bajar la concentración del colesterol-LDL (lipoproteínas de baja densidad, *low density lipoproteins*) de la sangre, llamado colesterol “malo”; por esta razón, en el mercado existen margarinas y otros alimentos que evitan o reducen la absorción del colesterol a base de una combinación de fitosteroles, de proteínas de soya y de fibras solubles derivadas del β -glucano; estos dos últimos ingredientes son mucho más baratos que los esteroides, pero no son tan efectivos. Es probable que los fitosteroles actúen al desplazar el colesterol de las miscelas del intestino, lo cual evita su absorción y como consecuencia su reducción en el plasma. Por otra parte, se desconoce la acción de la proteína de soya y de la fibra soluble (la fibra insoluble no tiene efecto), pero se considera que inhiben la reabsorción intestinal de los ácidos biliares,¹⁸ en la que también ayuda la presencia de aminoácidos, isoflavonas, saponinas y otros polisacáridos.⁵⁵

El resveratrol del cacahuate y de la uva también es considerado como un potente agente preventivo de diversas enfermedades; de hecho, se supone que este fitosterol, junto con otros compuestos, es la razón de los efectos benéficos de la ingesta de vino tinto.

Los fitosteroles son caros y para que tengan verdaderamente un efecto de reducción de colesterol deben consumirse entre 1 y 2 gramos por día; éstos se obtienen de la destilación de los productos recuperados de la desodorización de los aceites, como el de soya (sección 4.4.4).

4.3 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Existe un gran número de análisis para evaluar las características físicas y químicas de las grasas, algunos tradicionales de rutina en la industria y otros que exigen equipo más costoso. Los resultados ofrecen información sobre la naturaleza, el origen y el posible comportamiento de la grasa en diferentes condiciones de almacenamiento y procesamiento.

A continuación se describen los métodos de análisis más comunes.

4.3.1 Índices

Índice de acidez: mg de KOH necesarios para saponificar los ácidos grasos libres; se expresa como un % de los ácidos calculados en términos del oleico.

Índice de hidroxilo: mg de KOH necesarios para neutralizar el ácido acético combinable por acetilación con 1 g de muestra.

Índice de Polenske: mg de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos volátiles insolubles en agua.

Índice de Reichert-Meissl: mg de NaOH para neutralizar los ácidos grasos volátiles y solubles en agua; se emplea para caracterizar grasas lácteas al medir ácidos de <12C.

Índice de saponificación: mg de KOH para saponificar 1 g de grasa; es inversamente proporcional al peso molecular promedio de los ácidos grasos.

Índice de solidificación de ácidos grasos (titer): Temperatura a la que los ácidos grasos, saponificados y fundidos, cristalizan al enfriarse lentamente; ofrece información sobre la intensidad de la hidrogenación.

Índice de yodo: mg de yodo que reaccionan con los aceites y que reflejan el promedio de insaturaciones; no ofrece información acerca de la distribución y localización de las dobles ligaduras.

4.3.2 Otros análisis

Color Lovibond: Medición del color mediante una serie de vidrios estándares rojos y amarillos de referencia. El resultado son valores de rojo y amarillo que corresponden a los vidrios que igualan el color de la muestra.

Plasticidad: El punto de fusión mide la dureza de una grasa, pero no su plasticidad o perfil de sólidos a distintas temperaturas; las grasas son semisólidos de triacilglicéridos que forman una matriz cristalina en la que queda atrapado el aceite líquido, como el agua en una esponja y cuya plasticidad depende de su relación sólido/líquido. La plasticidad se puede determinar dilatométricamente (índice de sólidos grasos) o mediante resonancia magnética nuclear.

Índice de sólidos grasos (ISG): Una grasa a -30°C se solidifica y a medida que se calienta, se induce la formación de una mezcla de lípidos que se encuentra en estado líquido y sólido en una relación que depende de la temperatura. Los componentes sólidos se dilatan de forma muy diferente a como lo hacen los líquidos, y la máxima expansión se alcanza cuando la grasa sólida se vuelve líquida.

En la figura 4.3 se muestran los cambios del volumen específico (inverso de la densidad) de una grasa vs. la temperatura; se extrapolan las líneas de sólidos con la líquida hacia la coordenada del volumen específico.⁹⁵ La cantidad de sólidos es igual a la fracción de la grasa que no se ha fundido y el cálculo se hace como sigue: % sólidos grasos = BC/AC . El cuadro 4.9 muestra los valores de este

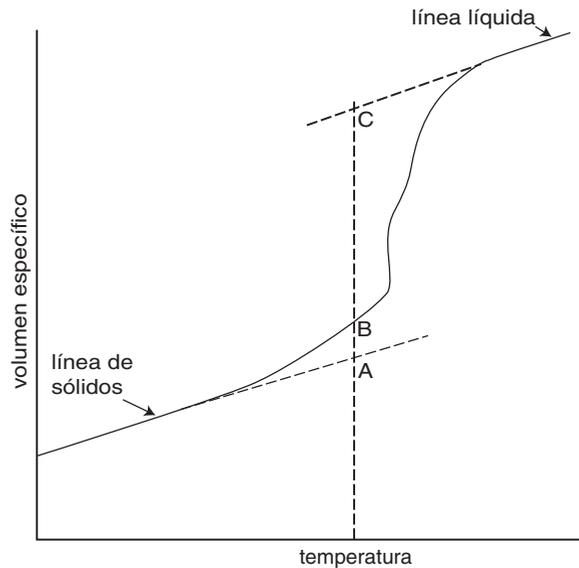


Figura 4.3 Curva dilatométrica de una grasa.⁹⁵

índice para varias grasas a diferentes temperaturas; por ejemplo, se observa que la manteca de cacao presenta un 3% de sólidos a 33°C, pero éstos desaparecen a 38°C al rebasar su punto de fusión, mientras que el aceite de palma contiene un 4% de sólidos a 38°C, debido a que su *pf* es de 39.2°C. Esta determinación es muy laboriosa, por lo que la resonancia magnética nuclear la está desplazando, con el único inconveniente del alto costo del equipo.

CUADRO 4.9 Valores de ISG de algunas grasas

	Punto de fusión (°C)	Valores de ISG				
		10	21	27	33	38°C
Mantequilla	36.3	32	12	9	3	0
Manteca de cacao	29.7	62	48	8	0	0
Aceite de coco	26.3	55	27	0	0	0
Manteca de cerdo	43.5	25	20	12	4	2
Aceite de palma	39.2	34	12	9	6	4
Aceite de palmiste	29.1	49	33	13	0	0

Resonancia magnética nuclear: Se basa en la absorción de ondas por parte de los núcleos de moléculas orgánicas, cuando éstos se ubican en un fuerte campo magnético. La energía administrada a los núcleos cambia su orientación y las señales generadas por el hidrógeno en una grasa sólida son distintas a las producidas en una grasa líquida; esta diferencia se usa para medir el porcentaje de grasa sólida a una determinada temperatura y el resultado se reporta como “valores N”.

Los valores N pueden relacionarse con diversas características de textura, dureza, cerosidad, fusión, etcétera, como lo muestra la figura 4.4, para un sustituto de manteca de cacao: a más de 35°C ya no existen sólidos (valores N de prácticamente cero), lo que indica que la grasa funde a la temperatura del cuerpo humano (37°C), y consecuentemente no dejará una sensación de grasa o cerosidad en la boca. Por otra parte, a 20-25°C, la grasa es dura por contener muchos sólidos (valores N altos), mientras que entre 27 y 33°C, se producirá la liberación de los sabores liposolubles que se efectúa mejor en la fase líquida que en la sólida. Cabe resaltar la fuerte pendiente que muestra esta curva, lo que indica que su fusión se hace abruptamente cuando se alcanzan los 35-37°C, por lo que es ideal para la elaboración de chocolates. A manera de ejemplo, una especificación industrial de valores N para las bases grasas requeridas en la fabricación de margarinas duras y suaves podría ser, respectivamente: N20 (valores N a 20°C) 29 y 25; N25 20 y 18; N30 12 y 9; N35 6 y 3.

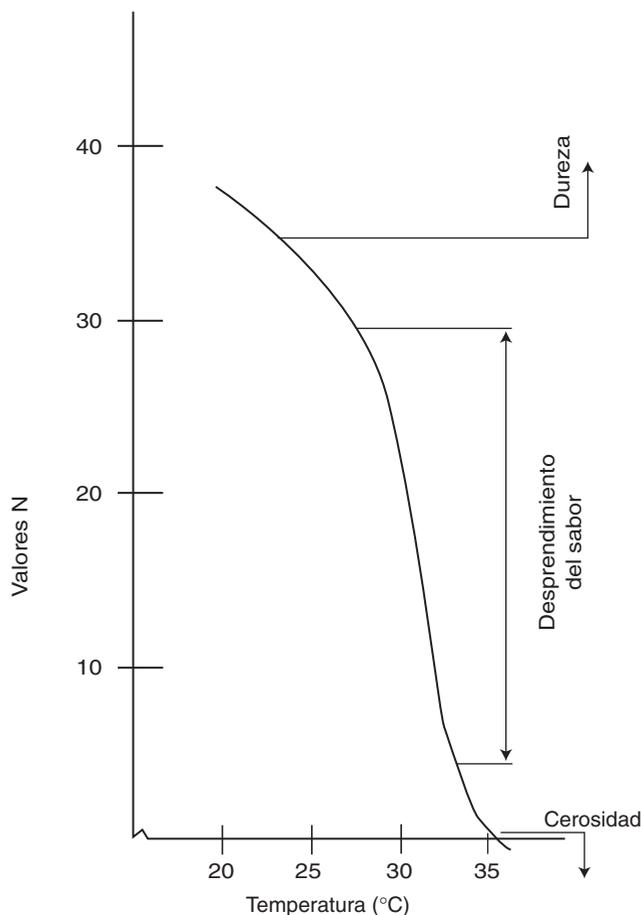


Figura 4.4 Curva de sólidos de la manteca de cacao.

Punto de fusión: Es la temperatura a la que la fase sólida cambia a líquida, y es un reflejo de la fuerza de unión entre los ácidos grasos de un cristal. Sólo las grasas constituidas por muy pocos tipos

de triacilglicéridos tienen su fusión bien definida; a medida que aumenta el número de ellos, el *pf* se convierte en un intervalo, ya que cada acilglicérido tiene el suyo. Existen diversos métodos; el conocido como *slip point* es común y utiliza 3 capilares que se llenan con la grasa sólida y se calientan en un baño a razón de 1°C/minuto, hasta que ésta se desplaza hacia arriba; el promedio de las 3 temperaturas es el punto de fusión.

Temperatura de formación de humos o punto de humeo: Es la temperatura en la que se producen compuestos de descomposición, visibles, y que depende de los ácidos grasos libres y monoacilglicéridos de la grasa. La presencia de 1% de estos compuestos provoca la reducción de 230 a 160°C en la temperatura de formación de humos en un aceite para freír.

Prueba del frío: Sirve para determinar la eficiencia de la hibernación (sección 4.4.5). Se mantiene el aceite a 0°C y se mide el tiempo que permanece transparente; los triacilglicéridos de alto punto de fusión lo enturbian a bajas temperaturas. Si el aceite se mantiene transparente durante cinco horas y media, se considera de buena calidad.

En la sección 4.8 se revisan otros métodos relacionados con la medición de la intensidad de la oxidación de los aceites.

4.4

MANUFACTURA DE GRASAS Y ACEITES

Las grasas y los aceites provienen de diversas fuentes vegetales y animales; sin embargo, la soya es la oleaginosa que suministra la mayor cantidad de aceite en el mundo, seguida de la palma y de la canola y, en menor grado, de la aceituna, el ajonjolí, el algodón, el cacahuete, el cacao, el cártamo, el coco, el girasol, el maíz y el palmiste. Por su parte, de origen animal, la manteca de cerdo ocupa el primer lugar, después el sebo de res y el aceite de pescado. Aceites como el de pepita de uva y otros, se producen en mínima cantidad para mercados muy selectos.

La soya tuvo un auge muy importante en la década de 1960 durante la Revolución Verde, y continúa su tendencia creciente con sus derivados genéticamente modificados, como el aceite con bajo linolénico y alto oleico y las plantas resistentes a plagas.

El tejido adiposo de los animales sacrificados se somete a un proceso térmico para romper las células y liberar su contenido graso; por su parte, los aceites vegetales se extraen de las semillas oleaginosas, por prensado o con disolventes. La primera extracción de ambas fuentes, animal y vegetal, produce grasas y aceites llamados crudos que contienen impurezas que se deben eliminar, como ácidos grasos libres, proteínas, pigmentos, hidratos de carbono, agua, fosfátidos, etcétera, que contribuyen al color, sabor, olor, inestabilidad, espumado y otras características indeseables. Sin embargo, algunas de estas sustancias son deseables, como la lecitina y los tocoferoles, que pueden recuperarse parcialmente en la refinación.

En el caso de la soya (figura 4.5), la semilla triturada se usa para formar hojuelas (para aumentar el área superficial) que se alimentan al extractor continuo por percolación, por inmersión o por una combinación de ambas. El hexano es el disolvente más común, su uso implica precauciones ya que es muy volátil y produce mezclas explosivas con el aire. Cabe indicar que una vez triturada la semilla debe someterse de inmediato a la refinación, para evitar la actividad de las lipasas que producen muchos ácidos grasos libres (sección 4.7.1).

Después de la extracción, la harina residual se utiliza para la alimentación animal y en la obtención de concentrados y aislados, productos ricos en proteínas (capítulo 13). La mezcla aceite-disol-

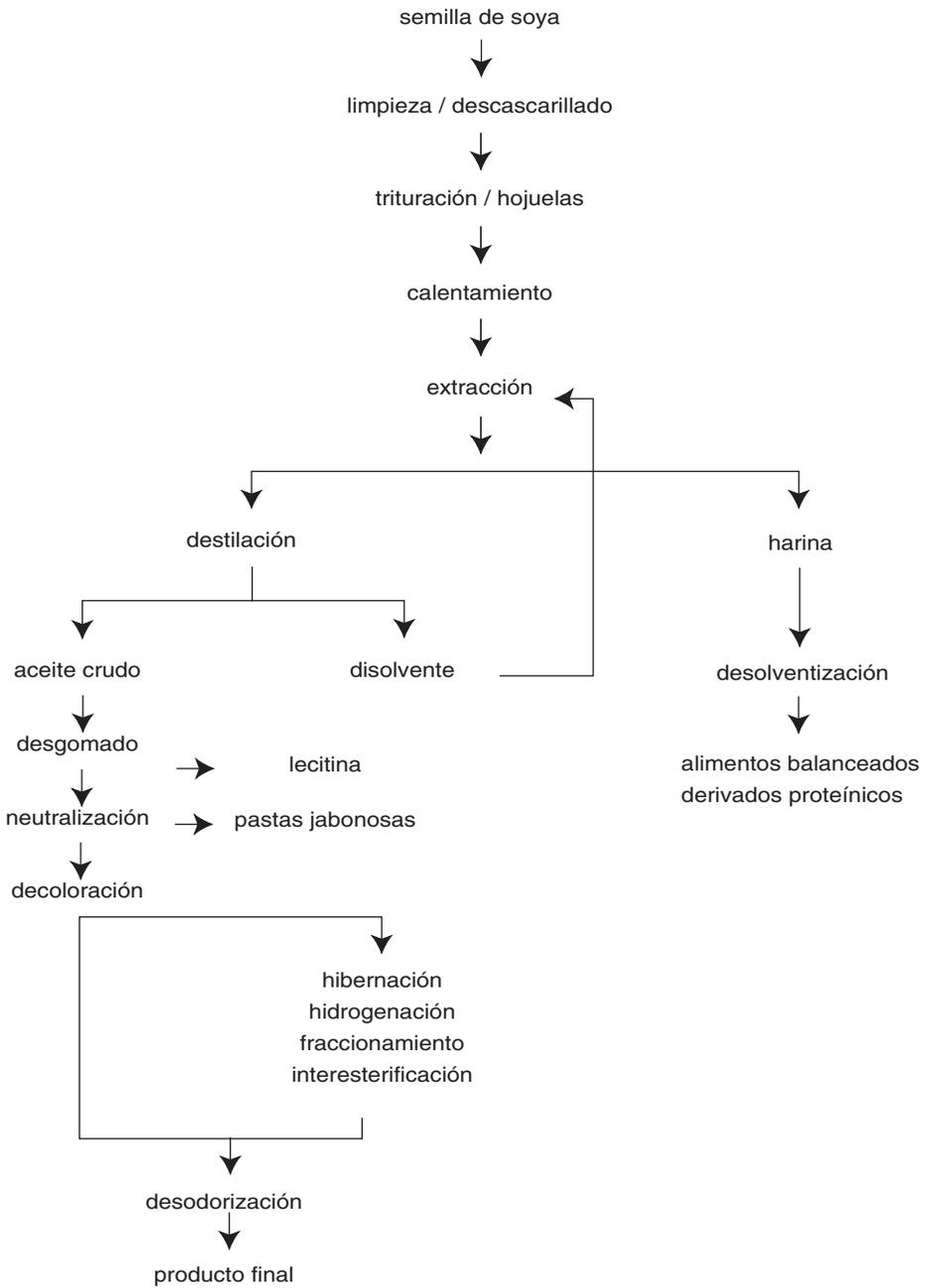


Figura 4.5 Obtención industrial del aceite de soya y sus derivados.

vente, conocida como “miscela”, se somete a destilación para separar el aceite crudo y el hexano que se emplea nuevamente. La refinación, constituida por diversas etapas (desgomado, neutralización, decoloración y desodorización), que a continuación se describen, provoca grandes cambios en la composición del aceite crudo al eliminar o reducir impurezas (cuadro 4.10).

CUADRO 4.10 Composición promedio de los aceites crudo y refinado de soya

<i>Composición</i>	<i>Crudo</i>	<i>Refinado</i>
Triacilglicéridos (%)	95-96	> 99
Fosfátidos (%)	1.5-2.5	0.003-0.015
Materia insaponificable (%)	1.5	0.3
Esteroles (%)	0.35	0.13
Tocoferoles (%)	0.15-0.20	0.10-0.15
Escualeno (%)	0.015	0.01
Ácidos grasos libres (%)	0.3-1.0	< 0.05
Metales		
Hierro (ppm)	1-3	0.1-0.3
Cobre (ppm)	0.03-0.05	0.02-0.04
Otros (%)		
Proteínas, hidratos de carbono, agua, etcétera	< 1.0	0.0

4.4.1 Desgomado

Es la extracción acuosa de compuestos hidrosolubles, como proteínas, hidratos de carbono, agua y fosfátidos, que se separan al establecer una fase inmisible con el aceite. Los fosfátidos en bajas concentraciones, provocan problemas en la refinación, además de que son muy sensibles a la oxidación y producen espuma en el producto terminado. No todos los aceites se someten al desgomado. Al aceite crudo se le añade un 2-3% de agua, se calienta a 50-60°C y la fracción acuosa se separa por centrifugación; los fosfátidos se hidratan, esponjan y precipitan, sobre todo si se incrementa la temperatura, se recuperan y se deshidratan. Al producto resultante se le llama “lecitina”, aunque en realidad contiene una baja proporción de ésta (cuadro 4.8); su valor depende del fósforo, elemento que en promedio equivale a casi 4% de un fosfolípido puro.

4.4.2 Neutralización

Este tratamiento elimina ácidos grasos libres y monoacilglicéridos y los fosfolípidos residuales del desgomado. Entre mayor sea la cantidad de ácidos grasos libres, menor será el rendimiento de la refinación. La neutralización es una saponificación con NaOH al 10-15%, en la cantidad precisa para que sólo reaccione con ácidos libres, cuya concentración se determina previamente; un exceso de sosa saponificaría los triacilglicéridos, con lo que se perdería aceite. La neutralización se efectúa en forma continua o en sistemas discontinuos; la mezcla aceite/sosa se calienta a 60-70°C para acelerar la reacción y se produce una pasta jabonosa (*soap stock*) que se separa por una primera centrifugación y que se emplea en la fabricación de jabones, en la obtención de ácidos grasos y en la elaboración de alimento para ganado, después de neutralizarla con H₂SO₄. Así, el aceite todavía contiene algo

de jabones que se eliminan con un lavado subsiguiente al mezclarlo con agua caliente y someterlo a una segunda centrifugación.

Cuando la cantidad de ácidos grasos libres es grande (p. ej., >2.5%) se forman pastas jabonosas muy densas que resultan difíciles de separar por centrifugación; para esto, en lugar de neutralizar, se usa la llamada refinación física que consiste en destilar estos ácidos por arrastre con vapor a vacío y a 250-260°C, lo que se lleva a cabo en el desodorizador. También se eliminan, además de dichos ácidos, otras sustancias de peso molecular bajo que imparten olores indeseables.

Los aceites bien neutralizados contienen menos del 0.1% de ácidos grasos libres (como índice de acidez en términos del oleico); es muy importante mantener esta baja concentración, sobre todo si el aceite se destina a la hidrogenación, proceso en el cual es suficiente una pequeña cantidad de ellos para envenenar el catalizador.

4.4.3 Decoloración

Este tratamiento se da a los aceites neutralizados y sirve para eliminar pigmentos (carotenoides, clorofila, y xantofilas), aunque en los pasos anteriores se extraen muchos de ellos. Es una adsorción que utiliza agentes adsorbentes, como tierra de diatomeas, arcillas neutras derivadas de la bentonita, arcillas ácidas activadas o carbón activado. Este último es el más efectivo, pero es muy caro y, al retener mucho aceite, aumenta las mermas; para lograr mejores resultados se mezclan arcillas neutras con 5-10% de carbón activado. El poder decolorante de estos materiales depende de su forma microcristalina y de sus impurezas. Las tierras ácidas deben lavarse, ya que confieren acidez al aceite y provocan su hidrólisis y la liberación de ácidos grasos.

La mezcla aceite/adsorbente se calienta a 80-90°C por 15/20 min para eliminar humedad y activar el material; posteriormente se envía a un filtro prensa y se obtiene, por un lado, el aceite y por el otro, el adsorbente que puede regenerarse. En forma ideal, este proceso debe efectuarse a vacío para evitar la acción del oxígeno, ya que los lípidos oxidados reducen la eficiencia. Los aceites ya decolorados pueden desarrollar algunos colores indeseables en el almacenamiento debido a reacciones de oxidación y de polimerización de los ácidos grasos insaturados.

4.4.4 Desodorización

Hasta este punto, al aceite crudo ya se le eliminaron ácidos grasos libres, fosfolípidos, agua, proteínas, hidratos de carbono, pigmentos y otros compuestos de alto peso molecular. Sin embargo, todavía contiene bajas concentraciones de sustancias volátiles provenientes de la oxidación y responsables de olores indeseables, como cetonas o aldehídos y, en ciertos aceites, ácidos grasos libres de menos de 12 átomos de carbono.

El proceso consiste en calentar el aceite a 230-260°C y hacerle circular una corriente de vapor desaireado que arrastre los compuestos volátiles; esto es posible ya que existe una gran diferencia entre la volatilidad de estos últimos y la de los triacilglicéridos. El proceso se efectúa a presión reducida (aproximadamente 5 mm de Hg) para evitar el deterioro del aceite, aunque en ocasiones se añaden antioxidantes o agentes secuestradores, como el ácido cítrico para eliminar la acción catalizadora de los metales en la oxidación.

Cabe indicar que el material recuperado de la desodorización contiene, además de las sustancias oloríficas, otras de importancia comercial, como son los tocoferoles, tocotrienoles, fitosteroles y ácidos grasos libres; éstas se recuperan mediante reacciones de esterificación con un alcohol, por saponificación, cristalización, destilación o por extracción fraccionada.

En este punto, la mayoría de los aceites quedan listos para su envasado y distribución, como el que se compra para uso doméstico; sin embargo, algunos todavía se someten a un último paso que es la hibernación.

4.4.5 Hibernación

Este proceso, también conocido como *winterización* (anglicismo), es opcional y sólo se usa en algunos aceites; es una forma de cristalización fraccionada, o fraccionamiento en seco, que se describe en la sección 4.5.3, para eliminar triacilglicéridos saturados de alto punto de fusión, como los del algodón y de la soya, y para evitar que el aceite se enturbie al enfriarse.⁴⁹ Las fracciones con ácidos grasos saturados y algunas otras que llegan a cristalizar en la refrigeración, como las ceras de los aceites de maíz y de girasol, causan una apariencia indeseable en alimentos almacenados a baja temperatura. Debido a que la porción separada contiene una gran cantidad de ácido esteárico, se le conoce como estearina.

El aceite de soya para mayonesas requiere pasar una prueba del frío (ver sección 4.3.2) de 5.5 horas, para evitar los cristales grasos que pueden romper la emulsión en la refrigeración. En el mercado existen otros sistemas para determinar la eficiencia de la hibernación, con equipos costosos, basados en la identificación de los cristales mediante rayos láser.

4.5

PROCESOS DE MODIFICACIÓN DE GRASAS Y ACEITES

Los aceites refinados, con o sin hibernación, pueden embotellarse y así venderse directamente, o bien, pueden someterse a otras reacciones físicas y químicas (figura 4.5) que modifican sus propiedades para hacerlos más funcionales y apropiados para la fabricación de alimentos, como mantecas vegetales para panificación, aceites y grasas para freír, bases para margarinas, aceites para mayonesas y aderezos, coberturas de chocolate, sustitutos de manteca de cacao, estearinas, etcétera; en algunos casos se requiere que las grasas tengan una cierta tendencia a la cristalización y que sean plásticas, en otros, un determinado punto de fusión, de dureza, ciertas propiedades de untuosidad, que resistan la oxidación, etcétera. Además de estos usos en los alimentos, las grasas modificadas también son materia prima en diversas industrias, como la de pinturas y la de bronceadores.

Los métodos que se emplean para modificar y diseñar las grasas y los aceites van desde la simple mezcla física de dos o más grasas o aceites, hasta otros muy laboriosos como la hidrogenación, la interesterificación y el fraccionamiento. En general, los dos últimos se emplean más en países en donde abundan los aceites de palma y los láuricos (palmiste y coco), mientras que los dos primeros se utilizan en donde se dispone de soya.

4.5.1 Hidrogenación

Mediante este proceso se transforman los aceites líquidos en semisólidos o francamente sólidos, que son más fácilmente manejables y con una mayor vida de anaquel. Al de soya, con una alta proporción de insaturados que lo hace sensible a la oxidación, la hidrogenación lo convierte en bases grasas para la fabricación de margarinas y mantecas que se conservan sin detrimento por largos periodos.

En la hidrogenación, los ácidos insaturados están sujetos a tres transformaciones, que en orden de importancia son: saturación de las dobles ligaduras; isomerización geométrica *cis-trans*; isomerización posicional (figura 4.6). Las características físicas y químicas de los derivados hidrogenados dependen de la intensidad con que ocurre cada una de estas reacciones; un mismo ácido graso puede presentar al mismo tiempo los dos tipos de isomerización en su estructura.

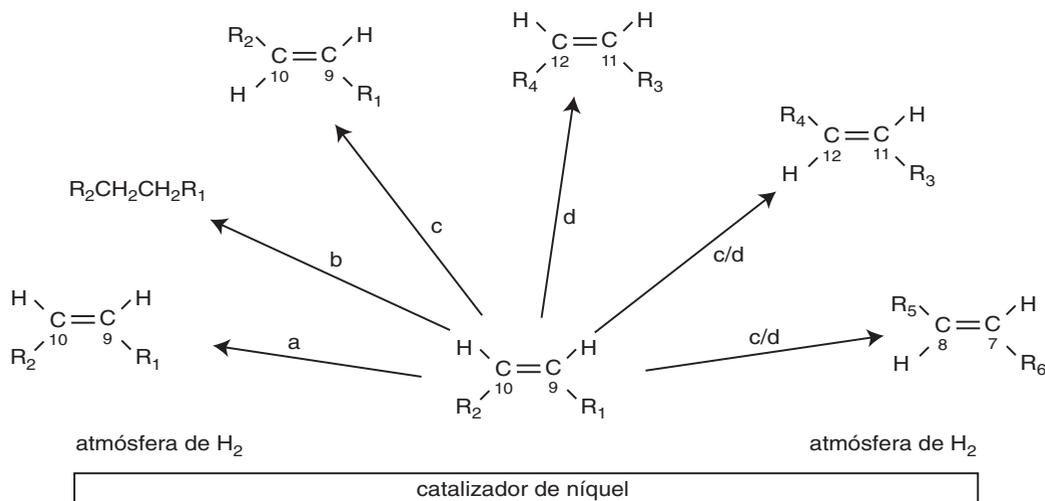


Figura 4.6 Rutas que sigue una doble ligadura durante la hidrogenación. a) Ninguna, b) Saturación, c) Isomerización geométrica, d) Isomerización posicional.

Comúnmente se emplea el sistema por lote (*batch*): el reactor se carga con aceite y se añade un 0.1-0.25% de níquel como catalizador, la temperatura varía de 120 a 220°C y se inyecta hidrógeno gaseoso a 1-4 atmósferas; se agita continuamente para homogeneizar el catalizador en el líquido y para ayudar a disolver una mayor cantidad del gas. La reacción sucede en un sistema trifásico: el catalizador sólido, los triacilglicéridos líquidos y el hidrógeno gaseoso con una solubilidad limitada.³⁴

El proceso es exotérmico e incrementa 1.6°C por unidad de reducción del índice de yodo (iy); la medición del avance se hace con el índice de refracción que depende de las dobles ligaduras. Una vez alcanzada la hidrogenación requerida, se detiene el gas y se enfría hasta unos grados por encima del punto de fusión de la grasa para mantenerla líquida; se pasa por un filtro prensa en donde se separa el catalizador, que puede o no usarse nuevamente. En general, para bajar una unidad de iy se requiere de aproximadamente 1 m³ de H₂/ton de aceite. La velocidad relativa de hidrogenación de los ácidos grasos de acuerdo con su insaturación se muestra en el cuadro 4.11; se observa que el linoléico, por ser el más insaturado, es el que más rápido se hidrogena y también se oxida.

El aceite de soya (iy 125-140) es líquido aun a bajas temperaturas, pero cuando se hidrogena a un iy de 100, se convierte en un sólido suave que funde a 30°C; si se hidrogena completamente, iy = 0, se produce un sólido quebradizo de pf 68°C. De manera semejante, el aceite de palma (iy 50-55) funde a 34-36°C, pero alcanza una temperatura de 42-44°C cuando dicho índice se reduce en 8 puntos, y llega hasta 58°C al saturarse. Las bases para margarinas, mantecas y demás productos grasos semisólidos, son parcialmente hidrogenados y sólo las estearinas son totalmente saturadas.

CUADRO 4.11 Velocidades relativas de oxidación y de hidrogenación^{19, 98}

	Índice de yodo	Velocidad relativa de oxidación	Minutos necesarios para absorber 1g de oxígeno/kg de aceite a 100°C	Velocidad relativa de hidrogenación
Esteárico	0	0	1,250	0
Oleico	86	10	115	1
Linoleico	173	100	11	20
Linolénico	260	150	7	40

Para hidrogenarse, el aceite debe estar refinado y seco; un contenido de agua >0.05% a temperaturas altas, inducen la hidrólisis de los triacilglicéridos y la liberación de ácidos grasos que envenenan el níquel, además de que se concentran en el espacio superior del reactor e impiden la circulación del hidrógeno.

El H₂ debe ser puro (99.5% mínimo), estar seco y libre de gases como CO, NH₃ y CO₂ que bajan su presión parcial o envenenan el Ni. Se produce más puro por electrólisis que por la reformación del propano.

Como catalizador, los cristallitos (50-100 Å) del níquel esponjoso deben presentar una gran área superficial (p. ej., 90 m²/g); además de los agentes antes mencionados, se envenena con jabones, halógenos, fosfátidos, aire disuelto, fosfolípidos, metales, fósforo y azufre; los aldehídos y cetonas de la oxidación de los lípidos y las grasas con índice de peróxido alto (30 meq/kg) se absorben con mayor facilidad en el metal e inhiben su actividad.¹⁵

Existen otros elementos químicos (Pt, Rh y Pd) que son catalizadores, pero cuyo empleo es muy escaso por ser caros y muy sensibles al envenenamiento por Pb, As y S.⁷⁵ Se pueden usar a bajas temperaturas con un mínimo de producción de ácidos *trans*, pero generan muchos saturados.

La hidrogenación selectiva es cuando los ácidos más insaturados se convierten primero; es decir, el linolénico se transforma en linoleico antes de que éste se vuelva oleico y, a su vez, éste último se convierte en esteárico sólo después de que desaparece el linoleico (figura 4.7). En el cuadro 4.12 se comprueba el aumento del esteárico a expensas de los insaturados y la formación del elaídico para después saturarse a esteárico. Este proceso conlleva un alto grado de isomerización *cis-trans* y un mínimo en la caída del índice de yodo.⁹⁶ La selectividad se favorece con baja presión de hidrógeno en la superficie del catalizador, temperaturas altas y mayor cantidad de níquel (figura 4.8).

Por cuestiones económicas, los fabricantes prefieren la hidrogenación no selectiva debido a que se lleva a cabo más rápidamente; la mayor cantidad de los ácidos linolénico y linoleico se transforman directamente en esteárico.

Como se mencionó, en la hidrogenación ocurre la saturación, pero también, en menor grado, las isomerizaciones geométrica y posicional. La presencia de los *trans* es importante ya que se comportan (p. ej. punto de fusión) como uno saturado; por ejemplo, el linoleico es *cis-cis*, pero si uno de sus dos dobles enlaces se isomeriza a *cis-trans* o *trans-cis*, presenta un punto de fusión semejante al del oleico. La microflora natural del rumen produce ácidos *trans*,⁹² que se pueden encontrar en alimentos como la leche/mantequilla y en la carne de res,⁵² pero no en derivados de animales monogástricos, como la carne o la grasa de cerdo.⁵⁶

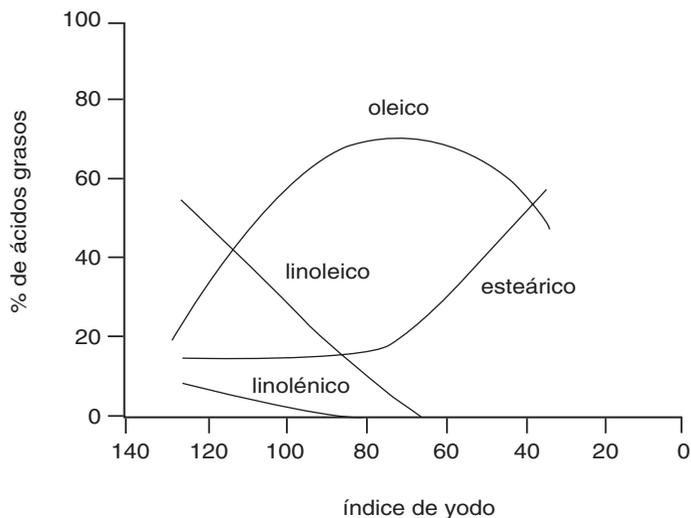


Figura 4.7 Cambios en la composición del aceite de soja durante la hidrogenación.

CUADRO 4.12 Composición de ácidos grasos en el aceite de soja⁹⁴

Ácido graso (%)	Índice de yodo				
	129	107	87	76	5
Palmítico	11	11	11	11	11
Esteárico	4	4	5	7	83
<i>cis</i> -Oleico	27	27	26	24	0
<i>trans</i> -Oleico (elaídico)	0	21	41	52	6
Linoleico	50	34	16	6	0
Linoléico	8	3	1	0	0
Punto de fusión (°C)	—	27.2	32.7	37.7	62.7

El aceite de maíz hidrogenado tiende a concentrar el ácido elaídico en la posición β ; en estado natural, ese sitio generalmente está ocupado por el linoleico, lo cual indica que en esa posición ocurre una hidrogenación (de ácido linoleico a oleico) y una isomerización (de oleico a elaídico), simultáneamente.⁸⁹

Los ácidos monoinsaturados tienen dos posibles isómeros, el *cis* o el *trans*; pero los diinsaturados pueden tener los *cis-trans*, *trans-trans*, *trans-cis* y *cis-cis*; en el caso de los triinsaturados, el número de posibles isómeros aumenta considerablemente.

Un enlace insaturado en la superficie del catalizador tiene dos caminos: se combina con el gas adsorbido para dar uno saturado, o bien se desadsorbe y regresa como *cis* o *trans* debido a reacciones de hidrogenación y de deshidrogenación.⁷² Una mayor cantidad de hidrógeno alrededor del níquel favorece la saturación, mientras que poco gas favorece la isomerización geométrica. Las altas temperaturas incrementan la velocidad de reacción, pero también remueven y reducen el hidrógeno

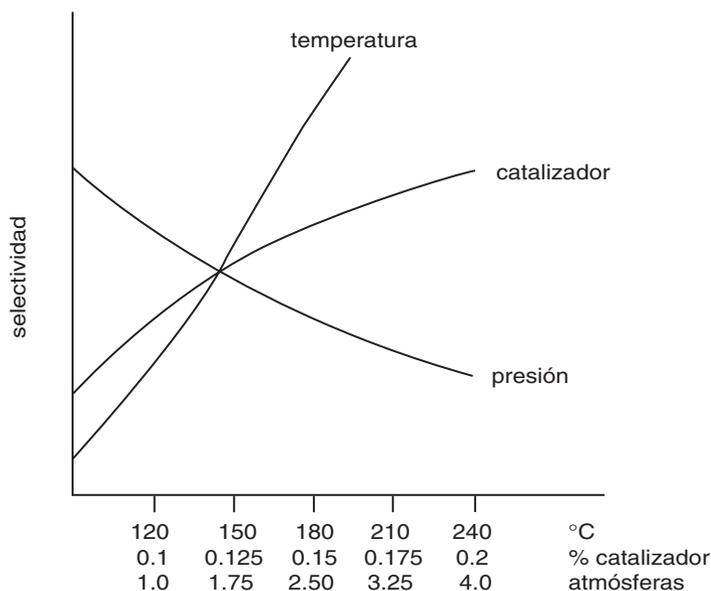


Figura 4.8 Selectividad de la hidrogenación en función de la temperatura, de la concentración de catalizador y de la presión de operación.

disponible, lo que facilita la selectividad y la formación de *trans*. Una mayor agitación mejora el contacto gas/aceite y favorece la adsorción sobre el catalizador y la saturación. Cuando los catalizadores se reutilizan o contienen azufre y están envenenados, no adsorben hidrógeno y propician la isomerización. Para evitar la formación de *trans* se recomienda emplear bajas temperaturas y un catalizador nuevo.

Las bases hidrogenadas para margarinas aumentan poco su proporción de saturados y son semisólidas debido, en gran medida, a su alto contenido de *trans*.⁸⁴ En las margarinas duras de barra (bases grasas más hidrogenadas con altos valores N) se tiene un 25-30% de dichos ácidos, mientras que las suaves untables (grasas menos hidrogenadas) presentan un 10-20%, y las mantecas vegetales un 10-35%.

El tercer efecto de la hidrogenación sobre los ácidos grasos insaturados es la isomerización posicional. Por ejemplo, el oleico tiene su doble ligadura entre los carbonos 9 y 10 pero ésta se puede correr y formar dos isómeros con los carbonos 8 y 9 o 10 y 11; a los nuevos ácidos se les designa con el prefijo *iso*, como el ácido *iso*-oleico, *iso*-linoleico, etcétera, que indica que tienen sus insaturaciones en carbonos diferentes a los normales.

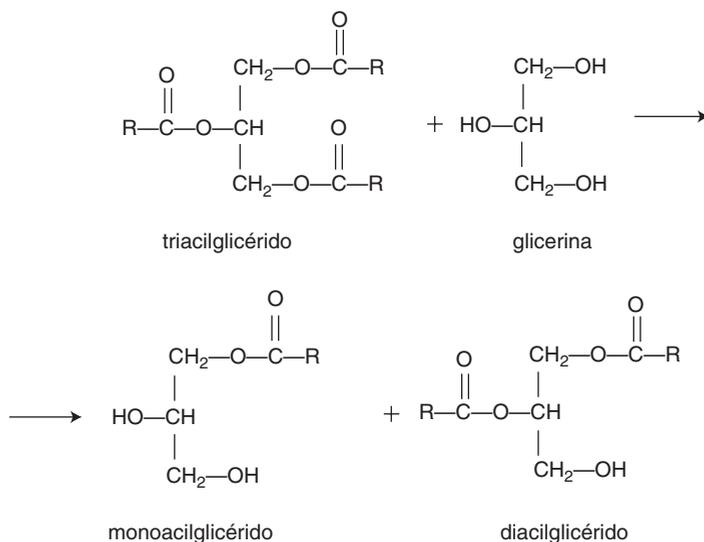
Además de los ácidos grasos, existen otros compuestos con dobles ligaduras que también se hidrogenan y se isomerizan, tal como sucede con los que tienen grupos cromóforos, como los carotenoides y las vitaminas liposolubles, principalmente la A.

Por todo lo expuesto, se concluye que las propiedades físicas (p. ej., punto de fusión, plasticidad, valores N, etcétera) de una grasa parcialmente hidrogenada dependen directamente del grado de saturación que se obtenga, así como de la concentración de sus isómeros geométricos y posicionales.

4.5.2 Interesterificación

Este proceso se desarrolló en la década de 1950 para modificar la manteca de cerdo y poder usarla en la industria de la panificación; ha tomado un papel muy importante a raíz de las implicaciones negativas en la salud del hombre por el consumo de los ácidos *trans*, generados en la hidrogenación.

La reacción de interesterificación se refiere a una movilización de los radicales acilo de los acilglicéridos y un subsiguiente reacomodo. Existen tres mecanismos de reacción: *a*) la acidólisis que se lleva a cabo entre un ácido y un éster; *b*) la alcoholólisis entre un éster y un alcohol, y se usa en la producción de mono y diacilglicéridos cuando reaccionan triacilglicéridos con glicerina; y *c*) la transesterificación efectuada entre dos ésteres, que es la más empleada para modificar las grasas y aceites. A diferencia de la hidrogenación, estas reacciones no afectan la saturación y no producen isomerizaciones; sólo propician un reacomodo de los ácidos grasos en las moléculas de los triacilglicéridos.



Fabricación de mono y diacilglicéridos

El número de combinaciones al interesterificar lípidos simples se calcula con la fórmula: $N = (X^2 + X^3)/2$, donde X = triacilglicéridos reactivos y N = triacilglicéridos interesterificados. Por ejemplo, en la interesterificación de la tripalmitina (PPP) con la trioleína (OOO), se obtienen 6 triacilglicéridos: PPP, OOO, OPP, POP, POO y OPO, ya que $N = (2^2 + 2^3)/2 = 6$; con 3 triacilglicéridos simples se producen 18 especies (figura 4.9). Estos dos ejemplos son muy sencillos y normalmente no se presentan en la industria; las grasas comerciales son mezclas muy complejas de muchos triacilglicéridos, por lo que el número de posibles intercambios y de combinaciones es enorme.

Con este procedimiento se fabrican bases grasas sin *trans* para margarinas, mantecas, etcétera. Los aceites de soya o de palma se saturan hasta obtener la estearina y así eliminar todos los ácidos insaturados; posteriormente se interesterifica con un aceite líquido refinado, y se obtiene una base grasa semisólida, sin *trans*, con propiedades físicas de plasticidad, untabilidad, punto de fusión, etcétera, muy distintas a las de su materia prima. En este caso se mezclan dos o más grasas, sin embargo, la interesterificación puede llevarse a cabo con una sola grasa, como es el caso de la manteca de cerdo.

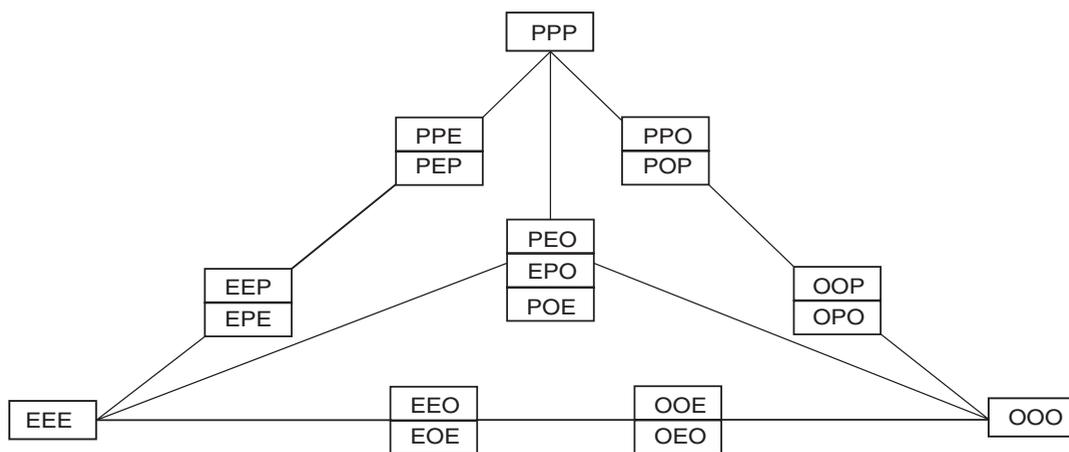


Figura 4.9 Posibles triacilglicéridos de la interesterificación de la tripalmitina (PPP), triestearina (EEE) y trioleína (OOO).

La acumulación de ácido palmítico en el C2 de la grasa de cerdo provoca la formación de cristales β de tamaño grande, los cuales causan una textura arenosa, inaceptable, conocida como granado. Estos cristales incorporan poca agua en el batido de las masas de panificación y, además, no la retienen en el horneado, lo que ocasiona un volumen pequeño del producto final; los β' son preferibles por ser de menor tamaño y no presentar estos problemas. La interesterificación se usa para lograr este cambio de patrón de cristalización, de β a β' , ya que la distribución homogénea del ácido palmítico lo favorece; el producto obtenido presenta propiedades de textura y de untuosidad que lo hacen más adecuado para ser usado en la industria de la repostería, en donde se logran volúmenes de cremado 50% mayores que con la grasa sin interesterificar.

La reacción de interesterificación es muy compleja, toma varias horas, demanda muchos cuidados y se efectúa de 60 a 200°C en presencia de metóxido de sodio (o metilato de sodio, CH_3ONa) como catalizador, aun cuando existen otros, pero con poco uso industrial como carbonatos, cloruros, hidróxidos, aleaciones de sodio y potasio.

La cantidad de metóxido (0.05-0.5%) no debe excederse, ya que puede provocar una fuerte saponificación y la formación de jabones indeseables; se inactiva con ácidos grasos libres (0.05%), peróxidos (0.5%), humedad del aire y el agua en concentraciones muy bajas (0.01%); una pequeña cantidad de esta última reacciona y lo descompone, por lo que los aceites deben estar muy refinados y muy secos.

De manera normal, la reacción produce ácidos grasos, mono y diacilglicéridos, que deben eliminarse mediante un lavado exhaustivo, ya que la presencia de los primeros favorece las reacciones de oxidación y los segundos retrasan la cristalización de las grasas obtenidas.

La interesterificación al azar ocurre al alcanzar el equilibrio establecido por la probabilidad de distribución (figura 4.10). En la práctica esto no sucede, ya que no todas las posiciones de los triacilglicéridos se reesterifican con igual facilidad: las posiciones internas de los hidroxilos secundarios lo hacen con mayor dificultad que las otras dos.²⁹

Por su parte, la interesterificación dirigida logra una distribución que se alcanza al desplazar el equilibrio de la reacción a una temperatura en la que los triacilglicéridos trisaturados cristalizan y

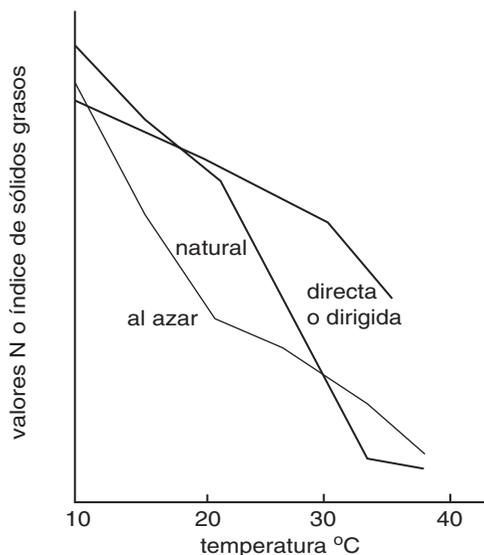


Figura 4.10 Cambios en los sólidos de la manteca de cerdo mediante diferentes interesterificaciones.⁸⁷

precipitan de la fase líquida. A su vez, esto provoca un cambio en la composición de los lípidos remanentes y disponibles para la esterificación, lo que ocasiona la formación de más trisaturados para restablecer el equilibrio. La operación continúa hasta llegar a la reducción deseada de ácidos saturados y alcanzar la composición requerida de la fase líquida. Como este proceso se lleva a cabo a baja temperatura, de 30 a 40°C, la velocidad es lenta y requiere más tiempo.

La interesterificación enzimática se efectúa entre 60 y 70°C con una lipasa en condiciones anhidras, ya que en presencia de agua se propicia la hidrólisis. La especificidad de la reacción es mayor y se controla más fácilmente, pero tiene el inconveniente de ser muy costosa y generar ácidos grasos libres y acilglicéridos. Es factible que los sustitutos de la grasa de la leche materna se elaboren utilizando una lipasa específica que actúa sobre los triacilglicéridos en las posiciones 1 y 3, direccionando la ubicación de los ácidos grasos. Los sustitutos de manteca de cacao pueden fabricarse con este método, mezclando aceites altos en ácido oleico con fracciones de palma.

4.5.3 Fraccionamiento

Es la separación de un aceite en dos o más de sus fracciones constitutivas mediante un enfriamiento controlado, que puede o no efectuarse con disolventes (acetona, hexano, etcétera) o con agentes tensoactivos (jabones y detergentes).⁴⁹ En el cuadro 4.7 se observa que los triacilglicéridos de la palma se agrupan, en este caso, en seis fracciones con distintos puntos de fusión y, por ende, con diferentes propiedades. La hibernación (sección 4.4.5) es un tipo de fraccionamiento que se emplea para eliminar pequeñas cantidades de triacilglicéridos y ceras que solidifican a baja temperatura.

El proceso de fraccionamiento consiste en: *a*) enfriamiento controlado del aceite decolorado para producir una nucleación; *b*) reposo para permitir el crecimiento de los cristales; y *c*) separación por filtración o centrifugación en frío, lo que se facilita si los cristales son grandes.

El fraccionamiento húmedo (con disolventes) es más efectivo que el seco, pero implica una mayor inversión en equipos y en controles. Las fracciones obtenidas de esta manera tienen diversos usos en la industria de alimentos; por ejemplo, la separación del aceite de palma genera la “estearina” de alto punto de fusión y la “oleína”, que es un excelente aceite para freír, mientras que una fracción del palmiste se emplea como sustituto de la manteca de cacao.

4.6 SISTEMAS GRASOS EN ALIMENTOS

Las grasas y los aceites se emplean ampliamente para elaborar diversos alimentos, muchos de los cuales generalmente se encuentran como emulsiones; a continuación se revisan algunos aspectos de los sistemas grasos más importantes.

4.6.1 Margarina

Ésta se desarrolló en 1860 como una respuesta a la escasez de mantequilla y a la necesidad de tener alimentos con una mayor duración, según los requerimientos de Napoleón III. Sin embargo, no fue sino hasta principios del siglo xx, con la introducción de la hidrogenación y posteriormente con la interesterificación y el fraccionamiento, que se sentaron las bases para su fabricación, como actualmente la conocemos.³

La margarina es una emulsión de agua en aceite en una relación aproximada de 20:80, aun cuando en la actualidad hay productos que tienen mucho menos grasa y que están estabilizados por los emulsificantes añadidos. Existe un gran número de ellas, tanto de mesa (tinajas o barras) como las industriales; estas últimas son más especializadas y se emplean en repostería, panificación, pastelería, etcétera. De acuerdo con su uso, cada una de ellas requiere distintas funcionalidades, como untuosidad, firmeza, valores N, plasticidad, aireación, patrón de fusión, etcétera, aun cuando todas se elaboren bajo el mismo principio: la cristalización de una preemulsión, en la que la fase dispersa de gotitas de agua con todos sus ingredientes queda atrapada en una matriz cristalina de triacilglicéridos a manera de esponja.

Las diferencias de funcionalidad se logran mediante el diseño y el control de las formulaciones de los aceites y de la fase acuosa, de las condiciones de cristalización y del almacenamiento posterior de la margarina, en donde se termina propiamente la cristalización.

Para la fase grasa se emplean mezclas de aceites, tanto hidrogenados como sin hidrogenar. El perfil de sólidos grasos expresados como valores N o ISG y el punto de fusión de los primeros dependerá del tipo de margarina a fabricar: más duros o hidrogenados para margarinas más duras. Como se mencionó, cada grasa tiene un hábito y una velocidad de cristalización, y son factores que deben tomarse en cuenta al momento de seleccionar la materia prima y diseñar el proceso. La interesterificación permite tener bases grasas sin *trans*. Los emulsificantes más importantes son monoacilglicéridos de bajo índice de yodo y la lecitina; cuando la margarina se usa en batidos y para tener una mayor aireación, también se añaden poligliceroles, polisorbatos y derivados del propileno glicol. El achiote y el β -caroteno son los pigmentos más empleados, y el TBHQ es el antioxidante generalmente in-

corporado por el fabricante del aceite. Los saborizantes dependen del uso; para las margarinas de mesa se emplean los tradicionales que recuerdan la mantequilla, mientras que las de panificación demandan los que resistan las altas temperaturas del horneado para que permanezcan en el producto final.

Por su parte, en la fase acuosa se incluye la sal común, los conservadores (ácidos benzoico y sórbico, y sus sales de sodio y potasio), y los acidulantes (ácido cítrico) para alcanzar un pH de 4.5.

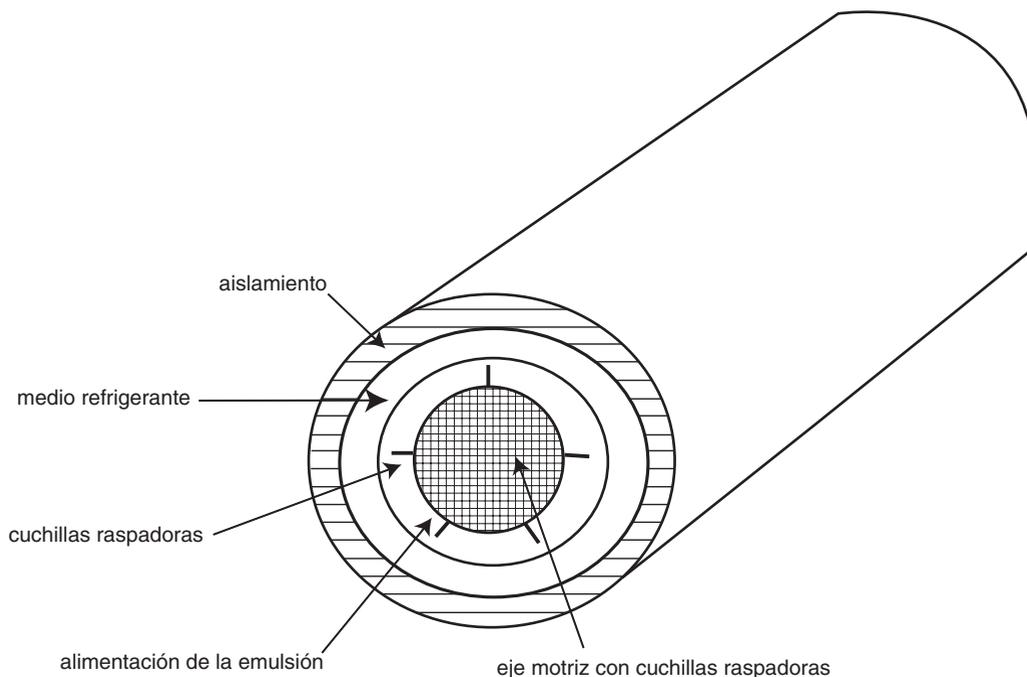


Figura 4.11 Unidad A para fabricación de margarinas.

La mezcla de las fases grasa y acuosa, 5 a 7°C por arriba del punto de fusión, se alimenta a un intercambiador de calor tubular de superficie raspada llamado "unidad A", cuyas dimensiones dependen del volumen de producción (2-3 m de longitud y 15-30 cm de diámetro), en donde da inicio la cristalización; el líquido se solidifica al contacto con la pared fría externa y es raspado constantemente por las cuchillas insertadas en la flecha central de velocidad variable (figura 4.11). En esta primera etapa se forman cristales α inestables, no adecuados para una margarina; para alcanzar los β' más estables, de textura suave y fácilmente cremados, el producto saliente de la unidad A entra a unos tubos de reposo, semejantes a los anteriores pero sin raspado, llamados unidad B o C; aquí ocurre una transformación exotérmica en la que se establece la red cristalina deseada y en la cual queda atrapado el aceite líquido y el agua. El aceite de palma cristaliza más lentamente que otros, por lo que su empleo en margarinas implica reducir la velocidad en las líneas de producción para dar tiempo a que se efectúe dicha cristalización.

Para evitar una subsiguiente conversión de los β' en β , el producto final debe manejarse en refrigeración (5 a 10°C) todo el tiempo y evitar los cambios bruscos de temperatura que favorecen la recrystalización.

Como ya se mencionó, la tendencia natural de la soya es cristalizar en β (cristales grandes que producen granulosidad), por tener pocos ácidos grasos; esto cambia con la hidrogenación, ya que se produce una gama muy amplia de otros ácidos que provoca la formación de cristales en β' .

4.6.2 Mantecas vegetales

Estos productos, también llamados *shortenings*, se emplean en la panificación, para tortillas de harina de trigo, en el freído de alimentos, etcétera, y están enfocados, en general, para el uso industrial. No contienen agua y su formulación es a base de grasas hidrogenadas que pueden o no estar interesterificadas, con las cuales se diseñan sus propiedades funcionales y sus valores N. Al no ser una emulsión los emulsificantes añadidos no actúan directamente en la manteca sino que su efecto se nota al momento de su uso en la panificación, en el freído, etcétera. La unidad A se utiliza para la cristalización y es ahí donde se le incorpora nitrógeno o aire para que tenga una apariencia blanca.

4.6.3 Mantequilla

Es una emulsión de agua en aceite (16:84) que se obtiene por la inversión de fases de la crema de leche (emulsión de aceite en agua) y estabilizada por las proteínas lácteas. La leche recién obtenida de la vaca se centrifuga para estandarizar su contenido de grasa y el excedente de ésta se usa para la fabricación de mantequilla; primero se pasteuriza y después se procede al batido (llamado malaxado), en el que se rompen los glóbulos de grasa que están rodeados por una membrana rica en lipoproteínas. Este colapsamiento provoca la unión y la formación de una fase continua de grasa en la que se dispersa el agua en pequeñas gotas. La crema puede o no inocularse con microorganismos lácticos para la generación de aroma y sabor. Para obtener el mayor rendimiento en el batido, la crema debe tener una relación adecuada de grasas sólida y líquida, por lo cual es importante un ligero enfriamiento previo. Una característica típica de la mantequilla es su dureza y poca untabilidad a temperaturas de refrigeración.

4.6.4 Grasas para alimentos infantiles

Debido a las limitaciones de algunas madres para amamantar al infante, se han desarrollado grasas que se emplean en la fabricación industrial de productos que sustituyen la leche materna; estas grasas deben cumplir algunos requerimientos nutricionales en términos de su composición de ácidos grasos: C12, 5-7%; C14, 4-6%; C16, 30-35%; C18:0, <12%; C18:1, >30%; C18:2, 12-16%; C18:3, 0.5-2%.

Estas restricciones se cumplen al mezclar distintos aceites, como por ejemplo, una alta proporción de oleína de palma y de coco con poca soya (por su alto contenido de ácido linolénico). Si la composición de los ácidos grasos de las materias primas es conocida y el perfil de dichos ácidos está definido en el producto final, una programación lineal es suficiente para llevar a cabo el cálculo de las proporciones requeridas.

4.6.5 Helados

Estos productos contienen muchos de los nutrimentos deseados en un buen alimento; su fórmula parte de una mezcla de sólidos de leche (fluida, en polvo, condensada, suero, etcétera), grasas y azúcares,

a la cual se le añaden emulsificantes, estabilizantes, colorantes y saborizantes. La grasa, que puede ser láctea, de aceites vegetales hidrogenados o de ambos, representa hasta 12% de la formulación y desempeña una función primordial en la textura del helado.

Los ingredientes se mezclan y se pasteurizan preferentemente usando sistemas UHT (*ultra high temperature*) que no alteran el sabor, para después mantenerlos algunas horas en tanques de “maduración”. El siguiente paso es el congelamiento rápido para favorecer la formación de un gran número de cristales de hielo muy pequeños que confieren cremosidad y no se perciben en la boca; el 50% del agua se congela y sale del equipo a -8°C que al mismo tiempo le adiciona aire de un 40 a un 100%, lo que representa un paso decisivo en la fabricación, ya que sin éste se produciría una mezcla láctea congelada y no un helado. Después de este congelamiento parcial, se introduce en cámaras (-30°C) en donde se lleva a cabo el congelamiento total del agua restante.

La estructura del helado se vuelve muy compleja con la presencia del gas; es una espuma sólida de células de aire cubiertas por la grasa emulsificada junto con una red de microcristales de hielo que a su vez están rodeados de un líquido acuoso en forma de sol. La textura depende de muchos factores: contenidos de grasa y de derivados lácteos, aditivos añadidos, tratamientos térmicos, homogeneización, velocidad de congelación, cantidad de aire añadida, etcétera.

4.6.6 Mayonesa y aderezos

A diferencia de la margarina y de la mantequilla, la mayonesa es una emulsión de aceite en agua, a pesar de contener una alta proporción de aceite (hasta 80%). La estabilización de esta gran cantidad de fase lipídica discontinua en tan poca fase acuosa continua demanda muchos cuidados en la formulación, en la emulsificación y en las condiciones de procesamiento. La emulsión se logra empleando un 7-8% de yema de huevo y un 0.5-1.0% de harina de mostaza. En el caso de la yema, su contenido de lecitina funciona como un potente agente emulsificante, aun cuando su colesterol tiene un efecto opuesto e inhibitorio. La mostaza finamente molida ayuda al establecimiento de una película interfacial que mantiene la emulsión. Otros ingredientes que pueden utilizarse son vinagre en un 10-12% y sal en un 1-2%, los cuales se disuelven en muy poca agua, aproximadamente un 4-7%, además de especias.

En el caso de los aderezos, el aceite se sustituye parcialmente por almidones modificados (entrecruzados) que resisten la alta acidez del producto ($\text{pH} < 4.0$) y los esfuerzos mecánicos a los que se somete durante la fabricación; el almidón cumple con la función de mantener las grandes partículas de aceite dispersas y evita que éstas se junten y colapsen.

El aceite de soya, siendo el principal componente de los aderezos y mayonesas, requiere cumplir ciertas especificaciones: prueba de frío > 5 horas (tiene que ser hibernado), índice de peróxido < 2.0 meq/kg, ácidos grasos libres $< 0.05\%$, expresado como ácido oleico, y una prueba a la oxidación Rancimat o AOM adecuados. La fabricación puede ser continua o por lotes; en el segundo caso, los ingredientes (el aceite a $< 8^{\circ}\text{C}$) se mezclan en un tanque en donde se forma la preemulsión inestable, que se alimenta al molino coloidal cuya velocidad y apertura determinan la textura y la estabilidad del producto final.

En el mercado existe yema de huevo enzimáticamente modificada por una fosfolipasa que actúa sobre los fosfolípidos, y que transforma la lecitina en lisolecitina; ésta tiene un poder emulsificante superior a la lecitina normal y proporciona una mayor estabilidad a la mayonesa en climas calurosos. También existe una yema reducida en colesterol que se obtiene por el control de la alimentación de las aves.

4.6.7 Sustitutos de la manteca de cacao

Originario de México, el cacao tiene fluctuaciones continuas de disponibilidad y de precio, lo que ha ocasionado el desarrollo de diversos sustitutos de su manteca para satisfacer la demanda en la fabricación de chocolates. Estos productos se usan en mezclas con la propia manteca de cacao, o pueden desplazarla por completo. Para una total compatibilidad deben presentar curvas de valores N, semejantes a la grasa de cacao que, como se indicó antes, está constituida fundamentalmente por triacilglicéridos de palmítico-oleico-palmítico, esteárico-oleico-palmítico y esteárico-oleico-esteárico; de otra manera, se producen mezclas eutécticas con puntos de fusión inferiores a los de la propia manteca de cacao.

De preferencia, el patrón de fusión del sustituto debe mostrar un comportamiento semejante al indicado en la figura 4.4 para no dejar la sensación de cerosidad en la boca. Los sustitutos obtenidos del fraccionamiento de la soya hidrogenada con un alto contenido de ácidos *trans* no son compatibles y no pueden usarse en mezclas; algunos otros son derivados del coco y del palmiste hidrogenados, interesterificados y fraccionados, y tienen un perfil más parecido al de la manteca de cacao, por lo que son compatibles al combinarse.

4.6.8 Freído

El aceite se usa como medio de calentamiento de alimentos desde hace muchos siglos; sin embargo, fue hasta hace algunas décadas que se describieron los complicados cambios físicos y químicos que ocurren durante este proceso. Influyen muchas variables, pero todas se incluyen en alguna de las distintas interacciones que se presentan entre los tres componentes básicos del freído: aceite-alimento-freidor. Por obvias razones, su conocimiento, control y optimización son de primordial importancia en la industria.⁸

El cocimiento en agua a presión atmosférica se efectúa a 100°C como máximo; sin embargo, el freído varía de 160-180°C, aun cuando se pueden alcanzar 200°C, condiciones que propician reacciones en las que también participa el contenido de aceite/grasa del alimento que se fríe, como el de las carnes.

En el freído ocurre un gran número de transformaciones (figura 4.12). Las altas temperaturas provocan la deshidratación de los alimentos, parcial en el caso de carnes y casi total en el de botanas, lo que ocasiona la absorción de aceite en los espacios que deja el agua (en las papas llega hasta un 40%). El vapor generado favorece la hidrólisis de los triacilglicéridos y la liberación de ácidos grasos, de mono y diacilglicéridos y de glicerina; si el aceite es láurico (coco, palmiste), se generan jabones y si los ácidos libres son de cadena larga, actúan como espumantes y solubilizan los metales, facilitando la oxidación de los insaturados. Con la inclusión de oxígeno por efecto de la aireación se forman hidroperóxidos muy reactivos que provocan la síntesis de aldehídos, cetonas, ácidos, etcétera, con olores característicos de rancidez. El aceite, al ser un disolvente no polar, extrae los pigmentos y las vitaminas liposolubles y los vuelve más sensibles al calor y al oxígeno. Todos estos cambios se reflejan en un incremento de la viscosidad y de los ácidos grasos libres, de generación de colores oscuros y de espuma, de reducción del índice de yodo, etcétera.

Por esto, el aceite empleado debe cumplir ciertas especificaciones para evitar su rápido deterioro, como por ejemplo: índice de yodo <100; índice de peróxido <1.0; ácidos grasos libres <0.05%; mínimo 20 horas de AOM; punto de humeo 200°C, etcétera.

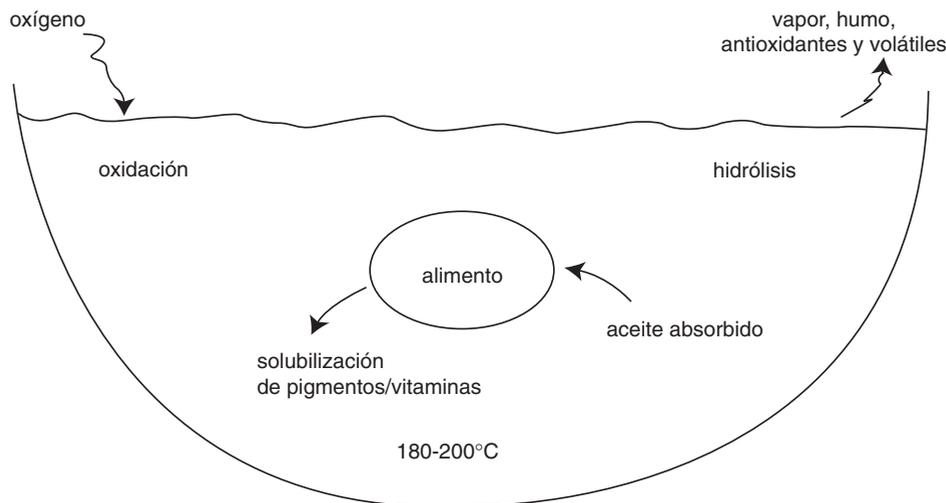


Figura 4.12 Cambios durante el freído.

De acuerdo con la composición del alimento se presentan otros cambios: gelatinización de almidones, reacciones de Maillard y de caramelización, etcétera. El exceso de agua en el alimento debe evitarse; los productos capeados, con alto contenido de hidratos de carbono favorecen la degradación del aceite; además, en la formulación de algunos capeadores comerciales se incluyen bicarbonatos de sodio o potasio que propician la hidrólisis de los triacilglicéridos y la formación de jabones. Los vegetales contienen cobre, manganeso y hierro en menos de 1 ppm, los cuales aceleran la oxidación; del mismo modo, los sulfitos (para evitar el oscurecimiento enzimático y no enzimático) provocan reacciones de decoloración y olores desagradables.

El diseño del freidor es el tercer elemento que influye para lograr una buena operación industrial. El acero inoxidable es lo ideal, y tiene que ser lo más hermético posible para evitar la luz y el oxígeno, así como tener una relación mínima superficie/volumen; las bombas de recirculación de aceite no deben provocar turbulencia e inclusión de oxígeno. Un programa permanente de limpieza es necesario para evitar la acumulación de polímeros que a su vez propician más oxidación.

En el mercado existen los llamados aceites de alta estabilidad, específicos para resistir condiciones drásticas de operación industrial. Su fabricación parte de un aceite parcialmente hidrogenado para reducir los poliinsaturados, y después se eliminan los triacilglicéridos de alto punto de fusión mediante un fraccionamiento seco. Es claro que a mayor hidrogenación mejor estabilidad, pero también menor rendimiento. Estos aceites suelen contener tocoferoles y tocotrienoles que contribuyen a su estabilidad oxidativa, sobre todo al de la soya.

4.7

DETERIORO DE LOS LÍPIDOS

Los aceites sufren transformaciones químicas, conocidas comúnmente como rancidez, que además de reducir su valor nutritivo, producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagra-

dables; estas transformaciones se han dividido en dos grupos: la lipólisis o rancidez hidrolítica y la autooxidación o rancidez oxidativa; sin embargo, existe una tercera, la reversión, que tiene menor relevancia que las dos anteriores.

4.7.1 Lipólisis

Esta reacción es catalizada por lipasas y, en ciertas condiciones, por las altas temperaturas en presencia de agua (en el freído), en la que se hidroliza el enlace éster de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos, y se liberan ácidos grasos.²⁸ En forma natural, en los granos crudos existe una fuerte actividad lipásica, cuya función biológica es aprovechar los lípidos para suministrar nutrimentos y fortalecer la germinación; en el primer paso de la extracción del aceite de soya se trituran los granos y con eso se favorece la acción de las enzimas; los ácidos deben eliminarse en la neutralización, ya que de otra manera provocan muchos problemas por ser más sensibles a la autooxidación que en forma esterificada. La lipólisis no sólo ocurre en las oleaginosas, sino también en los lácteos y en muchos otros alimentos, incluso en la carne⁸³ y el pescado.⁸¹

En el caso de aceites vegetales (soya, cacahuete, maíz, etcétera), los ácidos libres son de más de 16 carbonos, poco volátiles, sin olor y su presencia sólo se advierte mediante el índice de acidez; por otra parte, los de la leche, son de cadena corta (butírico, caproico, caprílico y láurico), más volátiles, con olores peculiares y responsables del deterioro percibido olfativamente; la lipasa se asocia con las miscelas de caseína y en la homogeneización se pone en contacto con los glóbulos de grasa, de manera que si no se pasteuriza o esteriliza inmediatamente, se favorece su acción.

Contrario a esta situación negativa en la leche fluida, en ciertos derivados lácteos como algunos quesos maduros y de fuerte aroma, es totalmente deseable y hasta se añaden enzimas microbianas o microorganismos con intensa actividad lipolítica.

Los ácidos liberados son solubles en grasas, y los de menor peso molecular lo son en agua. Al pH 6.7 de la leche, los hidrosolubles se encuentran como sales debido a su pK de 4.8. Los olores provenientes de las sales son menos intensos que los de los ácidos libres; en la mantequilla, con un elevado contenido de grasa, hay menos transferencia de ácidos libres a la fase acuosa, no se producen sales y, por lo tanto, el olor es más intenso. El umbral de detección olfativa se reduce con el tamaño de la cadena; el butírico se percibe en concentración de 0.00006%, mientras que el caproico, el caprílico, el cáprico y el láurico en 0.00025%, 0.035%, 0.020% y 0.07%, respectivamente.

A diferencia de otras reacciones enzimáticas, esta se efectúa con una baja actividad del agua, como la que se encuentra en la harina de trigo y en los propios aceites crudos o refinados; esto se debe a que los triacilglicéridos líquidos tienen una gran movilidad y favorecen su contacto con la lipasa. Muchos hongos y levaduras contaminantes de los alimentos, dado su sistema enzimático, llegan a ocasionar severos problemas de lipólisis.

4.7.2 Autooxidación

Es el deterioro más común de las grasas y aceites y se refiere a la oxidación de los ácidos grasos insaturados, pero también se presenta con otros compuestos de interés biológico, como la vitamina A y los carotenoides. La oxidación ocurre cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de la reducción.

En la autooxidación se generan compuestos que mantienen y aceleran la reacción y se sintetizan sustancias de bajo peso molecular que confieren el olor típico de grasa oxidada. Esta reacción se fa-

vorece con el incremento del índice de yodo, como se ha visto con el esteárico, oleico, linoleico y linoléico, que absorben oxígeno con el patrón mostrado en el cuadro 4.11; esto indica que los más insaturados necesitan menos tiempo para absorber la misma cantidad de gas y, por consiguiente, se oxidan más rápido. Ya que los fosfolípidos son ricos en poliinsaturados, la oxidación se inicia en esta fracción, como se ha comprobado en la carne.^{4, 31}

Los agentes promotores e inhibidores de la oxidación se enlistan en el cuadro 4.13; la reacción también depende de la distribución de los lípidos en el alimento, así como de su área de exposición. En las emulsiones agua/aceite (margarina), la fase continua está en contacto con el aire y es más propensa a la oxidación que en una emulsión aceite/agua (mayonesa), en la que la fase acuosa protege al aceite debido a que el oxígeno debe atravesar la zona polar. En muchos tejidos, los lípidos están protegidos de la oxidación por la separación física del oxígeno y de los promotores (p. ej., la lipoxidasa), como ocurre en las nueces y los cacahuates, ya que una vez rota dicha barrera, la oxidación procede rápidamente.²³

La reacción requiere de una energía de activación (E_a) de 20-30 kcal/mol, mientras que la de Maillard, de 25-50 kcal/mol; esto indica que a bajas temperaturas, por ejemplo a 20°C, la autooxidación es más importante. Algunos derivados carbonilos reductores provenientes del oscurecimiento no enzimático tienen actividad de antioxidante, como se observa al tostar el cacahuate y su aceite expuesto al oxígeno queda parcialmente protegido por dichos compuestos.⁵

Aunque la E_a es baja, necesita de catalizadores (cuadro 4.13), ya que el O_2 en estado normal de triplete (electrones externos con *spin* igual) es poco electrófilo y no actúa en los dobles enlaces; sin embargo, cuando los *spin* son diferentes hay una repulsión, el oxígeno se excita y se vuelve electrófilo con una configuración de singulete que se une a los ácidos insaturados que están como singuletes. La clorofila, las hemoproteínas y algunos colorantes actúan como fotosintetizadores y facilitan la conversión del triplete del oxígeno al singulete.

La velocidad se duplica por cada 15°C de incremento; sin embargo, ocurre aun en frío en productos en donde los promotores estén muy activos o en aquellos cuya monocapa de agua se haya eliminado; el secado remueve el agua, dejando canales por donde el oxígeno migra, además de que los glóbulos de grasa se rompen e incrementan su área de exposición.

Para alcanzar el mismo grado de oxidación se requiere, en ppm, 0.05 de Cu, 0.6 de Fe, 0.9 de Mn o 50 de Al. El primero es más específico para grasas lácteas, y el segundo para aceites vegetales. Los ácidos grasos libres y el pH ácido solubilizan estos iones y facilitan un mayor contacto con el lípido.

CUADRO 4.13 Factores que influyen en la oxidación de lípidos

Promotores	Inhibidores
Temperaturas altas	Refrigeración
Metales, Cu, Fe, etcétera	Secuestradores
Peróxidos de grasas oxidadas	Antioxidantes
Lipoxidasa	Escaldado
Presión de oxígeno	Gas inerte o vacío
Luz UV, azul	Empaque opaco
Poliinsaturación	Hidrogenación de ácidos insaturados

La influencia de la actividad del agua se observa en la figura 1.7: a 0.25, la capa monomolecular es una barrera para el O_2 , pero al perderse (<0.25), la oxidación se acelera; entre 0.4 y 0.8 se favorece por el incremento de la movilidad y la solubilización de los reactivos y metales, y por la exposición de nuevas áreas al aumentar el volumen por la hidratación. Por último, a >0.8 , la oxidación se inhibe por la dilución de los metales y, en ciertos casos, por su precipitación como hidróxidos.

Las grasas oxidadas favorecen la reacción, por lo que no es conveniente mezclarlas con grasas frescas. La oxidación de los sulfitos usados como aditivos provoca, a su vez, la oxidación de las grasas.^{51, 57} Algunas fracciones de la soya, derivadas de monoacilglicéridos y de los tocoferoles, son particularmente sensibles.^{12, 64}

Su mecanismo de propagación es mediante radicales libres, y para efectos didácticos se considera que procede en 3 etapas (cuadro 4.14): iniciación, propagación y terminación. Para simplificar se usan sistemas modelo de un sólo ácido, como el linoleico (figura 4.13).^{47, 50} El metileno C11 del grupo 1,4-pentadieno tiene sus dos hidrógenos activados por la influencia de los dobles enlaces adyacentes; esto hace que un fotón produzca un radical ácido graso (R^\bullet) al actuar sobre uno de los hidrógenos. Por su distribución electrónica inestable, (I) se transforma en dos híbridos de resonancia conjugados más estables (II) y (III) en equilibrio que, en presencia de oxígeno, generan los correspondientes radicales hidroperóxidos (ROO^\bullet ; IV y V); éstos, a su vez, interactúan con un ácido insaturado (RH) y producen dos hidroperóxidos ($ROOH$; VI y VII), además de regenerar (R^\bullet) que vuelve a entrar a la reacción.

Por ser monoinsaturado, la oxidación del oleico necesita más energía, y los radicales se generan por la extracción de un hidrógeno del C8 o C11, que inmediatamente establece dos híbridos resonantes; la secuencia de reacciones es semejante a la descrita para el linoleico. Por su naturaleza altamente insaturada, el linolénico requiere muy poca energía.

Los hidroperóxidos son reactivos, producen nuevos radicales que alimentan la reacción, interaccionan con otras moléculas, se polimerizan e incrementan la viscosidad, se oxidan, sintetizan epóxidos, su ruptura genera aldehídos, cetonas, ácidos y otros compuestos de bajo peso molecular que confieren olores, se deshidratan y sintetizan cetoglicéridos, se ciclan, etcétera; en la figura 4.14 se observa que el índice de peróxido puede ir declinando, sin embargo, la viscosidad aumenta, así como la degradación y la generación de compuestos oloríficos. Por esta razón, el índice de peróxidos no necesariamente refleja el grado de oxidación de una grasa; depende del momento en que se determina.

CUADRO 4.14 Mecanismo de oxidación de lípidos

Iniciación	RH	→	$R^\bullet + H^\bullet$	Radical libre
Propagación	$R^\bullet + O_2$	→	ROO^\bullet	Radical hidroperóxido
	$ROO^\bullet + RH$	→	$R^\bullet + ROOH$	Hidroperóxido
Terminación	$R^\bullet + R^\bullet$	→	RR	Compuestos muy estables
	$R^\bullet + ROO^\bullet$	→	ROOR	
	$ROO^\bullet + ROO^\bullet +$	→	$ROOR + O_2$	
	$RO^\bullet + R^\bullet$	→	ROR	
	$2RO^\bullet + 2ROO^\bullet$	→	$2ROOR + O_2$	

RH: Ácido graso insaturado.

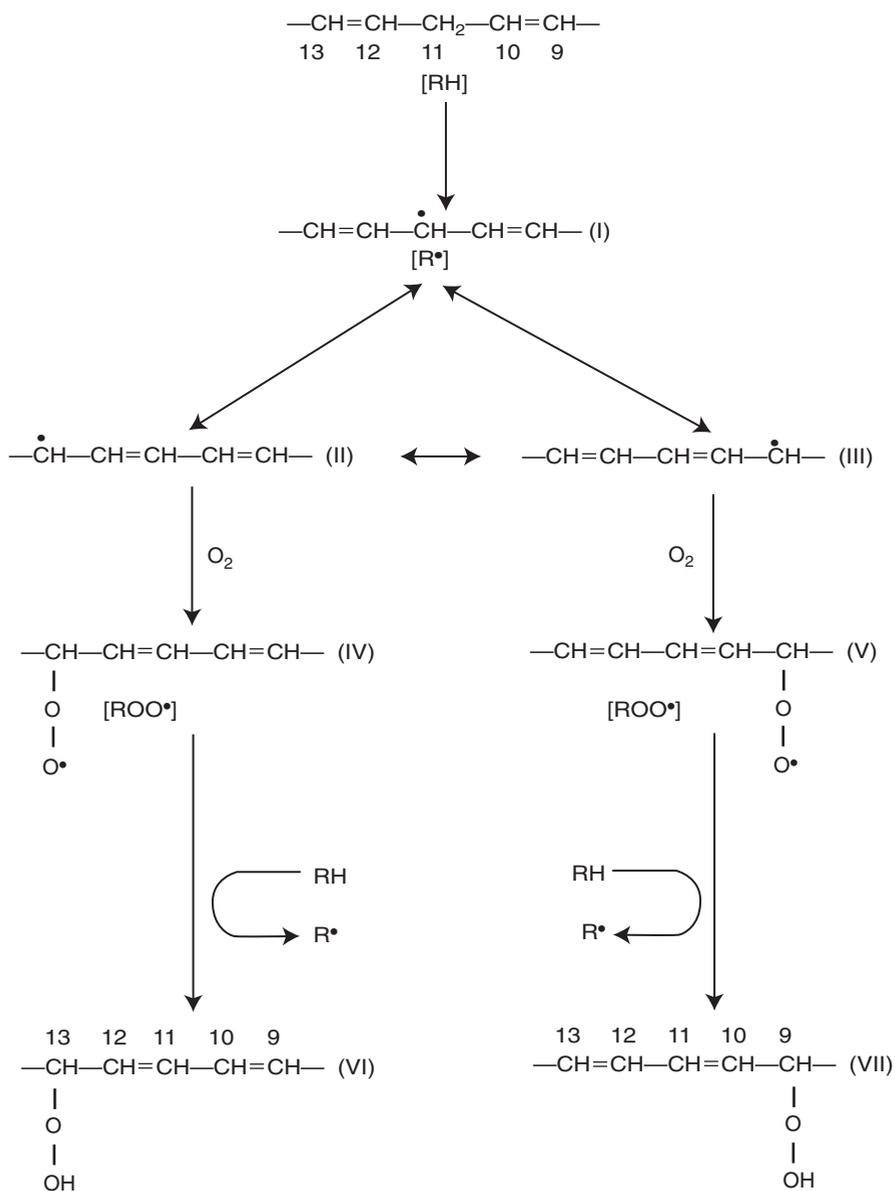


Figura 4.13 Mecanismo de oxidación del ácido linoleico.

En los hidroperóxidos del oleico se rompe la unión O-O y se sintetiza el radical alcoxi correspondiente, para después escindir el enlace C-C en dos posiciones, a la derecha y a la izquierda, lo que produce una gama enorme de compuestos de bajo peso molecular (cuadro 4.15).

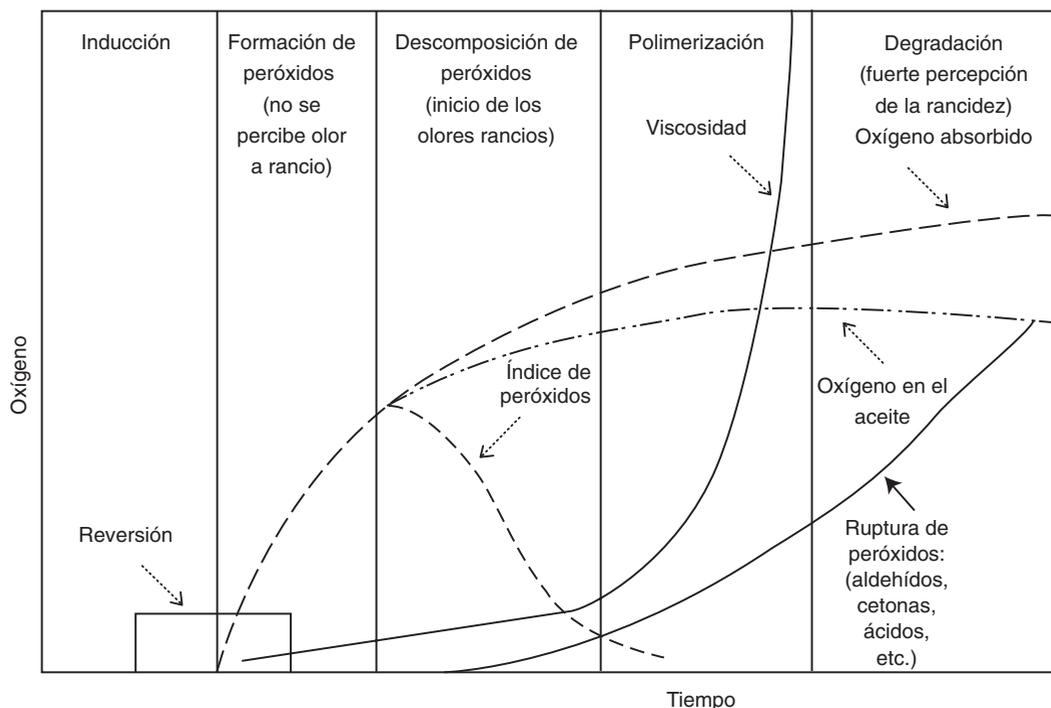


Figura 4.14 Desarrollo de la oxidación de los aceites.

CUADRO 4.15 Compuestos formados por la ruptura de los hidroperóxidos del ácido oleico

<i>Hidroperóxido</i>	<i>Aldehído</i>	<i>Ácido</i>	<i>Hidrocarburo</i>	<i>Cetoácido</i>
8	2-Undecenal	Heptanoico	Decano	8-Cetooctanoico
9	2-Decenal	Octanoico	Nonano	9-Cetononanoico
10	Nonanal	Nonanoico	Octano	10-Ceto-8-decanoico
11	Octanal	Decanoico	Heptano	11-Ceto-9-undecenoico

Esta situación se complica mucho para los hidroperóxidos del linoleico y aun más para los del linoléico.²⁷ El hexanal y el dialdehído malónico (OHCC_2CHO) producidos se usan para medir el grado de la autoxidación.^{9, 20, 36} El primero se percibe sensorialmente a bajas concentraciones (3 ppm) en las papas fritas y su medición cromatográfica en el espacio de cabeza indica la rancidez.²¹ Existe una relación lineal entre la oxidación y su concentración.⁸² Por su parte, la determinación del dialdehído malónico es parte del método del TBA (sección 4.8.3). En términos generales, basta con que sólo 5 a 10% de la grasa insaturada de un alimento se oxide para que el producto se vuelva inaceptable.

Los hidroperóxidos reaccionan con los aminoácidos; la histamina se produce a partir de la histidina, la metionina se oxida a su correspondiente sulfóxido, etcétera.⁶² Esto provoca desnaturaliza-

ción, agregación, fragmentación y polimerización de las proteínas, lo que se refleja en sus propiedades funcionales, en la hidrofobicidad y en la solubilidad, como se ha visto con la caseína y el linoleico ^{41, 44} y en el pescado.⁸⁵ La polimerización se efectúa por enlaces con los grupos amino de la lisina, mediante el dialdehído malónico o por radicales libres de las proteínas, producidos, a su vez, por radicales de las grasas.^{26, 53} El radical ácido R^\bullet no rompe el enlace disulfuro, pero sí genera radicales proteínas P^\bullet con un sulfhidrilo libre; éstos siguen diversas rutas que dependen de la temperatura, del oxígeno, de los reactivos, etcétera, y al igual que R^\bullet , tiene muchas posibilidades, como reaccionar consigo mismo y producir un polímero $P^\bullet-P^\bullet$, o propagar el deterioro, como se ha visto en alimentos deshidratados, en los de humedad intermedia,^{25, 42} y en las carnes descongeladas.^{14, 43, 79}

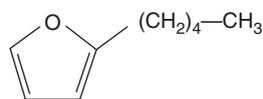
La oxidación del colesterol produce más de 70 compuestos, como ocurre con el huevo en polvo expuesto al aire,^{65, 67} pero también se altera por efecto de la luz fluorescente cuyo daño depende de la longitud de onda, del tiempo de exposición, de la temperatura, de la distancia a la fuente luminosa, de los contenidos de cloruro de sodio y de β -caroteno y de otros factores.⁵⁸

Además de la autooxidación, los ácidos grasos saturados o insaturados se descomponen a temperaturas elevadas en presencia o en ausencia de oxígeno. Con los saturados implica la formación de monohidroxiperóxidos, cuya ruptura produce sustancias de peso molecular bajo, responsables de olores característicos, algunos semejantes a los de las reacciones de oxidación; calentarlos a más de 200°C en ausencia de oxígeno, provoca la escisión de los ésteres y la formación de cetonas, hidrocarburos, aldehídos, acroleína, monóxido y dióxido de carbono, etcétera.¹³

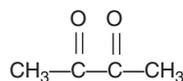
4.7.3 Reversión

Este tipo de deterioro se presenta con menor frecuencia y en ciertos aceites refinados con ácido linoléico, como el de soya, que producen olores indeseables en el almacenamiento mediante un mecanismo que no se conoce totalmente; los olores recuerdan primero las hierbas y algunas semillas, y posteriormente, la pintura y el pescado.

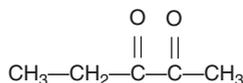
La reacción ocurre aun en aceites con índice de peróxido muy bajo, menores de 10 meq/kg, y puede ser el inicio de la autooxidación (figura 4.14). En el espacio de cabeza de aceites revertidos se han identificado aldehídos y cetonas, como 2-pentilfurano, diacetilo, 2,3-pentandiona, 3-hexenal y muchos otros, que se perciben antes de que aparezcan los olores característicos de la oxidación.



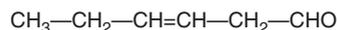
2-pentilfurano



diacetilo



2,3-pentandiona



3-hexenal

A pesar de que se desconocen los detalles de la reacción, las temperaturas altas, las radiaciones electromagnéticas 325-460 nm y algunos metales, la favorecen; se requiere de pequeñas cantidades de oxígeno ya que los aceites envasados con un gas inerte o al vacío no la desarrollan; el uso de los antioxidantes fenólicos no la previene.

4.7.4 Radiólisis

La irradiación de los alimentos, como método de conservación, ha adquirido gran relevancia en los últimos años. Al igual que sucede con los tratamientos térmicos, en la irradiación ocurren cambios en las grasas, algunos del tipo oxidativo como los anteriormente expuestos, pero otros particulares debidos al efecto de las dosis comercialmente usadas y que van desde 1 hasta 50 kGy (kilogray). La energía suministrada provoca la formación de moléculas ionizadas y de radicales libres muy reactivos que, a su vez, interaccionan con otras sustancias, que pueden o no ser lípidos; las grasas insaturadas y las saturadas entran en esta cadena de reacciones que conducen a la formación de aldehídos, cetonas, hidrocarburos, ésteres, ácidos grasos libres, lactonas y otros. Una vez formados los radicales libres y en presencia de oxígeno, las reacciones descritas en la autooxidación se desarrollan con facilidad.

4.7.5 Antioxidantes

En forma natural, hay sustancias que evitan la autooxidación, como la lecitina, los tocotrienoles y los tocoferoles (vitamina E), con la peculiaridad de que el poder antioxidante de estos últimos es inverso al de su función biológica y que se encuentran en una concentración de 1,150, 1,000, 950, 600 y 100 ppm en los aceites crudos de soya, palma, algodón, maíz y oliva, respectivamente. Los derivados fenólicos, como las isoflavonas genisteína, daidzeína y gliciteína y los ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico y cumárico, presentan estas propiedades.^{70, 71} Estos ácidos son escasos en los aceites, excepto en el de oliva virgen (80 ppm), cuya presencia se supone es la razón de su alta estabilidad; el ácido cafeico muestra mayor protección que el propio BHT.⁷⁶ Los extractos de especias, como clavo, romero, salvia, orégano y pimienta gorda presentan esta actividad, pero no se usan como tal por su intenso aroma y color.

Una proteína de la leche de vaca unida a la riboflavina actúa como antioxidante natural, al igual que el pigmento cármico dinitrosil ferrohemo en la carne de cerdo.^{78, 90} Los derivados de la reacción de Maillard (carbonilos reductores) inhiben la oxidación de la carne y de otros alimentos, pero no la del pescado en congelación.⁶ Los nitritos usados en los embutidos actúan como antioxidante al interaccionar con los lípidos o por su unión a los prooxidantes naturales, como el hierro.³⁰

Los compuestos antes mencionados están en concentraciones bajas y su efectividad antioxidante es muy reducida, por lo que es preciso recurrir a sustancias sintéticas más potentes, aun cuando la hidrogenación parcial evita la autooxidación.⁹³

Los antioxidantes sintéticos son propiamente donadores de protones, como el butilhidroxianisol (hidroxianisol butilado, BHA), el butilhidroxitolueno (hidroxitolueno butilado, BHT), la 2,4,5-trihidroxibutirofenona (THBP), el 4-hidroximetil-2,6-ditertbutilfenol, la tertbutilhidroquinona (butilhidroquinona terciaria, TBHQ) y los galatos (figura 4.15); no detienen la formación de los radicales, sino que reaccionan con ellos, los estabilizan y producen radicales del antioxidante menos activos.⁸⁸ Es decir, se consumen en la reacción y, por lo tanto, la estabilidad del lípido siempre va a depender de la cantidad residual.³⁷

Además de los compuestos antes mencionados, los agentes secuestradores también inhiben la oxidación, pero por una ruta distinta a la de donación de protones y que se explicará más adelante.

Los antioxidantes contienen una o más funciones hidroxilo y actúan en la iniciación y propagación de la oxidación al ceder un átomo de hidrógeno a los radicales ácido graso (R^*) y a los hidroperóxidos (ROO^*), restaurando el ácido (RH) y el hidroperóxido ($ROOH$). En la figura 4.16 se observa este mecanismo con un galato que actúa sobre los radicales del oleico: una vez que el anti-

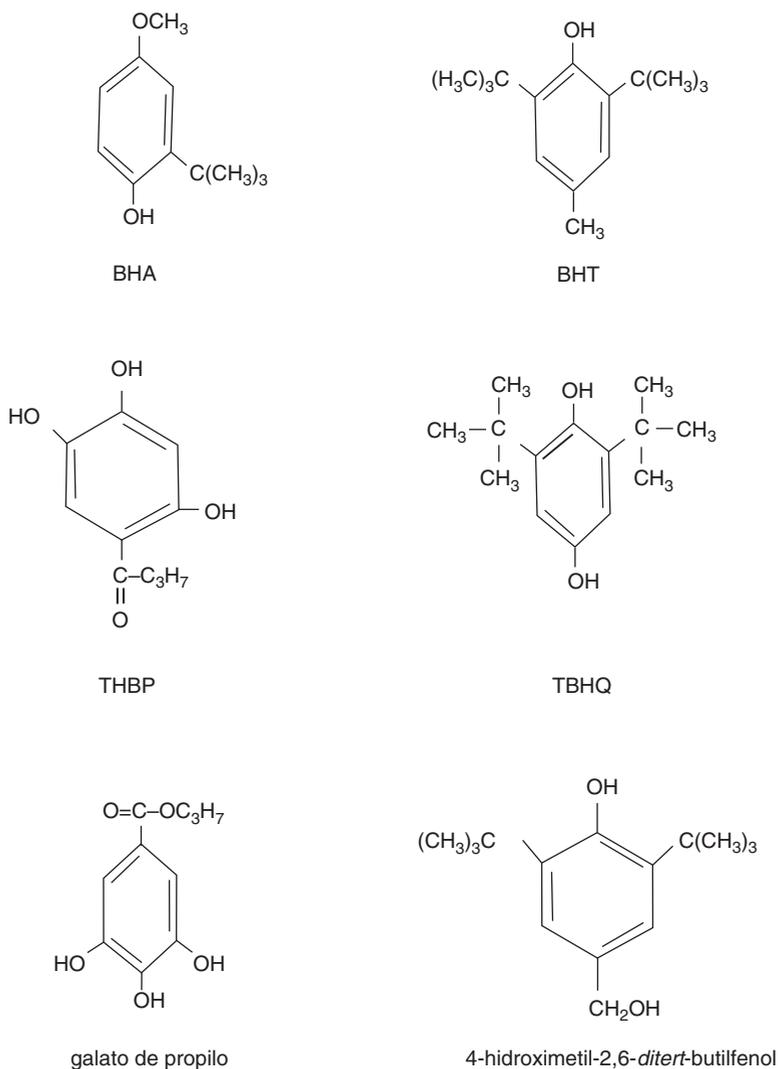


Figura 4.15 Antioxidantes más comunes.

oxidante cede un protón se convierte en un radical que interactúa con otro igual para regenerar el antioxidante y una quinona. Los radicales antioxidantes son estables por su resonancia y no promueven la oxidación como lo hacen los radicales de los ácidos grasos.

El BHA es en realidad una mezcla de dos isómeros, 2-BHA y 3-BHA, y por contener un solo hidroxilo, al igual que el BHT, es muy lipófilo, insoluble en agua y muy soluble en grasas y aceites; es muy efectivo para prevenir la oxidación de aceites esenciales y pigmentos liposolubles y a temperaturas elevadas desprende olores fenólicos. Por su parte, el BHT actúa mejor en grasas animales

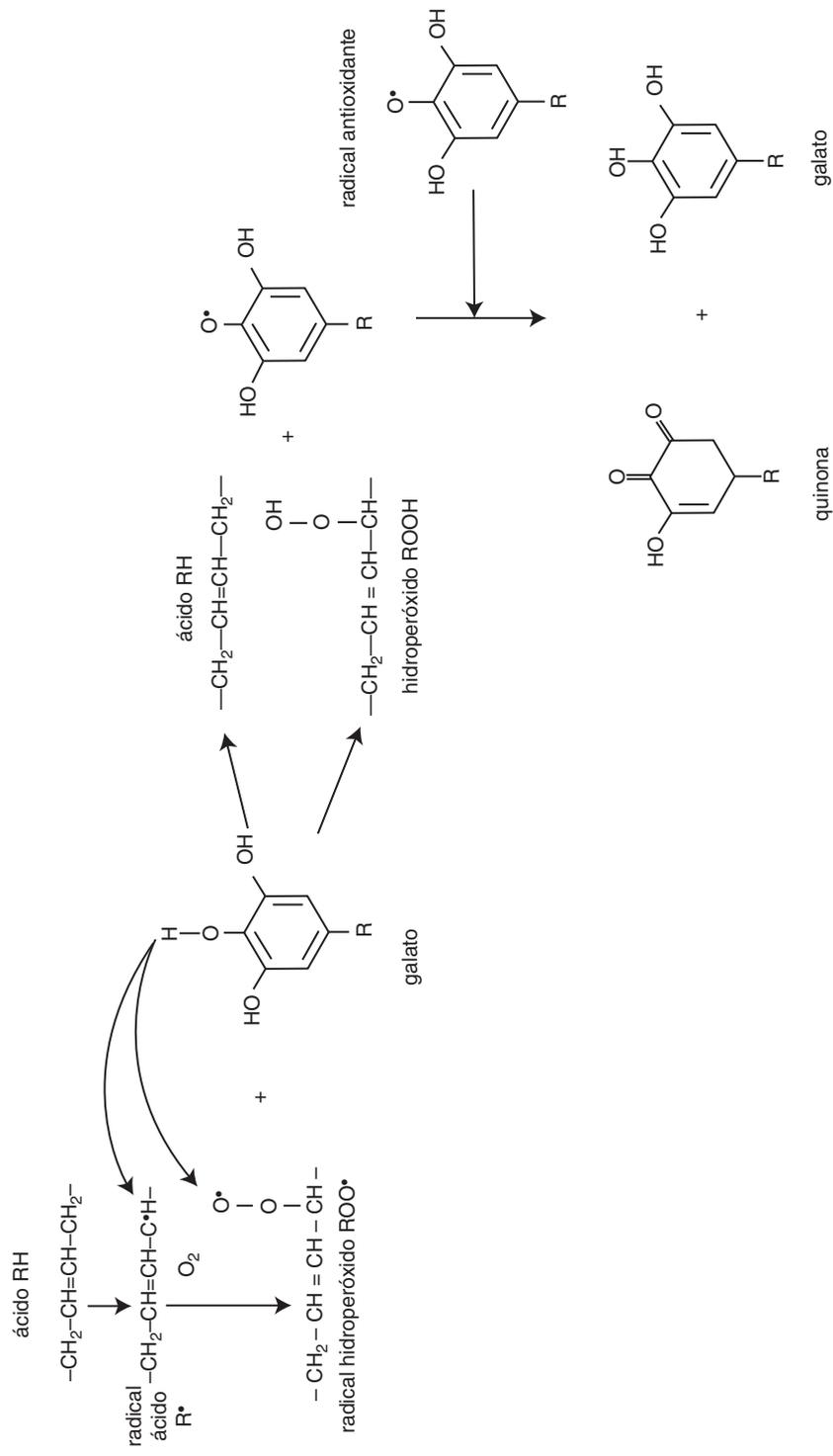


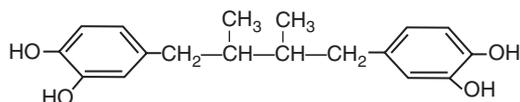
Figura 4.16 Mecanismo de acción del galato sobre los radicales de ácido oleico.

que en aceites vegetales. En general, estos dos antioxidantes, BHA y BHT, no son muy activos en aceites vegetales refinados.

El BHA, con sodio o potasio, desarrolla un tono rosa como el observado en las mantecas inadecuadamente refinadas, que contienen NaOH y jabones de la neutralización.

El TBHQ, por presentar dos hidroxilos, es un poco más soluble en agua que los anteriores y es el antioxidante más efectivo para los aceites insaturados (soya, canola, algodón, cártamo, etcétera) y los usados en la fritura.

De los ésteres del ácido gálico, el galato de propilo es el más común y, por contener tres hidroxilos, es más hidrosoluble; el aumento del tamaño de la cadena alifática los hace más liposolubles, como sus derivados de octilo y de dodecilo. Son inestables a $> 180^{\circ}\text{C}$, por lo que no son recomendables en aceites de fritura. El de propilo, por ser el más hidrosoluble, produce una coloración azul obscura indeseable en presencia de hierro, en una reacción tan sensible que se efectúa con el Fe de la mioglobina de la carne en los embutidos; esto limita su uso en ciertos alimentos y cuando los equi-
pos son a base de este metal.



Ácido nordihidro guayarético

Existen otros antioxidantes, como el ácido nordihidro guayarético proveniente de la planta desértica *Larrea divaricata* del norte de México, conocida comúnmente como gobernadora, que sólo se emplea para la protección de los envases y embalajes, pero no de los alimentos.

Cada uno actúa con diferente efectividad para un mismo lípido (figura 4.17), y no funcionan igual si se trata de un aceite puro o de una emulsión.^{69, 80} Su poder depende de la facilidad de donación de protones y deben solubilizarse para que funcionen; el TBHQ es adecuado para sistemas con poca agua (aceites y grasas puras), mientras que los alimentos con más agua requieren antioxidantes lipófilos, como BHA y BHT. Los antioxidantes son preventivos y no actúan en los aceites ya oxidados. Su temperatura de volatilización se debe tomar en cuenta, ya que los aceites para freír se pueden quedar desprotegidos.³³ Su aplicación depende de la naturaleza del alimento, pero se adicionan como polvo o líquido, por aspersión o mezclados con otros ingredientes.

Su efectividad aumenta considerablemente cuando se combinan entre sí gracias a su efecto sinérgico; las mezclas de dos de ellos han mostrado ser más efectivas que los antioxidantes en forma individual a la misma concentración. El uso de atmósferas de gases inertes favorece su acción, como es el caso del TBHQ con EDTA empleadas para prolongar la vida de anaquel de los aderezos y mayonesas inyectados con nitrógeno. Algunos presentan ligera actividad antimicrobiana: el BHA inhibe bacterias Gram negativas, Gram positivas y hongos productores de aflatoxinas.^{24, 68, 73, 74} El TBHQ también tiene algo de actividad, sin embargo, por ser lipófilo su coeficiente de participación entre el lípido y las bacterias favorece al primero con lo cual pierden su actividad contra las segundas.

Se usan en concentraciones de hasta 200 ppm (0.02%) del contenido de aceite de un alimento, cantidad que es suficiente para la protección, y al mismo tiempo para cumplir con la legislación mexicana. Su identificación y cuantificación se hace con métodos colorimétricos y de cromatografía de gases.⁶³

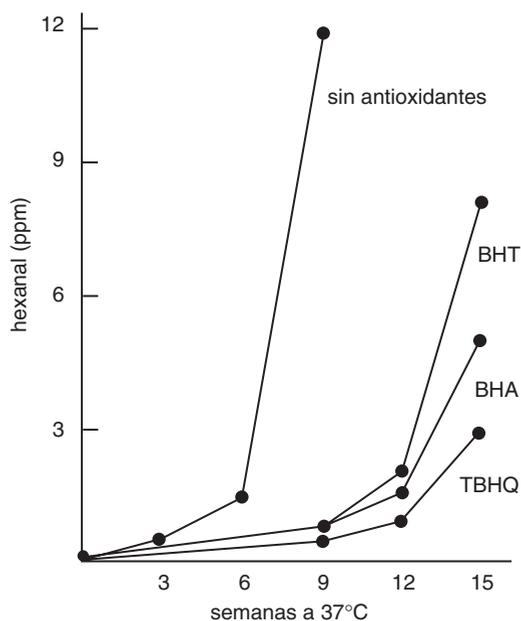


Figura 4.17 Relación de producción de hexanal en trigo tratado con diferentes antioxidantes a una concentración de 40 ppm.²²

Por otra parte, los secuestradores forman un quelato con el Cu y el Fe y evitan su acción catalizadora; aunque no son propiamente antioxidantes, previenen la oxidación. Destacan algunos ácidos como el fosfórico, cítrico, tartárico y ascórbico y sus respectivas sales; también se usa el palmitato de ascorbilo, la lecitina y el ácido tiodipropiónico ($\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) y varios de sus ésteres. Por su efecto sinérgico, los secuestradores se mezclan con antioxidantes y se disuelven en propilenglicol, monooleato de glicerilo o en algún aceite comestible. No todas las combinaciones de secuestradores son benéficas, ya que en algunos casos promueven incluso la oxidación, como la mezcla EDTA-citrato que incrementa la solubilidad y el potencial de oxido-reducción del hierro, favoreciendo su efecto catalítico.⁵⁹

4.8

DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN

Los métodos para medir el grado de deterioro oxidativo de los aceites varían desde evaluaciones sensoriales sencillas, hasta algunos análisis químicos o físicos que requieren de instrumental de laboratorio.

4.8.1 Evaluación sensorial

El consumidor evalúa la calidad de los aceites y de los alimentos mediante el gusto y el olfato y con base en esto los acepta o rechaza. Este tipo de análisis se lleva a cabo en la industria de una manera

más organizada y rutinaria por personal entrenado capaz de detectar pequeñas concentraciones de los aldehídos, cetonas, etcétera, generados en la autooxidación y característicos de la rancidez; sin embargo, los resultados son poco precisos y muy subjetivos, aun cuando dan una idea inmediata del grado de deterioro. Las primeras etapas de la rancidez no se perciben olfativamente ya que se forman peróxidos inodoros (figura 4.14); cuando se identifica el olor a rancio, y dependiendo del umbral de detección del catador, la reacción generalmente ya se encuentra avanzada.

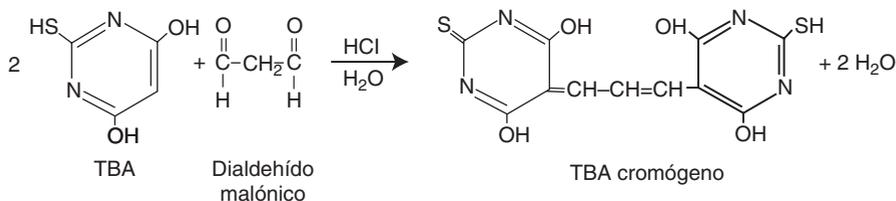
4.8.2 Índice de peróxido

Método basado en la capacidad de los peróxidos de oxidar el ion yoduro del KI y producir yodo que se valora con tiosulfato; también se puede emplear FeO y cuantificar Fe⁺³. Como los peróxidos se degradan, el método está limitado a las primeras etapas de la oxidación cuando éstos alcanzan una concentración máxima (figura 4.14); por esto, es probable que una grasa demasiado oxidada tenga un índice bajo, a pesar de que el olor sea característico de reacciones muy avanzadas. Es inexacto en productos deshidratados y en aquellos con poco contenido de lípidos. Existen diversas versiones basadas en el mismo principio, lo que ocasiona dificultad en interpretar y comparar resultados.

4.8.3 Método del ácido tiobarbitúrico (TBA)

Igual que el anterior, este método es muy empleado y se basa en la reacción de dos moléculas de TBA con una de dialdehído malónico, en la que se produce un compuesto cromógeno rojo que se mide a 530 nm. El análisis se efectúa después de eliminar los pigmentos del alimento, o en la fracción que se recolecta de una destilación. Es poco preciso en productos deshidratados y en aquellos que tienen un contenido bajo de lípidos.³⁹

El método tiene varias limitantes; no siempre se forma el dialdehído, ya que sólo proviene de los ácidos poliinsaturados; el TBA produce compuestos amarillos con otros aldehídos; la presencia de sacarosa y de ácidos interfiere; el dialdehído reacciona con proteínas y reduce su concentración para su determinación.^{48, 61}



4.8.4 Método del oxígeno activo (AOM, Active Oxygen Method)

La grasa se calienta a 100°C en un tubo de ensayo y se le hace pasar una corriente de aire a velocidad controlada; el índice de peróxido se determina continuamente y el valor del oxígeno activo se expresa como el tiempo requerido para que la grasa alcance un índice de 70 o 100 meq/kg. Una variación de este procedimiento es el Rancimat que mide el incremento de la conductividad eléctrica provocada por los productos de la oxidación.

4.8.5 Método de la bomba de oxígeno

El aceite se somete a una determinada presión de oxígeno en un recipiente metálico o “bomba” que se sumerge en agua a ebullición; en estas condiciones, hay una caída de presión causada por el consumo de oxígeno en un determinado tiempo, el cual es el resultado de la prueba.

4.8.6 Método de incubación en estufa

La muestra se incuba a 65°C y se determina periódicamente su índice de peróxido o sus propiedades sensoriales; el tiempo necesario para llegar a un límite de rancidez establecido, es el resultado del análisis.

4.8.7 Otros métodos

Existen otros procedimientos, como el de Kreis, el de carbonilos totales y el del índice de anisidina; el primero se basa en la reacción de los productos de la oxidación con el fluoroglucinol, el segundo con la 2,4-fenilhidrazina, y el tercero usa la *p*-anisidina que reacciona con los aldehídos y genera un color amarillo.

Entre los métodos físicos, los más importantes son los de fluorescencia, de espectroscopias infrarrojo y ultravioleta y el de cromatografía de gases para medir el hexanal o el pentano, como ya se describió.^{7, 82} Algunos de estos métodos son muy elaborados y costosos, por lo que se emplean poco en la industria alimentaria para el control rutinario.

4.9

ASPECTOS NUTRICIONALES

En los últimos años se ha generado mucha información inadecuada sobre el consumo de grasas y aceites, al grado que incluso se ha sugerido reducirlos sustancialmente de la dieta del hombre. Sin embargo, estas consideraciones resultan incongruentes cuando se enumeran todos los compuestos con que los lípidos contribuyen al bienestar de las personas (ver cuadro 4.1). Es un hecho que, por ser una excelente fuente de energía, su consumo excesivo provoca obesidad si no hay una adecuada actividad física.

Una alta ingesta de ácidos grasos saturados, principalmente láurico, mirístico y palmítico, conlleva el aumento del colesterol sanguíneo mediante la síntesis de lipoproteínas de baja densidad (colesterol-LPL, *low density lipoproteins*), llamado colesterol “malo”. Por el contrario, los ácidos grasos insaturados (los ω , como oleico, linoleico, linolénico, etcétera), promueven la producción de lipoproteínas de alta densidad o colesterol-HDL (*high density lipoproteins*), llamado colesterol “bueno”. Para evitar riesgos de enfermedades cardiovasculares, se sugiere una concentración de 200 mg/dL (decilitro) de colesterol sanguíneo total y del cual 140 debe provenir de LDL y 60 de HDL. La función del colesterol-HDL, integrado por ácidos grasos saturados, colesterol y proteínas, consiste en transportar el colesterol sanguíneo al hígado en donde se transforma, mientras que el colesterol-LDL actúa como vehículo para llevarlo a la sangre. Aun cuando el colesterol de la dieta influye en el colesterol sanguíneo, tiene mucho menor importancia que los ácidos grasos saturados; la ingesta de 100 mg de colesterol de los alimentos no incrementa en 100 mg el colesterol de la sangre.

Además de los problemas del corazón, el consumo excesivo de ácidos grasos saturados se asocia también con riesgos de cáncer en colon, próstata y mama.¹⁰

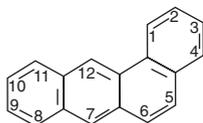
Debido al dilema beneficio-daño que provocan las grasas y los aceites, se han establecido lineamientos para una dieta balanceada: se recomienda que su consumo represente hasta 30% de las calorías totales de una persona, de las cuales 10% máximo provengan de grasas saturadas (menos de 10% de preferencia), 10% de las monoinsaturadas y 10% de las poliinsaturadas.³⁵ Tecnológicamente, el desarrollo de la fase lipídica de un alimento que cumpla con todos los aspectos nutricionales y sensoriales al mismo tiempo puede significar un buen reto; por ejemplo, el linolénico es muy sensible a la oxidación y en la industria se reduce por hidrogenación para aumentar su estabilidad, pero es de los ácidos grasos más recomendados en la dieta.

Se considera que del total de los lípidos que una persona ingiere al día, las grasas “visibles”, como la margarina, el aceite para freír, las cremas, la grasa de la carne, la mantequilla, etcétera, representan aproximadamente el 30%, mientras que las “invisibles”, que son añadidas en la formulación de los alimentos (mantecas de panificación, grasas para embutidos, etcétera), suman 70%.

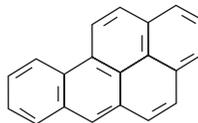
Aun existe mucha controversia sobre los efectos biológicos que los ácidos grasos *trans* causan en el organismo humano. Se sabe que se absorben, metabolizan e incorporan a los tejidos de igual forma que los *cis* pero no presentan actividad biológica; al actuar como un ácido graso saturado, se han relacionado con el aumento del colesterol sanguíneo, la síntesis inadecuada de lipoproteínas, el desarrollo de muchas enfermedades cardiovasculares y hasta el cáncer.^{16, 17, 38, 40, 60} A pesar del cúmulo de información, es un hecho que no hay una opinión generalizada y fundamentada sobre su función e influencia en el organismo, por lo que las investigaciones deben de continuar hasta aclarar las actuales discrepancias. Mientras tanto, algunas legislaciones en el mundo, como la de Estados Unidos, exigen indicar el contenido de *trans* en las etiquetas de los alimentos.

Al igual que con la situación de los *trans*, existen muchos estudios toxicológicos con animales de laboratorio relacionados con los daños que causa el consumo de grasas para freír altamente oxidadas. Se sabe que cuando un aceite se somete a condiciones muy drásticas de calentamiento, se generan compuestos aromáticos policíclicos derivados del antraceno, tales como el benzopireno y el benzantraceno, todos ellos agentes carcinógenos conocidos.^{2, 11, 77, 97}

Sin embargo, hay que tomar en cuenta que estos estudios se han hecho usando animales alimenta-



1,2 benzantraceno



benzopireno

dos con grandes cantidades de grasas oxidadas y con grados de oxidación que no se encuentran en las que el hombre consume normalmente; por esta razón no es posible extrapolar los resultados negativos obtenidos en pruebas de laboratorio y considerar que el efecto sea el mismo en el humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ackman, R.G. 1994. "Seafood Lipids", cap. 4, en *Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality*. Ed. F. Shahidi y J.R. Botta, Blackie Academic and Professional, Nueva York.
2. Alexander, J.C. 1978. "Biological effects due to changes in fats during heating", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:711.
3. Alexandersen, K.A. 1995. "Margarine Processing Plants and Equipment", cap. 10, en *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*. Vol 4. Ed. Y.H. Hui p. 491. John Wiley and Sons, Inc., Nueva York.
4. Allen, C.E. y Foegeding, E.A. 1981. "Some lipid characteristics and interactions in muscle foods - A review", *Food Technol.*, 35(5):253.
5. Anónimo. 1994. "Tools: hydrogenation, interesterification". *Inform*, Vol. 5:668.
6. Beckel, R., Lingnert, H., Lundgren, B., Hall, G. y Waller, G.R. 1985. "Effect of Maillard reaction products on the stability of minced herring in frozen storage", *J. Food Sci.*, 50:501.
7. Bigalli, G. 1977. "Determination of pentane formed during autoxidation of oils contained in solid samples", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54:229.
8. Blumenthal, M.M. 1995. "Frying Technology" cap. 11, en *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*. Vol. 3. Ed. Y.H. Hui, p. 429. John Wiley and Sons Inc., Nueva York.
9. Caldroni, H.A. y Bazan, N.G. 1982. "Effect of antioxidants on malonaldehyde production and fatty acid composition in pieces of bovine muscle and adipose tissue stored fresh and frozen", *J. Food Sci.*, 47:1329.
10. Carroll, K.K. 1991. "Dietary fats and cancer". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53:10645
11. Chang, S.A. 1978. "Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:718.
12. Cillard, J., Cillard, P., Cormier, M. y L. Girre. 1980. " α -Tocopherol prooxidant effect in aqueous media: Increased autoxidation rate of linoleic acid", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57:252.
13. Crnjar, E.D., Witchwood, A. y Nawar, W.W. 1981. "Thermal oxidation of a series of saturated triacylglycerols", *J. Agr. Food Chem.*, 29:39.
14. Dawson, L.E. y Gartner, R. 1983. "Lipid oxidation in mechanically deboned poultry", *Food Technol.*, 37(7):112.
15. Drozdowski, B. y Zajac, M. 1977. "Effect of concentration of some nickel catalyst poisons in oils on the course of hydrogenation", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54:595.
16. Enig, M.G., Munn, R.J. y Keenly, M. 1979. "Dietary fat and cancer trends - A critique", *Feedstuffs*, 51:1979.
17. Enig, M.G. 1993. "Trans-fatty acids-An update". *Nutr. Q.* 17:79.
18. Erdman, J.W. 2000. "Soy protein and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the AHA". *Circulation*, 102:255.
19. Erickson, D.R y Erickson, M.D. 1995. "Hydrogenation and Base Stock Formulation Procedures", en *Practical Handbook of Soybean processing and Utilization*. Ed. D.R. Erickson. United Soybean Board, St. Louis Missouri.
20. Frankel, E.N., Neff, W.E., Rohwedder, W.K., Khambay, B.P.S., Garwood, R.F. y Weedon, B.C. L. 1977. "Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: III. Methyl linoleate", *Lipids*, 12:1055.
21. Frankel, E.N., Neff, W.E. y Solke, E. 1981. "Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry. VII. Volatile thermal decomposition products of pure hydroperoxides from autoxidized and photo-sensitized oxidized methyl oleate, linoleate and linolenate", *Lipids*, 16:279.
22. Fritsch, C.W. y Gale, J.A. 1977. "Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54:225.
23. Fritsch, C.W. 1994. "Lipid oxidation - The other dimensions". *Inform*, 5:423.
24. Fung, D.Y.C., Taylor, S. y Kahan, J. 1977. "Effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*", *J. Food Safety*, 1:39.

25. Funns, J.A. y Karel, M. 1981. "Free radical polymerization and lipid binding of lysozyme reacted with peroxidizing linoleic acid", *Lipids*, 16:347.
26. Funns, J.A., Weiss, U., y Karel, M. 1982. "Effect of reaction conditions and reactant concentrations on polymerization of lysozyme reacted peroxidizing lipids", *J. Agric. Food Chem.*, 30:1204.
27. Gardner, H.W. 1975. "Decomposition of linoleic acid hydroperoxide. Enzymic reactions compared with non-enzymic", *J. Agr. Food Chem.*, 23:129.
28. Gardner, H.W. 1980. "Lipid enzymes: Lipases, lipoxygenases and hydroperoxidases", en *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Ed. M.G. Simic y M. Karel, Plenum Press, Nueva York.
29. Garti, N. y Aserin, A. 1982. "Polyglycerol esters composition: Theoretical random distribution versus HPLC analysis", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59:317.
30. Gray, J.I., MacDonald, B., Pearson, A.M. y Morton, I.D. 1981. "Role of nitrite in cured meat flavor: A review", *J. Food Protection*, 44:302.
31. Greene, B.E. y Price, L.G. 1975. "Oxidation-induced color and flavor changes in meat", *J. Agr. Food Chem.*, 23:164.
32. Gurr, M.I. y Harwood, J.L. 1991. *Lipid Biochemistry: An introduction*, 4a. ed. Chapman y Hall, Nueva York.
33. Hamama, A.A. y W.W. Nawar. 1991. "Thermal decomposition of some phenolic antioxidants". *J. Agric. Food Chem.* 39:1063.
34. Hastert, R.C. 1995. "Hydrogenation", cap. 4, en *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*. Vol. 2. Ed. Y.H., p. 231, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York.
35. Haughton, C. 1991. "Health Aspects of Oils and their Production". *Oils & Fats International*. Núm. 1.
36. Henderson, S.K., Witchwoot, A. y Nawar, W.W. 1980. "The autoxidation of linoleates at elevated temperatures", *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 57:409.
37. Hudson, B.J.D. 1990. *Food Antioxidants*, Elsevier, Amsterdam.
38. Islam, M.N., Schlitzer, J.L. e Islam, N.B. 1983. "Effect of *trans* fatty acids on protein utilization and serum cholesterol", *J. Food Sci.* 48:100.
39. Jacobson, G.A., Kirkpatrick, J.A. y Goff, H.E. 1964. "A study of the applicability of a modified thiobarbituric acid test to flavor evaluation of fats and oils", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41:124.
40. Judd, J.T. 1994. "Dietary *trans*-fatty acids: Effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women". *Am. J. Clin. Nutr.* 59:861
41. Kanazawa, K., Ashida, H. y Natake, M. 1987. "Autoxidizing process interaction of linoleic acid with casein", *J. Food Sci.*, 52:475.
42. Kanner, J. y Karel, M. 1976. "Changes in lysozyme due to reaction with peroxidizing methyl linoleate in dehydrated model system", *J. Agric. Food Chem.*, 24:468.
43. Karel, M. 1973 "Protein-lipid interactions", *J. Food Sci.*, 38:756.
44. Karel, M., Schaich, K. y Roy, B.R. 1975. "Interaction of peroxidizing methyl linoleate with some proteins and amino acids", *J. Agr. Food Chem.*, 23:159.
45. Kinsella, J.E. 1988. "Food lipids and fatty acids: Importance in food quality, nutrition and health". *Food Technol.* 42(10):124.
46. Klurfeld, D.M. y Eghtedary, K. 1996. "Dietary lipids and the immune response", cap. 4 en *Food Lipids and Health*, Ed. R.E. McDonald y D. B. Min, Marcel Dekker, Inc., Nueva York.
47. Koskas, J.P., Cillard, J. y Cillard, P. 1984. "Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61:1466.
48. Kosugi, H. y Kikugawa, K. 1985. "Thiobarbituric acid-reactive substances in chicken fat and unsaturated fatty acids", *J. Food Sci.*, 50:1181.
49. Krishnamurthy, R. y Kellers, M. 1995. "Fractionation and Winterization", cap. 5, en *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*. Vol. 4. Ed. Y.H. Hui, p. 301, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York.
50. Labuza, T.P. y Ragnarsson, J.O. 1985. "Kinetic history effect on lipid oxidation of methyl linoleate in a model system", *J. Food Sci.*, 50:145.
51. Lamikanra, O. 1982. "Sulfite-induced oxidation and browning of linoleic acid", *J. Food Sci.*, 47:2025.

52. Lanza, E. y Slover, H.T. 1981. "The use of SP2340 glass capillary columns for the estimation of the *trans* fatty acid content of foods", *Lipids*, 16:260.
53. Leake, L. y Karel, M. 1982. "Polymerization and denaturation of lysozyme exposed to peroxidizing lipids", *J. Food Sci.*, 47:737.
54. Li, S. y Parish, E.J. 1998. "The chemistry of waxes and sterols", cap. 4, en *Food Lipids*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
55. Lichtenstein, A.H. 2001. "Got soy?", *Am. J. Clin. Nutr.* 73:667.
56. Lin, K.C., Marchello, M.J. y Fischer, A. G. 1984. "Determination of the amount of *trans*-octa-decenoate and *trans*-9, *trans*-12-octadecadienoate in fresh lean and fatty tissues of pork and beef", *J. Food Sci.*, 49:1521.
57. Lizada, M.C.C. y Yang, S.F. 1981. "Sulfite induced lipid peroxidation", *Lipids*, 16:189.
58. Luby, J.M., Gray, J.I., Harte, B.R. y Ryan, T.C. 1986. "Photo-oxidation of cholesterol in butter", *J. Food Sci.*, 51:904.
59. Mahoney, J.R. y Graf, E. 1986. "Role of alpha-tocopherol, ascorbic acid, citric acid and EDTA as oxidant in model systems", *J. Food Sci.*, 51:1293.
60. Mann, G. 1994. "Metabolic consequences of dietary *trans*-fatty acids". *Lancet*, 343:1268.
61. Marcuse, R. y Johansson, L. 1973. "Studies on the TBA test for rancidity grading: II. TBA reactivity of different aldehyde classes", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50:387.
62. Matoba, T., Yonezawa, D., Nair, B.M. y Kito, M. 1984. "Damage of amino acid residues of proteins after reaction with oxidizing lipids: Estimation by proteolytic enzymes", *J. Food Sci.* 49:1082.
63. Min, D.B. y Schweizer, D. 1983. "Gas chromatographic determination of butylated hydroxy-anisole, butylated hydroxytoluene and tertiary butyl hydroquinone in soybean Oil", *J. Food Sci.*, 48:73.
64. Mistry, B.S. y Min, D. B. 1987. "Isolation of *Sn*- α -monolinolein from soybean oil and its effect on oil oxidative stability", *J. Food Sci.*, 52:786.
65. Nourooz-Zadeh, J. y Appelqvist, L.A. 1987. "Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: fresh eggs and dehydrated egg products", *J. Food Sci.*, 52:57.
66. O'Keefe, S.F. 1998. "Nomenclature and classification of lipids", cap. 1. En *Food Lipids*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
67. Park, S.W. y Addis, P.B. 1986. "Further investigation of oxidized cholesterol derivatives in heated fats", *J. Food Sci.*, 51:1380.
68. Pierson, M.D., Smoot, L.A. y Van Tassell, K.R. 1980; "Inhibition of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* by butylated hydroxyanisole and the propyl ester of *p*-hydroxy-benzoic acid", *J. Food Protec.*, 43:191.
69. Porter, W.L. 1980. "Recent trends in food applications of antioxidants", cap. 19, en *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Ed. M.G. Simic y M. Karel, Plenum Press, Nueva York.
70. Pratt, D.E. 1980. "Natural antioxidants of soybeans and other oil seeds", cap. 18, en *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Ed. M.G. Simic y M. Karel, Plenum Press, Nueva York.
71. Pratt, D.E., Di Prieto, C., Porter, W.L. y Giffee, J.W. 1982. "Phenolic antioxidants of soy protein hydrolyzates", *J. Food Sci.*, 47:24.
72. Pushpinder, S.P. 1980. "Hydrogenation of oils", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57:848A.
73. Robach, M.C. y Pierson, M.D. 1979. "Inhibition of *Clostridium bolulinum* types A and B by phenolic antioxidants", *J. Food Protec.*, 42:858.
74. Robach, M.C. y Stateler, C.L. 1980. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* by potassium sorbate in combination with sodium chloride, tertiary butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole or ethylene-diamine tetraacetic acid", *J. Food Protec.*, 43:208.
75. Rylander, P.N. 1970. "Hydrogenation of natural oils with platinum metal group catalysts", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 47:482.
76. Satue, T. 1995. "Effect of Natural Phenolic Antioxidants in Virgin Olive Oil on Oxidative Stability of Refined, Bleached and Deodorized Olive Oil". *AOCS Meeting. Nutrition and Biotechnology*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Nueva York.

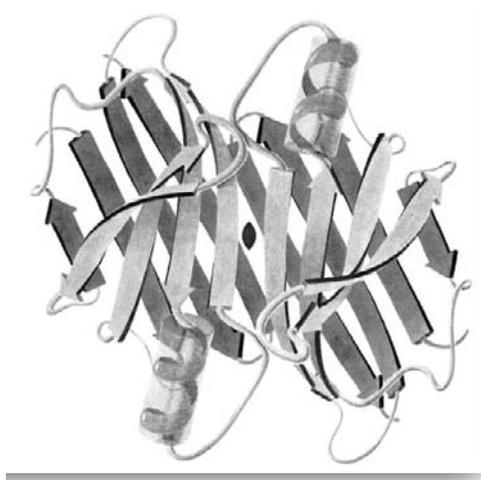
77. Scheutwinkel-Reich, M., Ingerowski, G. y Stan, H.J. 1980. "Microbiological studies investigating mutagenicity of deep frying fat fractions and some of their components", *Lipids*, 15:849.
78. Shahidi, F., Rubin, L.J. y Wood, D.F. 1987. "Control of lipid oxidation in cooked ground pork with antioxidants and dinitrosyl ferrohemochrome", *J. Food Sci.*, 52:564.
79. Shenouda, S.Y.K. 1980. "Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh", *Adv. Food Res.*, 26:275.
80. Sherwin, E.R. 1978. "Oxidation and antioxidants in fat and oil processing", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:809.
81. Shewfelt, R.L. 1981. "Fish muscle lipolysis - A review", *J. Food Biochem.*, 5:79.
82. Shin, M.G., Yoon, S.H., Rhee, J.S. y Kwon, T.W. 1986. "Correlation between oxidative deterioration of unsaturated lipid and n-hexanal during storage of brown rice", *J. Food Sci.*, 51:460.
83. Sklan, D., Halevy, O. y Budowski, P. 1983. "Lipolysis in turkey muscle: Association of lipid hydrolase activities with zinc and copper metalloproteins in a high-molecular weight lipid-protein aggregate", *J. Food Sci.*, 48:15.
84. Smith, L.M., Dunkley, W.L., Franke, A. y Dainiki, T. 1978. "Measurement of *trans* and other isomeric unsaturated fatty acids in butter and margarine", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:257.
85. Smith, D.M. 1987. "Functional and biochemical changes in deboned turkey due to frozen storage and lipid oxidation", *J. Food Sci.*, 52:22.
86. Sonntag, N.O.V. 1979. "Composition and Characteristics of Individual Fats and Oils". Cap. 6, en *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*. Vol. 1. Ed. D. Swern. John Wiley and Sons, Inc., Nueva York.
87. Sreenivasan, B. 1978. "Interesterification of fats", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:796.
88. Stauffer, C.E. 1996. *Fats and Oils*. Eagen Press, St. Paul, Minnesota.
89. Strocchi, A. 1982. "Fatty acid composition and triglyceride structure of corn oil, hydrogenated corn oil, and corn oil margarine", *J. Food Sci.*, 47:36.
90. Toyosaki, T., Yamamoto, A. y Mineshita, T. 1987. "Partial purification of an antioxidant component in raw cow milk", *J. Food Sci.*, 52:88.
91. Van der Wal. 1960. "Calculation of the distribution of the saturated and unsaturated acyl groups in fats from pancreatic lipase data", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37:18.
92. Viviani, R. 1970. "Metabolism of long chain fatty acids in the rumen", en *Advances in Lipid Research*, Ed. R. Paoletti y D. Kritchevsky, Academic Press, Nueva York.
93. Warner, K., Frankel, E.N., Snyder, J.M. y Porter, W.L. 1986. "Storage stability of soybean oil-based salad dressings: effects of antioxidants and hydrogenation", *J. Food Sci.*, 51:703.
94. Weiss, T.J. 1963. "Fats and oils", en *Food Processing Operations*, vol. 2, Ed. J.L. Heid y M.A. Joslyn, The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
95. Weiss, T.J. 1970. *Food Oils and their Uses*, The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
96. Wiedermann, L.M. 1978. "Margarine and margarine oil, formulation and control", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55:823.
97. Yonathan, M.T. y McWilliams, D.G. 1985. "Hematological status of rats fed oxidized beef lipids", *J. Food Sci.*, 50:1396.
98. Yufera, P.E. 1982. "Oleaginosas", en *Química agrícola III Alimentos*. Ed. P.E. Yufera. Editorial Alambra, S.A., España.

5

Enzimas

- 5.1 Introducción
- 5.2 Nomenclatura
- 5.3 Las enzimas como catalizadores
- 5.4 Especificidad
- 5.5 Sitio activo
- 5.6 Factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas
- 5.7 Cinética de las reacciones enzimáticas
- 5.8 Cuantificación de la actividad enzimática
- 5.9 Uso industrial de las enzimas
- 5.10 Revisión de enzimas de importancia en alimentos
- 5.11 Procesos de interés en alimentos con enzimas o células inmovilizadas
- 5.12 Análisis químico con enzimas
- 5.13 Las enzimas como indicadores de calidad de alimentos
- 5.14 Tecnología de ADN recombinante aplicada a la producción y modificación de enzimas de interés en alimentos

Referencias bibliográficas



5.1 INTRODUCCIÓN

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades, no se consume durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Su nombre proviene del griego y significa “en la levadura”, ya que a mediados del siglo XIX, cuando se acuñó el término, se pensaba que estos compuestos sólo actuaban en el interior de las células. Luis Pasteur distinguió dos tipos de actividades, “fermentos organizados” y “no organizados”, que se referían a las enzimas asociadas a las células y a las extracelulares, respectivamente. En 1897, E. Buchner demostró que un extracto de levadura libre de células también podía producir etanol a partir de azúcares.⁴⁰ Sin embargo, poco se sabía sobre la naturaleza química de las enzimas y no fue sino hasta 1926, con la cristalización de la ureasa por J. B. Sumner, cuando se demostró la naturaleza proteica de las enzimas.³⁹

Todas las células, incluyendo microorganismos y organismos superiores, producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada con las reacciones metabólicas, y la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían si no estuvieran presentes las enzimas. Su estudio en el campo de los alimentos es de primordial interés debido a que son responsables de algunos cambios químicos que sufren los alimentos, cambios que pueden resultar en beneficios (maduración de frutas) o perjuicios (oxidación de ácidos grasos y oscurecimiento enzimático). Por otro lado, muchos productos alimenticios se obtienen a través de reacciones bioquímicas que se efectúan por medio de enzimas endógenas del alimento, por las que se le añaden o las producidas por los microorganismos utilizados en la elaboración de alimentos fermentados.

El uso de enzimas para la producción de alimentos se remonta muchos siglos atrás. En la antigüedad, diversos pueblos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver carne, lo que facilita la acción de proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) sobre las proteínas del tejido animal, provocando su ablandamiento. Así mismo, algunos grupos humanos utilizaban el estómago de corderos y becerros como recipiente, causando accidentalmente la coagulación de la leche con enzimas asociadas a este órgano. Ahora se sabe que la acción de las proteasas presentes en el estómago (principalmente quimosina) sobre las caseínas provoca su coagulación, proceso que es indispensable en la manufactura del queso.

En el sector alimentario, el interés actual de la aplicación de enzimas en procesos —tecnología enzimática— se enfoca a la conservación de alimentos o de sus componentes (por ejemplo, vitaminas), al uso más eficiente de materias primas y al mejoramiento de la calidad sensorial de los alimentos (textura y sabor). Así mismo, se han utilizado enzimas para: producir alimentos bajos en calorías y eliminar compuestos antinutricionales de ciertas materias primas. Otros ejemplos de la tecnología enzimática actual se enlistan a continuación:

- El uso de enzimas en medios no acuosos para la producción de compuestos quirales y para la síntesis de polímeros especiales.
- La síntesis de edulcorantes, como el aspartamo, empleando la reacción inversa de una proteasa.
- La producción de ciclodextrinas a partir de almidón.
- El diseño de enzimas “a la medida” de acuerdo a los requerimientos del proceso —ingeniería de proteínas y evolución dirigida— logrando modificar su estabilidad térmica o su especificidad.
- La producción a gran escala de enzimas por medios de ingeniería genética. La quimosina recombinante fue la pionera en esta área.
- La aplicación de enzimas o de células inmovilizadas en la producción de materias primas de aplicación en alimentos, como en la producción de jarabes fructosados, de trehalosa y de isomaltulosa; de ácido fumárico; o de aminoácidos como el ácido aspártico o la alanina.

Todas las enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular y sólo presentan actividad cuando tienen una conformación espacial que permite establecer una disposición óptima de los aminoácidos de su centro activo o sitio catalítico. Actualmente se conoce la existencia de más de 3,000 tipos de reacciones catalizadas por enzimas; muchas enzimas ya han sido aisladas, purificadas y cristalizadas.^{6, 14}

En muchos casos las enzimas están integradas por una parte de naturaleza proteínica y otra que no lo es; la primera se conoce como apoenzima y la segunda como cofactor. Este último es un compuesto de peso molecular bajo, muy estable al calor, y presenta diversos grados de unión con la

apoenzima; los principales cofactores son: las vitaminas (tiamina, niacina, piridoxina, riboflavina y ácido pantoténico), los cationes (cobre, molibdeno, zinc, magnesio, hierro, manganeso y calcio), los aniones (cloruros) y otras sustancias orgánicas.

Debido a su naturaleza química, a las enzimas les afectan los mismos factores que alteran a las proteínas; por esta razón, para actuar en forma óptima, cada una requiere de ciertas condiciones de temperatura, de pH, de fuerza iónica, etcétera; condiciones en las que la estructura tridimensional es estable y la carga óptima para interactuar con el sustrato.

Muchas enzimas están formadas por una sola cadena polipeptídica, como la lisozima, tripsina y pepsina; sin embargo, muchas otras están compuestas por más de una cadena polipeptídica (multiméricas), por lo que dependen de su estructura cuaternaria para presentar actividad. Algunos ejemplos de enzimas multiméricas son la β -galactosidasa de *E. coli*, la glucosa oxidasa, catalasa y la polifenol-oxidasa. El peso molecular de las enzimas puede estar dentro de un rango muy amplio; el de la lisozima, por ejemplo, es de 14.3 KDa y el de la β -galactosidasa de *E. coli* de 516 KDa (cuadro 5.1). Varios organismos pueden producir enzimas con una misma actividad, lo que implica que poseen un sitio activo muy similar; sin embargo, el resto de la cadena polipeptídica puede ser diferente, por lo que tendrían tamaños diferentes. Por esta razón es importante ser explícito sobre el origen de la enzima de una determinada preparación.

CUADRO 5.1 Peso molecular de algunas enzimas⁶

Enzima	Peso molecular (Da)
β -Galactosidasa (<i>Escherichia coli</i>)	516,000
Catalasa (<i>Aspergillus niger</i>)	385,000
Ureasa (<i>Lactobacillus fermentum</i>)	220,000
Glucosa oxidasa (<i>Aspergillus niger</i>)	192,000
Glucosa oxidasa (<i>Penicillium amagasakiense</i>)	154,000
Glucosa oxidasa (<i>Penicillium notatum</i>)	138,000
Fosfatasa alcalina (<i>Bos taurus</i>)	81,000
Polifenol oxidasa (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	67,000
Pepsina (<i>Homo sapiens</i>)	35,000
Renina (<i>Bos taurus</i>)	33,000
Bromelina (<i>Ananas comosus</i>)	31,000
Papaína (<i>Carica papaya</i>)	23,400
Lisozima (<i>Gallus gallus</i>)	14,310

5.2 NOMENCLATURA

En general, se ha nombrado a las enzimas de manera empírica y poco sistemática; ya que en algunos casos se ha tomado como raíz del nombre el del sustrato que reconoce la enzima y se le agrega el sufijo —asa. Por ejemplo, a una enzima que degrada proteínas se le llama proteinasa o proteasa. Algunas enzimas tienen nombres asignados antes de adoptar esta convención, por ejemplo, tripsina, papaína, invertasa, diastasa. Posteriormente, hubo la necesidad de asignarles un nombre sistemático. Miembros de la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) y del IUB (International Union of

Biochemistry) y posteriormente de la IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) idearon un sistema de identificación en el que a cada enzima se le asigna una serie de cuatro dígitos, al que se ha llamado número de la EC (Enzyme Commission).⁵² El primer dígito está relacionado con la reacción química que cataliza la enzima, de acuerdo al siguiente código:

1. *Oxidorreductasas*: catalizan reacciones de oxidorreducción. En este grupo se incluyen las deshidrogenasas, oxidasas, oxigenasas y peroxidasas.
2. *Transferasas*: promueven la transferencia de distintos grupos químicos entre una molécula donadora y una aceptora. Dentro de las más estudiadas se incluye a las glicosil transferasas, amino transferasas y fosfo transferasas.
3. *Hidrolasas*: llevan a cabo la ruptura de enlaces covalentes con la introducción de una molécula de agua. Las enzimas hidrolíticas (que incluyen a las amilasas, esterasas, glicosidasas, lipasas y proteasas, entre otras) son las que se utilizan, con mayor frecuencia, como aditivos en la industria alimentaria.
4. *Liasas*: rompen enlaces para la eliminación de un determinado grupo químico del sustrato y forman dobles ligaduras sin la introducción de moléculas agua. Entre ellas se encuentran: aldolasas, descarboxilasas, deshidratasas y pectina liasa.
5. *Isomerasas*: catalizan el rearrreglo espacial de grupos del sustrato sin modificar su composición química; y son: epimerasas y racemasas.
6. *Ligasas*: promueven la unión covalente de dos moléculas acopladas con la ruptura de un enlace pirofosfato proveniente de ATP, UTP o CTP, como fuente de energía. El término ligasa es sinónimo de sintetasa.

El segundo dígito de la nomenclatura corresponde a la subclase de enzima, por ejemplo, en el caso de las hidrolasas se refiere al tipo de enlace que hidroliza: el 3.1 de enlaces éster, el 3.2 de enlaces glucosídicos, el 3.4 de enlaces peptídicos, etcétera.

El tercer dígito es una subdivisión y ofrece más información con respecto al sustrato que utiliza la enzima. Por lo tanto, si se tiene una hidrolasa de uniones éster (3.1), el tercer número indicará si se trata de un enlace éster carboxílico (3.1.1), tioéster (3.1.2), monofosfato (3.1.3), etcétera.

Finalmente, el cuarto dígito indica el número serial de la enzima en el grupo correspondiente.

Los seis grupos de enzimas indicados corresponden a reacciones importantes en el metabolismo celular; no todas de igual importancia para la industria, el procesamiento o el deterioro de alimentos. En el cuadro 5.2 se enlistan algunos ejemplos que ilustran la clasificación. Es claro que el grupo de enzimas más importante, en términos de su aplicación en la tecnología de alimentos, es el de las hidrolasas. En términos económicos y de volumen de enzimas producidas y aplicadas en la industria de la panificación y en el procesamiento de almidón sobresalen las amilasas; las proteasas sobresalen en varios procesos como son: la elaboración de cerveza, de pan, el ablandamiento de carne y la producción de hidrolizados proteínicos. Actualmente existe también una clasificación de enzimas por familias y basada en su estructura.⁵¹

5.3

LAS ENZIMAS COMO CATALIZADORES

Las reacciones químicas pueden llevarse a cabo con o sin la ayuda de catalizadores, pero el poder catalítico de las enzimas es sorprendente. Quizás la más espectacular de todas sea la enzima que des-

CUADRO 5.2 Algunas enzimas de interés en alimentos.

Grupo	Nombre común	Número E.C.	Sustrato
<i>Oxidoreductasas</i>	Glucosa oxidasa	1.1.3.4	D-glucosa y oxígeno
	Catecol oxidasa	1.10.3.1	Catecol y oxígeno
	Catalasa	1.11.1.6	Peróxido de hidrógeno
	Lipoxigenasa	1.13.11.12	Ácidos grasos poli insaturados
<i>Transferasas</i>	Amilosacarasa	2.4.1.4	Sacarosa
	Dextranacarasa	2.4.1.5	Sacarosa
	Levansacarasa	2.4.1.10	Sacarosa
	Ciclomaltodextrin		
	Glucosiltransferasa	2.4.1.19	Almidón
<i>Hidrolasas</i>	Lipasa	3.1.1.3	Acilglicéridos
	Pectinesterasa	3.1.1.11	Pectina esterificada
	α -amilasa	3.2.1.1	Almidón
	β -amilasa	3.2.1.2	Almidón
	Amiloglucosidasa	3.2.1.3	Gluco oligosacáridos con enlaces α -(1-4) o α -(1-6)
	Endoglucanasa (Celulasa)	3.2.1.4	Celulosa
	β -glucanasa	3.2.1.6	Glucanos con enlaces β -(1-4) o β -(1-3)
	Poligalacturonasa	3.2.1.15	Pectatos
	Invertasa	3.2.1.26	Sacarosa
	Pululanasa	3.2.1.41	Gluco oligosacáridos con enlaces α -(1-6)
	Subtilisina	3.4.21.62	Proteínas
	Papaína	3.4.22.2	Proteínas
	Bromelina	3.4.22.32	Proteínas
	Renina	3.4.23.4	Caseína
<i>Liasas</i>	Pectato liasa	4.2.2.2	Pectatos
	Pectina liasa	4.2.2.10	Pectinas esterificadas
<i>Isomerasas</i>	Glucosa (xilosa) isomerasa	5.3.1.5	Glucosa (xilosa)

carboxila la orotidina 5' monofosfato, sustancia que tardaría 78 millones de años en descarboxilarse a temperatura ambiente, mientras que la enzima descarboxilasa permite que la reacción ocurra 10^{17} veces más rápido. Para que las reacciones ocurran, es necesario que los reactivos (sustratos) formen un *estado de transición* que sea estable y que disminuya la energía de activación que requiere la reacción. En ausencia de la enzima, el intermediario no logra estabilizarse, por lo general debido a las cargas eléctricas que se generan, y los sustratos regresan a su estado original. La estabilización en presencia de la enzima se logra a través de la interacción con los grupos del sitio activo de la enzima (cuadro 5.4), sin cambiar el mecanismo de la reacción, pues equivalen a los ácidos o bases que se usan en las reacciones químicas (catálisis ácido-base general). A partir de este intermediario los productos pueden formarse. Otra forma en que puede lograrse la estabilización del estado de transición es formando un enlace covalente entre la enzima y el sustrato, consecuencia de un ataque nucleofílico

(catálisis nucleofílica o catálisis covalente). Este caso se explica más adelante al hablar del sitio activo. Cabe indicar que, al igual que otros catalizadores, las enzimas sólo aceleran la velocidad de aquellas reacciones que termodinámicamente son posibles; así mismo, influyen en la velocidad a la cual se alcanza el equilibrio sin afectar el equilibrio global de la reacción. En estas circunstancias, las transformaciones químicas se llevan a cabo mediante una ruta que requiere menor energía de activación (figura 5.1). En el cuadro 5.3 se observan ejemplos que demuestran que para una misma reacción se necesita menor energía de activación (E_a) que cuando se emplean catalizadores inorgánicos, a pesar de que el cambio de energía libre (ΔG) que resulta de la transformación de sustratos a productos sea el mismo. Este cambio en la energía libre de la reacción se ilustra también en la figura 5.1; si se compara con la reacción química equivalente (p. ej. la oxidación de lípidos o la descomposición del peróxido de hidrógeno) la transformación enzimática siempre requiere de menor energía de activación para llevarse a cabo. Una reacción es espontánea o termodinámicamente posible, cuando se disminuye la energía libre de la reacción, es decir, el cambio total de la energía de reacción es negativo ($\Delta G < 0$).

CUADRO 5.3 Ejemplos de energías de activación de algunas reacciones³⁰

Reacción	Catalizador	E_a (cal/mol)
Hidrólisis de caseína	HCl	20,600
	Tripsina	12,000
Inversión de sacarosa	H ⁺	25,600
	Invertasa de levadura	11,500
Hidrólisis de butirato etílico	H ⁺	13,200
	Lipasa pancreática	4,200
Descomposición de H ₂ O ₂	Ninguno	18,000
	Pt coloidal	11,700
	Catalasa de hígado	5,500
Hidrólisis del éster fosfato	Fosfatasa	3,400

5.4 ESPECIFICIDAD

Las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones químicas de manera muy específica; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto que debe reunir ciertas características estructurales para que pueda ser utilizado como sustrato. Su especificidad, propiedad que las hace muy diferentes a muchos catalizadores no biológicos, se puede abordar de diferentes maneras. La *especificidad estereoquímica*, se puede explicar a partir de la especificidad de las glucosidasas. La maltosa (O- α -D-glucopiranosil-(1-4)-O- α -D-glucopiranosido) y la celobiosa (O- β -D-glucopiranosil-(1-4)-O- β -D-glucopiranosido) son disacáridos compuestos por dos moléculas de glucosa (figura 5.2), poseen el enlace glucosídico con configuración α y β con respecto al C₁, respectivamente, lo que ocasiona una orientación de los grupos glucosídicos diferente. Esto ocasiona que la celobiosa no pueda ser hidrolizada por una α -glucosidasa, así como la maltosa no puede ser sustrato de una β -glucosidasa. La *estereoespecificidad* de una enzima define también que ésta pueda reconocer una forma óptica específica del sustrato (L-aminoácidos o D-azúcares). Por otro lado, también las enzimas tie-

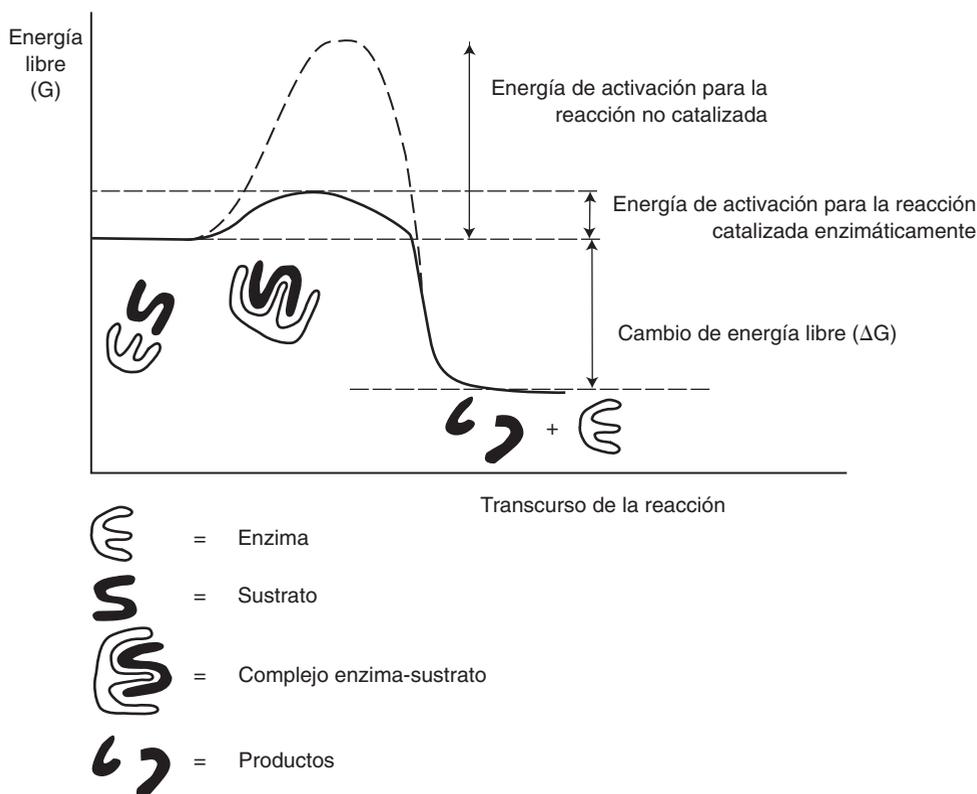


Figura 5.1 Diagrama de energía libre para una reacción química efectuada con catalizador y sin catalizador. El ΔG representa la diferencia de energía libre entre los estados inicial y final de la reacción.⁴⁰

nen *regioespecificidad* al reconocer un determinado grupo químico sólo en determinada posición de una molécula. Sin embargo, existen enzimas con *baja especificidad*, que se presenta por ejemplo cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato; tal es el caso de las lipasas que hidrolizan enlaces éster entre ácidos y alcoholes en una gran variedad de compuestos orgánicos, o en algunas proteasas que pueden hidrolizar enlaces peptídicos entre cualquier aminoácido.

Existe también la llamada *quimioselectividad* o *especificidad de grupo* que se presenta cuando las enzimas actúan sobre un sustrato que contiene un determinado enlace y un grupo químico específico al lado de éste; el ejemplo de la tripsina es adecuado ya que esta enzima hidroliza los enlaces peptídicos en los que el grupo carboxilo del enlace está dado por lisina o arginina; igualmente, las proteasas vegetales (papaína y ficina) hidrolizan las uniones adyacentes a aminoácidos básicos, leucina o glicina; por su parte, la pepsina actúa sobre los enlaces que contienen aminoácidos aromáticos o ácidos dicarboxílicos.

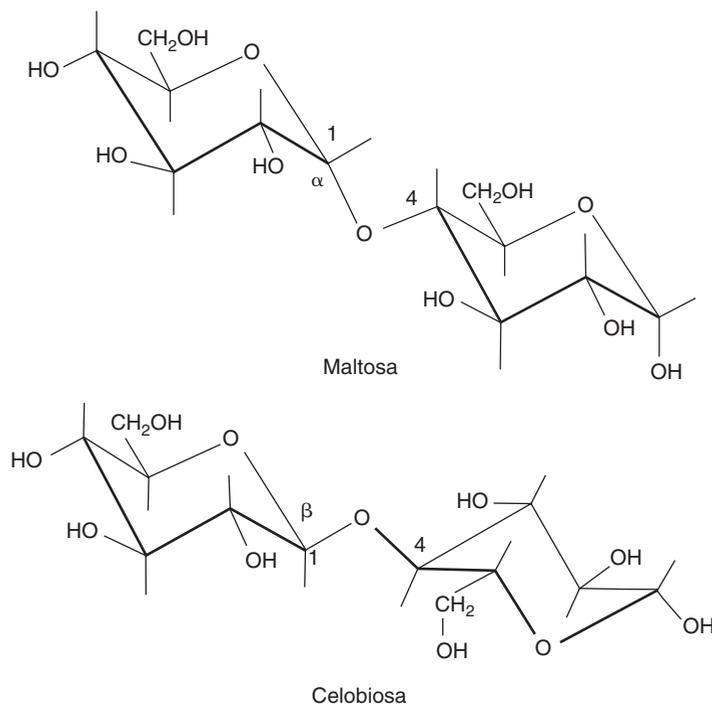


Figura 5.2 Estructura de dos disacáridos de D-glucosa unidos con enlace (1-4).

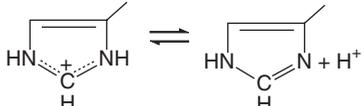
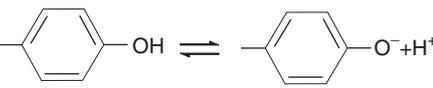
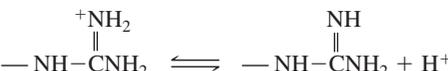
5.5 SITIO ACTIVO

Se ha mencionado que las proteínas con actividad catalítica son esencialmente globulares, con una superficie irregular, que presenta protuberancias y cavidades. Dependiendo del plegamiento de la proteína, ciertos residuos de aminoácidos, generalmente polares, se exponen en la estructura globular de la superficie de la proteína mientras otros quedan ocultos dentro de la molécula. Generalmente, es en la superficie donde ubica el dominio de interacción con el sustrato, también llamado *sitio activo*. Hasta la fecha, sigue siendo útil visualizar la interacción entre la enzima y el sustrato a través del viejo modelo de Emil Fisher (1894) de “la llave y la cerradura”; en éste se considera al sitio activo de la enzima como una estructura rígida como el de la cerradura de una puerta donde debe enbunar un sustrato también rígido como una llave, con lo que se explica el alto grado de especificidad que ambos poseen. Más tarde, Koshland (1960) postuló que la enzima presenta cierta flexibilidad: después de que el sustrato interacciona con la enzima, se induce un cambio en el sitio activo de tal manera que se ajusta a la molécula de sustrato, lo que induce la formación de un intermediario entre ambos, y da lugar a la formación del producto.⁴⁷

Por lo antes expuesto, se deduce que en una enzima sólo unos cuantos aminoácidos intervienen en la catálisis de la reacción; por lo que en ocasiones es posible eliminar parte de la cadena polipeptídica sin que se pierda la actividad. Así, el sitio activo de una enzima es aquella porción de la pro-

teína que participa directamente en la unión y la transformación del sustrato; y está constituido por ciertos aminoácidos que integran un microambiente característico dentro de la proteína y que llevan a cabo la catálisis. Por lo general sólo existe un sitio activo por molécula de enzima. En el cuadro 5.4 se presentan algunos grupos ionizables que por su naturaleza de aminoácidos participan frecuentemente en la catálisis enzimática.

CUADRO 5.4 Radicales de los residuos que pueden participar en la catálisis.⁴⁸

Grupo	Ionización	pKa
Carboxilo	$-\text{COOH} \rightleftharpoons -\text{COO}^- + \text{H}^+$	α^a , 3.0-3.2 β, γ , 3.0-4.7
Imidazol		5.6-7.0
Sulfhidrilo	$-\text{SH} \rightleftharpoons -\text{S}^- + \text{H}^+$	8.0-8.5
Amonio	$-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons -\text{NH}_2 + \text{H}^+$	α^a , 7.6-8.4 ϵ , 9.4-10.6
Hidroxilo fenólico		9.8-10.4
Guanidino		11.6-12.6

^a Localizado al final de la cadena polipeptídica.

Las enzimas adquieren su poder catalítico cuando presentan una estructura secundaria y terciaria o cuaternaria muy específica, de tal manera que los aminoácidos correspondientes del sitio activo se encuentran en posición vecinal estableciendo un microambiente específico. Como en cualquier proteína, las estructuras que conforman las enzimas están estabilizadas por puentes de hidrógeno, interacciones iónicas e hidrófobas, y en algunos casos enlaces disulfuro. Así, por ejemplo, la quimotripsina crea su centro activo con los aminoácidos histidina y serina localizados en las posiciones 57 y 195, respectivamente; se puede deducir que forzosamente esta molécula debe adquirir una estructura tridimensional, de tal manera que dichos aminoácidos sean adyacentes.

De igual manera, la carboxipeptidasa A forma en su sitio activo una cavidad de naturaleza hidrófoba, integrada por la fenilalanina 279, las tirosinas 198 y 248, y las argininas 71 y 145, lo cual permite que junto con el Zn^{2+} se establezca el centro activo. Las enzimas proteolíticas papaína, ficina y bromelina tienen un grupo sulfhidrilo en su sitio activo, mientras que la tripsina y la quimotripsina contienen una serina; la α -amilasa actúa gracias a tres grupos carboxilo.

Como ya se mencionó, la participación de los aminoácidos del sitio activo en la reacción enzimática implica, en algunos casos, la creación de una unión de tipo covalente en el intermediario enzima-sustrato. Esto sucede en algunas hidrolasas como la quimotripsina, la tripsina y la papaína, en las que en una primera etapa se producen intermediarios covalentes que posteriormente son hidrolizados por la acción nucleófila del agua. En el sitio activo de muchas hidrolasas participan aminoácidos

que tienen propiedades nucleófilas, cuya característica principal es tener una fuerte tendencia a donar un par de electrones; los grupos más importantes son el hidroxilo de la serina, el sulfhidrilo de la cisteína, el imidazol de la histidina y el carboxilo de los ácidos aspártico y glutámico (cuadro 5.4).

En el caso de la β -galactosidasa (lactasa), el sitio activo está conformado por un sulfhidrilo y un imidazol, este último cede su par de electrones al oxígeno del enlace glucosídico de la lactosa y provoca su ruptura, de acuerdo con el mecanismo que se indica en la figura 5.3.

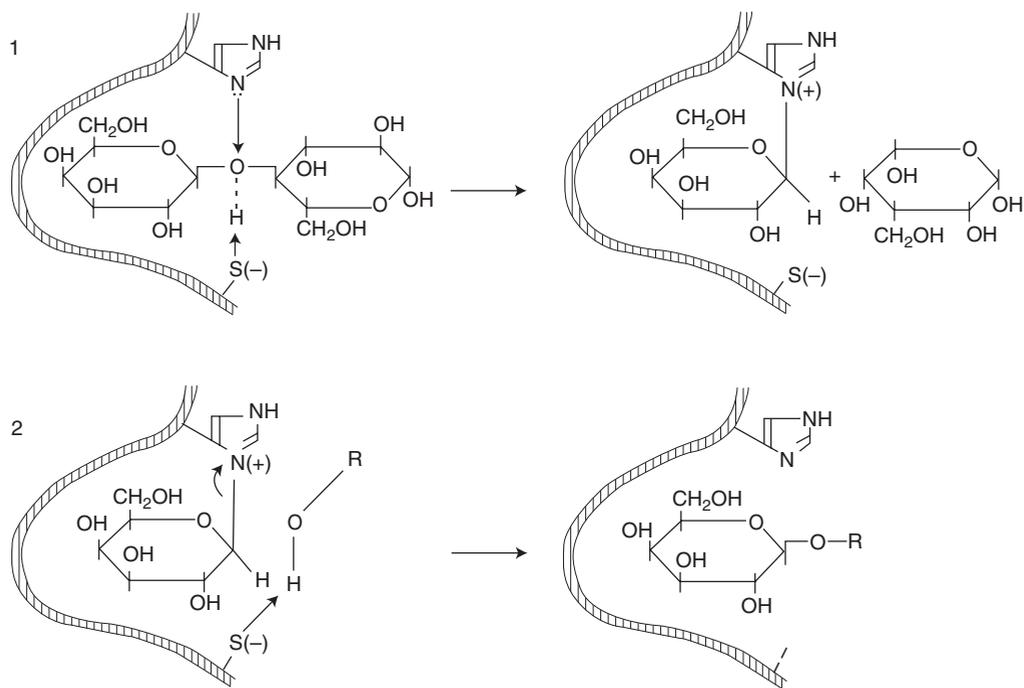


Figura 5.3 Mecanismo de acción de la β -galactosidasa (lactasa) nótese que el sitio activo está formado por el nitrógeno nucleófilo de la histidina y el sulfhidrilo de la cisteína.⁴⁷ (R es generalmente agua).

5.6 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

La velocidad a la que las reacciones enzimáticas proceden depende de varios factores, dentro de los que destacan el pH del medio de reacción, la temperatura, la concentración de sustrato y de enzima, y el agua disponible en el medio, entre los más importantes.

5.6.1 Efecto del pH

La actividad de las enzimas depende fuertemente de la concentración de iones hidronio del medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos de la proteína, incluyendo a los del sitio activo, del sustrato (en caso de ser ionizable), o del complejo enzima-sustrato; de hecho el pH

influye en la estructura tridimensional de la proteína y a su vez, sobre la afinidad que tenga la enzima por el sustrato.

La mayoría de las enzimas presentan un rango de pH relativamente estrecho en el que presentan una actividad óptima, desactivándose en pHs extremos (figura 5.4); aunque existen excepciones, como la catalasa bovina o la α -amilasa que presentan un rango de actividad óptima muy amplio. En el cuadro 5.5 se muestran los valores de pH óptimo para algunas enzimas. Para su aplicación en alimentos, hay que considerar que el pH de la mayoría de los alimentos varía entre 3.0 y 7.0, sólo las frutas y sus derivados tienen un pH más ácido que llega a ser de 2.2. Por obvias razones, se seleccionan enzimas que funcionen bien al pH del alimento, pues éste es difícilmente modificable.

CUADRO 5.5 pH de actividad óptima de algunas enzimas

Enzima	pH óptimo
Pepsina (bovina)	2.0
Catalasa (hígado de bovino)	3-10
Renina (ternero)	3.5
Catepsinas (hígado)	3.5-5
Poligalacturonasa (tomate)	4.0
β -amilasa (camote)	5.0
Ficina (higo)	5.6
Polifenoloxidasas (durazno)	6.0
Lipoxigenasa 2 (soya)	7.0
α -amilasa (saliva humana)	7.0
α -quimotripsina (bovina)	8.0
Lipoxigenasa 1 (soya)	9.0

En ocasiones, es posible inhibir la actividad enzimática endógena, si el alimento lo permite, mediante la reducción del pH adicionando ácidos disponibles como aditivos (por ejemplo, adición de ácido cítrico al aguacate).

El pH óptimo se debe determinar experimentalmente, y se deben considerar otras variables operacionales como la temperatura, el sustrato y la capacidad amortiguadora de la solución tampón utilizada. Si la enzima se encuentra en un pH muy alejado del óptimo, se alterará su estructura secundaria y terciaria como consecuencia de la protonación o desprotonación de los residuos de aspártico, glutámico, lisina, arginina e histidina, principalmente. La consecuencia será el desplegamiento o desnaturalización permanente o irreversible de la proteína. Si el ambiente en el que se encuentra la enzima no está a un pH extremo, ésta puede replegarse y regresar a su conformación y actividad original, es decir, se puede *renaturalizar*.

5.6.2 Efecto de la temperatura

Como sucede con cualquier otra reacción química, la velocidad de las reacciones enzimáticas se incrementa con la temperatura, al aumentar la energía cinética de las moléculas, pero sólo en el intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en casos extremos, cuando el incremento es muy grande, se favorece la desnaturalización y consecuentemente la proteína pierde su capacidad

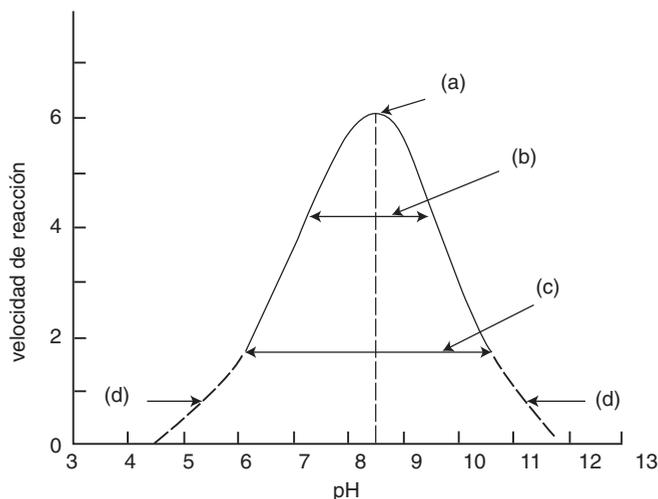


Figura 5.4 Efecto del pH en la actividad enzimática: (a), pH óptimo; (b), intervalo de estabilidad de la enzima; (c), intervalo de inactivación reversible, y (d), inactivación irreversible.⁴⁶

catalítica. Existen varios factores que, además de la estabilidad conformacional, también afectan la actividad enzimática al aumentar la temperatura, y son: la solubilidad de gases (oxígeno), el pH de la solución amortiguadora, la afinidad de la enzima por el sustrato, por activadores o inhibidores; así como la presencia de reacciones de competencia. Por esta razón, cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual se logra la mayor actividad, para la mayoría está entre 30 y 45°C, y se inactiva a más de 60°C, a esta temperatura la energía introducida en el sistema sobrepasa la energía de las fuerzas que mantienen la estructura activa de la enzima (figura 5.5).

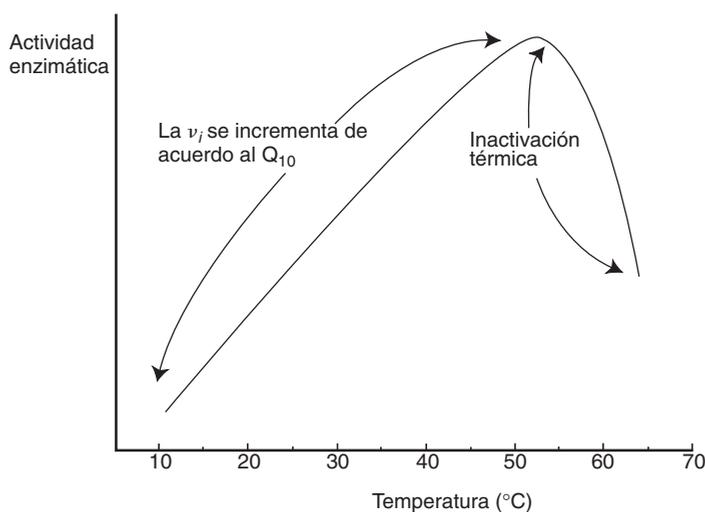


Figura 5.5 Efecto de la temperatura en la actividad catalítica de las enzimas.²⁹

El término Q_{10} se utiliza para medir el efecto de la temperatura en la velocidad de reacciones químicas; se expresa como una relación entre dos velocidades a dos temperaturas con una diferencia de 10°C entre ellas:

$$Q_{10} = \frac{\text{Velocidad}_{T+10^{\circ}}}{\text{Velocidad}_T} \quad (\text{Ec. 1})$$

En el caso de enzimas, en rangos entre 20 y 40°C se obtienen valores de Q_{10} cercanos a 2, lo que indica que la velocidad de reacción se duplica por cada 10°C de aumento en la temperatura, dentro del intervalo en el que la enzima es estable.

En la industria alimentaria se utilizan comúnmente los tratamientos térmicos como método de conservación, con los que no sólo se eliminan los microorganismos, sino también se desactivan las enzimas que llegan a causar cambios indeseables, como se ejemplifica en la figura 5.6, ya que aún en alimentos congelados pueden llevarse a cabo reacciones enzimáticas, aunque a una velocidad muy baja. El objetivo específico del proceso de escaldado es eliminar la actividad de enzimas endógenas que oxidan alimentos de origen vegetal.

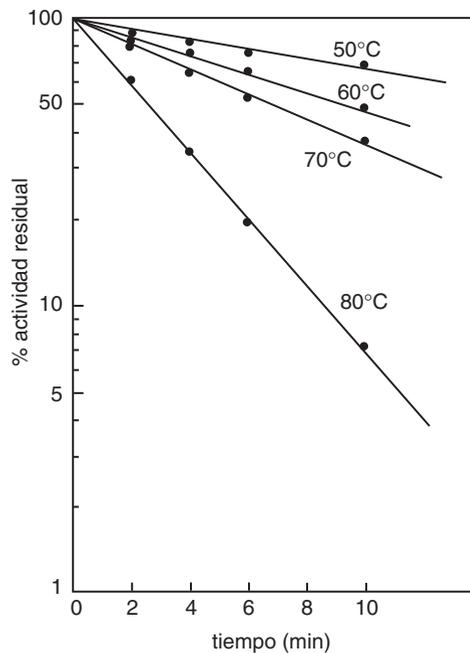


Figura 5.6 Inactivación térmica de la polifenol oxidasa de la remolacha sometida a incubación a diferentes temperaturas.²⁶

Cabe mencionar que actualmente se dispone de enzimas obtenidas de microorganismos extremófilos aislados de regiones de la Tierra que se encuentran a muy altas temperaturas y presiones como las chimeneas marinas, los volcanes o los geisers. Estas enzimas funcionan de manera óptima a temperaturas muy altas, incluso arriba de los 100°C que aunque no son frecuentes en el procesamiento

de alimentos, son importantes para la biotecnología moderna. Éste es el caso de la ADN polimerasa obtenida de *Thermus aquaticus*, esencial para llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); o de lipasas obtenidas de *Thermotoga* spp. Las enzimas termófilas extremas tienen un potencial de aplicación en el campo alimentario si consideramos que se necesitan enzimas que resistan condiciones drásticas de operación, por ejemplo, en el procesamiento de almidón o que operen a temperaturas que limiten los riesgos de contaminación microbiana. Es importante recordar que los procesos químicos se desarrollan generalmente a altas temperaturas.

5.6.3 Efecto de la concentración de sustrato

Una enzima funciona de manera más eficiente cuando la concentración de sustrato está en exceso en relación con la concentración de enzima. Esto se debe a que las colisiones “exitosas” con el reactivo son más frecuentes, asegurando así que la mayor cantidad de enzima se encuentre activa. En estas condiciones, el producto se obtiene a la máxima velocidad posible para la cantidad de enzima presente. En caso de que la concentración de sustrato sea menor, la velocidad de reacción disminuye generalmente de acuerdo con un comportamiento como el que se muestra en la figura 5.7. Este aspecto es muy importante en la caracterización cinética de una enzima, como se verá más adelante. Por otra parte, la acción de una enzima a nivel industrial debe ser óptima tanto en términos de costo como de eficiencia catalítica, por lo que la reacción se debe llevar a cabo en la medida de lo posible a la máxima velocidad.

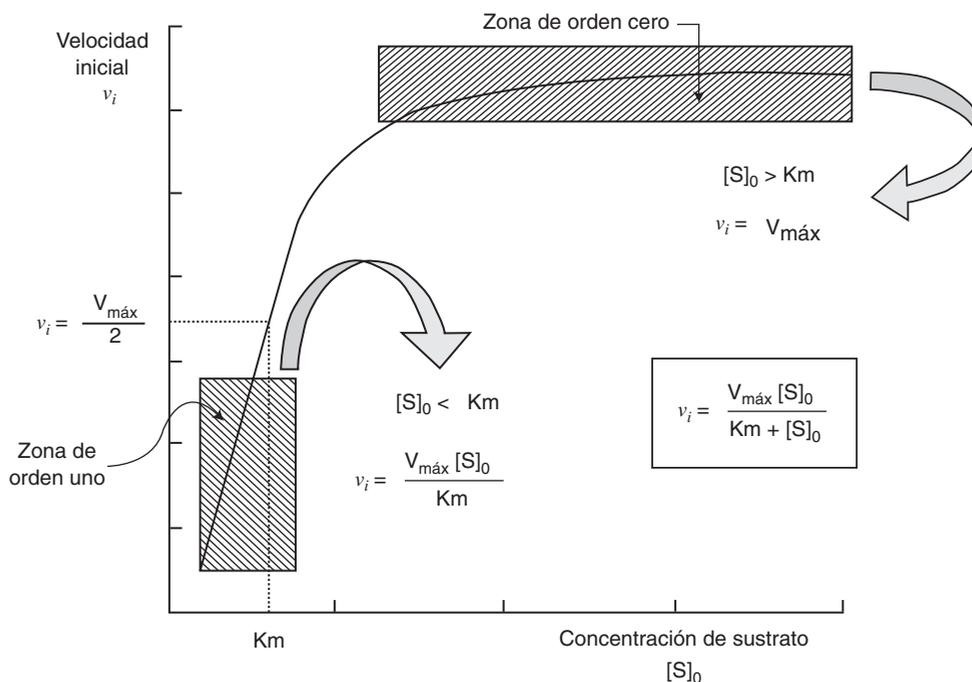


Figura 5.7 Efecto de la concentración del sustrato en la velocidad de reacción de las enzimas.

5.6.4 Efecto de la actividad del agua

Los alimentos se deshidratan para evitar el crecimiento microbiano; sin embargo, aun en estas condiciones perdura la acción de muchas enzimas.⁵ Las verduras y las frutas deshidratadas están sujetas a reacciones de deterioro cuando no se inactivan sus enzimas con un tratamiento de escaldado. Algunas enzimas llegan a actuar con un mínimo de agua, como ocurre con las lipasas que contienen los aceites puros. En ambos casos, la amplia disponibilidad del sustrato hace que las reacciones se logren aún en condiciones de baja actividad del agua (a_a). De hecho, existe evidencia, obtenida por resonancia magnética nuclear (RMN), de que enzimas globulares fijan de 0.2 a 0.3 g de agua en los grupos polares de la superficie, a partir de la cual pueden empezar a funcionar como catalizadores.

En otros casos, podría ser necesaria la aplicación de enzimas en medios con bajo contenido de agua, para la síntesis de compuestos en medios orgánicos, condición frecuente en procesos de química orgánica. En este sentido, se ha demostrado ampliamente que las enzimas hidrolíticas pueden catalizar la biosíntesis de ésteres, amidas, péptidos y carbohidratos en medios con bajo a_a al invertir las condiciones de equilibrio definidas para un medio acuoso.³⁴

Para alcanzar valores de a_a bajos, la enzima liofilizada se puede equilibrar en un ambiente con menor a_a , como podría ser en disolventes orgánicos no miscibles con el agua (por ejemplo, n-butanol, hexano, ciclohexano, etcétera), o reemplazar agua con disolventes miscibles como el glicerol. Contrariamente a lo que se podría pensar, algunas enzimas son más estables en disolventes orgánicos, sobre todo no polares, que en solución acuosa, este es el caso de la lisozima, la subtilisina y las lipasas.⁵

Algunas de las aplicaciones más importantes de enzimas en medios no acuosos incluyen la producción de aspartamo; la reestructuración de triacilglicerolos, por reacciones de transesterificación, para la obtención de lípidos con mejores características industriales (fusión, solubilidad) y nutricionales (con ácidos grasos insaturados). También en medio orgánico es posible sintetizar alquilglucósidos u otros agentes tensoactivos para mejorar las propiedades espumantes y emulsificantes en los alimentos o para facilitar la incorporación de aditivos insolubles, como algunos saborizantes, colores o agentes antioxidantes.³⁴

5.6.5 Efecto de otros agentes en la actividad enzimática

Por su naturaleza química, las enzimas se ven afectadas por todos los factores que influyen en las propiedades físicas y químicas de las proteínas, como se revisó en el capítulo correspondiente. En el caso de la fuerza iónica, ésta altera su estructura tridimensional, lo que trae consigo modificaciones del sitio activo.

Por otra parte, los iones de metales pesados, como mercurio, plata y plomo, generalmente inhiben la acción enzimática, mientras que varios cationes y aniones actúan como activadores; tal es el caso de los cationes de calcio, magnesio, cobre, cobalto, sodio, níquel, potasio, manganeso, hierro y cinc, así como aniones de cloro, bromo, yodo. Para cada enzima, deberá analizarse la necesidad de alguna de estas especies, o bien, el daño que pudieran ocasionar. El efecto activador se debe a que: en ocasiones forman parte del sitio activo, se requieren para la interacción de la enzima con el sustrato o ayudan a mantener la conformación tridimensional, interactuando con alguna región de la enzima. Algunas enzimas requieren de otros cofactores para poder presentar la actividad catalítica. En el cuadro 5.6 se presentan algunos ejemplos de enzimas y sus correspondientes cofactores. Se trata por lo general de enzimas clave en el metabolismo debido a su importancia en reacciones de síntesis y de oxidoreducción. La necesidad de producir y regenerar los cofactores ha sido una limitante en la aplicación industrial de este tipo de enzimas.

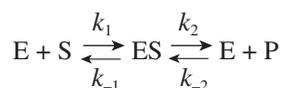
CUADRO 5.6 Características de algunos cofactores enzimáticos¹⁶

Enzima	Cofactor	Vitamina	Fosfato	Ribosa	Base nitrogenada
Oxidorreductasas	NAD ⁺	Niacina	+	+	Adenina
	NADP ⁺	Niacina	+	+	Adenina
	FAD ⁺	Riboflavina	+	+	—
Ligasas	ATP	—	+	+	Adenina
	UTP	—	+	+	Uridina
	CTP	—	+	+	Citidina
Transferasas	CoA	Ácido pantoténico	+	+	Adenina
	Acetilfosfato	—	+	—	—
Transferasas y ligasas	Piridoxalfosfato	Piridoxina	+	—	—
	Tiamina pirofosfato	Tiamina	+	—	—

Por otro lado, muchos productos de origen animal y vegetal contienen proteínas capaces de inhibir la actividad catalítica de algunas enzimas; su función biológica está relacionada con mecanismos reguladores para evitar la activación prematura de proenzimas o como defensa contra las enzimas que emplean insectos o microorganismos como elemento de ataque. Entre los inhibidores más conocidos están los que evitan la acción de las proteasas, que se encuentran en las leguminosas y cereales. En la soya existen dos tipos de inhibidores de naturaleza proteínica, conocidos como “de Kunitz” (21 kDa), específico para tripsina, y “de Bowman-Birk” (8.3 kDa) que inhibe tanto tripsina como quimotripsina. En otras leguminosas se producen preferentemente inhibidores del tipo Bowman-Birk. Ambos tipos de proteínas son termorresistentes, debido a que poseen hasta 7 puentes disulfuro. Dado que estos inhibidores causan un detrimento en la calidad nutricional, se deben inactivar, lo que se logra con el cocimiento por un tiempo aproximado de 1h a las temperaturas normales de cocción. Existen otros inhibidores de proteasas, como el ovomucoide (específico para tripsina) y el ovoinhibidor de la clara del huevo, que tiene un espectro de inhibición mayor, pues inhiben tripsina, quimotripsina y subtilisina. Los cereales contienen inhibidores de amilasas, cuya función es también proteger al grano contra los depredadores, impidiendo la degradación del almidón. Además, se han identificado inhibidores de invertasa, lipasas y de algunas enzimas pépticas.

5.7 CINÉTICA DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

Existen varios modelos que explican el funcionamiento de una enzima como catalizador, siendo uno de los más aceptados el desarrollado por Michaelis y Menten en 1913 (figura 5.7). Este modelo considera que cuando el reactivo o sustrato (S) está en contacto con la enzima (E), rápidamente se combinan para formar un complejo enzima-sustrato (ES). Posteriormente, de este complejo se liberan tanto el producto como la enzima, dejándola disponible para combinarse con una nueva molécula de sustrato. Lo anterior se representa en la siguiente ecuación general para una reacción en la que participa un solo sustrato:



(Ec. 2)

Según lo indica el sentido de las flechas, tanto la formación del complejo enzima-sustrato como su consumo para liberar al producto, pueden ser procesos reversibles. Los coeficientes k_1 , k_{-1} , k_2 y k_{-2} representan las constantes de velocidad para cada reacción. La formación del complejo ES es generalmente rápida, mientras que su descomposición en producto y enzima libre es un paso lento, ($k_2 < k_{-1}$), mientras que k_2 es generalmente mucho mayor que k_{-2} . Sin embargo, bajo ciertas condiciones, una reacción catalizada enzimáticamente puede proceder en cualquier dirección. Por ejemplo, y como se ha señalado ya, algunas reacciones enzimáticas que proceden en dirección hacia la hidrólisis en un medio acuoso, pueden proceder en sentido inverso en un medio con baja disponibilidad de agua.

Durante los primeros instantes de la reacción, la velocidad de formación de producto ($\Delta P/\Delta t$) se define como velocidad inicial, v_i , y es, de acuerdo con la ecuación 3, proporcional a la concentración del complejo ES. La concentración de enzima total (E_T), en cualquier momento es igual a $[E] + [ES]$ (enzima libre + enzima en forma de complejo (Ec. 4)). Cuando $[S] \gg [E]$ la enzima está totalmente saturada, esto es, se encuentra formando el complejo con el sustrato (Ec. 5), por lo que se encuentra a su máxima velocidad ($V_{m\acute{a}x}$), como se expresa en la ecuación 6.

$$v_i = k_2 [ES] \quad (\text{Ec. 3})$$

$$[E]_T = [E] + [ES] \quad (\text{Ec. 4})$$

Si $[S] \gg [E]$, entonces

$$[E]_T \approx [ES] \quad (\text{Ec. 5})$$

$$v_i \approx k_2 [E]_T = V_{m\acute{a}x} \quad (\text{Ec. 6})$$

Es importante recordar que existe una relación entre la concentración de los reactivos con la velocidad de reacción, lo que define el orden de una reacción química. Se ha mencionado que en el caso de una reacción enzimática la concentración de sustrato se debe mantener muy alta con relación a la concentración de enzima, de tal forma que se trate de una reacción de orden cero (figura 5.7). Así, la velocidad de reacción, a pH y temperatura constantes, será independiente de la concentración de sustrato y dependerá solamente de la concentración de la enzima, como lo muestra la figura 5.8 y la ecuación 6.

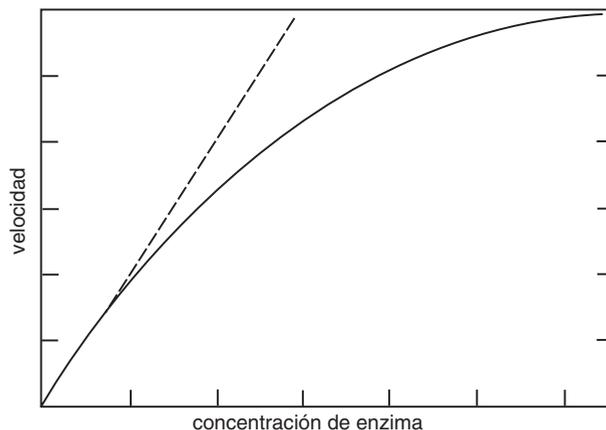


Figura 5.8 Velocidad de reacción enzimática con respecto a la concentración de enzima. La línea punteada es la relación teórica (ecuación 6), y la línea sólida la relación observada.

Por otra parte, en la figura 5.7 se observa que en concentraciones bajas de sustrato, la velocidad v_i en los inicios de la reacción es proporcional a la concentración de sustrato y, por lo tanto, se establece un sistema de primer orden; a medida que se incrementa $[S]$, la velocidad se vuelve de orden fraccionario y posteriormente de orden cero; en este último caso v_i es independiente de la concentración del sustrato, la enzima alcanza su saturación y se obtiene la máxima velocidad, como ya se mencionó anteriormente.

A la relación entre k_1 , k_{-1} y k_2 se le conoce con el nombre de constante de Michaelis-Menten o K_m .

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (\text{Ec. 7})$$

La K_m , junto con k_2 , también conocida como constante catalítica (k_{cat}) o número de recambio, son específicas para cada enzima y la relación k_{cat}/K_m determina la eficiencia catalítica de la enzima para un determinado sustrato (cuadro 5.7).

La ecuación de Michaelis-Menten (Ec. 8) representa una hipérbola (figura 5.7) y describe la variación del orden de reacción en función de la concentración del sustrato: en condiciones de saturación, la ecuación 8 se transforma en $v_i = V_{m\acute{a}x}$ que representa una ecuación de velocidad de orden cero. Por otra parte, cuando $[S]_0 \ll K_m$, entonces la ecuación de Michaelis se puede simplificar a $v_i = V_{m\acute{a}x} ([S]_0/K_m)$, que puede simplificarse como $v = k' [S]$, donde k' equivale a una constante de primer orden, como se señala en la misma figura 5.7. En general:

$$v_1 = V_{m\acute{a}x} \left[\frac{[S]}{K_m + [S]} \right] \quad (\text{Ec. 8})$$

Aparentemente en la igualdad de Michaelis-Menten no existe ningún término que incluya la concentración de la enzima $[E]_T$; sin embargo, ésta se encuentra implícita en $V_{m\acute{a}x}$ ya que es igual a $k_2[E]_T$, como se precisó en la ecuación 6.

CUADRO 5.7 Ejemplo de valores de las constantes catalíticas para varias enzimas, algunas con más de un sustrato

Enzima	Sustrato	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M^{-1})	k_{cat}/K_m ($M \cdot s^{-1}$)
Acetilcolina esterasa	Acetilcolina	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Anhidrasa carbónica	CO_2	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO_3^-	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
Catalasa	H_2O_2	4×10^7	1.1	4×10^7
Crotonasa	Crotonil-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumarasa	Fumarato	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malato	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
Triosafosfato isomerasa	Gliceraldehído 3-fosfato	4.3×10^3	4.7×10^{-4}	2.4×10^8
β -lactamasa	Bencil penicilina	2×10^3	2×10^{-5}	1×10^8
Hexocinasa	Glucosa		1.5×10^{-4}	
	Fructosa		1.5×10^{-3}	
Quimotripsina	N-benzoil tirosinamida		2.5×10^{-3}	
	N-formil tirosinamida		1.2×10^{-2}	
	N-acetil tirosinamida		3.2×10^{-2}	
	N-glicil tirosinamida		1.2×10^{-1}	

De la ecuación 8 se puede deducir una relación importante, ya que cuando $v_i = 1/2 V_{\text{máx}}$, se obtiene que $K_m = [S]$; es decir, la relación de constantes de velocidad definida en la ecuación 7, es igual a la concentración del sustrato a la cual la velocidad observada en la reacción es la mitad de la velocidad máxima. El valor de K_m no es absoluto, depende del pH, la temperatura y del tipo de sustrato, más no de su concentración.

La K_m es un índice de la afinidad que tiene una enzima por un determinado sustrato: los valores bajos indican que la enzima requiere de bajas concentraciones de sustrato para alcanzar la saturación; por el contrario, los valores altos representan enzimas con poca afinidad hacia el sustrato, ya que es necesaria una elevada concentración de éste para que se saturen. Por ejemplo, en el cuadro 5.7 se observa que la quimotripsina hidroliza varios sustratos con diferentes velocidades, dependiendo de la afinidad que tenga hacia cada uno de ellos; se observa que la N-benzoiltirosinamida es el mejor sustrato para esta enzima y que el tamaño del grupo unido a la tirosina determina la afinidad de la enzima hacia cada sustrato, lo que se refleja en el valor de K_m .

5.8 CUANTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La potencia o actividad de una enzima no puede medirse en términos de su concentración, ya que puede estar presente pero en forma desnaturalizada y sin funcionalidad; por esta razón se emplea la *Unidad de Actividad Enzimática*, definida como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto una μmol de sustrato por minuto, en las condiciones óptimas de pH y temperatura; la concentración de sustrato deberá ser aquella en que la enzima se encuentre actuando con su velocidad máxima, es decir, en condiciones de saturación ($[S]_0 \gg K_m$). Para la determinación, se debe medir la velocidad inicial de consumo de sustrato ($-\Delta S/\Delta t$) o la de aparición de producto ($\Delta P/\Delta t$) bajo condiciones definidas de pH, fuerza iónica y temperatura: ΔS y ΔP equivalen a la cantidad de sustrato y de producto que se transformaron en el intervalo inicial de tiempo Δt .

Cuando se quiere saber la proporción de enzima con respecto a todas las proteínas que pueden estar presentes en una preparación se utiliza la *actividad específica*, definida como las unidades de actividad de la enzima en relación con la cantidad total de proteína en miligramos; cuanto más pura sea, mayor será la relación de actividad por miligramo de proteína. Esta forma de expresar la actividad enzimática es de gran utilidad para seguir el grado de purificación de una enzima durante los distintos pasos de su obtención.

Otro término que se emplea con frecuencia es el *número de recambio*, que equivale al número de moléculas de sustrato transformadas en producto, por minuto, por molécula de enzima. En general, en la mayoría de las transformaciones que sufren los alimentos se tienen valores del número de recambio que van desde varios miles hasta millones; por ejemplo, los valores de esta unidad para la invertasa, la polifenol oxidasa, la lipoxigenasa, la lactasa y la β -amilasa, son de 42,000, 120,000, 180,000, 750,000 y 1,200,000, respectivamente. El número de recambio equivale a la actividad específica: moles de sustrato transformadas por minuto por cada mol de enzima. Por ello, con frecuencia sólo se reporta como min^{-1} y equivale a la k_{cat} .

Muchos de los sustratos en alimentos son polímeros de composición química y peso molecular diverso (por ejemplo, almidón, pectinas, complejos proteínicos) por lo que es complicado definir su actividad en los términos anteriormente expuestos. Se han desarrollado innumerables métodos para

cuantificar la actividad en esos sistemas, siendo relevantes los casos de las actividades amilolítica y proteolítica; sin embargo, los protocolos son muy arbitrarios, lo que dificulta la comparación entre los valores obtenidos por diversos métodos. Por ejemplo, para determinar actividad amilolítica se cuenta con las siguientes metodologías y unidades de actividad correspondientes:⁴⁰

- Poder diastásico (DP°). Cantidad de enzima presente en 0.1 mL de una preparación enzimática al 5% que produce la cantidad de azúcar que reduce 5 mL de solución de Fehling, en 100 mL de una solución al 1% de almidón a 20°C por 1 hora.
- Unidad dextrinógena (DU). Cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 mg de almidón soluble al 1.2% en amortiguador de acetatos pH 5.7, en 10 minutos a 30°C.
- Unidad glucoamilasa (GAU). Cantidad de enzima que libera 1 g de glucosa a partir de almidón soluble en 1 hora.
- Unidad SKB. Cantidad de amilasa que hidroliza 1 g de dextrina β -límite hasta el punto de reacción negativa con yodo en 1 hora bajo condiciones definidas.
- Unidades “licuefón”. Se determina el tiempo requerido para disminuir un 50% la viscosidad relativa de una cantidad definida de almidón.
- Unidades NF. Tiempo requerido para que 1 g de preparación enzimática hidrolice 100 g de almidón de una solución al 3.75% a 40°C, hasta el punto de reacción negativa con yodo.

Desde el punto de vista de aplicación industrial de enzimas, es probable que se tenga que elegir de entre un grupo de enzimas de diversas características para una aplicación dada. De acuerdo a lo que se ha revisado anteriormente la decisión dependerá de varios factores, como los rangos de pH y temperatura óptimos de funcionamiento de cada una. Otro factor importante es la *estabilidad* al pH y a la temperatura de operación, que no necesariamente coincidirá con los valores óptimos de funcionamiento. Adicionalmente, el valor de la K_m permitirá elegir a la enzima que tuviera una mayor afinidad por el sustrato de interés. Para calcular la cantidad de enzima necesaria para llevar a cabo la reacción en un tiempo estipulado o el tiempo en que se llevaría a cabo la reacción con una cantidad determinada de enzima, es necesario emplear la ecuación integrada de Michaelis-Menten que a continuación se presenta:

$$k_2[E]_T t = [S]_0 X - K_m \ln(1 - X) \quad (\text{Ec. 9})$$

donde:

$$X = \frac{[S]_0 - [S]}{[S]_0} \quad (\text{Ec. 10})$$

S_0 es la concentración inicial de sustrato y S la concentración al tiempo t.

5.9 USO INDUSTRIAL DE LAS ENZIMAS

De las miles de enzimas conocidas, sólo algunas decenas se producen a escala industrial, para emplearse en la manufactura tanto de alimentos como de materias primas. Cada día aumenta el número de reacciones industriales que se efectúan por rutas enzimáticas, principalmente debido a la posibilidad que existe hoy en día de expresar cualquier gene en microorganismos modificados genéticamente.

El empleo de enzimas tiene muchas ventajas: *a)* son muy específicas en su manera de actuar, por lo que no propician reacciones secundarias indeseables; *b)* funcionan en condiciones moderadas de temperatura y de pH y no requieren de condiciones de procesamiento drásticas que puedan alterar la naturaleza del alimento, ni de equipo muy costoso; *c)* actúan en muy bajas concentraciones, entre 10^{-8} y 10^{-6} M; *d)* su velocidad puede ser controlada al ajustar el pH, la temperatura y la concentración de enzima, y *e)* son fácilmente inactivadas una vez alcanzado el grado de transformación deseado.⁴¹ En algunos casos es deseable operar a las enzimas en ambientes extremos, como en el caso de la hidrólisis del almidón, que se gelatiniza a 110-120°C o en síntesis orgánica en presencia de solventes y en ambientes de baja disponibilidad de agua.

Una limitante importante para el uso de enzimas es que algunas de ellas son muy caras por su baja disponibilidad, sin embargo, es conveniente hacer un balance de los costos y las ventajas que trae consigo llevar a cabo una determinada reacción con enzimas, para definir la viabilidad. Cabe indicar que en este sentido hay muchas innovaciones tecnológicas que están logrando hacer más económicos estos catalizadores, como es el caso de la ingeniería genética que permite transformar microorganismos y plantas para aumentar la síntesis de enzimas o bien, la reutilización de éstas cuando se encuentran inmovilizadas en un soporte, lo que constituye un biocatalizador.

Al igual que cualquier otro aditivo alimenticio, las enzimas deben cumplir con determinadas especificaciones de calidad, sobre todo en cuanto a su toxicidad, o a la del microorganismo que la produce, en caso de que sea de origen microbiano.³⁵ Debido a que las enzimas que se emplean en la industria, no son puras (resulta muy costosa su purificación completa), es preciso tomar en consideración todos los materiales adicionales que pudieran contener; por esta razón, una preparación enzimática comercial es en realidad una mezcla de proteínas, entre las que se encuentra la que presenta la actividad deseada.

En muchas ocasiones los estudios cinéticos hechos en un laboratorio, en condiciones ideales, no se pueden extrapolar a un alimento debido a que éste es mucho más complejo y puede tener características que no se toman en cuenta en un sistema modelo; en el laboratorio se tiene una gran libertad para modificar el pH, la temperatura, la fuerza iónica, las concentraciones del sustrato y de la enzima, la naturaleza y la cantidad de los activadores, inhibidores y cofactores, etcétera. En general, se tiene que determinar si con las características que tiene el alimento (o con alguna ligera modificación), la enzima actúa de manera razonable, no necesariamente en sus condiciones óptimas, y con un costo adecuado.

Las enzimas industriales son de origen animal, vegetal y microbiano (cuadros 5.8 y 5.9), pero las más abundantes son las últimas. Los microorganismos que se emplean para este fin, presentan muchas ventajas, ya que incluso se les puede alterar genéticamente para convertirlos en sobreproductores de una determinada enzima. Adicionalmente, la ingeniería genética permite aislar el material genético que codifica para la síntesis de una determinada enzima, e introducirla en otro microorganismo más manejable para su producción en grandes cantidades.

En el cuadro 5.9 se enlistan los microorganismos más importantes en la producción de enzimas, entre los cuales destacan *Aspergillus niger*, *A. oryzae* y *Bacillus subtilis*, con los cuales se obtiene un alto rendimiento en la producción; sus productos son inocuos ya que no sintetizan paralelamente agentes tóxicos o antibióticos que a veces se encuentran asociados a cultivos microbianos. Cabe destacar que algunos países, como Estados Unidos, Francia y Canadá, consideran que *A. niger* y *B. subtilis* son microorganismos con una alta seguridad para la producción de enzimas.

Una de las ventajas que ofrece la obtención de enzimas por fermentación es que muchos microorganismos las producen extracelularmente, es decir, las segregan de la célula, lo que hace que su

CUADRO 5.8 Fuentes vegetales y animales comerciales de preparaciones enzimáticas

Fuente	Actividades enzimáticas
Vegetal	
Malta (cebada)	α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa
Trigo	β -amilasa
Piña	Bromelina
Higo	Ficina
Papaya	Papaína
Soya	Lipoxigenasa
Rábano	Peroxidasa
Animal	
Estómago porcino	Pepsina
Páncreas	Tripsina, lipasa
Estómago de rumiantes	Renina, lipasa
Hígado bovino	Catalasa

CUADRO 5.9 Algunas fuentes microbianas comerciales de preparaciones enzimáticas

Fuente	Actividad enzimática
Hongos	
<i>Aspergillus oryzae</i>	α -amilasa, glucoamilasa, lactasa, proteasa, lipasa
<i>Aspergillus niger</i>	α -amilasa, β -glucanasa, glucoamilasa, celulasas, hemicelulasas, lactasa, pectinasas, proteasas, lipasa, catalasa, glucosa oxidasa, naranginasa, pululanasa, dextranasa, inulina, xilanasas
<i>Rhizopus oryzae</i>	α -amilasa, glucoamilasa, pectinasas
<i>Mucor pusillus</i>	Proteasa, sustituto de la renina
<i>Mucor miehei</i>	Proteasa, sustituto de la renina
<i>Trichoderma reesei</i>	Proteasa, sustituto de la renina, celulasa, hemicelulasa
Levaduras	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactasa, renina recombinante
<i>Saccharomyces sp.</i>	Invertasa
Bacterias	
<i>Escherichia coli</i>	Varias enzimas recombinantes
<i>Bacillus subtilis</i>	α -amilasa, β -glucanasa, proteasas neutra y alcalina
<i>Bacillus licheniformis</i>	α -amilasa, proteasa
<i>Bacillus polymyxa</i>	α -amilasa
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	α -amilasa, proteasa
<i>Bacillus cereus</i>	α -amilasa, proteasa
<i>Micrococcus lysodieticus</i>	Catalasa
<i>Bacillus coagulans</i>	Glucosa isomerasa
<i>Streptococcus griseofuseus</i>	Glucosa isomerasa
<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	Glucosa isomerasa
<i>Streptomyces rubiginosus</i>	Glucosa isomerasa
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Pululanasa

recuperación sea sencilla. Sin embargo, en otros casos las enzimas son intracelulares y es preciso romper las células para su extracción. En ambos casos el extracto crudo se disuelve en un amortiguador acuoso y las enzimas se precipitan por la adición de disolventes orgánicos, como etanol o acetona, o con sales como sulfato de amonio; los precipitados se recuperan por filtración o centrifugación y se secan al vacío o se liofilizan. La recuperación de las enzimas se debe llevar a cabo en condiciones tales que no provoquen pérdida de la actividad catalítica. Cuando se desea obtener enzimas más puras se recurre a métodos cromatográficos mediante los cuales las proteínas se separan de acuerdo con su carga, tamaño, interacciones hidrofóbicas e incluso su especificidad.

Dado que la presencia de la enzima no necesariamente implica que esté activa (puede estar presente en forma desnaturalizada), los productos enzimáticos se comercializan de acuerdo con su potencia catalítica; generalmente se estandarizan a una cierta actividad y se les añaden agentes estabilizantes (propilenglicol, sorbitol, glicerol). También se les pueden adicionar cloruro de sodio o benzoatos para evitar el crecimiento microbiano y conservarlos en el almacenamiento.

5.10

REVISIÓN DE ENZIMAS DE IMPORTANCIA EN ALIMENTOS

Esta sección mencionará algunos de los aspectos más relevantes de las enzimas cuyas actividades son importantes en la conservación y procesamiento de alimentos o en la producción de materias primas. Se revisarán a las enzimas que hidrolizan carbohidratos, enzimas que hidrolizan proteínas, a las que hidrolizan lípidos y otras reacciones enzimáticas que son importantes en sistemas alimenticios. En el cuadro 5.10 se presenta un resumen de las aplicaciones más importantes de enzimas en alimentos.

5.10.1 Carbohidrasas

Algunos de los carbohidratos de los alimentos son polímeros, por ejemplo, celulosa, pectinas, almidón, y pueden ser sujetos a una degradación enzimática, por lo que se debe señalar que existen dos maneras principales en que una enzima hidrolítica interacciona con un sustrato polimérico. La actividad exo de las exoenzimas, remueve una unidad del polímero de alguno de sus extremos, mientras que las endoenzimas tienen la capacidad de romper enlaces internos en cualquier punto de la cadena del polímero.

5.10.1.1 Amilasas

La α -amilasa (EC 3.2.1.1) es una endohidrolasa que actúa de manera aleatoria sobre los enlaces internos α -(1-4) de la amilosa y de la amilopectina, con lo cual se producen dextrinas de 10 a 20 unidades de glucosa; se le da el nombre de enzima licuante debido a que su presencia provoca la rápida reducción de la viscosidad de las soluciones de almidón (figuras 5.9 y 5.10). Es capaz de romper las uniones glucosídicas adyacentes a ambos lados del enlace α -(1-6) de la amilopectina, aunque no ataca específicamente este enlace. Las α -amilasas bacterianas provienen principalmente del género *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*) son metalo-enzimas dependientes del ión calcio que les ayuda a mantener su actividad y las estabiliza contra desnaturalización térmica y degradación por proteasas. También pueden ser de origen fungal, provenientes de varias especies de *Aspergillus*, como *A. oryzae*, *A. niger*, *A. awamori* y *A. usamii*.

CUADRO 5.10 Algunas de las aplicaciones de enzimas en el procesamiento de alimentos

Enzima	Alimento	Propósito o función
Amilasas	Productos de panificación	Aumentar el contenido de azúcares fermentables para la levadura.
	Cerveza	Producir maltosa para la fermentación alcohólica.
	Cereales	Producir maltosa y dextrinas para aumentar la absorción de agua.
	Chocolate/cocoa Edulcorantes	Fluidificar almidón. Producir dextrinas de bajo peso molecular y de glucosa a partir de almidón.
Celulasa	Cerveza	Hidrolizar la pared celular de las semillas de cebada y adjuntos.
	Café	Hidrolizar la celulosa durante el secado de las bayas para facilitar el descascarillado.
	Varios	Uso de enzimas en procesos de extracción (aceite de oliva).
Dextransacarasa	Azúcares de especialidad	Producir oligosacáridos con propiedades prebióticas.
Invertasa	Edulcorantes	Azúcar invertido para la producción de caramelos de centro suave, y para la producción de jarabes a partir de sacarosa.
Lactasa	Helados	Evitar la cristalización de la lactosa con lo que se evita la textura arenosa.
	Leche	Leche para la población intolerante a lactosa.
Tanasa	Cerveza	Eliminar de compuestos polifenólicos – proceso <i>chill-proofing</i> .
Naraginasa	Jugos de cítricos	Eliminar de sabores amargos, particularmente en toronja.
Enzimas pécticas	Chocolate/cocoa	Actividad hidrolítica durante la fermentación del cacao.
	Café	Hidrolizar la cubierta gelatinosa durante la fermentación de las bayas.
	Jugos de frutas	Aumentar el rendimiento de extracción por prensado, clarificación, mejorar procesos de concentración.
	Aceite de oliva	Tratamiento de aceitunas para mejorar la extracción.
	Vino	Clarificación.
Proteasas	Productos de panificación	Aumentar la extensibilidad de la masa, mejorar la textura, miga y volumen del pan. Liberar actividad β -amilasa.
	Cerveza	Desarrollar el cuerpo y sabor. Ayudar a la clarificación – proceso <i>chill-proofing</i> .

CUADRO 5.10 (continuación)		
Enzima	Alimento	Propósito o función
Lipasas	Cereales	Manufacturar miso.
	Queso	Producir la caseína. Producir sabores durante la maduración.
	Huevo	Mejorar las propiedades de secado.
	Carne y pescado	Ablandar. Recuperar proteínas de huesos. Liberar aceite.
	Soya	Preparar tofu y leche de soya.
	Hidrolizados de proteína	Producir salsa de soya y tamari. Producir proteínas funcionales.
	Vino	Clarificar.
	Queso	Generar atributos de sabor durante la maduración.
	Lípidos	Convertir grasas y aceites a glicerol, ácidos grasos y reacciones de transesterificación.
	Leche	Adecuar el sabor para fórmulas con sabor a chocolate.
Fosfatasa	Grasas	Producir grasas de diversa composición. Producir emulsificantes. Producir aromas.
	Leche	Monitorear procesos térmicos – pasteurizar.
Nucleasas	Leche	Monitorear procesos térmicos – pasteurizar.
Peroxidasa y catalasa	Potenciadores de sabor	Producir mononucleótidos.
Glucosa oxidasa y catalasa	Vegetales	Monitorear escaldado.
Polifenol oxidasa	Variedad de productos	Eliminar oxígeno y/o glucosa para evitar oxidación y oscurecimiento.
Dextranasa	Café, te, pasas	Oscurecer durante la fermentación y/o maduración.
	Jugo de caña	Tratar jugos contaminados con dextrana.

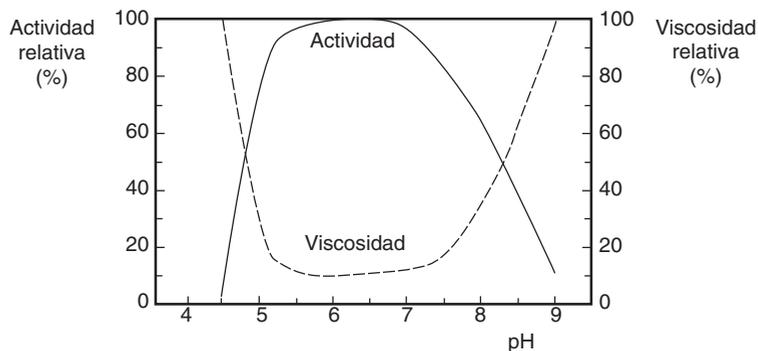


Figura 5.9 Efecto del pH sobre la actividad amilolítica de *B. amyloliquefaciens*, determinada por disminución de viscosidad e incremento de azúcares reductores.⁴⁰

Por otra parte, la β -amilasa (EC 3.2.1.2) hidroliza los enlaces α -(1-4) a partir de los extremos no reductores de la amilosa y de la amilopectina y produce moléculas de maltosa; este tipo de actividad la clasifica consecuentemente como una exoenzima (figura 5.10). Dado que su acción es sobre el extremo de la cadena, tendría que ocurrir una hidrólisis extensiva para observar una disminución importante de la viscosidad de la solución de almidón. Su acción se detiene al llegar a las uniones α -(1-6) de la amilopectina, generando fragmentos conocidos como dextrinas β -límite. Su nombre se debe a que ocasiona una inversión de la configuración del carbono anomérico de α a β , por lo que genera moléculas de β -maltosa. Se produce endógenamente en las semillas durante la germinación, y por un gran número de microorganismos. Entre los más importantes se encuentran *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus*, *Streptomyces* sp y *Aspergillus fumigatus*.

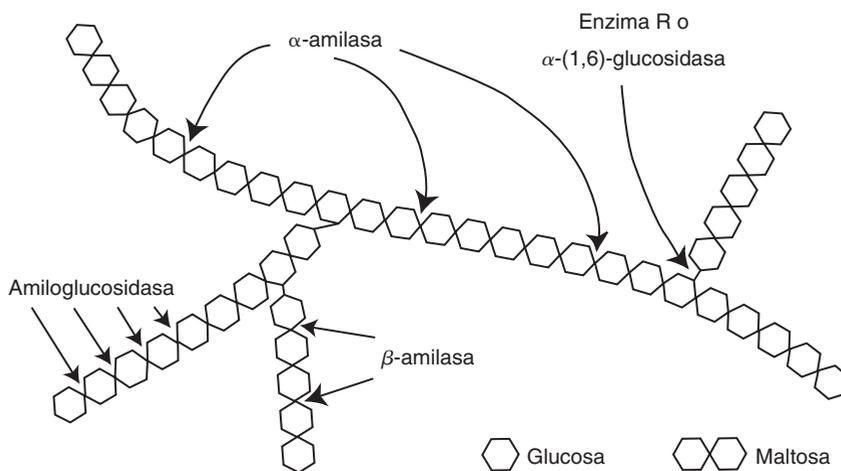


Figura 5.10 Hidrólisis del almidón por diferentes enzimas.

Amiloglucosidasa (EC 3.2.1.3). Esta enzima, también llamada glucoamilasa, tiene la capacidad de hidrolizar tanto los enlaces α -(1-4) como los α -(1-6) de los glucanos por el extremo no reductor de la cadena; produce β -glucosa, por lo que se lleva a cabo la inversión de la configuración del azúcar, como en el caso de la β -amilasa. Su acción prolongada puede causar la hidrólisis total del almidón (figura 5.10), por lo que se emplea en la fabricación los jarabes de glucosa. Uno de los primeros reportes de esta enzima data de 1957 en *Aspergillus awamori*, y actualmente se obtiene a nivel industrial a partir de *Aspergillus niger* y de *Rhizopus delemar*.

La *pululanasa* (EC 3.2.1.41) hidroliza los enlaces α -(1-6) en el pululano, (polímero que consiste en maltotriosa unida por enlaces α -(1-6)), la amilopectina y las dextrinas límite. Requiere que cada una de las dos cadenas de amilopectina unidas por el enlace α -(1-6) contengan al menos dos unidades adyacentes de glucosa unidas con enlace α -(1-4). Se le conoce también como enzima desramificante o enzima R. Las preparaciones comerciales provienen de *Klebsiella pneumoniae*, *B. deramificans* y *B. acidopullulyticus*. En la hidrólisis de almidón se emplea como enzima desramificadora.

Aplicaciones industriales

Malteo. Durante la germinación de cereales las actividades de α - y β -amilasa se incrementan considerablemente. Ésta es una función importante en la producción de malta a partir de la cebada, en el proceso llamado de malteo, etapa esencial en la elaboración de cerveza. Este cereal contiene en el endospermo una cantidad abundante de β -amilasa y en el momento de iniciarse la germinación del grano se sintetiza la α -amilasa por acción de las hormonas giberelinas. Las dos enzimas degradan el almidón y producen dextrinas, maltosa, glucosa y maltotriosa, sustratos que aprovechan las levaduras empleadas en la fabricación de la cerveza. Si hubiera una hidrólisis de almidón insuficiente, se reflejaría en una fermentación lenta o en la producción de bajo contenido de alcohol. Para evitar estos defectos se recomienda agregar α -amilasa exógena. También se puede agregar pululanasa o glucoamilasa para realizar la hidrólisis total del almidón, en la producción de cervezas ligeras, ya que todo el carbohidrato se puede transformar en etanol.²⁹

Panificación. La acción amilolítica comienza al mezclar la harina con todos los ingredientes en estado húmedo, produciendo maltosa y algo de glucosa, ya que la harina de trigo contiene mucha más β - que α -amilasa. Los mono y disacáridos obtenidos sirven como sustrato para las levaduras en la producción de anhídrido carbónico y de etanol, así como para efectuar las reacciones de oscurecimiento no enzimático durante la cocción que le dan la coloración característica a los derivados de la panificación. La cantidad de almidón disponible para las enzimas depende del método que se siga para la producción de harina, en términos generales, para tal fin sólo se emplea alrededor del 10% de este polisacárido.

A pesar de que la actividad de la β -amilasa es mayor que la de la α -amilasa, esta última desempeña un papel muy importante en la panificación, por lo que se puede agregar de manera exógena; si hay una excesiva acción de la α -amilasa, habría una hidrólisis mayor del almidón, lo que causaría que la miga se tornara pastosa y débil con un color demasiado oscuro en la costra; en el otro extremo, cuando su actividad es baja, puede provocar una fermentación insuficiente debido a la ausencia de maltosa, pues la β -amilasa actúa mejor sobre las dextrinas generadas por la α -amilasa; esto modifica además de la textura, el color del pan y su textura. Ambas enzimas se inactivan en la etapa del horneado, aunque la α - es más termorresistente que la β -amilasa.²⁹

Producción de edulcorantes. La aplicación industrial más importante de las enzimas amilolíticas es en la fabricación de diferentes derivados del almidón; en este sentido se emplean conjuntamente varias enzimas en forma escalonada para la producción de edulcorantes, como se describe a continuación.

A una solución de almidón gelatinizado se le añade una α -amilasa bacteriana termorresistente (de *B. licheniformis*) que esté poco contaminada con proteasas para que la proteína que contiene este polisacárido no se convierta parcialmente en aminoácidos que propician reacciones de oscurecimiento no enzimático, dando una mala apariencia al producto final. Comercialmente existen preparaciones de amilasas con una acción proteolítica baja.

La actividad de las amilasas hace que el almidón se convierta en maltodextrinas, que son de gran utilidad en la industria alimentaria. Éstas, a su vez, sirven de sustrato para llevar a cabo tres transformaciones: *a*) si se incuba con una amiloglucosidasa (en ocasiones combinada con una pululanasa), se favorece la hidrólisis prácticamente total (97-98%) y se produce D-glucosa; este azúcar se transforma en fructosa por mediación de la glucosa isomerasa, generalmente en forma inmovilizada; *b*) las dextrinas en presencia de una amiloglucosidasa y la β -amilasa se convierten en jarabes glucosados con equivalentes de dextrosa de 42 a 63, y *c*) la sola actividad de la β -amilasa sobre las dextrinas genera una mezcla rica en maltosa (figura 5.11). Todos los productos así obtenidos (glucosa, fructosa,

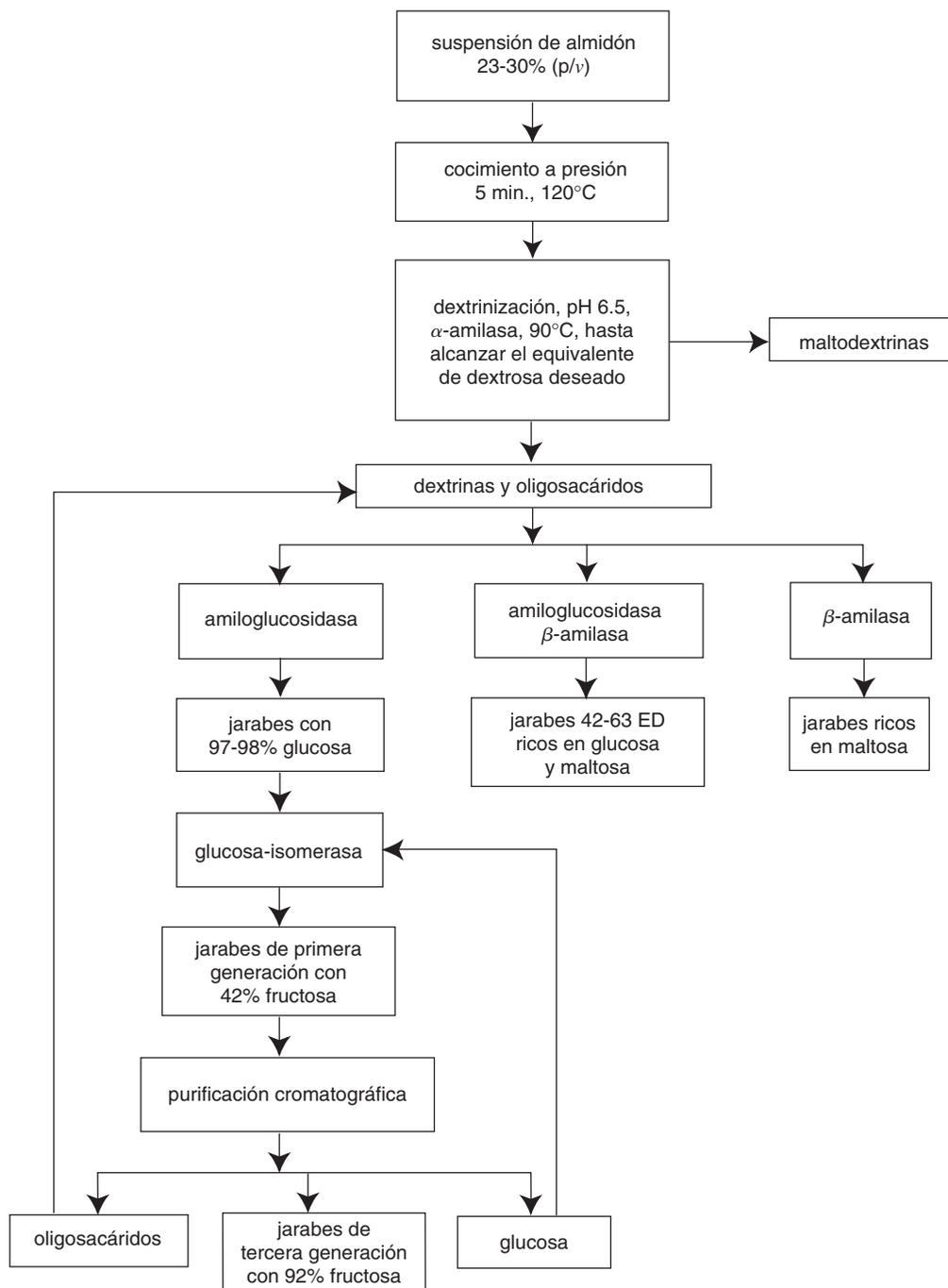


Figura 5.11 Procesamiento enzimático del almidón.

dextrinas y los jarabes con un contenido elevado de glucosa y de maltosa), se usan ampliamente en diversas industrias alimenticias, como las de bebidas, confitería, fermentaciones, helados, alimentos infantiles, y otras.

El grado de transformación del almidón en glucosa se determina por el poder reductor del jarabe y se expresa como equivalente de dextrosa; por ejemplo, una hidrólisis que genere un producto con un ED de 42 puede tener una composición aproximada de 22% de glucosa, 20% de maltosa, 20% de tri y tetrasacáridos y 30% de dextrinas o simplemente 42% de glucosa. Los jarabes glucosados son útiles no sólo como edulcorantes, sino por sus características nutricionales y funcionales, como fermentabilidad, viscosidad, humectabilidad, entre otras. Son materia prima esencial en la elaboración de caramelos, mermelada, jalea, bebidas de fruta, productos de panificación, etcétera. Los jarabes maltosados, son más viscosos y menos higroscópicos que los jarabes glucosados; presentan menor tendencia a oscurecerse y a cristalizar y se usan preferentemente en helados, caramelos y productos de panificación. Por su parte, las maltodextrinas, obtenidas con la α -amilasa, se comercializan en polvo y se utilizan como agentes que aportan volumen en la formulación de ciertos productos como alimentos para bebés, sopas en polvo, sustitutos de crema para café y como agente acarreador de sabores y edulcorantes.

Se han empleado α -amilasas también para retardar el proceso de retrogradación de almidón, responsable del endurecimiento del pan y de las tortillas. Una degradación limitada evita que la amilopectina solubilizada y amorfa se reacomode nuevamente en forma cristalina.

5.10.1.2 β -glucanasas

Los polímeros celulosa y hemicelulosa constituyen la mayor cantidad de materia orgánica en nuestro planeta ya que forman parte de la pared celular del tejido vegetal. La celulosa también es un polímero de la glucosa, como el almidón, pero con enlaces β -(1-4), lo que resulta en una estructura lineal y extendida del polímero, con diversos tipos de organización estructural —celulosa amorfa, celulosa cristalina.

Las *celulasas* son un sistema complejo de enzimas que hidrolizan las uniones β -(1-4) de los glucanos y se encuentran en la naturaleza en microorganismos que atacan a las plantas, así como en el sistema digestivo de animales herbívoros. Las preparaciones comerciales provienen principalmente de *Trichoderma reesei* y de *A. niger*.

Para la hidrólisis completa de celulosa cristalina a unidades de D-glucosa se requiere primero transformarla a estado amorfo con endoglucanasas (EC 3.2.1.4), luego hidrolizarla a unidades de celobiosa (figura 5.2) con celobiohidrolasas (EC 3.2.1.91) y por último convertir esta última a unidades de D-glucosa con la intervención de β -glucosidasas (EC 3.2.1.21).

La acción hidrolítica de otras β -glucanasas se ejerce sobre los enlaces β -(1-3) y β -(1-4) de diversos polisacáridos, y de algunas gomas como la de guar y la de algarrobo. Las hemicelulasas (xilanasas, arabinosidasas, etcétera) quedan incluidas en este grupo. Las preparaciones comerciales se obtienen a partir de diferentes especies de *Bacillus* y de mohos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Trichoderma*.

Aplicaciones industriales

Este grupo de enzimas se ha usado en forma limitada para mejorar la extracción de aceites esenciales, así como para ablandar los tejidos celulósicos de verduras y frutas y para ayudar la rehidratación

de diversos productos. Sin duda las aplicaciones más importantes son en el beneficio del café para facilitar el proceso de descascarillado de los granos y en la producción del mosto para cervecería y vinificación, donde la eliminación de los β -glucanos facilita los procesos de filtración o clarificación.^{29, 41} Recientemente las xilanasas se han aplicado también en panificación.

5.10.1.3 Pectinasas

La textura de las frutas y las verduras se debe a la presencia de pectinas que forman parte de la pared celular, por lo que la acción de las pectinasas altera las características de estos alimentos. Estas enzimas se han clasificado en: *a) pectinometilesterasas* o *pectinoesterasas* que, al hidrolizar los enlaces éster metílico, liberan metanol (que a veces se asocia erróneamente a la fermentación de frutas) y producen pectinas de bajo metoxilo e incluso ácido poligalacturónico; son abundantes e importantes en las frutas, sobre todo en los cítricos como la naranja; *b) poligalacturonasas*, que rompen el enlace glucosídico α -(1-4) del ácido galacturónico de las pectinas por una acción que se puede llevar a cabo tanto en el interior del polímero (endo) como a partir de los extremos (exo); cuando lo hacen en el interior, la viscosidad se reduce rápidamente; y cuando actúan a partir de los extremos, producen moléculas libres de ácido galacturónico y la viscosidad no se afecta tan rápidamente; junto con la pectinmetilesterasa integran el sistema de pectinasas de las frutas; *c) pectinoliasas* o *pectinotranselimininas*, que son las liasas de mayor importancia en la tecnología de alimentos; su acción produce dobles ligaduras entre los carbonos 4 y 5 de la molécula de ácido D-galacturónico, lo que trae como consecuencia el rompimiento del enlace glucosídico por β -eliminación, principalmente en las pectinas de alto metoxilo. No se encuentran en las frutas; sólo las producen los microorganismos, por lo que las contaminaciones microbianas de las frutas (antes o después de la cosecha) traen consigo un deterioro muy grave en la calidad y vida de anaquel del producto, y *d) pectatoliasas* que actúan en los ácidos poligalacturónicos o en las pectinas de bajo metoxilo, con una acción similar a la descrita para la pectinoliasa; sólo las producen las bacterias y no se encuentran en forma natural en los vegetales. En la figura 5.12 y en el cuadro 5.11 se presentan sus características. Por otro lado, algunos autores también consideran otras enzimas como la protopectinasa cuya función es transformar la protopectina de las frutas inmaduras (pectina asociada con celulosa) en pectina de bajo metoxilo.

CUADRO 5.11 Clasificación de enzimas pécticas

Nombre y tipo	Número de EC	Sustrato preferido	Sitio de corte
<i>Hidrolasas</i>			
Endo poligalacturonasa	3.2.1.15	Pectato	Al azar en el interior de la cadena
Exo poligalacturonasa	3.2.1.67	Pectato	Terminal
<i>Liasas</i>			
Endo pectatoliasa	4.2.2.2	Pectato	Al azar en el interior de la cadena
Exo pectatoliasa	4.2.2.9	Pectato	Terminal
Endo pectinoliasa	4.2.2.10	Pectina	Al azar en el interior de la cadena
<i>Esterasa</i>			
Pectinoesterasa	3.1.1.11	Pectina	Desesterificación

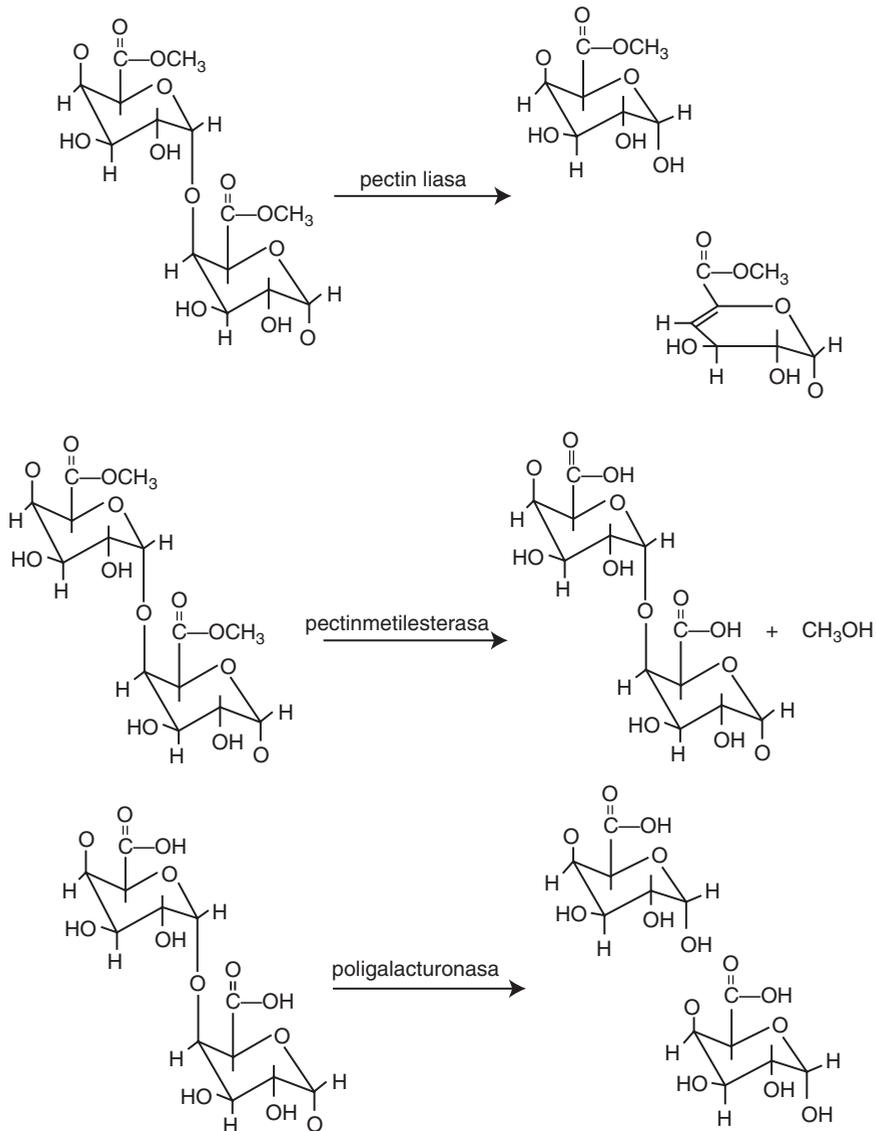


Figura 5.12 Acción de las enzimas pécticas.

Como ya se indicó, en las frutas se encuentran fundamentalmente la pectinmetilesterasa y la poligalacturonasa, cuya acción conjunta en la maduración provoca que las pectinas se degraden y el fruto adquiera una textura más adecuada para el consumidor; por otra parte, una excesiva actividad enzimática causa ablandamiento notorio, pérdida de textura, propicia las condiciones para un ataque microbiano y aumenta la concentración de ácido galacturónico.

La pectinmetilesterasa provoca la formación de un mayor número de grupos carboxilo libres capaces de interaccionar a través de iones divalentes, como el calcio, y crear estructuras tridimensionales más rígidas que aumentan la dureza de los frutos; por esta razón, en ciertos casos es común la adición de calcio para mantener la textura de los productos, sobre todo de los que han sido tratados térmicamente (figura 5.13).⁸ Las frutas también incrementan su firmeza cuando se calientan en presencia de sacarosa, ya que ésta al hidratarse, obliga a los polisacáridos de la pared celular a unirse más fuertemente, con lo que se aumenta la rigidez; es un fenómeno similar al que ocurre en la elaboración de mermeladas cuando se usan pectinas de bajo metoxilo en presencia de azúcares (capítulo 2).

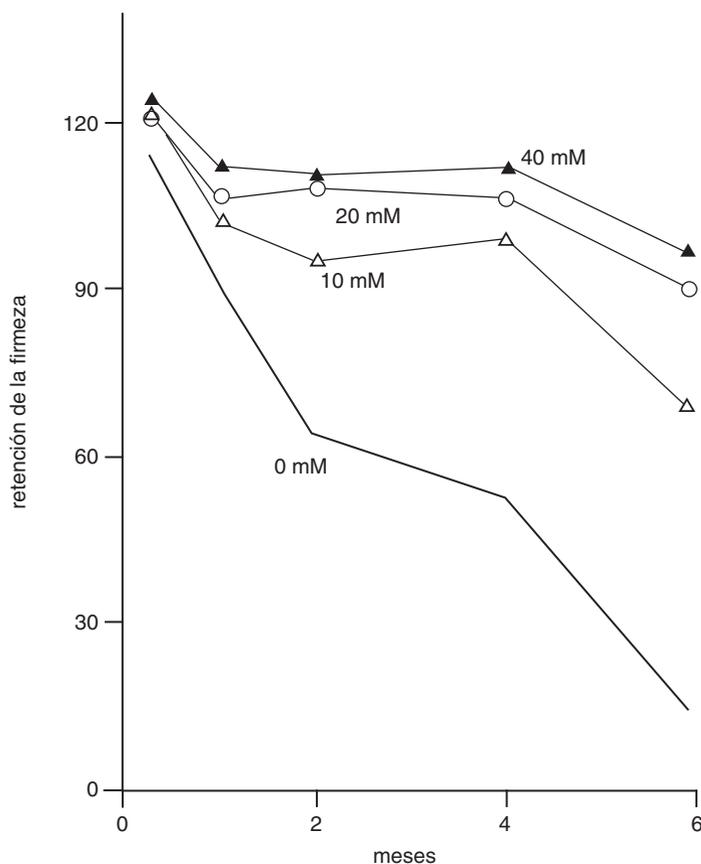


Figura 5.13 Efecto del CaCl_2 en la retención de la firmeza de rebanadas de pepinos calentados a 81°C durante 3 minutos.³¹

Aplicaciones industriales

Los jugos de tomate, naranja, limón, toronja, deben su viscosidad y turbiedad a las pectinas en suspensión que se liberan de sus tejidos en el proceso de extracción; la acción de las pectinasas causa la hidrólisis, la desesterificación y la desestabilización de los coloides, provocando su precipitación y la consecuente pérdida de sus características. El consumidor no acepta estos jugos sin su correspon-

diente turbiedad; por lo tanto, durante su manufactura es necesaria la inactivación enzimática endógena con tratamientos térmicos que dependen de pH: a medida que éste disminuye se reduce la intensidad del calentamiento, aunque en general, para lograr esto basta un minuto a 80-90°C. Además del pH, la concentración de sólidos (medida como grados Brix) también influye ya que los sólidos tienen un efecto protector sobre la enzima.²⁸

Cabe indicar que en algunas ocasiones puede ocurrir una reactivación de las enzimas contenidas en los vegetales y en los jugos sometidos a un tratamiento térmico, por lo que es muy importante tener un control adecuado en este proceso; la actividad residual de la pectinmetilesterasa se usa como índice de la eficiencia del calentamiento. Su unidad de actividad se define como el número de miligramos de metoxilos liberados por gramo de sólidos solubles por unidad de tiempo. Parece ser que la reactivación de la pectinmetilesterasa es la causante de algunas alteraciones en la textura de frutas como la cereza, pues ocasiona una reducción de las pectinas solubles y un aumento de las insolubles.

Las preparaciones comerciales de pectinasas son en realidad mezclas de la pectinmetilesterasa, la poligalacturonasa y la pectinoliasa. Se usan en la extracción, clarificación y filtración de diversos jugos de frutas y de vinos, así como en la elaboración de purés y concentrados frutícolas.

En los últimos años se ha propuesto usar una mezcla de pectinasas y de miel para la clarificación del jugo de manzana, ya que existe una acción sinérgica entre ambas; sin embargo, parece ser que el efecto de la miel no se debe a alguna actividad enzimática, sino a la presencia de proteína que forma un complejo con las pectinas, complejo que tiende a precipitar.³²

5.10.1.4 Inulinasa

La inulina es un polímero lineal de fructosas unidas con enlaces β -(2-1) con una sacarosa unida en el extremo de la cadena, tiene un peso molecular aproximado de 6,000 Da y sirve como reserva de energía en muchas plantas como la achicoria, la alcachofa y el agave (figura 5.14). La inulinasa (EC 3.2.1.7) es producida por diversos microorganismos, entre los que destacan las levaduras *Candida* y *Kluyveromyces fragilis* y los hongos como *Aspergillus*. Se ha reportado que *A. ficum* produce una endoinulinasa y otra con actividad exo (EC 3.2.1.80).⁴⁰

Aplicaciones industriales

Es evidente que la inulina representa una materia prima con gran potencial para la producción de fructosa. La inulina se extrae de las plantas con agua caliente y se puede hidrolizar químicamente por la adición de ácidos fuertes, a un pH de 1-2, a 80-100°C; sin embargo, la fructosa es inestable a valores de pH ácidos y bajo las condiciones de reacción se obtiene un producto oscuro, por lo que la hidrólisis enzimática ofrece una alternativa importante. En la actualidad, se aplica para la producción de fructo-oligosacáridos y se ha propuesto como aditivo en el proceso tequilero.

5.10.1.5 Lactasa

La β -galactosidasa o lactasa (EC 3.2.1.23) hidroliza a la lactosa en sus monosacáridos correspondientes galactosa y glucosa y se puede emplear en diversos productos lácteos, sobre todo en los que se elaboran para las poblaciones con intolerancia a la lactosa. Actualmente existe incluso una presentación farmacéutica de la enzima, que se añade a la leche antes de consumirla para reducir la cantidad de lactosa.

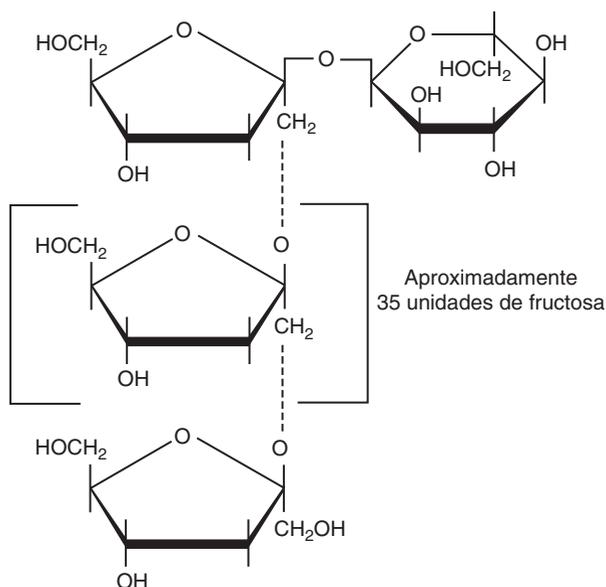


Figura 5.14 Estructura lineal de la inulina.

En derivados de la confitería también ha encontrado aplicaciones, ya que al hidrolizar la lactosa, evita que ésta cristalice; además, la mezcla de glucosa y galactosa resultante tiene un sabor más dulce que la propia lactosa. También se emplea en la panificación dado que mejora la calidad de panificación de los alimentos elaborados con leche.

Se ha observado que la lactasa, dependiendo de la fuente de que provenga, presenta cierta actividad de transgalactosidasa; por ejemplo, esta actividad es más fuerte cuando la produce *Escherichia coli* o *Kluyveromyces lactis* y menor cuando proviene de *Bacillus circulans*.²¹ La acción de la transgalactosidasa favorece la síntesis de oligosacáridos a partir de la galactosa y de la glucosa, pero éstos tienden a desaparecer en las últimas etapas de la reacción hidrolítica de la lactosa.³³

Las preparaciones enzimáticas comerciales para aplicación en alimentos se obtienen principalmente de *K. fragilis* que se aplica en leche y de *A. oryzae* que se aplica en suero ácido por su pH óptimo de actividad. La proveniente del hongo es más estable que la de *Kluyveromyces*, pero tiene la desventaja de que se inhibe por la galactosa producida.

5.10.1.6 Invertasa

La β -fructofuranosidasa o invertasa (EC 3.2.1.26) hidroliza la sacarosa en sus dos monómeros constituyentes: glucosa y fructosa. Se considera que el proceso de inversión enzimático es mucho más eficiente que el método químico, debido a que no se obtienen subproductos indeseables.

La invertasa está presente endógenamente en varios frutos y vegetales como la papa, pero las preparaciones comerciales se obtienen de levaduras como *S. cerevisiae* y *S. carlsbergensis*, que la producen de manera extracelular. Su mayor aplicación es en la elaboración del azúcar invertido (capítulo 2), cuyo impacto en confitería es muy importante en la elaboración de dulces con centro suave,⁴⁰ dada la mayor solubilidad de glucosa y fructosa que de la sacarosa.

5.10.2 Proteasas

Las enzimas proteasas o proteinasas hidrolizan el enlace peptídico de las proteínas. Existen proteasas comerciales de origen vegetal (papaína, ficina y bromelina), animal (pepsina, tripsina y quimotripsina, renina) y microbianas (de hongos y bacterias). Pueden tener acción endo o exo; en este último caso pueden ser carboxipeptidasas si remueven el último aminoácido del extremo carboxilo, o aminopeptidasas si lo hacen del extremo amino. Su acción es compleja, pues tienen otro grado de especificidad, ya que pueden preferir atacar el enlace peptídico entre aminoácidos específicos. Por ejemplo, la renina hidroliza preferentemente el enlace entre fenilalanina y metionina de la caseína de la leche.

Se pueden clasificar de acuerdo a la química de su mecanismo catalítico en: serino-, tiol-, metalo-proteasas y proteasas ácidas. En la figura 5.15, se muestran los rangos de pH en que estas enzimas son activas.²⁹

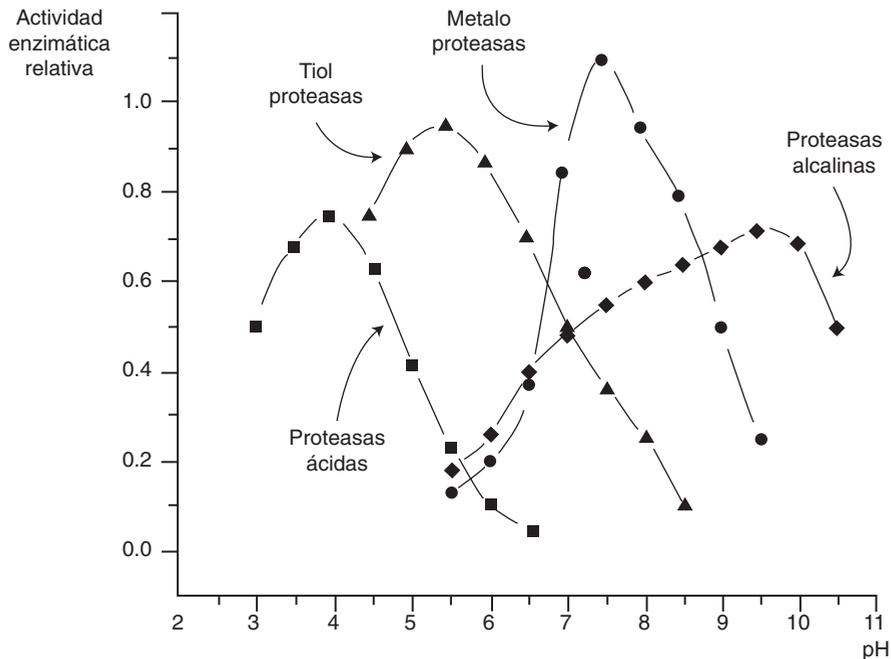


Figura 5.15 Rangos de pH de actividad de grupos de proteasas.²⁹

Las *serino-proteasas* o *proteasas alcalinas* (EC 3.4.21) poseen un hidroxilo en su sitio activo (que proviene de un residuo de serina), además otros residuos importantes para la catálisis son un grupo imidazol (de la histidina) y un aspartilo. Todas son endopeptidasas y son inhibidas por DFP (diisopropil fósforo fluorohidrato) que reacciona covalentemente con la serina catalítica. Su actividad óptima se presenta en un rango de pH entre 7.5 y 10.5. La tripsina, quimotripsina, elastasa y subtilisina son ejemplos típicos de este grupo.

Las *tiol-proteasas* (EC 3.4.22) requieren el grupo sulfhidrilo de un residuo de cisteína en el sitio activo. Otros residuos importantes para la catálisis son el carboxilo y el histidilo. El rango de pH

de actividad óptima es bastante amplio (de 4.5 a 9.5), pero su óptimo está generalmente entre 6 y 7.5. Las proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) son algunos ejemplos.

Las *metalo-proteasas* (EC 3.4.24) requieren la presencia de un ión metálico, como el Zn o Mn, en el sitio activo y en general son exopeptidasas. Se inhiben en presencia de agentes quelantes. Tienen su pH óptimo cercano a 7.0, por lo que también se denominan proteasas neutras. Algunos ejemplos son las carbopeptidasas A y B y las producidas por *Bacillus amyloliquefaciens*.

Las *proteasas ácidas* (EC 3.4.23) necesitan un grupo carboxilo en el sitio activo, generalmente proveniente de un aspartilo. Su rango de pH óptimo está entre 2 y 4. Los ejemplos típicos son la pepsina, la quimosina (enzimas digestivas de origen animal) y varias proteasas de origen fungal (*A. niger*).

Algunas de las aplicaciones más importantes de las proteasas en alimentos se muestran en el cuadro 5.12. La elección de la enzima a utilizar depende de factores como la efectividad contra el sustrato en cuestión y la velocidad de reacción deseada (algunos procesos requieren una hidrólisis lenta).

CUADRO 5.12 Usos de enzimas proteolíticas en alimentos

Producto o proceso	Función
Cerveza	Solubilizar proteínas de la semilla para aportar fuente de nitrógeno en la fermentación y para evitar turbidez en el producto. Estabilizar la espuma.
Queso	Coagular las proteínas de la leche. Generar compuestos de sabor durante la maduración.
Cereales	Producción de miso y tofu.
Ablandamiento de carne	Hidrolizar parcialmente tejido conectivo.
Pan	Aumentar la elasticidad del gluten, mejorar la textura y volumen de la hogaza. Liberar la β -amilasa.
Galletas	Hacer más crujiente al producto.
Cacao/chocolate	Acción sobre la semilla durante la fermentación.
Huevo	Mejorar propiedades para el secado.
Pescado	Obtención de concentrados proteínicos. Recuperación de aceite y proteínas de tejido de desecho.
Salsa de soya	Hidrolizar las proteínas de soya y trigo durante la fermentación.

5.10.2.1 Proteasas de origen vegetal

Son tiol-proteasas y se producen principalmente de papaya (*Carica papaya*), piña (*Anana sativa*), higo (*Ficus carica*, *Ficus glabrata*), alcachofa (*Cynera cardunculus*) y soya (*Soya hispida*).

La *papaína* (EC 3.4.22.2) se extrae del látex de la papaya en donde se encuentra en una concentración de 10% aproximadamente; tiene un peso molecular de 21 000 Da, tiene tres puentes disulfuro, un rango de pH óptimo de 6.5 a 7.8. Es una proteasa no muy específica.

Por su parte, la *bromelina* (EC 3.4.22.4) se obtiene de los tallos pulverizados de la piña. Es una glucoproteína que contiene manosa, xilosa, fucosa y *N*-acetil-D-glucosamina, con un peso molecular 33,000 Da y pH óptimo de 5 a 8.

Aplicaciones industriales

Las proteasas de origen vegetal, principalmente la bromelina y papaína, son muy activas sobre el tejido conectivo de colágena y elastina y tienen menor preferencia por las proteínas de las fibras musculares, por lo que uno de sus usos principales es en el ablandamiento de la carne.¹¹ Se prefieren las proteasas vegetales sobre las microbianas para esta aplicación debido a que la especificidad en su modo de acción es inversa, esto es, las microbianas hidrolizan preferentemente las fibras musculares que las del tejido conectivo. En algunos países era práctica común la inyección de soluciones de esta enzima en el sistema circulatorio de los animales antes de su sacrificio, con lo cual se logra que se distribuya en forma homogénea. Su acción durante el almacenamiento del cuerpo muerto provoca que los tejidos se suavicen; sin embargo, este proceso debe controlarse ya que en exceso puede ocasionar demasiado ablandamiento lo que es indeseable. Por otra parte, existen en el mercado diversos productos a base de papaína, cloruro de sodio y glutamato monosódico que se usan en las cocinas familiares para suavizar la carne; esta enzima es adecuada para este fin ya que actúa a bajas concentraciones y además, es muy estable a temperaturas altas.

Otra aplicación importante es en la producción de cerveza. Durante el almacenamiento en frío después de la fermentación, la cerveza puede producir un enturbiamiento indeseable provocado parcialmente por la proteína propia de la materia prima empleada; la papaína o bromelina en concentraciones bajas (10 ppm) ayuda a evitar este problema ya que hidroliza los polipéptidos responsables del enturbiamiento. Una proteólisis excesiva no es deseable, ya que las proteínas de alto peso molecular también son necesarias para la producción y estabilización de la espuma (ver propiedades funcionales de las proteínas), por lo que si son hidrolizadas en exceso, se obtiene un producto poco espumoso.²⁹

5.10.2.2 Proteasas de origen animal

Las proteasas del tracto digestivo de los mamíferos se conocen y se han estudiado desde antes que se supiera la naturaleza proteínica de las enzimas. Pertenecen a los diversos grupos de proteasas ya mencionados, pero tienen en común el hecho de que se producen como precursores inactivos o proenzimas, los que se activan al ser secretados al tracto digestivo del animal. De este grupo las de mayor importancia por su aplicación en alimentos son la pepsina y la quimosina.

La *pepsina* (EC 3.4.23.1-3) se produce como pepsinógeno y adquiere su conformación activa por hidrólisis del ácido estomacal. Presenta dos carboxilos en su centro activo, tiene un punto isoeléctrico de 1.0, actúa mejor a pH 1.8 y su peso molecular es de 35,000 Da (321 aminoácidos). Se utiliza como fórmula farmacéutica para mejorar la digestión, así como para producir hidrolizados proteínicos y ocasionalmente para la estabilización de la cerveza.

La *quimosina* (EC 3.4.23.4) también se conoce como renina o cuajo. Se obtiene del cuarto estómago (abomaso) de becerros, cabritos, corderos y terneras aún no destetados, se secreta en la forma inactiva de zimógeno llamada pro-renina (40,770 Da) que se transforma en la enzima activa por la acción del ácido estomacal. Consta de una sola cadena polipeptídica (35,600 Da) con grupos disulfuros internos. En el sitio catalítico participan los residuos de aspártico de las posiciones 32 y 215. Es muy específica para los enlaces peptídicos cuyo carboxilo pertenece a la fenilalanina o a la leucina; tiene un punto isoeléctrico de 4.5 y una temperatura óptima de 37 a 43°C. En sistemas modelo presenta una mayor actividad a pH 3.8, pero en la leche lo hace mejor a pH 5.0. Requiere de iones Ca.

La renina es una de las proteasas más utilizadas, ya que desde hace muchos siglos su acción se aprovecha para coagular la leche. Su modo de actuar es muy específico: hidroliza el enlace fenilala-

nina-metionina (posiciones 105-106) de la κ -caseína, lo que da origen a una secuela de reacciones que provocan la formación de un coágulo; éste es uno de los primeros pasos en la elaboración de los quesos. En el capítulo que trata sobre la leche se dan más detalles de estas transformaciones.

La quimosina fue la primera enzima para aplicación en alimentos que fue obtenida por métodos de ADN recombinante. Más adelante se explicará en qué consiste esta tecnología. La quimosina se logró sobre-expresar en una cepa hospedera de origen microbiano (39% con respecto a la cantidad total de proteína), con las siguientes ventajas: aumento en rendimiento y productividad con respecto al método de extracción del estómago de animales; conservación de la alta especificidad requerida, a comparación del uso de proteasas de origen fungal que también se han utilizado para la producción de queso (cuajo microbiano). Los microorganismos hospederos en que se ha expresado son *Escherichia coli* K 12, *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus awamori*. La quimosina recombinante obtenida por estos microorganismos fue aprobada para su utilización en alimentos por la FDA en 1994.⁴⁸

Proteasas musculares. En los animales, además de las proteasas gástricas, se encuentra un gran número de enzimas distribuidas en diversos tejidos y compartimientos celulares, como los lisosomas que contienen grandes cantidades de enzimas hidrolíticas y que cumplen con una función primordialmente digestiva. En el caso de la carne, el tejido muscular se ablanda de manera natural por acción de diversas enzimas proteolíticas después del *rigor mortis*, como las *calpaínas* y las *catepsinas*. Las primeras se encuentran en diversos tejidos, pero se ha demostrado en ganado bovino y porcino que, específicamente, las del tejido muscular son las principales responsables del ablandamiento *post mortem*.^{15, 23, 25} Las segundas se encuentran en los lisosomas de músculo y tejido conectivo, por lo que en caso de romperse la membrana correspondiente, sus enzimas pueden tener una influencia sobre el músculo.²⁰

5.10.2.1 Proteasas de origen microbiano

De todas las proteasas, las producidas por microorganismos son las de mayor importancia comercial, principalmente para la formulación de detergentes. Todos los microorganismos producen proteasas para consumir fuentes de nitrógeno complejas, pero sólo aquellas extracelulares y producidas en grandes cantidades son las que se utilizan a nivel industrial. En el cuadro 5.13 se presentan algunas de las más importantes.

Aplicaciones industriales

Las proteasas microbianas se utilizan para la producción de hidrolizados de utilidad en la complementación nutricional de alimentos; así como para la recuperación de proteínas de materiales de desperdicio de origen animal, como sangre, vísceras y pescado; también se usan como sustitutos de renina y para la modificación del gluten de la harina de trigo. Esta última aplicación es interesante ya que repercute de manera importante en la calidad y propiedades organolépticas del pan: volumen, dureza, peso, tamaño y homogeneidad de la miga.²⁹

Los hidrolizados de proteína se usan mucho como saborizantes en la elaboración de diversos alimentos, por ejemplo, algunos sustitutos de salsa de soya tienen una mezcla de aminoácidos y de péptidos.

También se han empleado diversas proteasas para la modificación de proteínas con el objeto de impartirles ciertas propiedades funcionales de las que de otra manera son deficientes; con este método se puede incrementar su capacidad de espumado, emulsificación, solubilidad, etcétera.

CUADRO 5.13 Algunas proteasas microbianas de importancia en alimentos

Nombre	Origen	Especificidad	pH óptimo	Características bioquímicas
Serino-proteasas				
Subtilisina Carlsberg	<i>Bacillus licheniformis</i>	Tyr, Phe y Trp	8-9	Monomérica 27, 277 Da No tiene Cys
Pronasa	<i>Streptomyces griseus</i>	C-terminal de Glu y Asp	8.4	20,000 Da
Proteinasa K	<i>Tritirachium album</i>	C-terminal de residuos alifáticos, hidrofóbicos y aromáticos	7-8	28,500 Da Dos puentes S-S Una Cys libre
Metalo-proteasas				
Proteasa neutra	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	N-terminal de Phe, Leu y Val	4.8-6.6	37,000 Da Tiene un átomo de Zn y dos de Ca
Termolisina	<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	Residuos hidrofóbicos	7-9	34,000 Da Muy termoestable. Tiene un átomo de Zn y cuatro de Ca
Proteasas ácidas				
<i>Renina de mucor</i>	<i>Mucor pusillus</i> <i>Mucor miehei</i>	N y C-terminal de residuos hidrofóbicos	4-6	30,000 Da Dos Cys libres

Es interesante resaltar la función de las enzimas proteolíticas de los microorganismos que participan en la maduración de queso; debido a su acción se producen compuestos que aportan al sabor característico de estos productos. Los aminoácidos obtenidos son sustratos de reacciones de transaminación, deshidrogenación, descarboxilación y reducción, con lo que se produce una gran cantidad de compuestos de sabor como el ácido fenil acético, p-cresol, metanotiol, dimetil disulfuro, isovalerato, 2-metil butanal, 3-metil butanal, 3-metil butanol, entre muchos otros.²⁷

5.10.3 Lipasas

Las lipasas (EC 3.1.1.3) tienen como sustrato a los triacilglicéridos y dado que tienen actividad esterasa liberan los ácidos grasos correspondientes. Dependiendo del grado de hidrólisis pueden producir diglicéridos, monoglicéridos o incluso glicerol (figura 5.16). Los ácidos grasos libres tienden a ser muy reactivos, especialmente si son insaturados, ya que en contacto con el oxígeno del aire producen rancidez oxidativa (capítulo 4).

Las lipasas constituyen una clase especial de esterasas ya que actúan específicamente en ésteres insolubles en agua. Para ser hidrolizados deben estar en emulsión, ya que la enzima actúa en la interfase aceite-agua. El sitio activo de la proteína queda expuesto hacia la región hidrofóbica, pero con

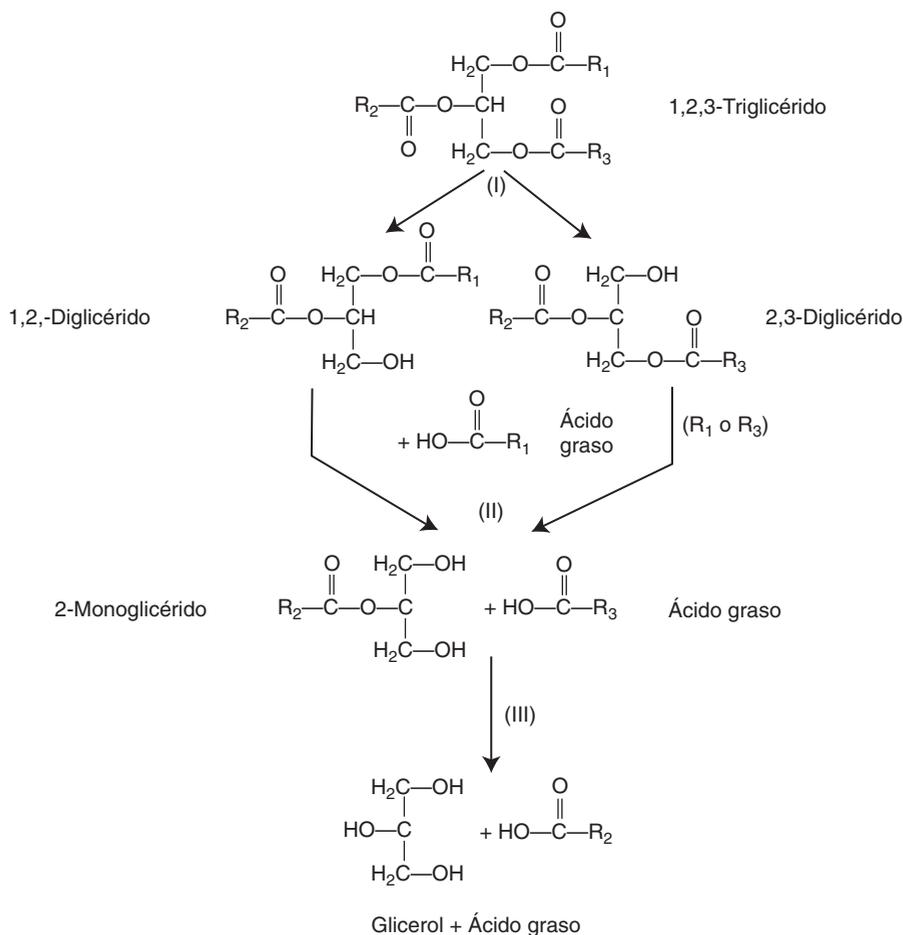


Figura 5.16 Etapas en la hidrólisis de triacilglicéridos.⁴⁰

acceso a la fase acuosa, pues se necesita la participación de moléculas de agua en la catálisis. Este fenómeno se conoce también como activación interfacial y explica la razón por la que la actividad de las lipasas depende fuertemente del área interfacial. Se pueden reconocer dos tipos de especificidad de hidrólisis: preferencia por la posición del ácido graso en el triacilglicérido, denominada regioespecificidad, y preferencia por un determinado tipo de ácido graso. Las lipasas no sólo llevan a cabo reacciones de hidrólisis, sino que también pueden catalizar reacciones de interesterificación y transesterificación que han resultado de mucho interés para la producción de aceites de mejor calidad nutricional y de mayor valor, a partir de aceites baratos. Un ejemplo de esto es la producción de sustituto de manteca de cacao a partir de aceite de palma y ácido estéarico.³⁴

Las lipasas están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos. Las de origen animal incluyen la pancreática gástrica, intestinal y la de la leche. Las vegetales abundan en las semillas oleaginosas (soya y cacahuete) y las microbianas son producidas principalmente por hongos

y levaduras como *Aspergillus niger*, *Mucor miehei*, *Rhizopus delemar*, *Geotichum candidum*, *Candida rugosa* y *Candida antarctica*.

Lipasas vegetales. Las lipasas endógenas vegetales tienen un efecto no deseable sobre los aceites. El primer paso para la extracción del aceite de soya es triturar el grano; esto favorece la acción lipolítica y la consecuente producción de ácidos grasos libres; los insaturados son más susceptibles a la oxidación libres que en su estado esterificado normal por lo que, el alimento se enrancia más fácilmente. En estas condiciones también se incrementa el índice de acidez que igualmente ocasiona problemas graves de estabilidad.

Lipasas animales. De todas las lipasas, la de la leche es tal vez la que más se ha estudiado y es la causante de la rancidez hidrolítica. Tiene naturaleza de lipoproteína, y debido al fenómeno de activación interfacial, sólo ataca la superficie de los glóbulos de grasa, que está en contacto con la fase acuosa, y no en el interior de los mismos. La homogeneización provoca la formación de muchos glóbulos de grasa de menor tamaño, lo que causa un aumento de la superficie lípido-agua y favorece la acción de la enzima. Debido a que la leche tiene un elevado contenido de ácidos grasos de cadena corta, resulta particularmente afectada por las lipasas, pues éstas liberan ácidos como butírico, cáprico y caproico, que tienen olores muy peculiares y que son los responsables de la rancidez hidrolítica.

Lipasas microbianas. Las preparaciones comerciales que se utilizan para la modificación de aceites y grasas provienen en su mayoría de microorganismos. Su mayor aplicación es en la elaboración de diversos productos lácteos, principalmente en la maduración de quesos; en éstos liberan ácidos grasos de cadena corta que contribuyen al aroma o que sirven de sustrato para reacciones secundarias.²⁷ Por β -oxidación, descarboxilación y esterificación, se producen metil cetonas, alcoholes secundarios, lactonas y ésteres que forman parte de los compuestos que imparten el sabor característico de los quesos madurados. Las lipasas se pueden agregar de manera exógena o pueden ser producidas por los microorganismos presentes en el producto.

Existen varios aditivos comerciales con características sensoriales de derivados lácteos que se producen por la acción de la lipasa sobre la grasa de la leche. En ocasiones, las bebidas lácteas con sabor a chocolate adquieren su sabor característico con el uso controlado de estas enzimas.

5.10.4 Oxidorreductasas

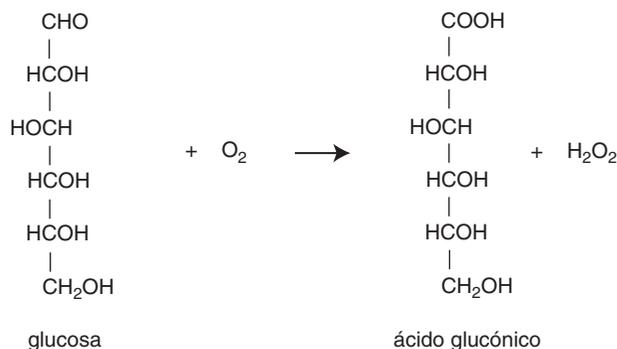
El oxígeno causa cambios en los alimentos, mediante reacciones oxidativas en ocasiones catalizadas por enzimas. Algunos ejemplos son el oscurecimiento de frutas, o la oxidación de ácidos grasos insaturados. Las oxidasas también son responsables de la degradación de vitaminas, como el ácido ascórbico. Para evitar estos efectos, se puede desactivar con calor a las enzimas endógenas, o también se puede eliminar el oxígeno presente del alimento. La revisión de los mecanismos de acción y propiedades de estas enzimas, aportará elementos para poder evitar la pérdida de calidad del alimento.

5.10.4.1 Glucosa oxidasa

La glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4) cataliza la reacción entre la glucosa y el oxígeno molecular, produciendo ácido glucónico y peróxido de hidrógeno; su aplicación más importante es en la eliminación de la glucosa del huevo antes de su deshidratación, con objeto de evitar las reacciones de oscurecimiento no enzimático descritas en el capítulo 2. Se puede obtener de *Penicillium notatum* o de *Aspergillus niger*; la que proviene de este segundo microorganismo tiene un peso molecular de 160,000 Da, un pH óptimo de acción de 5.5 y posee como cofactor dos moléculas del FAD que se regeneran

con la reacción; es inhibida por mercurio y plata, generalmente presenta una gran actividad contaminante de catalasa, lo cual es muy deseable para eliminar el H_2O_2 que se produce en la reacción.

La glucosa oxidasa se emplea también para eliminar el oxígeno que pueden contener las bebidas, los aderezos y las mayonesas, ya que es el que inicia muchas de las transformaciones de deterioro en los alimentos. Finalmente, la determinación cuantitativa de la glucosa se puede llevar a cabo con el uso de esta enzima.



Debido al ácido producido, la acción de esta enzima también se ha sugerido para la conservación del pescado: la reducción de las concentraciones de azúcares fermentables y de oxígeno, hacen que se reduzca el crecimiento microbiano.¹⁷

5.10.4.2 Catalasa

En algunas regiones en las que no cuentan con un sistema de refrigeración adecuado para el almacenamiento y el transporte de la leche, utilizan el peróxido de hidrógeno como conservador temporal, en un proceso comúnmente llamado “pasteurización en frío”; se añaden de 1 a 2 ml de H_2O_2 al 33% por litro y así la leche se mantiene en buenas condiciones hasta que llega a la planta procesadora. Antes de consumirla se debe eliminar el peróxido residual que contiene; esto es de gran importancia, sobre todo para la leche que será utilizada en la fabricación de quesos, ya que de otra manera el H_2O_2 puede inhibir el crecimiento de los microorganismos lácticos que se usan como inóculo. La “pasteurización en frío” también se utiliza en la clara de huevo con el mismo fin.

La catalasa (EC 1.11.1.6) cataliza la reacción $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, por lo que se emplea precisamente para destruir el peróxido de hidrógeno usado.

Esta enzima también se emplea para eliminar el H_2O_2 que la glucosa oxidasa produce durante la transformación de la glucosa en ácido glucónico. La catalasa está presente en gran cantidad de tejidos animales y vegetales, así como en microorganismos, pero se produce a nivel industrial a partir de *Aspergillus niger*.

La catalasa se utiliza como parámetro para estimar la contaminación microbiana de diversos alimentos, así como la mastitis en las vacas. Esta enzima es constituyente de algunas bacterias aeróbicas (por ejemplo, *Bacillus* spp, *Pseudomonas* spp y enterobacterias), y su concentración se incrementa con el número de microorganismos, por lo que la medición de la catalasa refleja indirectamente la población microbiana de algunos productos, como es el caso de los derivados cárnicos.⁴⁵

5.10.4.3 Lipoxigenasas

El término lipoxigenasa o lipoxidasa (EC 1.13.11.12), se refiere a un grupo de enzimas que llevan a cabo la oxigenación o peroxidación de diversos compuestos insaturados, como ácidos grasos libres, triacilglicéridos, pigmentos y algunas vitaminas.¹⁸

Se encuentra en las hojas, las ramas, las semillas y en los frutos de una gran variedad de vegetales; es abundante en los alimentos ricos en grasas, como soya, cacahuete, trigo, maíz y cebada, y también se localiza en otros con baja concentración de lípidos, tales como chícharos, papas, manzanas, jitomates, alfalfa, rábanos y fresas. En los productos de origen animal se presenta escasamente.

La lipoxigenasa tiene una doble función en las verduras y frutas: benéfica y dañina; en el primer caso, como parte del metabolismo normal de estos alimentos es la responsable de la síntesis de diversos alcoholes y aldehídos característicos del aroma agradable en los productos frescos. Sin embargo, después de la cosecha y durante el almacenamiento y el procesamiento es la causante de cambios indeseables, ya que oxida las grasas y genera compuestos de olores desagradables.^{38, 49} Su acción provoca la destrucción de los ácidos grasos indispensables y la formación de peróxidos, mismos que a su vez, además de oxidar otras sustancias, se descomponen en aldehídos y cetonas de intenso olor mediante un mecanismo semejante al descrito en la autooxidación de las grasas.

En la soya se presentan tres isoenzimas (L1, L2, y L3) que actúan de diferente manera; cabe indicar que la L1, que es la más estudiada, es más estable a los tratamientos térmicos. Y como sustrato usa los ácidos grasos libres mientras que la más débil emplea los triacilglicéridos. Por esta razón, junto con la lipasa favorece la oxidación ya que ésta suministra los ácidos grasos libres para la lipoxigenasa.

El peso molecular de la lipoxidasa de soya es de 102,000 Da, tiene un punto isoeléctrico de 5.4, un pH óptimo de actividad de 8 a 9, y un número de recambio de 180,000 moléculas de sustrato oxidadas por minuto por molécula de enzima, siendo una de las más activas. Como se indicó en el capítulo 4, la autooxidación de las grasas requiere de una energía de activación de 15.3 kcal/mol; en el caso de la peroxidación con la lipoxidasa de la soya sólo se necesita 4.3 kcal/mol, y la enzima llega a actuar aun a bajas temperaturas.⁹

Durante el procesamiento de la soya es indispensable eliminar la acción de la lipoxigenasa, pues de otra manera los productos derivados desarrollan características sensoriales inaceptables. Generalmente son suficientes los tratamientos térmicos que se requieren para la inactivación de los inhibidores de tripsina (capítulo 13), para destruir la enzima. Sin embargo, en ciertos productos como la llamada “leche de soya”, se debe regular el calentamiento, ya que si es excesivo, además de inactivar la enzima se puede provocar la insolubilización de las proteínas de dicho producto.¹²

Dado que la calidad del aceite de soya depende en gran medida de la actividad lipoxigenásica de las semillas, ésta se debe reducir antes de efectuar la extracción, para lo cual se emplea un tratamiento térmico que da mejores resultados si se lleva a cabo bajo presión.^{13, 44} Por otra parte, algunas variedades de esta leguminosa carecen de lipoxigenasa-1 y por consiguiente son más estables a la oxidación que las tradicionales.²²

Al igual que en la soya, en otras oleaginosas se observa actividad de lipoxigenasa en las semillas destinadas a la obtención del aceite. Suponiendo que la enzima llegara a encontrarse en el aceite crudo, ésta se eliminaría en los diferentes pasos que integran la refinación. Por esta razón, su presencia en los aceites refinados es poco probable.

En general, los sustratos específicos son ácidos grasos que contienen el sistema de insaturaciones no conjugado *cis-cis*-1,4-pentadieno, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$; no utiliza los que tienen

uniones conjugadas, con una configuración *trans*, ni los monoinsaturados (como el oleico). Por estas razones, los sustratos más fácilmente atacados son los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico.

En el caso del ácido linoleico (figura 5.17), la enzima extrae un átomo de hidrógeno del carbono metilénico (C-11) y produce un radical ácido graso cuya resonancia le permite establecer dos formas, en C-9 y en C-13. Posteriormente, cada uno de estos radicales adquiere una molécula de oxígeno y se isomeriza para generar los correspondientes hidroperóxidos *cis-trans* ópticamente activos; cuando la oxigenación se lleva a cabo en el C-9 se producen isómeros D, y cuando sucede en el C-13, se forman isómeros L.

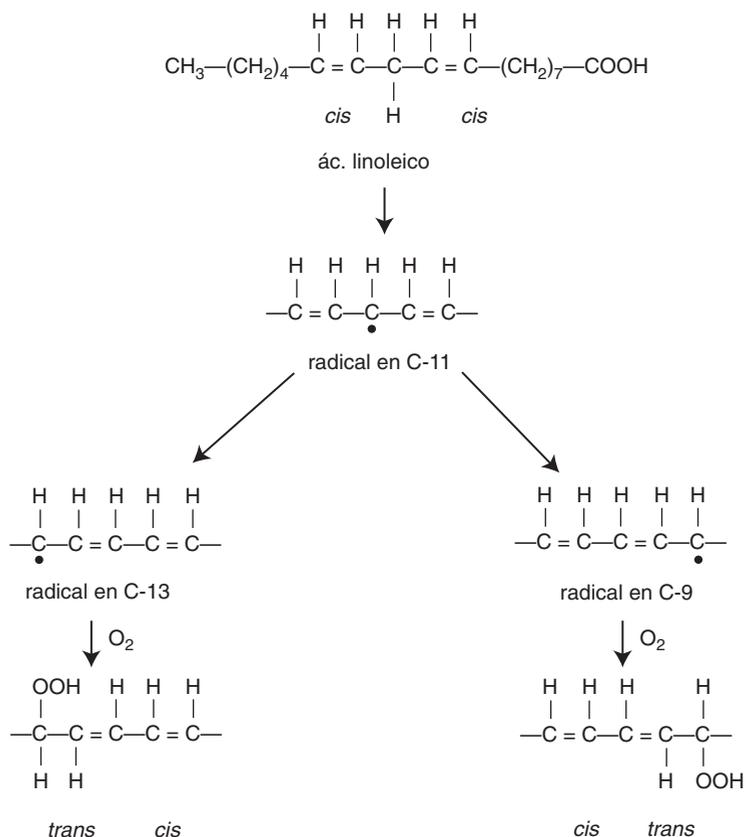


Figura 5.17 Acción de la lipoxigenasa sobre el ácido linoleico.

Estos peróxidos continúan diversas rutas de ruptura y de degradación, que pueden o no ser enzimáticas, en las que sintetizan varios compuestos, algunos de los cuales son tan reactivos que incluso inhiben la actividad de la propia enzima. Cabe indicar que los monoperóxidos conjugados *cis-trans* probablemente no contribuyen de manera directa al olor ya que son inodoros, pero cuando se descomponen generan sustancias odoríferas.¹

Como se mencionó anteriormente, la lipoxigenasa también ataca otros compuestos con dobles ligaduras, entre los cuales destacan algunos pigmentos como los carotenoides y las clorofilas.^{4, 24} De hecho, esta reacción se ha aprovechado para la decoloración o blanqueado de las harinas de cereales (principalmente la de trigo).³ En este proceso se emplea soya cruda molida sin ningún tratamiento térmico para que conserve su máxima capacidad enzimática; se mezclan ambas harinas (de trigo y de soya) y se mantienen en condiciones adecuadas de temperatura, humedad, etcétera, para que la lipoxigenasa lleve a cabo su función.

En los chícharos, la actividad de esta enzima va aumentando del exterior al interior y la mayor cantidad se encuentra en el centro de la semilla; al igual que sucede con otros productos de origen vegetal, la lipoxigenasa del chícharo debe destruirse mediante un calentamiento, que puede ser el de escaldado, como paso previo a la deshidratación o el congelamiento; de otra manera, su acción en el almacenamiento provoca la formación de derivados carbonílicos que imparten olores desagradables. Uno de los compuestos comúnmente encontrados en los volátiles de los alimentos oxidados es el hexenal, que a su vez se transforma en *cis*-3-hexenal y *trans*-2-hexenal; también se ha identificado al 2-n-pentilfurano (cuadro 5.14).

CUADRO 5.14 Principales compuestos volátiles generados por la acción de las lipoxigenasas del chícharo y de la soya

Compuesto	Cantidad en el espacio de cabeza medido por cromatografía de gases (mm)	
	Chícharo	Soya
n-Butenal	5-10	> 50
n-Pental	> 50	> 50
n-Hexenal	> 50	> 50
n-Heptenal	11-50	5-10
-Hept- <i>trans</i> -2-enal	> 50	> 50
2-n-Pentilfurano	5-10	> 50

Como ocurre con la autooxidación, cuando se añaden los compuestos antioxidantes butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) se evita la acción de la enzima, no porque actúen sobre ella, sino porque, como se describió en el capítulo 4, detienen las reacciones de propagación de los radicales libres. La presencia de flavonoides, de antocianinas y del ácido cinámico (que tienen una estructura fenólica) puede también inhibir la oxidación pues actúan con cierta similitud al BHT y BHA.

5.10.4.4 Fenolasas

Bajo este nombre se agrupan varias enzimas y sus respectivas isoenzimas que provocan el oscurecimiento de ciertos alimentos de origen vegetal que han sufrido daños físicos y que exponen su tejido al aire;⁴² el hecho de que este cambio no se efectúe en las células intactas indica que existe un microambiente anaeróbico dentro del fruto que inhibe el mecanismo y que, además, la enzima y el sustrato se encuentran en compartimientos celulares separados lo que evita que la reacción suceda en el estado intacto del alimento. En muchos casos, como en el té, el café y algunas especies de uvas, el

oscurecimiento enzimático es deseable, pero en otros es totalmente negativo, como es el caso del aguacate o del plátano.

Las enzimas que catalizan esta transformación pertenecen a las oxidoreductasas y comprenden a la monofenol monooxigenasa (EC 1.14.18.1) y a la catecol oxidasa (EC 1.10.3.1). La primera se ha denominado trivialmente como tirosinasa, fenolasa, monofenol oxidasa, catecol oxidasa, polifenolasa y cresolasa. Otros nombres de la catecol oxidasa son difenol oxidasa, *o*-difenolasa, fenolasa, polifenoloxidasa y tirosinasa. Abundan en frutas como la manzana, el durazno, el plátano, la pera, la fresa y otras, pero no en productos más ácidos como la lima, la toronja, la naranja, el melón, el limón y el jitomate. En muchos hongos comestibles, como *Agaricus bisporus*, se encuentran tanto en forma activa como latente y presentan una fuerte actividad.

Los sustratos más comunes son compuestos insaturados, principalmente los que tienen estructuras de monofenoles o de *o*-difenoles, entre los que destaca la tirosina en la papa (por esta razón a la fenolasa de este tubérculo se le da el nombre de tirosinasa), los flavonoides y los taninos en el café y el cacao; las antocianinas en diversas frutas, el ácido clorogénico en la manzana y la pera, así como el ácido caféico, la 3,4-dihidroxifenilalanina (L-dopa), la dopamina, el *p*-cresol, la adrenalina, la catequina o catecol y otros (figura 5.18). Los *m*-difenoles, como el resorcinol, no son sustratos, y además actúan como inhibidores competitivos, al igual que los derivados metílicos del fenol, como el guayacol. Cabe mencionar que la intensidad del oscurecimiento en la manzana está en función de la actividad de la fenolasa, así como de la concentración de los polifenoles que sirven de sustrato.¹⁰

Los productos finales de estas reacciones enzimáticas son macromoléculas con estructuras químicas muy complejas (melaninas), resultado de la copolimerización de diversos compuestos (quinonas); dependiendo de la intensidad de esta transformación, las melaninas varían su color desde un ligero amarillo hasta un café oscuro.

Las enzimas requieren de iones Cu como cofactor, ya sea en estado monovalente, como ocurre con las del champiñón, o divalente como en las de las papas; su pH óptimo de actividad es de 5 a 7 y tienen estructuras oligoméricas en las que cada monómero contiene su cofactor correspondiente.

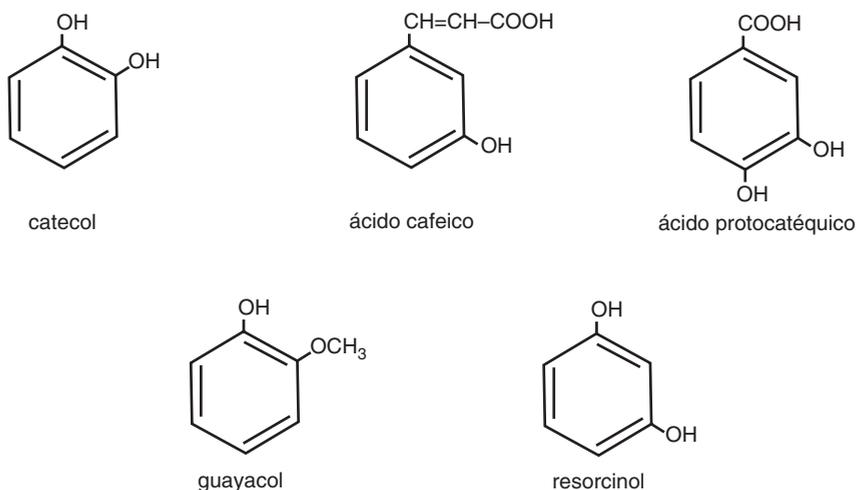


Figura 5.18 Compuestos fenólicos relacionados con las fenolasas.

Muchas de las fenolasas presentan dos tipos de actividad catalítica a través de la cual se llevan a cabo estas reacciones de oscurecimiento. Estas son: *a*) actividad de fenol hidroxilasa o cresolasa, que hidroxila normalmente los sustratos en posición *orto* y produce fenoles ortohidroxilados o difenoles, y *b*) actividad de polifenol oxidasa o catecolasa, que efectúa una oxidación de los difenoles previamente formados y los convierte en ortoquinonas. De estos dos mecanismos, el de la fenol hidroxilasa se verifica a menor velocidad (figura 5.19).

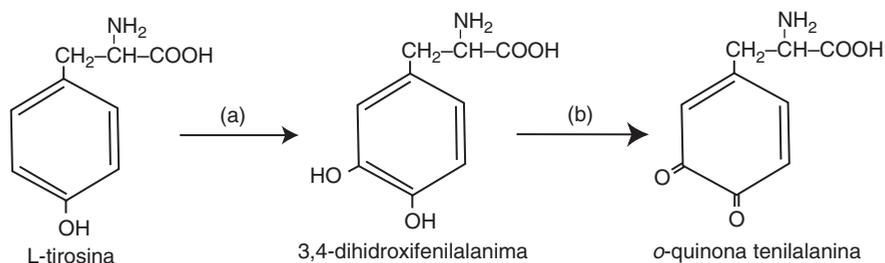
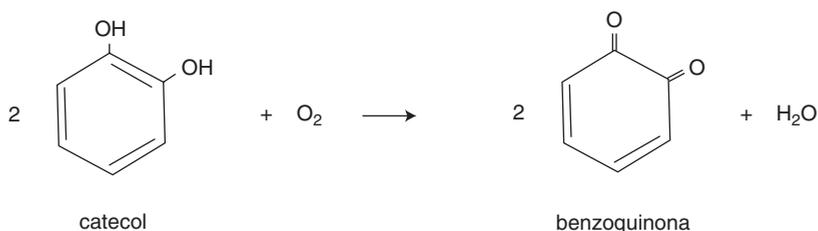


Figura 5.19 Acción de las fenolasas en el oscurecimiento de la papa. La reacción (a) se efectúa por la actividad de la cresolasa de la enzima, mientras que la (b) por una actividad de la catecolasa.

La intensidad de una u otra actividad enzimática depende del sustrato, de tal manera que algunos productos que tienen *orto*-fenoles en estado natural no efectúan la hidroxilación; tal es el caso del catecol, que siendo un difenol en *orto*, se transforma directamente a la correspondiente benzoquinona por la acción oxidante de la polifenoloxidasa.



Las ortoquinonas así formadas pueden polimerizar fácilmente y producir las correspondientes melaninas; este paso no requiere de la enzima y está exclusivamente en función de las condiciones de temperatura, pH, potencial de oxidación-reducción, etcétera. Además, estas orto-quinonas también interactúan con las hidroxiquinonas para formar igualmente polímeros coloridos.

El etileno acelera la velocidad de muchas enzimas, como las fenolasas; por esta razón, los productos susceptibles a las reacciones de oscurecimiento se deben almacenar en condiciones en que no se genere este gas. Algunos microorganismos, al igual que muchas frutas, producen etileno.⁷

5.10.4.4.1 Control del oscurecimiento enzimático

Dada la poca aceptación que tienen los frutos dañados por las reacciones de oscurecimiento enzimático, el tecnólogo de alimentos aplica diferentes métodos para controlarlas. Sin embargo, en algunos

casos, como en los jugos de manzana, se desea un cierto oscurecimiento para impartirle un color adecuado al producto. Los métodos comerciales más comunes de control incluyen el tratamiento térmico, el uso de sulfitos y de ácidos y la eliminación del oxígeno. La intensidad del calentamiento para inactivar las enzimas depende de muchos factores ya que cada una tiene una determinada termo-sensibilidad, pero también influye decididamente el pH, la presencia de sales y el grado de aireación.

Cabe señalar que al calentar los frutos y sus derivados se debe considerar que hay posibilidad de que la textura se dañe seriamente, por lo que generalmente éste no es un método muy recomendado para inhibir la fenolasa. Sin embargo, cuando es posible, son suficientes los tratamientos térmicos de 70 a 90°C durante poco tiempo, para destruir la enzima.

La fenolasa de la remolacha produce muchos cambios indeseables en el color; tiene un óptimo de actividad a pH 7.0 y 25°C. La velocidad de inactivación depende del tamaño del fruto y de la temperatura, como lo muestran las figuras 5.6 y 5.20, y su cinética es de pseudoprimer orden.²⁶

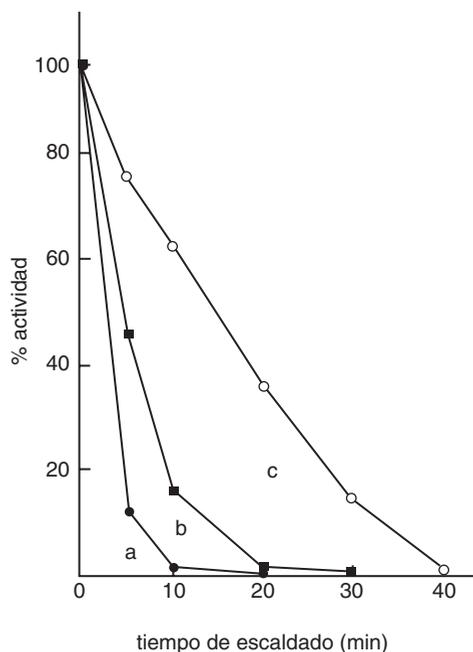


Figura 5.20 Efecto del escaldado en la actividad de la polifenol oxidasa en remolachas de diferente tamaño: (a) <3.7 cm; (b) 3.7-6.3 cm, y (c) >10 cm.

Los sulfitos son muy versátiles pues se pueden emplear como inhibidores de las reacciones de oscurecimiento, tanto enzimático como no enzimático, al igual que como antioxidantes, blanqueadores y antimicrobianos. En este grupo de compuestos se incluyen el anhídrido sulfuroso y los sulfitos, además de los bisulfitos y los metabisulfitos. Al disolver en agua los sulfitos y el SO_2 , se produce una mezcla de los iones SO_3^{2-} (sulfito) y de HSO_3^- (bisulfito), cuyas concentraciones dependen del pH del sistema: a pH 4.0 se encuentra la máxima cantidad de bisulfito, mientras que a pH 7.0, ambos iones están en la misma proporción.

Es posible que el mecanismo de inhibición de las fenolasas por medio de los sulfitos y el SO₂ se deba ya sea a que establecen un complejo quinona-sulfito que evita que la quinona polimerice, o bien, a que actúen directamente sobre la enzima y alteren su estructura proteínica.³⁷

Cabe mencionar que estos compuestos tienen la capacidad de reaccionar con los grupos cetona y aldehído (por ejemplo, de azúcares reductores) de los alimentos, por lo que la concentración residual que puede actuar para inhibir la fenolasa se puede reducir considerablemente. Sólo las moléculas libres sirven como agentes activos y por lo tanto el simple hecho de añadirlos no implica que los sulfitos vayan a tener efecto. Generalmente es suficiente una concentración residual de menos de 20 ppm de SO₂ libre para evitar el oscurecimiento de muchas frutas.

Por otra parte, los diferentes ácidos comerciales (málico, fosfórico, cítrico y ascórbico), así como los jugos de limón y de otros cítricos, se emplean para el control de las fenolasas. Los ácidos ascórbico y cítrico presentan una capacidad reductora y convierten las quinonas en sus respectivos fenoles; además, tienen propiedades de secuestradores y eliminan el cobre necesario para la enzima; también se considera que pueden interactuar directamente con la fenolasa.

La enzima se inhibe completamente a pH menores de 3.0, aunque en la mayoría de los casos resulta poco práctico llegar a estas condiciones puesto que esta acción trae consigo un deterioro de las propiedades sensoriales y de la estabilidad del alimento.

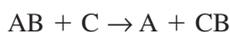
El método de eliminación de oxígeno resulta verdaderamente difícil y en muchos casos poco ventajoso, pero existen varios materiales de empaque que evitan el contacto del alimento con el aire. Además, no es muy recomendable la completa eliminación de oxígeno, ya que esto provoca que el tejido vegetal adquiera características anaeróbicas, que favorecen ciertas reacciones metabólicas que dañan el fruto.

En general, para inactivar la fenolasa se puede acudir a una combinación de los sistemas que ya mencionamos. En el caso de los hongos comestibles (*Agaricus bisporus*), que presentan una alta actividad enzimática, se procede a un escaldado a pH 4.5 en 0.05 M de ácido cítrico, con lo cual se reduce considerablemente la acción de la fenolasa.

Existen bacterias, como algunas del género *Pseudomonas*, con enzimas que transforman los derivados fenólicos en compuestos del tipo de las lactonas, que no sirven de sustrato para las fenolasas, con lo cual se logra reducir el oscurecimiento; con esta idea se considera que en un futuro se puedan aislar estas enzimas para utilizarlas en el control de dichas reacciones; en efecto, la *O*-metil-transferasa cataliza la metilación de los *o*-difenoles y posteriormente los transforma en *o*-metoxifenoles que no se convierten en quinonas.

5.10.5 Transferasas

Las enzimas de este grupo catalizan la siguiente reacción tipo:



donde AB es la molécula donadora, que transfiere el grupo B, a la molécula aceptora C, la cual no puede ser una molécula de agua, pues se trataría entonces de una reacción de hidrólisis. En la célula ocurren una gran cantidad de reacciones de transferencia, muchas de ellas necesitan que el donador esté activo, es decir, que se encuentre en forma de un intermediario de alta energía, como la UDP-glucosa, glucosa-1-P o UDP-galactosa; sin embargo, existen algunas que pueden obtener la energía para llevar a cabo la transferencia a partir de la ruptura de enlace de un donador más común, como

la sacarosa. En el área de alimentos las transferasas que tienen mayor relevancia catalizan la transferencia de azúcares, esto es, catalizan reacciones de transglucosilación y no necesitan intermediarios de alta energía. En el cuadro 5.15, se presentan algunas de sus características.

La dextrantransferasa es una glucosiltransferasa que se produce industrialmente por la bacteria láctica *Leuconostoc mesenteroides*, sintetiza a partir de la sacarosa un polímero de glucosa con enlaces α -(1-6) en la cadena principal y con ramificaciones en α -(1-3), α -(1-2) o α -(1-4). El tipo de polímero sintetizado depende de la cepa productora de la enzima. La dextrana producida puede representar un problema por su alta viscosidad como sucede en la industria azucarera, donde la contaminación con *L. mesenteroides* provoca no sólo la pérdida de azúcar, sino “lodos” de polímero que pueden tapan las tuberías por donde fluye el jugo de la caña, rico en sacarosa. Algunas bacterias de la boca, como *Streptococcus mutans* o *S. sanguis*, producen una biopelícula, la placa dental, compuesta principalmente por este tipo de polímeros, que cuando son insolubles (alta proporción de enlaces α -(1-3)) sirven como medio de fijación a la superficie lisa del esmalte de los dientes.

Cuando además de la sacarosa se encuentra presente otro azúcar de bajo peso molecular en el medio de reacción, éste actúa como aceptor del residuo glucosilo, lo que origina la síntesis de oligosacáridos con un número de residuos que varía de 2 a 7, lo que se denomina *reacción de aceptor*. La cepa de *L. mesenteroides* NRRL B-1299, se caracteriza por catalizar la transferencia de glucosilos con enlace α -(1-2), y al hacerlo a la maltosa, produce gluco-oligosacáridos que contienen este tipo de enlace en el extremo no reductor y una molécula de maltosa en el extremo reductor. Tales oligosacáridos han demostrado su utilidad como prebióticos, ya que no son metabolizados por los humanos, pero sí por la microbiota benéfica intestinal. También se han comercializado en formulaciones cosméticas, ya que promueven el crecimiento de la microbiota benéfica de la piel, en detrimento del desarrollo de microorganismos que pueden causar enfermedades como el acné. La dextrana, a su vez, se ha utilizado como agente viscosante, particularmente de alimentos lácteos.

La levansacarasa reconoce azúcares con enlace β -(1-2) entre una glucosa y una fructosa, por lo que su sustrato más abundante en la naturaleza es la sacarosa. En la reacción de polimerización, se produce levana, ésta presenta enlaces β -(2-6) en la cadena principal y algunas ramificaciones en β -(2-1). En la reacción de aceptor, transfiere el fructosilo al hidroxilo del C1 del aceptor, que puede ser metanol, glicerol u oligosacáridos. En algunas cepas productoras de levansacarasa, ésta puede hidrolizar a la levana producida, la hidrólisis se detiene en los puntos de ramificación; tal es el caso de la enzima producida por *Rahnella aquatilis*, mientras que en la de *Zymomonas mobilis* no presenta tal actividad hidrolítica.

Las funciones de la levana en bacterias están relacionadas con simbiosis (*B. polymyxa*), fitopatogénesis (*Erwinia amylovora*) o respuesta a estrés (*B. subtilis*). Su aplicación no se ha concretado totalmente debido a la falta de información sobre sus características funcionales; sin embargo, se ha propuesto su uso como estabilizador de emulsiones, agente encapsulante o acarreador de colores, sabores y/o fragancias en la industria de alimentos. Un grupo particular de fructosil transferasas de origen fungal puede transferir fructosa a la propia sacarosa que sirve de sustrato, dando lugar a fructo-oligosacáridos (FOS), con enlaces β -(2-1) entre las fructosas. Los FOS son los prebióticos más exitosos de la industria alimentaria. También pueden obtenerse por hidrólisis ácida de la inulina extraída de la chicoria (figura 5.14). Los fructo-oligosacáridos presentan una aplicación potencial como edulcorantes no calorigénicos, no cariogénicos y prebióticos.

La *ciclodextrin glucosiltransferasa* (CGTasa) es miembro de la familia de las α -amilasas, presenta una muy particular actividad hidrolítica relativamente baja y una predominante actividad de ciclización, donde la parte de la molécula donadora que se escinde actúa a su vez como aceptor. Utiliza con

CUADRO 5.15 Enzimas que catalizan reacciones de transglucosilación de interés en alimentos ⁴⁸						
Nombre	Número de EC	Organismo productor	Molécula donadora	Molécula aceptora	Producto	Aplicación
Dextran sacarasa	2.4.1.5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> NRRL B-512F	Sacarosa	(Glucosa) _n [α-(1-6)]	Dextrana	Agente viscosante
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> NRRL B-1299	Sacarosa	Maltosa	Glucoligosacáridos [α-(1-2)]	Agentes prebióticos
Levan sacarasa	2.4.1.10	<i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Zimomonas mobilis</i>	Sacarosa	(Fructosa) _n [β-(2-6)]	Levana	Agente espesante
			Sacarosa	Oligosacáridos	Fructoligosacáridos [β-(2-6)]	Agentes prebióticos
Ciclodextrin glucosil transferasa	2.4.1.19	<i>Bacillus macerans</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>Klebsiella sp.</i> , <i>Thermoanaerobacter</i>	Amilosa	Amilosa	Ciclodextrinas (α, β, o γ)	Vehículo de moléculas no polares
Amilosacarasa	2.4.1.4	<i>Neisseria polysaccharea</i>	Sacarosa	Almidón	Almidón modificado	Almidones resistentes no digeribles

una afinidad muy alta la cadena de amilosa del almidón. Además puede catalizar otras reacciones como la reacción inversa a la ciclización y la de desproporción, que se ilustran en la figura 5.21.⁴⁸

Las ciclodextrinas que se aplican en alimentos provienen de la reacción con almidón y pueden tener 6, 7 u 8 residuos de glucosa, α, β, o γ-ciclodextrinas, respectivamente. En éstas, los hidroxilos están localizados en la parte externa del anillo, mientras que los grupos no polares se encuentran en el centro lo que resulta en una molécula que es soluble en agua, pero que provee un microambiente hidrofóbico en su centro. Las ciclodextrinas se han utilizado en alimentos como agentes estabilizantes de sustancias lábiles a la oxidación o en la liberación controlada de aromas, así como en emulsiones como mayonesa o margarina. Recientemente se ha aplicado la β-ciclodextrina para remover el colesterol de la leche y de otros productos.⁴⁸

5.10.6 Isomerasas

Glucosa isomerasa (EC 5.3.1.5). Es una de las enzimas industriales más importantes en el área de procesamiento de almidón, cuyo uso data de los años 60s. El sustrato natural de esta enzima es la D-xilosa, que se isomeriza a D-xilulosa, por lo que su nombre correcto es xilosa isomerasa; en la industria alimentaria se utiliza para la isomerización de D-glucosa a D-fructosa, reacción muy impor-

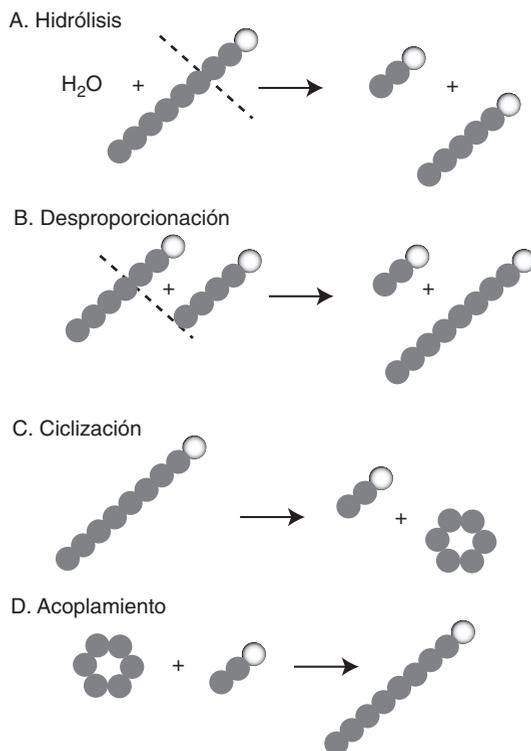


Figura 5.21 Esquema de las reacciones catalizadas por la CTGasa. Los círculos negros representan residuos glucosilo y los círculos blancos el extremo reductor.⁴⁸

tante, ya que constituye la última etapa en la producción de jarabes altos en fructosa. Destaca el hecho de que este último paso se lleva a cabo de forma continua, por lo que la aplicación de la enzima inmovilizada es esencial. La glucosa isomerasa fue una de las primeras enzimas que se utilizó como biocatalizador a nivel industrial. El biocatalizador está constituido por partículas de 1-2 mm de diámetro, se encuentra empacado en columnas de hasta 1.5 m de diámetro y 4-5 m de altura, que pueden contener hasta 4,000 kg de enzima y producir hasta 500,000 kg de fructosa (peso seco) por día. La reacción se lleva a cabo aproximadamente a 60°C y pH 7.5, pero por razones termodinámicas, la reacción llega al equilibrio cuando sólo un 50% del sustrato se ha transformado. Conforme la enzima va perdiendo actividad al transcurso de las semanas de operación, el flujo de entrada del sustrato al sistema se ajusta, de manera que el tiempo de residencia aumente y se logre una conversión del 42%; es decir, que la composición final del jarabe sea 42% de fructosa, 54% de glucosa y hasta 4% de oligosacáridos. Para aumentar el contenido de fructosa, es posible separar glucosa y fructosa en columnas de intercambio iónico y reciclar al reactor la glucosa (figura 5.11).

La glucosa isomerasa una metaloenzima microbiana, requiere Mg^{2+} , Mn^{2+} o Co^{2+} para su actividad. Estudios sobre la estructura tridimensional demuestran que existen dos sitios de unión con el ión metálico, y parecen indicar que la función de éste es hacer un puente entre la enzima y el azúcar para la formación del complejo enzima-sustrato.

Es una enzima, generalmente intracelular, y está ampliamente distribuida en la naturaleza; sin embargo sólo algunos microorganismos se han utilizado para su producción industrial. En el cuadro 5.16 se describen algunas de las presentaciones comerciales de esta enzima.

CUADRO 5.16 Productos comerciales de glucosa isomerasa inmovilizada⁴⁸

<i>Productor</i>	<i>Nombre comercial</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Método de inmovilización</i>
Genencor	Spezyme GI	<i>Streptomyces rubiginosus</i>	Enzima pura adsorbida en DEAE-celulosa aglomerada con poliestireno y TiO ₂ .
	GC 180	<i>Streptomyces rubiginosus</i> modificado genéticamente	Entrecruzado.
Novozyme	Sweetzyme T	<i>Streptomyces murinus</i>	Células entrecruzadas con glutaraldehído, extruídas posteriormente.
CPC (Enzyme biosystems)	G-zyme	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	Enzima pura adsorbida en resina de intercambio iónico.
Godo Shusei	AGI S 600	<i>Streptomyces griseofuseus</i>	Células entrecruzadas con glutaraldehído, tratadas con quitosano y granuladas.
Nagase	Sweetase	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i>	Células tratadas con calor unidas a resina de intercambio aniónico, granuladas.
UOP	Ketomax 100	<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	Enzima pura entrecruzada con glutaraldehído en alúmina cerámica tratada con PEI.

5.11

PROCESOS DE INTERÉS EN ALIMENTOS CON ENZIMAS O CÉLULAS INMOVILIZADAS

Una enzima es una proteína que actúa disuelta en un medio acuoso, por lo que su recuperación para un segundo uso es prácticamente imposible, a menos que se sujete a un soporte sólido que pueda recuperarse y emplearse repetidas veces o incluso empacarse en una columna por la que se haga pasar la corriente líquida con el sustrato. Esto es particularmente importante para aquellas enzimas de alto costo. En algunos casos no es deseable que la enzima activa quede en el producto, por lo que se hace necesario un proceso de inactivación, que podría actuar en detrimento de la calidad del mismo.

Por lo anteriormente expuesto, desde la década de 1960 se ha desarrollado un sin número de formas en las que una enzima puede unirse a un soporte sólido de manera que se facilite su recuperación del medio de reacción o su uso continuo. Además, estas formas proporcionan generalmente mayor estabilidad a la enzima al restringir el movimiento de la molécula. Se han desarrollado bioca-

talizadores con enzimas puras o parcialmente puras e incluso con células inmovilizadas conteniendo una actividad enzimática.

La aplicación de sistemas inmovilizados directamente en alimentos es limitada, principalmente debido a que los sistemas alimentarios son físicamente complejos, lo que dificulta el contacto de la enzima con el sustrato. Sin embargo, estos sistemas son de gran valor para transformar sustratos en solución o como herramientas analíticas, como se verá más adelante.

Las enzimas se pueden inmovilizar por diferentes métodos, dentro de los que se encuentran los siguientes:

- Captura en una matriz de gel de poliacrilamida, agar, alginato, gelatina o Sephadex®.
- Unión covalente a un soporte, como metales, vidrio, cerámica, nylon, celulosa, Sepharosa® o Sephadex®.
- Unión a membranas semipermeables.
- Adsorción en un sólido por interacciones hidrofóbicas o electrostáticas.
- Adsorción seguida de entrecruzamiento covalente a la matriz.
- Entrecruzamiento molecular para formar una matriz granular insoluble.

Los cuadros 5.17 y 5.18 resumen algunas de las aplicaciones de sistemas con enzimas y células inmovilizadas para la producción de compuestos de interés en alimentos.

CUADRO 5.17 Aplicación comercial de enzimas inmovilizadas en la industria alimentaria¹⁶

<i>Enzima o células inmovilizadas</i>	<i>Sustratos</i>	<i>Productos</i>	<i>Aplicación</i>
Aspartasa, <i>Escherichia coli</i>	Fumarato + NH ₃	L-aspartato	Materia prima para el aspartamo.
Aminoacilasa, <i>Aspergillus oryzae</i>	Acil-D,L-aminoácido	L-aminoácido + acil-D-aminoácido	Resolución racémica.
Fumarasa, <i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	Fumarato + H ₂ O	L-malato	Acidulante.
Glucosa isomerasa <i>Streptomyces</i> sp. <i>Bacillus coagulans</i>	D-glucosa	D-fructosa	Edulcorante.
β-galactosidasa, <i>Aspergillus oryzae</i>	Lactosa	D-glucosa + D-galactosa	Aprovechamiento del suero.
α-galactosidasa	Rafinosa	D-galactosa + sacarosa	Recuperación de sacarosa en remolacha.

Algunas de las consideraciones para la elección del método de producción del biocatalizador son el rendimiento de inmovilización, la carga máxima de enzima que puede ser inmovilizada, la estabilidad operacional del biocatalizador, la estabilidad del soporte ante las condiciones de operación del reactor (temperatura, presión, esfuerzos de corte, presencia de otras enzimas, etcétera), difusión del sustrato hacia la enzima y de los productos hacia fuera del catalizador, necesidad de cofactores, suscep-

tibilidad a contaminación microbiana y costo. También se debe evaluar si conviene inmovilizar a la enzima pura a una preparación enzimática con menor pureza; incluso a las células completas, siempre y cuando no interfiera alguna actividad residual, y el sustrato y producto difundan libremente a través de la membrana. En algunos casos, para evitar una barrera difusional se suele dar un tratamiento de permeabilización celular previo a la inmovilización. Es importante no confundir un proceso enzimático con células completas, con una fermentación o bioconversión con células inmovilizadas. En el cuadro 5.18 se ejemplifican algunos catalizadores de esta naturaleza.

CUADRO 5.18 Microorganismos inmovilizados para la producción de compuestos de interés en alimentos a través de una reacción enzimática

<i>Microorganismo</i>	<i>Enzima</i>	<i>Producto</i>	<i>Compañía</i>
<i>E. coli</i>	Aspartasa	L-ácido aspártico	Tanabe Seiyaku Genex Corp
<i>Bacillus coagulans</i>	Glucosa isomerasa	Jarabe de fructosa	Novozyme
<i>E. coli</i>	Triptofanasa	Triptofano	Genex Corp
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	Fumarasa	Acido málico	Tanabe Seiyaku
<i>Erwinia rhapontici</i>	Isomaltulosa sintasa	Isomaltulosa	Miles Lab
<i>Serratia plymuthica</i>	Isomaltulosa sintasa	Isomaltulosa	South German Sugar
<i>Mortierella vinacea</i>	β -Galactosidasa	Rafinosa	Hokkaido Sugar
<i>Pseudomonas dacunhae</i>	Aspartato decarboxilasa	Alanina	Tanabe Seiyaku
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Serina hidroximetiltransferasa	Serina	Genex Corp

El biocatalizador de glucosa isomerasa del cuadro 5.17 opera a 60-65°C y tiene una vida media de 80-150 días; el de la aminoacilasa, utilizado para la resolución de mezclas racémicas en la producción de L-aminoácidos, de 65 días a 50°C y el utilizado para la hidrólisis de lactosa del suero de leche, de 20 meses, con una productividad de 2 000 Kg de materia seca por Kg de enzima.

Recientemente se ha reportado la “inmovilización” de enzimas en la superficie de células, específicamente de *Saccharomyces cerevisiae*. A través de técnicas de ADN recombinante se han expresado la glucoamilasa, la α -amilasa y una β -glucosidasa (celulasa) en este microorganismo, las cuales quedan adheridas a la superficie celular a través de una proteína de anclaje a la pared celular, la α -aglutinina, que se co-expresa como proteína de fusión. De esta forma, si se cultiva al microorganismo genéticamente modificado en un medio con almidón o con celulosa —que no asimila la cepa silvestre— pueden ahora servirle para producir etanol (figura 5.22).⁴⁸

5.12 ANÁLISIS QUÍMICO CON ENZIMAS

La alta especificidad de las enzimas ha permitido convertirlas en una herramienta analítica muy útil para la detección y cuantificación de sustancias de naturaleza muy variada. De hecho, las enzimas junto con los anticuerpos son los “reactivos” más específicos que se conocen, por lo que su aplica-

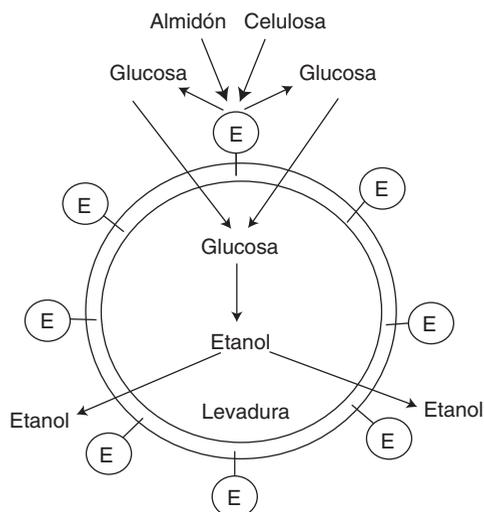


Figura 5.22 Modelo de *Saccharomyces* modificada genéticamente para la expresión de amilasas o celulasas en su superficie, para la producción de etanol.⁴⁸

ción para la determinación de un compuesto específico en matrices de composición compleja, como los alimentos, es de gran utilidad. Adicional a la alta especificidad, se requiere de una preparación enzimática de alta pureza y estabilidad, que no sea inhibida por sustancias que pudieran estar presentes en la muestra, y que funcione a la temperatura y pH de las condiciones de experimentación.

Para realizar la detección, el analito generalmente es el sustrato de la reacción enzimática que al ser transformado por la enzima, genera un producto que puede ser detectado por algún método simple, como un electrodo de H_2O_2 o un espectrofotómetro de absorbancia. El mismo principio aplica si el analito no es directamente determinado y en su lugar se cuantifica un cofactor; éste es el caso de las reacciones donde participan enzimas de óxido reducción, donde se mide la absorbancia generada por las coenzimas NADH o NADPH a 340 nm. En el cuadro 5.19 se presentan algunas de las enzimas más utilizadas en el análisis de compuestos de interés en alimentos. La mayoría de las enzimas utilizadas en esta área son de origen bacteriano o fúngal y pueden estar sobreexpresadas en hospederos como *E. coli* o levaduras, lo que disminuye su costo de producción.

CUADRO 5.19 Ejemplos de enzimas importantes como herramientas analíticas^{19, 36}

Enzima	Fuente	Analito
Colesterol oxidasa	<i>Nocardia erythropolis</i> , <i>Brevibacterium</i> sp.	Colesterol
β -galactosidasa	<i>Escherichia coli</i>	Lactosa
Glucosa oxidasa	<i>Aspergillus niger</i>	Glucosa
Glicerol-3-fosfato oxidasa	<i>Aerococcus viridians</i>	Triacilgliceroles
Hexocinasa	Levaduras	Glucosa y otras hexosas
α -amilasa	<i>Bacillus</i> sp.	Almidón
L-glutamato deshidrogenasa	<i>Saccharomyces</i> recombinante	Amoniaco
Alcohol deshidrogenasa	<i>Saccharomyces</i> sp.	Etanol

Otra opción para la reducción del costo de análisis, sería el reuso de estas enzimas tan especializadas, utilizándolas en forma inmovilizada; lo que además podría facilitar y hacer más rápido el análisis.

Los formatos en que se presentan las enzimas inmovilizadas con fines analíticos son: en tiras reactivas, electrodos, “chips” y acoplados con ensayos inmunológicos (ELISA). Utilizando estos métodos ya se pueden cuantificar varios compuestos como glucosa, fructosa, lactosa, maltosa, ácido ascórbico, sorbitol, rafinosa y almidón, así como los ácidos succínico, láctico y cítrico, entre otros.

5.13

LAS ENZIMAS COMO INDICADORES DE CALIDAD DE ALIMENTOS

El control de calidad de ciertos alimentos se puede llevar a cabo rutinariamente de manera indirecta a través del análisis de la actividad de ciertas enzimas; la presencia o la ausencia de algunas enzimas en particular se relaciona con una determinada condición microbiológica o química de un producto. Por ejemplo, la pasteurización y el escaldado son procesos térmicos que se han diseñado para la eliminación de ciertas enzimas o microorganismos. En este sentido, se ha encontrado que la inactivación de la peroxidasa (EC 1.11.1.7) puede indicar el grado de escaldado en vegetales, que como ya se ha explicado anteriormente, se utiliza para inactivar enzimas que causan el oscurecimiento de tejidos vegetales. Si la peroxidasa se inactiva totalmente, eso indicaría un tratamiento excesivo que repercutiría en detrimento de la textura del vegetal. El tratamiento correcto sería tal que se conservara del 5 al 10% de la actividad presente originalmente. La actividad de esta enzima también se ha utilizado para determinar el tratamiento óptimo para desnaturalizar enzimas lipolíticas que pueden causar rancidez en avena.²⁹

Otro ejemplo importante es la determinación de la actividad de la fosfatasa alcalina endógena de la leche (EC 3.1.3.1), como indicador de la eficiencia del proceso de pasteurización. La prueba es muy sencilla, ya que su presencia se mide colorimétricamente utilizando fenilfosfato como sustrato y midiendo la absorbancia del fenol que se libera.

En el cuadro 5.20 se resumen otras aplicaciones propuestas de enzimas como indicadores de la calidad de alimentos.

5.14

TECNOLOGÍA DE ADN RECOMBINANTE APLICADA A LA PRODUCCIÓN Y MODIFICACIÓN DE ENZIMAS DE INTERÉS EN ALIMENTOS

El extraordinario desarrollo de las técnicas de manipulación de ADN ha tenido un efecto muy importante en la producción de enzimas utilizando microorganismos, ya que se han podido sobreexpresar en organismos diferentes lográndose una mayor productividad o se han modificado sus características operacionales de acuerdo a las necesidades industriales.

El principio de la tecnología de ADN recombinante, o ingeniería genética, es la clonación, que consiste en obtener el gen que codifica para la proteína de interés para después insertarlo en un vector que, generalmente, tiene una alta frecuencia de replicación. Posteriormente, varias moléculas del vector, con el gen clonado, se introducen en un organismo hospedero donde se va a producir la enzima de interés, proceso conocido como: transformación (figura 5.23). El gen, una vez clonado, puede

CUADRO 5.20 Enzimas como índice de calidad de alimentos¹⁶

Propósito	Enzima	Alimento
Evaluación de tratamiento térmico	Peroxidasa	Vegetales
	fosfatasa alcalina	Leche, lácteos
	β -acetilglucosaminidasa	Huevo
Evaluación de congelación/descongelación	Enzima málica	Ostras
	Glutamato oxaloacetato transaminasa	Carne
Evaluación de contaminación bacteriana	Fosfatasa ácida	Carne, huevo
	Catalasa, reductasa o glutamato descarboxilasa	Leche
Detección de infestación de insectos	Uricasa	Cereales, frutas
Índice de frescura	Lisolecitinas, xantino oxidasa	Pescado
Índice de madurez	Sacarosa sintetasa	Papas
	Pectinasa	Peras
	Amilasa	Harina
Indicador de germinación	Peroxidasa	Trigo
Modificación de color	Polifenol oxidasa	Café, trigo, aguacate, duraznos
	Succinato deshidrogenasa	Carne
Indicador de sabor	Aliinasa	Cebolla, ajo
	Glutaminil traspeptidasa	Cebolla
Índice de calidad nutricional	Proteasas	Digestibilidad
	Ureasa	Inhibidores de proteasas
	L-aminoácido descarboxilasa	Aminoácidos esenciales
	Lisina descarboxilasa	Lisina

ser sujeto a modificaciones en su secuencia, con el fin, por ejemplo, de aumentar la termoestabilidad, mejorar la eficiencia catalítica o modificar la especificidad enzimática, actividad que se conoce como “ingeniería de proteínas”. Los avances, utilizando esta tecnología, han hecho posible clonar y manipular cualquier gen, así como sobreproducir la proteína de interés en un hospedero de naturaleza bacteriana o fungal, preferentemente. *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* se utilizan como hospederos cuando se busca una alta expresión de enzimas no glicosiladas. En particular se elige al bacilo cuando se quiere que la enzima se produzca extracelularmente. Levaduras como *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* o *Pichia pastoris* y hongos como *Aspergillus niger*, son los hospederos de elección cuando se trata de expresar una proteína extracelular que requiere ser glicosilada.

Los procedimientos para la transferencia de genes entre especies, que pueden estar muy alejadas filogenéticamente, tuvieron algunos problemas en el inicio, sobre todo cuando se intentó clonar genes de organismos eucariotes en procariotes debido a la presencia de intrones, fragmentos del gen que no codifican para la proteína, y que los últimos no son capaces de procesar. El problema se resolvió partiendo del ARN mensajero maduro, que ya ha eliminado autocatalíticamente los intrones, para la síntesis del ADN complementario (cADN) utilizando la enzima transcriptasa reversa. Una vez teniendo el cADN se siguió la misma metodología para clonar en un vector de expresión y poder

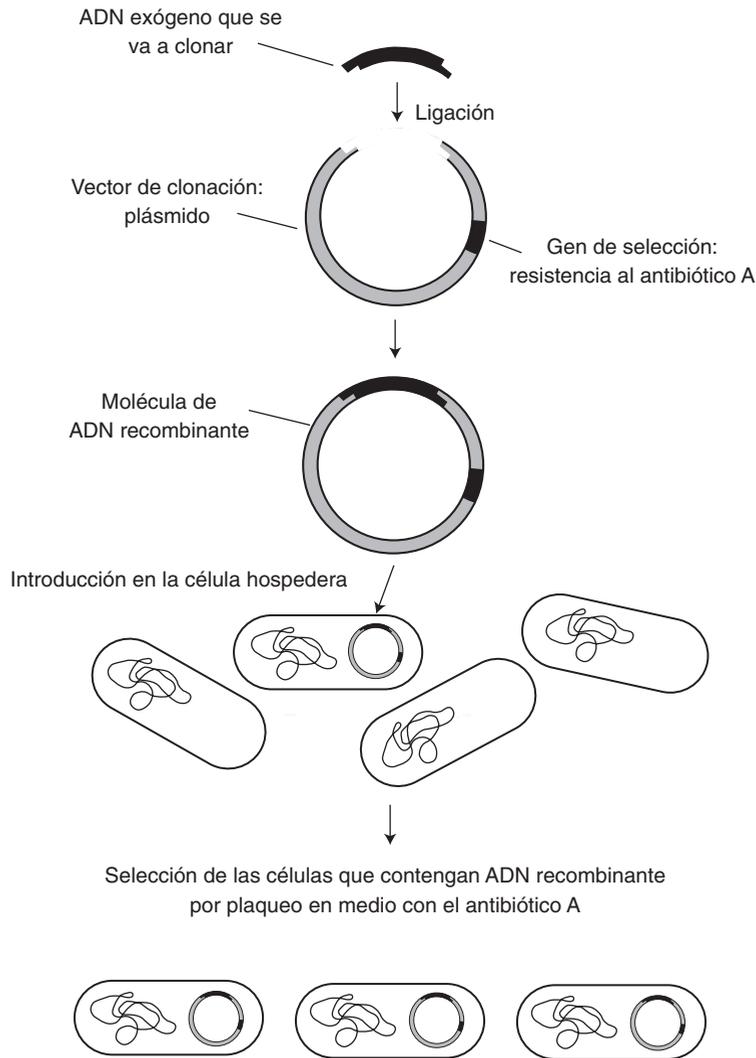


Figura 5.23 Esquema de la clonación de un gen a partir de una célula donadora hacia una receptora para la producción de una proteína de interés.⁵⁰

transformar a la célula hospedera. Éste fue el procedimiento utilizado para clonar la quimosina, de origen bovino, en hospederos como *E. coli*.²

Es interesante hacer notar que las herramientas moleculares con las que se llevan a cabo los procesos antes descritos son también enzimas. Las enzimas de restricción son ADN endonucleasas sumamente específicas, con las que se corta la doble cadena. La ADN ligasa se utiliza para restaurar el enlace fosfodiéster de la doble cadena cuando se va a insertar el gen de interés en el vector. Para hacer cambios puntuales, sitios específicos, en la secuencia de ADN, se utiliza la ADN polimerasa; misma

enzima que es la base para la realización de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR. La PCR es otra herramienta esencial dentro de las técnicas de ADN recombinante.

La sobreproducción de una enzima utilizando estos métodos, puede aumentar en niveles de hasta 100 veces o más con respecto a la cepa nativa, lo cual repercute de manera importante en el costo de producción de la misma; también se pueden agregar residuos de aminoácidos adicionales en el extremo amino o carboxilo para facilitar su posterior purificación, lo que repercute en el número de operaciones en el proceso de obtención de la enzima y, por lo tanto, de su costo de producción.

Otro aspecto de gran relevancia es el poder producir en *E. coli*, u otro hospedero mesófilo, las enzimas descubiertas en microorganismos termofílicos. Como ya se señaló, estas enzimas funcionan a altas temperaturas (>80°C) y han encontrado múltiples usos en la industria, pero no existe una infraestructura para el cultivo de los microorganismos que las producen, que en algunos casos superan los 100°C y requieren de cultivo a presión, por lo que el poder producirlas en condiciones de fermentación estándar representa una ventaja operacional.

Finalmente, esta posibilidad también permite tomar el gen de una fuente tóxica y expresarlo en un microorganismo inocuo como los ya mencionados.

CUADRO 5.21 Ejemplos de enzimas de interés en alimentos modificados por técnicas de manipulación genética²

<i>Enzima</i>	<i>Método de modificación</i>	<i>Efecto</i>
Proteasa alcalina	Sitio específico	Termoestabilidad mejorada
Amilasa	Mutagénesis al azar	Mejora en termoestabilidad y sensibilidad a Ca ²⁺
L-aspartasa	PCR de baja fidelidad, cambio de orden de regiones de ADN	Aumento de actividad 28 veces
β -glucanasa	Cambio de orden de regiones de ADN	Termoestabilidad mejorada
Lipasa	Sitio específico	Incremento en actividad específica y termoestabilidad mejorada
Subtilisina E	Recombinación al azar	Termoestabilidad mejorada
β -galactosidasa	Cambio de orden de regiones de ADN	Incremento en actividad específica

En el cuadro 5.21 se presentan algunos ejemplos de enzimas de aplicación en alimentos que han sido modificadas genéticamente. Entre las propiedades de las enzimas que pueden modificarse por ingeniería genética están:

- Estabilidad térmica al pH o a la presencia de disolventes orgánicos.
- Unión y regeneración del cofactor.
- Especificidad del sitio activo hacia el sustrato o hacia la quiralidad del producto obtenido.
- Aumento de la eficiencia catalítica.
- Adicionar elementos para facilitar procesos de purificación e inmovilización.

Estas modificaciones repercuten en la obtención de enzimas para que cumplan de mejor manera los requerimientos de la industria, incluyendo las demandas específicas de la industria alimentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Applewhite, T.H. 1985. "Flavor quality assessment", cap. 5, en *Bailey's Industrial Oil and fat Products*, John Wiley and Sons, Nueva York. E.U.A.
2. Ashie, I.N.A. 2003. Bioprocess Engineering of Enzymes. *Food Technol.* 57:44-51.
3. Barone, R., Briante, R., D'Auria, S., Febbraio, F., Vaccaro, C., Del Giudice, L., Borrelli, G.M., Di Fonzo, N. y Nucci, R. 1999. Purification and characterization of a lipoxygenase enzyme from durum wheat semolina. *J Agric Food Chem.* 47:1924-31.
4. Biacs, P.A., y Daood, H.G. 2000. Lipoxygenase-catalysed degradation of carotenoids from tomato in the presence of antioxidant vitamins. *Biochem Soc Trans.* 28:839-45.
5. Bornscheuer, U.T. y Kazlauskas, R.J. 1999. *Hydrolases in Organic Synthesis: Regio- and Stereoselective Biotransformations*. Wiley-VCH Verlag, GmbH. Weinheim, Alemania.
6. Brenda. Base de datos de enzimas. <http://www.brenda.uni-koeln.de>.
7. Buescher, R.W. 1975. Effects of ethylene on metabolic and quality attributes in sweet potato roots. *J. Food Sci.* 40:1018.
8. Buescher, R.W., Hudson, J.M. y Adams, J.R. 1981. Utilization of calcium to reduce pectinolytic softening of cucumber pickles in low-salt conditions. *Lebensmitt.-Wiss. u. Technol.* 14:65.
9. Chism, G.W. 1985. "Soy lipoxygenase", cap. 9, en *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, Ed. D. B. Min y T.H. Smouse, American Oil Chemists' Society, Champaign, E.U.A.
10. Coseteng, M.Y. y Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenol-oxidase and polyphenol concentration in relation to degree of browning. *J. Food Sci.* 52:985.
11. Dransfield, E. y Etherington, D. 1981. "Enzymes in tenderization of meat", en *Enzymes in Food Processing*, Ed. G.G. Birch, N. Blakebrough y K.J. Parker, Applied Science Publishers, Londres. Inglaterra.
12. Ediriweera, N., Akiyama, Y. y Saio, K. 1987. Inactivation of lipoxygenase in soybeans with retention of protein solubility. *J. Food Sci.* 52:685.
13. Engeseth, N.J., Klein, B.P. y Warner, K. 1987. Lipoxygenase isoenzymes in soybeans: effects on crude oil quality. *J. Food Sci.* 52:1015.
14. Enzyme. Base de datos de enzimas. <http://au.expasy.org/enzyme>
15. Ertbjerg, P., Henckel, P., Karlsson, A., Larsen, L.M. y Moller, A.J. 1999. Combined effect of epinephrine and exercise on calpain/calpastatin and cathepsin B and L activity in porcine longissimus muscle. *J Anim Sci.* 77:2428-36.
16. Fennema, O.R. Ed. 1996. *Food Chemistry* 3a. Ed. Marcel Dekker Inc. Nueva York. E.U.A.
17. Field, C.E. Pivarnik, L.F., Barnett, S.M. y Rand, A.G. Jr. 1986. Utilization of glucose oxidase for extending the shelf-life of fish. *J. Food Sci.* 51:66.
18. Gardener, H.W. 1980. "Lipid enzymes: Lipases, Lipoxygenases and hydroperoxidases", en *Autoxidation in Foods and Biological Systems*. Ed. M.G. Simicy M. Karel, Plenum Press, Nueva York. E.U.A.
19. Godfrey, T y West, S. Eds. 1996. *Industrial Enzymology*. Macmillan Press LTD. Londres. Inglaterra.
20. Goll, D.E., Otsuka, Y., Nagainis, P.A., Shannon, J.D., Sathe, S.K. y Mugurama, M. 1983. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *J. Food Biochem.* 7:137.
21. Greenberg, N.A. y Mahoney, R.R. 1983. Formation of oligosaccharides by β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *Food Chem.* 10:195.
22. Hildebrand, D.F. y Hymowitz, T. 1981. Two soybean geno types lacking lipoxygenase-1. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58:583.
23. Ilian, M.A., Morton, J.D., Kent, M.P., Le Couteur, C.E., Hickford, J., Cowley, R., y Bickerstaffe, R. 2001. Intermuscular variation in tenderness: association with the ubiquitous and muscle-specific calpains. *J Anim Sci.* 79:122-132.
24. Klein, B.P., King, D. y Grossman, S. 1985. Cooxidation reactions of lipoxygenase in plant systems. *Adv. Free Radical Biol. and Med.* 1:309.

25. Kristensen, L., Therkildsen, M., Riis, B., Sorensen, M.T., Oksbjerg, N., Purslow, P.P., y Ertbjerg, P. 2002. Dietary-induced changes of muscle growth rate in pigs: effects on in vivo and postmortem muscle proteolysis and meat quality. *J Anim Sci.* 80:2862-71.
26. Lee, C.Y. y Smith, N.L. 1979. Blanching effect on polyphenol oxidase activity in table beets. *J. Food Sci.* 44:82.
27. Marilley, L. & Casey, M.G. 2004. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int. J. Food Microbiol.* 90:139-159.
28. Marshall, M.R., Marcy, J.E. y Braddock, R.J. 1985. Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. *J. Food Sci.* 50:220.
29. Mathewson, P.R. 1998. *Enzymes. Practical Guides for the Food Industry.* Eagan Press, Minnesota. E.U.A.
30. Mazur, A. y Harrow, B. 1971. *Textbook of Biochemistry*, W.B. Saunders, Nueva York. E.U.A.
31. McFeeters, R.F., Fleming, H.P. y Thompson, R.L. 1985. Pectinesterase activity, pectin methylation, and texture changes during storage of blanched cucumber slices. *J. Food Sci.* 50:201.
32. McLellan, M.R., Kime, R.W. y Lind, L.R. 1985. Apple juice clarification with the use of honey and pectinase. *J. Food Sci.* 50:206.
33. Mozaffar, Z., Nakanishi, K. Matsuno, R. 1985. Formation of oligosaccharides during hydrolysis of lactose in milk using β -galactosidase from *Bacillus circulans*. *J. Food Sci.* 50:1602.
34. Nagodawithana, T. & Reed, G. Eds. 1993. *Enzymes in Food Processing.* Academic Press, Inc. San Diego. E.U.A.
35. Pariza, M.W. y Foster, E.M. 1983. Determining the safety of enzymes used in food processing. *J. Food Protection.* 46:453.
36. Ratledge C. & Kristiansen, B. Eds. 2001. *Basic biotechnology.* Cambridge University Press. Cambridge. Inglaterra.
37. Sayavedra-Soto, L.A. y Montgomery, M.W. 1986. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *J. Food Sci.* 51:153 1.
38. Sessa, D J. 1979. Biochemical aspects of lipid-derived flavors in legumes. *J. Agr. Food Chem.* 27:234.
39. Suckling, C.J. 1990. *Enzyme Chemistry.* Chapman & Hall, Londres. Inglaterra.
40. Uhlig, H. 1998. *Industrial Enzymes and their Applications.* John Wiley & Sons, Inc. Nueva York. E.U.A.
41. Underkofler, L.A. 1972. "Enzymes", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland. E.U.A.
42. Va'Mos-Vigyazo, L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.* 15:49.
43. Vandamme, E.J. 1994. The search for novel microbial fine chemicals, agrochemicals and biopharmaceuticals. *J. Biotech.* 37:89-108.
44. van der Ven, C., Master, A.M. y van den Berg, R.W. 2005. Inactivation of soybean trypsin inhibitors and lipoxigenase by high-pressure processing. *J Agric Food Chem.* 53:1087-1092.
45. Wang, G.I.J. y Fung, D.Y.C. 1986. Feasibility of using catalase activity as an index of microbial loads on chicken surfaces. *J. Food Sci.* 51:1442.
46. Webb, F.C. 1964. *Biochemical Engineering*, Van Nostrand, Londres. Inglaterra.
47. Whitaker, J.R. 1994. *Principles of Enzymology for the Food Sciences*, Marcel Dekker, Nueva York. E.U.A.
48. Whitaker, J.R., Voragen A.G.J. & Wong D.W.S. Eds. 2003. *Handbook of Food Enzymology.* Marcel Dekker, Nueva York. E.U.A.
49. Williams, D.C., Lim, M.H., Chen, A.O., Pangborn R.M. y Whitaker, J.R. 1986. Blanching of vegetables for freezing-which indicator enzyme to choose. *Food Technol.* 40:130.
50. Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski, V. y Zoller, M. 1998. *Recombinant DNA.* Scientific American Books, Nueva York, E.U.A.
51. afmb.cnrs-mrs.fr/cazy.
52. www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme.

6

Vitaminas y nutrimentos inorgánicos

- 6.1 Introducción
- 6.2 Contenido de vitaminas en los alimentos
- 6.3 Vitaminas liposolubles
- 6.4 Vitaminas hidrosolubles
- 6.5 Resumen de la estabilidad de las vitaminas
- 6.6 Nutrimentos inorgánicos

Referencias bibliográficas



6.1

INTRODUCCIÓN

Las vitaminas son nutrimentos que facilitan el metabolismo de otros nutrimentos y mantienen diversos procesos fisiológicos vitales para todas las células activas, tanto vegetales como animales. En los alimentos se encuentran en cantidades muy pequeñas, que van de unos cuantos microgramos hasta 200 mg por kilogramo, lo que representa desde 1/10,000 hasta 1/100,000,000 de la dieta. Sin embargo, si su presencia pasa desapercibida su ausencia, que se acompaña de cuadros clínicos graves y aparatosos, es sumamente notoria.⁸ Los problemas ocasionados por su carencia son conocidos desde la época de las antiguas civilizaciones de Egipto, Grecia y Roma; de tal forma que en el papiro de Ebers, escrito hace 3,500 años, se hace referencia a enfermedades como el escorbuto, el raquitismo y la ceguera nocturna; actualmente se sabe que estos problemas de salud se relacionan con la falta de vitaminas.

En 1912, Casimiro Funk aisló una fracción del arroz que curaba el beriberi; debido a que ésta tenía propiedades de amina (tiamina), la llamó *vitamine* (del inglés *vital amine*), que significa amina vital o indispensable para la vida. Posteriormente se encontró que no todos estos compuestos eran aminas, y en lugar de *vitamine* se les designó con el nombre de *vitamin*. En 1948, con el descubrimiento de la cianocobalamina, se terminó el periodo de 36 años en el que se identificó al resto de las vitaminas.

El término vitamina puede resultar confuso para mucha gente que le atribuye a estos compuestos poderes “mágicos”, que proporcionan salud y fuerza por el solo hecho de consumirlas; nada más alejado de esto. La mejor forma de obtenerlas es mediante la ingesta de una dieta equilibrada y sólo en casos muy concretos se debe acudir a las presentaciones farmacéuticas. Los excesos y sobredosis de vitaminas, como la A, D y B₆, traen consigo intoxicaciones, algunas incluso pueden ser graves.

Bajo este nombre se agrupan 13 compuestos con estructuras químicas orgánicas muy distintas, que funcionan en concentraciones pequeñas (por eso se clasifican como micronutrientes), comparadas con los macronutrientes en su conjunto. Las vitaminas, como tales, no generan energía, pero actúan en el control de diversas reacciones propias del anabolismo y del catabolismo de hidratos de carbono, de proteínas y de grasas, que a su vez generan energía y propician la síntesis de otros compuestos, además de que facilitan algunos mecanismos fisiológicos.

Cabe mencionar que, en ciertos casos, esta actividad biológica no es exclusiva de un sólo compuesto ya que hay varias sustancias, llamadas vitámeros, que cumplen la misma función en el hombre, aunque con diferente poder vitamínico. Por ejemplo, en la vitamina B₆ existen tres vitámeros: piridoxina, piridoxal y piridoxamina; dos en la niacina: ácido nicotínico y nicotinamida; dos en la D: ergocalciferol y colecalciferol; dos en la C: ácidos ascórbico y deshidroascórbico; ocho en la E: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles; etcétera. Por otra parte, en muchos alimentos, las vitaminas se encuentran en una forma química inactiva sin funcionalidad, como la niacina, por lo que se requiere convertirlas a su estado activo a través de diversas reacciones. También existen las provitaminas o precursores, como los carotenoides que en sí no tienen actividad biológica, pero que se convierten en vitamina A en el tracto gastrointestinal.

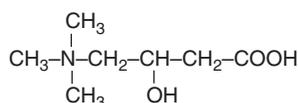
Todavía no se conoce perfectamente la función que desempeña cada una de ellas en el hombre, aunque su importancia se ha demostrado en muchas ocasiones, ya que su deficiencia produce malestares o enfermedades, a pesar de consumirse una dieta rica en los demás nutrimentos.²²

Para el buen funcionamiento del cuerpo humano se llevan a cabo miles de transformaciones químicas que requieren de las correspondientes enzimas con sus respectivos cofactores, muchos de los cuales son vitaminas; y se les llama indispensables porque el organismo, al no sintetizarlas todas en cantidades suficientes, requiere ingerirlas de la dieta diaria; la microflora intestinal del hombre, y la de muchos animales, constituida por varias decenas de especies que viven simbióticamente es capaz de producir cantidades importantes de algunas de ellas, como biotina, ácido pantoténico, cobalamina y vitamina K, y en menor proporción, tiamina, niacina, ácido fólico, vitamina B₆ y riboflavina. Parte de estas vitaminas es aprovechada al ser absorbida directamente a través de la pared del tracto gastrointestinal; la ingesta de antibióticos destruye dicha microflora y trae consigo una reducción en la síntesis de estos nutrimentos.

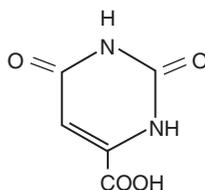
Los requerimientos diarios de vitaminas varían entre mujeres y hombres y también con la edad, así como en el caso de las mujeres embarazadas y lactantes. En el cuadro 6.1 se muestran las recomendaciones de consumo de vitaminas y de algunos elementos químicos para tres grupos de la población mexicana; debido a que se trata de información oficial, con base en estos datos se calculan los aportes indicados en las etiquetas de los productos comerciales. Observe que en el caso de las vitaminas,

la máxima cantidad corresponde a 60 mg de la C, mientras que de la B₁₂ es de tan sólo 2 µg; es decir, hay una diferencia de 30,000 veces entre las dos recomendaciones. En general, las dietas balanceadas constituidas por una amplia variedad de alimentos son suficientes para satisfacer todos los requerimientos vitamínicos diarios.

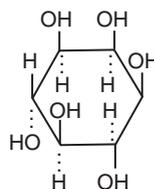
En algún tiempo, a dicha lista de 13 vitaminas se le incluyeron otras sustancias, como el ácido orótico (llamada vitamina B₁₃), el inositol, el ácido lipoico, la rutina (vitamina P), la colina (forma parte de la lecitina y de la acetilcolina, un neurotransmisor), la xantopterina (vitamina B₁₄), el ácido pangámico (vitamina B₁₅), la carnitina (vitamina T), los flavonoides y la ubiquinona, pero en general no han sido aceptadas como tal por ser dispensables y desconocerse los problemas que causa su carencia en la dieta.



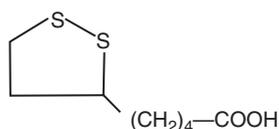
carnitina



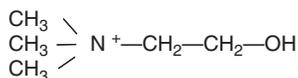
ácido orótico



inositol



ácido lipoico



colina

La disponibilidad comercial de las vitaminas sintetizadas químicamente o por métodos biológicos hace que la industria alimentaria pueda emplearlas en una forma muy variada; se utilizan para fortificar algunos productos de consumo cotidiano y también como antioxidantes y hasta como colorantes. De todos, el aspecto más importante es el empleo de las vitaminas como nutrimentos, sobre todo en aquellos alimentos que por razones de procesamiento las han perdido. El técnico puede contribuir considerablemente a mejorar el bienestar y la salud del público consumidor al manejar los productos de tal manera que la destrucción de nutrimentos sea mínima o añadir éstos cuando así se requiera.

Las vitaminas no pertenecen a un grupo específico de compuestos y tienen estructuras químicas diferentes entre sí; debido a esto no se han podido clasificar con base en su estructura, sino más bien por su solubilidad: liposolubles e hidrosolubles.

CUADRO 6.1 Ingestión diaria de nutrimentos recomendada en México⁴⁵

<i>Nutrimentos</i>	<i>Adultos</i>	<i>Niños de 6 a 11 meses cumplidos</i>	<i>Niños de 1 a 3 años cumplidos</i>
Proteína, g	75	14	20
Vitamina A, μg equivalentes de retinol*	1,000	400	400
Vitamina E, mg	10	4	6
Vitamina C, mg	60	40	40
Tiamina, mg	1.5	0.45	0.7
Riboflavina, mg	1.7	0.55	0.8
Niacina, mg equivalentes**	20	7	9
Vitamina B ₆ , mg	2	0.60	1
Folacina, μg	200	35	50
Vitamina B ₁₂ , μg	2	0.5	0.7
Calcio, mg	800	600	800
Fósforo, mg	800	500	700
Hierro, mg	15	10	15
Magnesio, mg	350	60	80
Zinc, mg	15	5	15
Yodo, μg	150	50	70

*Un equivalente de retinol = 1 μg de retinol o 6 μg de β -caroteno.

**Un equivalente de niacina = 1 mg de niacina o 60 mg de triptófano.

6.2 CONTENIDO DE VITAMINAS EN LOS ALIMENTOS

Al revisar las diversas fuentes de información sobre el contenido vitamínico de los alimentos se encuentra que existen grandes variaciones, algunas muy importantes; éstas se acentúan aún más en productos procesados, sometidos a alguna transformación que provocó modificaciones en sus constituyentes. En general, los vegetales contienen una mayor proporción de hidrosolubles que de liposolubles, situación que se invierte en los alimentos de origen animal; sin embargo, hay varias excepciones, como las espinacas y las coles, ricas en vitamina K, las oleaginosas que tienen un porcentaje importante de vitamina E, o del hígado de distintos animales que son buena fuente de algunas vitaminas hidrosolubles.

Su concentración en los vegetales está en función de aspectos genéticos, prácticas culturales, radiación solar (influye en la vitamina C y la tiamina), disponibilidad de agua, época del año, fertilización, temperatura promedio (influye en los carotenos), topografía, cosecha, almacenamiento, madurez en el momento del consumo, forma de preparación en el hogar, etcétera; todos estos factores causan las discrepancias observadas en la literatura. Por su parte, el contenido de vitaminas en el huevo, la carne, la leche, etcétera, depende de la raza, de la dieta y de la salud del animal, entre otros factores; el suministro de suplementos con vitaminas liposolubles a los animales se refleja en el alimento producido, pero esto no sucede normalmente con las hidrosolubles.

Algunas frutas, como las fresas, sintetizan el ácido ascórbico paralelamente a los pigmentos, aun cuando éste disminuye una vez recolectadas; en el caso de las ciruelas, la situación es inversa, puesto

que el contenido se incrementa después de la cosecha. La cantidad de tiamina de la manzana está en relación con su estado fisiológico. Incluso, dentro de un mismo fruto, la distribución de vitaminas no es homogénea; como en el durazno, en el que existe un incremento de concentraciones del centro hacia el exterior; esta heterogeneidad también se presenta en muchos otros productos, como la manzana, que acumula hasta el 80% de ácido ascórbico en la cáscara, o la zanahoria que es abundante en niacina en su parte más externa; en el corazón o centro de la piña se encuentra la mayor cantidad de vitamina C.

En diversas frutas, como en los cítricos (naranja y limón), de un 50 a un 60% del ácido ascórbico está presente en el albedo y flavedo, partes de la corteza que generalmente no se consumen; el contenido vitamínico incluso varía de acuerdo con la localización del fruto en el árbol, los más externos contienen una mayor proporción que los internos, por la incidencia solar.

Por su parte, la germinación de algunas semillas propicia la síntesis de vitaminas, como es el caso de la soya y de los chícharos, que incrementan considerablemente su concentración de ácido ascórbico, riboflavina, niacina y biotina. En los cereales (arroz, trigo, centeno, avena, etcétera), estos nutrimentos por lo general se ubican en la cascarilla que los cubre, por lo que la eficiencia de su molienda y de su extracción industrial determina la concentración residual de vitaminas. En el caso del arroz, la molienda provoca un desperdicio de salvado, germen y cascarilla que hace que se pierda un porcentaje elevado de estos nutrimentos (cuadro 6.2); el arroz pulido, sin cascarilla, contiene una proporción menor de vitaminas que el grano entero.

CUADRO 6.2 Pérdida de nutrimentos en el descascarillado del arroz

<i>Nutrimento</i>	<i>Porcentaje de pérdida</i>
Riboflavina	45
Tiamina	75
Niacina	60
Hierro	75
Fósforo	50

Para mejorar la calidad nutritiva del arroz se emplea el “sancochado”, que consiste en macerar el grano entero en agua caliente, después cocerlo a vapor para gelatinizar el almidón, secarlo y molerlo de manera tradicional. Con esto se favorece la difusión de los componentes hidrosolubles de las capas externas hacia el interior del endospermo, de tal manera que quedan retenidos en el grano molido. Los contenidos vitamínicos, en mg/kg, del arroz producido por molienda tradicional y por sancochado son, en promedio: tiamina, 0.7-1.5; riboflavina, 0.25-0.45; niacina, 20-45; vitamina E, 0.5-8.0, respectivamente.

En la molienda del trigo se presenta una situación similar, ya que muchas de sus vitaminas se van en los subproductos (el salvado y el embrión) poco utilizados en la industria de alimentos para humanos; a medida que aumenta el grado de extracción, disminuye la cantidad de nutrimentos retenidos; en el cuadro 6.3 se muestran algunas de estas pérdidas ocasionadas por el proceso industrial de fabricación de harina de trigo para panificación.

En el caso de los productos cárnicos también hay variaciones en la cantidad de estos nutrimentos; en el hígado se concentran las liposolubles, mientras que en el músculo sólo una pequeña cantidad de algunas hidrosolubles; la edad y la alimentación de los animales, entre otras cosas, influyen direc-

CUADRO 6.3 Pérdida de algunos nutrimentos en la molienda del grano de trigo³⁸

<i>Nutrimento</i>	<i>Porcentaje de pérdida</i>
Potasio	77
Fósforo	70
Hierro	75
Magnesio	85
Biotina	75
Niacina	75
Riboflavina	67
Piridoxina	80

tamente en la composición de la carne. La leche recién ordeñada presenta más de 20 mg/L de ácido ascórbico, pero éste se degrada oxidativamente en los procesos que se requieren para su comercialización, de tal forma que cuando el producto llega al consumidor su contenido de vitamina C es prácticamente de cero.

Además de todos los aspectos antes mencionados, también influyen algunas reacciones químicas de deterioro causadas por el pH o por compuestos propios del alimento o por los aditivos añadidos; por ejemplo, pH muy ácidos o muy alcalinos, nitritos, sulfitos, óxidos de etileno y de propileno (usados en la sanitización), peróxidos, etcétera, influyen definitivamente en la estabilidad de las diversas vitaminas. Muchas de ellas son más sensibles al oxígeno del aire, y otras a las radiaciones electromagnéticas que causan pérdidas considerables.

También hay que considerar que el propio consumidor induce su destrucción en el hogar; de hecho, en ocasiones, estos daños son mayores a los que se inducen en la industria al abusar de las altas temperaturas. Recalentar los alimentos provoca grandes pérdidas. Se recomienda que el cocimiento de los vegetales se haga en recipientes cerrados con la menor cantidad posible de agua para reducir la lixiviación y, de ser posible, beber dicha agua.

Por otra parte, algunos de estos compuestos se encuentran en una forma química que no es aprovechada biológicamente por el organismo humano, como la biotina en el huevo; es decir, a pesar de que los análisis cualitativo y cuantitativo demuestran su presencia, no indican que el individuo obtenga un beneficio nutricional con su ingesta. La biodisponibilidad mide la absorción del nutrimento en el tracto gastrointestinal y su uso posterior, y se ve afectada por muchos factores, como la composición del alimento, la presencia de polímeros (proteínas, pectinas, etcétera), el pH, las interacciones con otras sustancias, el tipo de vitámero o provitamina, etcétera.

En los cuadros 6.4 y 6.5 se muestran las composiciones vitamínicas y de nutrimentos inorgánicos de algunos alimentos. Como ya se mencionó, estos datos se deben tomar sólo como referencia, dado que pueden existir discrepancias con la información proveniente de otras fuentes.

6.3 VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Las vitaminas de este grupo (A, D, E y K) son solubles en disolventes orgánicos y en aceites, pero insolubles en agua; sin embargo, comercialmente existen preparaciones microencapsuladas en gomas y en otros polímeros hidrófilos, que las hacen estables en soluciones acuosas. Sus estructuras contie-

CUADRO 6.4 Contenido vitamínico de algunos alimentos				
Alimento	Biotina µg/100 g	Ácido pantoténico mg/100 g	Vitamina B ₆ mg/100 g	Vitamina B ₁₂ µg/100 g
Carne de res	2.6-3.4	0.3	0.08-0.3	2.0-3.0
Carne de puerco	5.0	0.5	0.08-0.3	—
Carne de pollo	10.0	0.8	0.08-0.3	—
Pescado	0.1-3.0	0.2-1.0	0.45	5.0-14.0
Leche	2.0-5.0	0.4	0.03-0.3	0.3-0.6
Queso	1.8	0.15	0.04-0.8	0.2-2.0
Huevo (cada uno)	12.0	1.08	0.25	0.4
Harina de trigo:				
Entera	7.0-12.0	0.5	0.4-0.7	—
Con 80% de extracción	1.4-3.0	0.23	0.1-0.3	—
Arroz pulido	4.0-6.0	—	—	—
Manzana	0.9	—	—	—
Jugo de naranja	0.5-1.5	0.16	0.05	—
Frijol	—	0.14	0.10	—
Chícharo	—	0.34	0.16	—
Papa	—	0.60	0.14-0.23	—

CUADRO 6.5 Composición de vitaminas y de nutrimentos inorgánicos (base: 100 g de parte comestible)							
Alimento	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Vitamina A (UI)	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Niacina (mg)	Vitamina C (mg)
<i>Frutas:</i>							
Durazno	9.0	0.5	1,330	0.02	0.05	1.0	7.0
Manzana	7.0	0.3	90	0.03	0.02	0.1	4.0
Fresa	21.0	1.0	60	0.03	0.07	0.6	60.0
Piña	17.0	0.5	70	0.09	0.03	0.2	17.0
Naranja	41.0	0.4	200	0.10	0.04	0.4	50.0
<i>Hortalizas:</i>							
Chícharo	62.0	0.7	680	0.28	0.12	—	21.0
Cebolla	27.0	0.5	40	0.03	0.04	0.2	10.0
Espinaca	93.0	3.1	8,100	0.10	0.20	0.6	51.0
Zanahoria	37.0	0.7	11,000	0.06	0.05	0.6	8.0
Tomate	13.0	0.5	900	0.06	0.04	0.7	23.0
<i>Cereales:</i>							
Arroz	24.0	0.8	0	0.07	0.03	1.6	0
Trigo	36.0	3.1	0	0.57	0.12	4.3	0
Maíz	22.0	2.1	490	0.37	0.12	2.2	0
Sorgo	28.0	4.4	0	0.38	0.15	3.9	0
Centeno	38.0	3.7	0	0.43	0.22	1.6	0
<i>Carnes:</i>							
Hígado vacuno	8.0	6.5	43,900	0.25	3.26	13.6	31
Hígado porcino	10.0	19.2	10,900	0.30	3.03	16.4	23
Carne de vacuno	11.0	2.8	40	0.10	0.15	4.5	0
Carne de porcino	5.0	1.4	30	0.44	0.10	2.4	0

nen dobles enlaces sensibles a las reacciones de oxidación (más la A y la E) mediante mecanismos semejantes a los descritos en el capítulo 4 para la autooxidación de ácidos grasos insaturados.

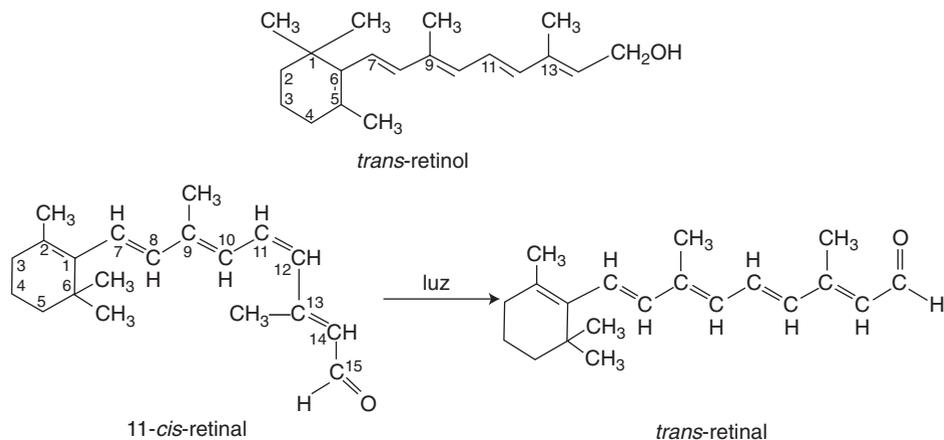
El hombre, al igual que otros mamíferos, las retiene en el tejido adiposo, principalmente del hígado, por lo que una persona bien alimentada puede sobrevivir durante varias semanas sin necesidad de consumirlas; por el contrario, las hidrosolubles, deben ingerirse de manera sistemática, ya que no se almacenan tan fácilmente y pueden presentarse problemas si no se ingieren.

Su función biológica no está muy clara, se conoce menos que la de las hidrosolubles, y hasta ahora no se ha observado que tengan acción como coenzima en alguna reacción específica. Sin embargo, sí se identifican las enfermedades y los problemas que puede ocasionar su ausencia en la dieta; en este sentido, de las cuatro, las actividades fisiológicas que mejor se entienden son las de la A y la D.

6.3.1 Vitamina A

Esta vitamina se encuentra sólo en el reino animal, principalmente en el hígado, así como en la leche, el huevo, el pescado, etcétera. Desde hace miles de años en Egipto y en Grecia se sabía que para curar la ceguera nocturna era necesario consumir hígado; esta vitamina puede presentarse en las formas retinoides de alcohol o retinol, de aldehído o retinal y de ácido retinoico. En los vegetales no existe como tal, pero sí como sus provitaminas o precursores carotenoides, de los cuales existen más de 500, aun cuando el β -caroteno es el más importante, seguido de otros como el β -apo-8'-carotenal, la criptoxantina, el α -caroteno, etcétera. En la conversión del β -caroteno en vitamina A, ocurren reacciones de oxidación-reducción que primero lo transforman en retinal, después en retinol, para finalmente almacenarse en el hígado como el derivado palmitato. En teoría, la ruptura enzimática de los dos carbonos centrales del β -caroteno en la mucosa intestinal liberaría dos moléculas de retinal; sin embargo, en la práctica esta transformación no se logra totalmente y sólo se alcanza el 50% de efectividad; por esto el β -caroteno, que es la provitamina más activa, sólo tiene un poder del 50% de la vitamina A.

Para hacer referencia a su potencia biológica y a las recomendaciones de consumo, en la literatura técnica se emplean diversos términos, como Unidad Internacional, UI; Equivalente de Retinol, ER, (RE en inglés, *Retinol Equivalent*), y otros, que llegan a ocasionar confusiones. La UI corresponde a 0.3 μg de retinol, a 0.6 μg de β -caroteno, o a 0.344 μg de acetato de *trans*-retinilo, mientras que el ER, equivale a 1 μg de retinol o a 6 μg de β -caroteno.



Aunque no se conoce totalmente su función biológica, su carencia inhíbe el crecimiento, produce el endurecimiento del epitelio en varias partes del cuerpo, principalmente de los sistemas respiratorio, visual, reproductivo y urinario, y afecta las estructuras ósea y dental. Su actividad más conocida es cuando interviene como 11-*cis*-retinal y se combina con la proteína opsina por medio del grupo amino ϵ de la lisina, en la síntesis del pigmento rodopsina; en el ciclo visual de los bastones, la rodopsina sufre una transformación *cis-trans* por la acción de la luz, al tiempo que se rompe en opsina y en *trans*-retinal, para nuevamente isomerizarse y realizar un proceso cíclico (figura 6.1). Por esta razón, su deficiencia causa xerofthalmia (disminución de la transparencia de la córnea) en los niños y ceguera nocturna en los adultos.

El abuso en el consumo de esta vitamina mediante preparaciones farmacéuticas puede ocasionar una intoxicación, lo cual no sucede si se lleva una alimentación balanceada. La ingesta recomendable diaria se indica en el cuadro 6.1; se ha identificado como una carencia nutricional importante en niños menores de 12 años en México.⁴⁶ La vitamina A presenta su máxima actividad biológica cuando todas sus instauraciones se encuentran en configuración *trans*. Sus formas comerciales son como acetato y palmitato de *trans*-retinilo ya que son más estables, activas y solubles en aceite.

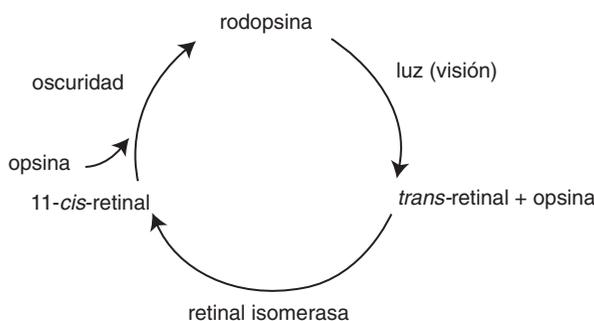


Figura 6.1 Acción biológica de la vitamina A. Ciclo de síntesis de la rodopsina.

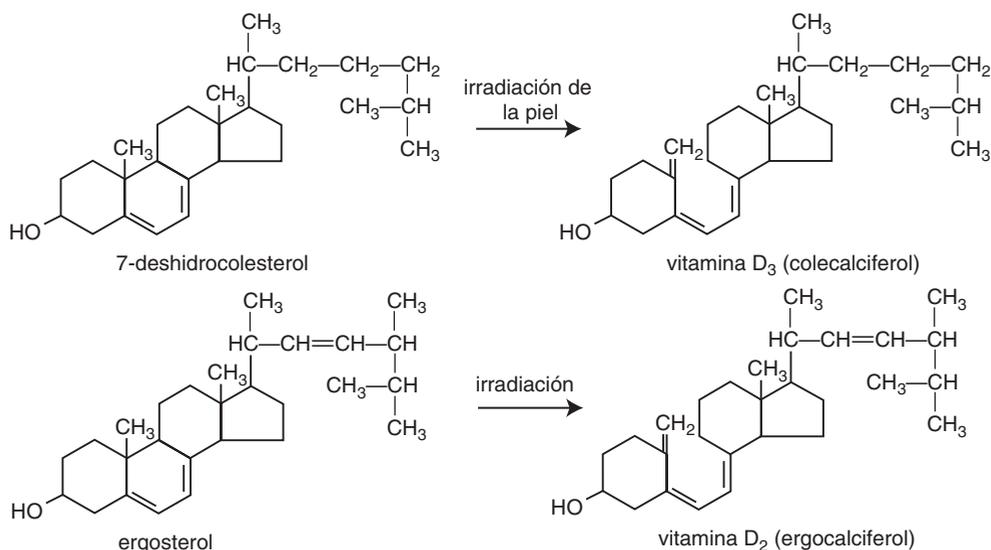
En cuanto a su estabilidad química, la vitamina A y sus precursores, al ser hidrocarburos isoprenoides insaturados con dobles ligaduras, son sensibles a la oxidación, como las grasas y aceites, especialmente a temperaturas elevadas y en presencia de enzimas y de metales de transición (Fe y Cu), con radiaciones electromagnéticas y en sistemas con una baja actividad del agua, según se describió en el capítulo 4. Al oxidarse, forman hidroperóxidos en una secuencia de reacciones por radicales libres en las que incluso se deterioran otras moléculas; por esta razón, la adición de antioxidantes como TBHQ y vitamina E, estabiliza sus preparaciones comerciales.

La destrucción térmica de la vitamina A en el hígado de res sigue una cinética de primer orden con una aparente dependencia directa de la temperatura, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius.⁶³ Su actividad biológica puede perderse cuando se isomeriza, ya que los *cis* no son tan activos como los *trans*.⁴ La determinación cuantitativa tradicional de esta vitamina no discrimina entre los isómeros y mide la cantidad total, pero existe la cromatografía líquida de alta presión que sí lo hace.²⁷ La isomerización de las dobles ligaduras provoca cambios hipsocrómicos, es decir, en su longitud de onda de máxima absorción.

Su calentamiento, en ausencia de oxígeno (p. ej., en productos enlatados), induce estas transformaciones y, dado que contiene cuatro dobles ligaduras, el número de posibles combinaciones isoméricas es grande.⁵⁷ La isomerización también puede llevarse a cabo si se expone a los ácidos fuertes o si se irradia con energía de diferentes longitudes de onda, sobre todo la cercana al ultravioleta. La fotoisomerización de la vitamina A de los productos lácteos, si están expuestos, puede efectuarse con la luz fluorescente que se emplea en los comercios.^{13, 54}

6.3.2 Vitamina D

Con este nombre se conocen 11 compuestos similares con estructuras de esteroles, semejantes al colesterol, con un sistema trieno conjugado de dobles ligaduras, que son capaces de impedir los síntomas del raquitismo, y de los cuales el ergocalciferol (vitamina D₂) y el colecalciferol (vitamina D₃) son los más importantes. A su vez, estos dos tienen sus precursores, ergosterol y 7-deshidrocolesterol, respectivamente, que no presentan actividad biológica, pero que se transforman en la respectiva vitamina cuando se irradian con luz ultravioleta. El primero se localiza básicamente en las plantas, mientras que el segundo abunda en el tejido animal y en los aceites de pescado. La fotoconversión implica una ruptura del anillo β en el sistema esteroidal, se pierde el arreglo cíclico típico de los esteroides, y se forma una serie de productos intermedios como el lumisterol y el taquisterol; una excesiva irradiación destruye la actividad biológica, y además se generan diferentes sustancias, algunas de las cuales pueden ser tóxicas.



La función de estos compuestos, en forma de la hormona 1,25-dihidroxicolecalciferol, es ayudar a absorber y transportar el calcio y el fósforo a través de la pared intestinal, pero también a liberar el calcio de la estructura ósea, en caso necesario, para regular su concentración y la del fósforo en el plasma; en estos procesos actúan las hormonas paratiroidea y calcitonina, para lograr una sana integración ósea. Su deficiencia provoca osteomielitis o una mala formación de los huesos; los sínto-

mas del raquitismo se describieron a mediados del siglo XVII, y años después se usó el aceite de bacalao para curarlo.

Como ocurre con las demás vitaminas liposolubles, la D se encuentra en los alimentos de origen animal (cuadro 6.6); la unidad internacional equivale a $0.025 \mu\text{g}$ de colecalciferol. Un consumo excesivo o hipervitaminosis provoca la concentración del calcio en el plasma y en algún momento su precipitación como fosfato en algunos órganos y tejidos que contienen mucoproteínas, como las articulaciones. Mientras más rica sea la dieta en calcio, menos vitamina D se necesita para causar esta calcinosis, que en casos extremos puede ser muy peligrosa para el hombre.⁷

CUADRO 6.6 Contenido de vitamina D₃ en algunos alimentos

Alimento	UI/100 g
Leche	2.0
Queso	10.0
Huevo	90.0
Mantequilla	40.0
Aceites de pescado	Hasta 50,000

Sus distintas formas comerciales se han utilizado para enriquecer la leche, sobre todo en los países nórdicos, en donde la intensidad de la radiación solar es escasa; su contenido se puede aumentar, ya sea alimentando a las vacas con dietas ricas en este nutrimento, por irradiación solar, o por una adición directa de concentrados vitamínicos. Resiste muy bien los diferentes tratamientos térmicos a los que se somete normalmente la mayoría de los alimentos y presenta pocas pérdidas; sin embargo, puede oxidarse en contacto con el oxígeno y la luz.

6.3.3 Vitamina E

Con este nombre se conocen ocho compuestos de las familias de los tocoferoles y de los tocotrienoles, el α , β , γ y δ -tocoferol y el α , β , γ y δ -tocotrienol. El más activo es el α -tocoferol (100% de potencia), seguido del β (50%), el γ (5%) y el δ (1%). La palabra tocoferol proviene del griego *tokos* que significa descendencia, y *pherin*, soportar o apoyar; el *ol* se le añade a la molécula para indicar que es un fenol.

Las diferencias químicas entre los tocoferoles se muestran en la figura 6.2 y se basan en el número y la posición de los grupos metilo sustituyentes en el anillo de cromano. Debido a la presencia de los tres carbonos asimétricos que contienen, existen diversos estereoisómeros con dos posiciones quirales designadas como R y S para cada carbono, por lo que se forman ocho posibles combinaciones (RSR, SRR, SRS, etcétera) con diferente poder vitamínico; el α -tocoferol (5,7,8-trimetiltocol) es el más abundante en los alimentos, se designa como RRR- α -tocoferol y por ser el más activo biológicamente se toma de referencia para medir la potencia del resto de los isómeros. Por su parte, el producto comercial sintético de acetato es en realidad una mezcla de todos los isómeros, y para designarlo se utiliza el término acetato de todo-*rac*- α -tocoferilo (equivalente al antiguo acetato de *dl*- α -tocoferilo), en el que *rac* se refiere a que está racemizado en su totalidad; su actividad biológica es de aproximadamente 80% de la del RRR- α -tocoferol.

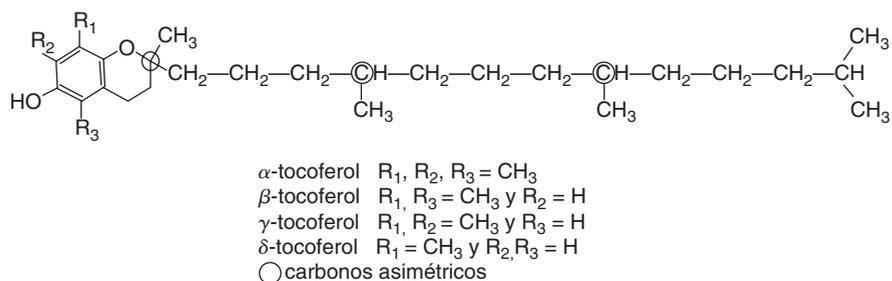


Figura 6.2 Fórmulas de los tocoferoles. El acetato de tocoferilo se produce al sustituir el OH por el grupo CH_3COO .

Con base en esto, la potencia vitamínica de estos compuestos se expresa de la siguiente manera: 1 Unidad Internacional = 1 mg de acetato de todo-*rac*- α -tocoferilo, o bien, 1 mg de RRR- α -tocoferol = 1.49 UI.

No se conoce bien la función biológica de esta vitamina en el humano, pero sí los problemas que ocasiona su carencia. Debido a su estructura química actúa como antioxidante natural a nivel celular y reduce los peróxidos provenientes de la oxidación de los ácidos linoleico y linolénico; cabe indicar que una teoría establece que el envejecimiento del hombre se debe a la acción de estos peróxidos sobre las proteínas, con un mecanismo semejante al descrito en el capítulo 4. De hecho, se recomienda una dieta rica en vitamina E cuando se consumen concentraciones elevadas de dichos ácidos; la vitamina C le ayuda a recuperar su función de antioxidante después de que actúa como tal. Su deficiencia en animales se manifiesta por degeneración tubular renal, pigmentación de los depósitos lipídicos, necrosis hepática y distrofia muscular. En ratas de laboratorio previene la esterilidad y los abortos, por lo que algunos investigadores erróneamente concluyeron, hace algunas décadas, que tenía el mismo efecto en el hombre; por esta razón a la vitamina E también se la llamó factor antiesterilidad. Las cantidades de consumo recomendadas se muestran en el cuadro 6.1.

CUADRO 6.7 Concentración de tocoferoles en el aceite de maíz (mg/100 g)³⁸

<i>Tocoferol</i>	<i>Aceite crudo</i>	<i>Aceite refinado</i>
α -Tocoferol	27-32	2.3
α -Tocotrienol	10-16	—
γ -Tocoferol	89-95	43.5
γ -Tocotrienol	21-27	—
Total	149-168	45.8

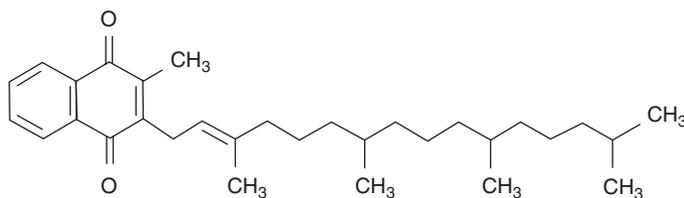
Debido a que en los gérmenes de maíz y de trigo se concentra hasta el 85% de estos compuestos (120 mg/100 mL), al momento de eliminar dichos gérmenes durante la obtención de los derivados industriales de estos granos se ocasiona una importante pérdida vitamínica. Los aceites de almendra, de cacahuete, de oliva, de soya y de aguacate contienen 30, 16, 14, 8 y 1.5 mg/100 mL de α -tocoferol, respectivamente.

En la refinación de los aceites, los tocoferoles y los tocotrienoles se deterioran, principalmente por oxidación, y se reduce su concentración hasta en un 70%, como lo muestra el cuadro 6.7. Al oxidarse se inducen reacciones típicas de la autooxidación descritas en el capítulo 4, que generan quinonas, sustancias dihidroxiladas y algunos polímeros. Su actividad como antioxidante es débil en los aceites refinados, por lo que generalmente se recurre a los antioxidantes sintéticos.

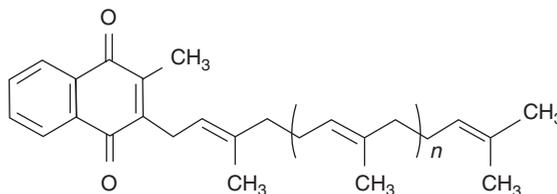
Comercialmente existen diversos derivados de la vitamina E que se emplean como nutrimento y como antioxidante; el acetato sólo se usa para fortificar, mientras que la forma de alcohol, sin esterificar, se usa como antioxidante por tener el OH libre activo del grupo fenólico (ver antioxidantes en el capítulo 4). Su análisis y cuantificación se efectúa por métodos colorimétricos y por cromatografía líquida de alta presión.⁵⁶

6.3.4 Vitamina K

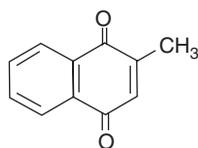
En la década de 1930 se descubrió un componente de los aceites que actuaba como factor antihemorrágico, al cual se le llamó vitamina K por la palabra alemana *Koagulation*. En este término se incluye a cada uno de los derivados de la naftoquinona, cuya función biológica más conocida es en la coagulación de la sangre; y su ausencia hace que el hígado no sintetice la protrombina, que es el principal precursor del agente coagulante trombina. Existen varios vitámeros naturales, aunque los principales son la vitamina K₁ (2-metil-3-filnaftoquinona-1,4), filoquinona que está presente en las hojas de las plantas, y la vitamina K₂ (2-metil-3-difarsenil-naftoquinona-1,4), menaquinona que es sintetizada por las bacterias intestinales; sin embargo, hay otros de origen sintético que son aún más potentes, como la menadiona (2-metil-naftoquinona-1,4), que no contiene la cadena lateral, y que se usa de referencia para medir la actividad biológica y como aditivo en alimentos.



vitamina K₁, filoquinona



vitamina K₂, menaquinona ($n = 4, 6, 7$ u 8)



menadiona

Las menaquinonas contienen una cadena isoprenoide con distintas longitudes, y una parte (40-60%) de lo que produce la microflora en el tracto gastrointestinal se absorbe; esto hace que, junto con la dieta, los requerimientos diarios de un hombre bien alimentado puedan satisfacerse sin problema alguno, por lo que los casos de deficiencias son pocos. El sangrado constante y la presencia de moretones pueden ser una señal de deficiencia de esta vitamina.

En el cuadro 6.8 se muestran los contenidos de vitamina K en algunos productos; abunda en el hígado, el huevo, el jitomate y otros; el brócoli, la col y la espinaca son también una buena fuente (50-100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) de esta vitamina.

La vitamina K_1 es un aceite amarillo, mientras que la K_2 y la menadiona son sólidos cristalinos con puntos de fusión de 54.5 y 106°C, respectivamente. Son muy estables al calor, pero sensibles a los hidróxidos alcalinos y a la luz; normalmente existen pocas pérdidas durante los distintos tratamientos y procesos a los que se someten los alimentos. Su cuantificación se efectúa con cromatografía líquida de alta presión.

CUADRO 6.8 Contenido de vitamina K en algunos alimentos

Alimento	mg/100 g
Carne magra	0.15
Hígado de cerdo	0.6
Huevo (cada uno)	0.02
Leche de vaca	0.002
Leche humana	0.02
Papa	0.08
Espinaca	0.6
Col	0.4
Zanahoria	0.01
Chícharo	0.02
Jitomate	0.4

6.4

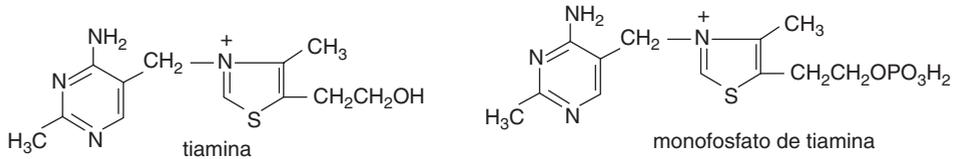
VITAMINAS HIDROSOLUBLES

A diferencia de las liposolubles, el hombre tiene una capacidad limitada para almacenar las vitaminas hidrosolubles, por lo que requiere un consumo continuo, a pesar de que algunas son sintetizadas por la flora intestinal y una fracción se absorbe. Al ingerir una cantidad excesiva, sólo se aprovecha una fracción y la otra se elimina en la orina, y esto se debe tener en cuenta cuando se administran megadosis, como las preparaciones comerciales de soluciones inyectables de vitamina B_{12} , que contienen varios miligramos, mientras que los requerimientos diarios son muy bajos (cuadro 6.1); es decir, una sola ampolla es suficiente para cubrir las necesidades de un individuo durante muchas semanas.

Las vitaminas hidrosolubles están constituidas por el complejo B, que incluye tiamina (B_1), riboflavina (B_2), vitamina B_6 , vitamina B_{12} , biotina, folatos, niacina y ácido pantoténico, y por la vitamina C. Excepto en el caso de esta última, la función biológica de las demás es conocida: actúan como coenzimas. En general, muchas de las B se encuentran juntas en los alimentos de origen vegetal. Por ser solubles en agua, la lixiviación es un mecanismo común de pérdida para todas ellas.

6.4.1 Tiamina (B₁)

Esta vitamina está constituida químicamente por un anillo de pirimidina unido a otro de tiazol, mediante un puente metilénico muy sensible a los ataques nucleófilos. El nitrógeno del tiazol es cuaternario y normalmente está ionizado en el pH de la mayoría de los alimentos, lo que provoca que actúe como una base fuerte.



En forma de pirofosfato de tiamina interviene como coenzima en diversas reacciones oxidativas de descarboxilación, en el metabolismo de aminoácidos ramificados y en la utilización de hidratos de carbono, sobre todo de la glucosa y en el ciclo de las pentosas.²⁴ Su deficiencia en el hombre causa beriberi, el cual se manifiesta con pérdida de la memoria, dificultad para hablar e incapacidad para ciertos movimientos musculares, polineuritis (inflamación simultánea de varios nervios), problemas gastrointestinales, cardiovasculares y del sistema nervioso. Esta enfermedad se presenta en los países orientales donde su dieta se basa en arroz pulido, es decir, arroz al que se le ha eliminado la cascarrilla que contiene la mayor proporción de tiamina (cuadro 6.2). Su absorción se lleva a cabo en la mucosa del yeyuno y del ileon e inmediatamente se fosforila, y el exceso ingerido se elimina en la orina.²⁴

En muchos alimentos se encuentra naturalmente en forma libre, o bien como el derivado pirofosfato en las levaduras, la carne de cerdo, el pericarpio y el germen de los cereales, las nueces, el huevo, la leche, y el corazón, hígado y riñón de los animales. La oxitiamina y la piritiamina son antagonistas, y su presencia en los alimentos implica requerimientos mayores de tiamina; los ácidos cafeico y tánico, y en general los taninos, inactivan su función biológica.

En forma comercial se encuentra como clorhidrato o como mononitrato, ambos solubles en agua que se usan para enriquecer algunos alimentos. Las recomendaciones de consumo se muestran en el cuadro 6.1.

Debido a su estructura química, la tiamina es, junto con el ácido ascórbico, una de las vitaminas más inestables, sobre todo afectada por el pH; incluso se sugirió como índice de retención de nutrimentos, considerando que si soportara un determinado proceso, las otras vitaminas también se conservarían. Es hidrosoluble y, por lo tanto, se pierde por lixiviación en el agua de lavado, enjuague, etcétera, que está en contacto con los alimentos, o bien, en el agua de descongelamiento de productos cárnicos.

En general, como pirofosfato es más inestable a las altas temperaturas y a los agentes químicos que en estado libre, pero esto depende de la presencia de polímeros (p. ej., almidón o caseínas) que ejercen un efecto protector. Soporta la esterilización comercial a pH < 3.5, pero se vuelve muy inestable a pH mayores, sobre todo en la neutralidad o alcalinidad, que propician la ruptura de la unión del carbono metilénico con el nitrógeno cuaternario del imidazol, produciendo los dos anillos constituyentes (figura 6.3); el derivado pirimidínico es estable y no sufre reacciones secundarias, pero no sucede lo mismo con el grupo metil-tiazólico que se descompone y produce compuestos furánicos, tiopenos y anhídrido sulfuroso que imparten olores muy peculiares a los alimentos cocidos y que recuerdan los de los derivados cárnicos. De hecho, esta transformación se ha aprovechado para desa-

rollar algunos sabores a reacción, a base de la degradación controlada de la tiamina. El efecto del pH sobre su estabilidad se observa en las curvas que aparecen en la figura 6.4: la destrucción se acelera considerablemente en un $\text{pH} > 5.0$.⁹

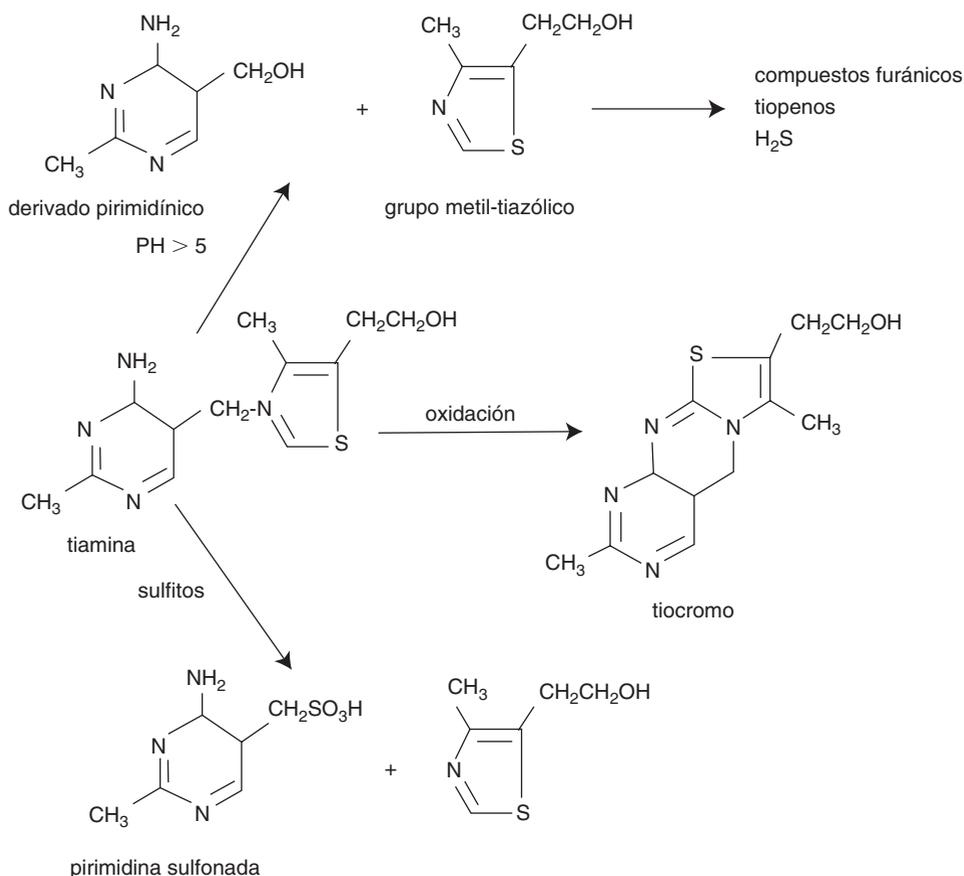


Figura 6.3 Mecanismos de destrucción de la tiamina.

Además, el puente metilénico es sensible a los ataques nucleófilos de los sulfitos y bisulfitos (figura 6.3) empleados en la conservación y prevención del oscurecimiento de diversos productos deshidratados.³⁴ La figura 6.5 muestra la baja retención de tiamina en garbanzos enlatados después de un tratamiento de remojo con bisulfito de sodio. También, la tiamina se ve afectada por los nitritos que se usan en la elaboración de productos cárnicos, por los compuestos derivados de las reacciones de oscurecimiento no enzimático y por los peróxidos provenientes de la autoxidación de las grasas; estos últimos, por ser agentes fuertemente oxidantes, convierten la tiamina en tiocromo cuyas propiedades fluorescentes son aprovechadas para su cuantificación. La cromatografía líquida de alta presión se utiliza igualmente para su análisis.²³

Algunos pescados crudos y ciertas plantas contienen tiaminasas que hidrolizan la vitamina, aunque son termolábiles y su actividad se pierde con el calor. El hierro de la mioglobina y de la hemoglobina cataliza su destrucción en los tejidos animales. Por otra parte, se ha visto que los flavonoides quercetina y dihidroquercetina, además de tener actividad antioxidante, también ejercen una acción antitiamínica; la oxidación de estos compuestos polifenólicos lleva consigo la producción del disulfuro de tiamina.⁶⁵

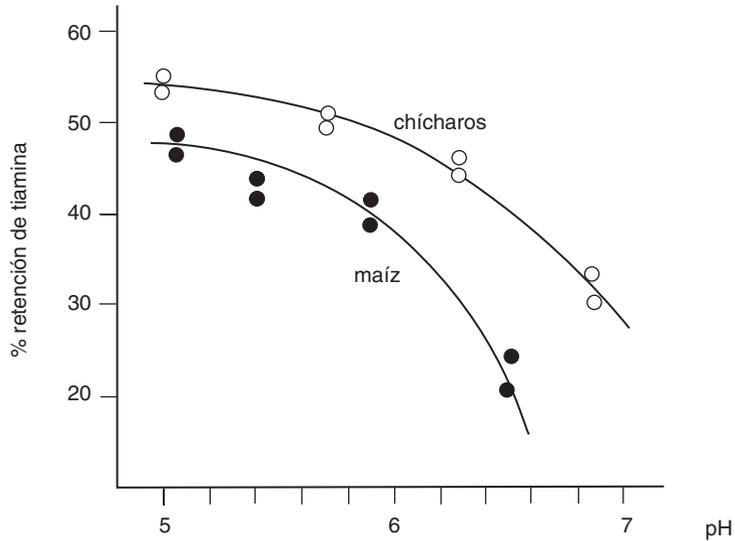


Figura 6.4 Efecto del pH en la retención de la tiamina en purés de chícharos y de maíz tratados térmicamente.⁹

6.4.2 Riboflavina (B₂)

La riboflavina está formada por un anillo heterocíclico de isoaloxacina combinado con una molécula del azúcar-alcohol ribitol, derivado de la ribosa; dentro de esta designación se incluyen varios compuestos. En general, la riboflavina se encuentra fosforilada e integra el dinucleótido de flavina y adenina (FAD) y el mononucleótido de flavina (FMN) que se sintetizan y almacenan en el hígado; ambos funcionan como coenzimas del grupo de las flavoproteínas que regulan los procesos de transferencia de hidrógenos en reacciones de oxidación-reducción de aminoácidos y de otros compuestos. Su deficiencia produce dermatitis seborreica, vascularización corneal, coloración anormal de la lengua, etcétera. La ingesta diaria recomendada se muestra en el cuadro 6.1.

La flora microbiana del intestino grueso del hombre la sintetiza y un cierto porcentaje es absorbido y aprovechado; el hígado humano tiene la capacidad de almacenar una pequeña fracción, pero es insuficiente para satisfacer las necesidades diarias por periodos largos. En el cuadro 6.5, que muestra el contenido de vitaminas de diversos alimentos, se observa que los hígados vacuno y porcino son los más ricos en riboflavina; también la leche (0.16 mg/100 g), el queso (0.45 mg/100 g), la levadura de cerveza y los vegetales de hoja verde son una fuente importante, al igual que el corazón y el riñón de los animales, mientras que las frutas no lo son.

Debido a la solubilidad de la riboflavina, se puede perder en el agua de remojo o en la del lavado de las frutas y hortalizas, así como durante su cocción.^{1, 16, 58} Su estabilidad a altas temperaturas es buena (mejor que la tiamina) en la mayoría de los alimentos, ya que resiste la esterilización a pH ligeramente ácidos, pero a medida que se acerca a la neutralidad, se vuelve sensible, y en condiciones alcalinas es definitivamente muy termolábil. Los sulfitos la afectan poco (figura 6.5).

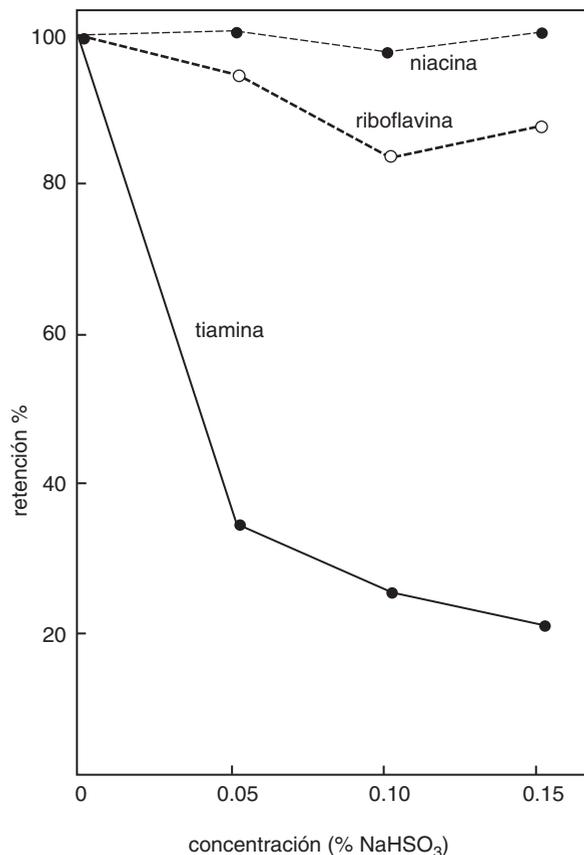


Figura 6.5 Efecto del remojo de garbanzos enlatados con una solución de NaHSO₃ sobre la retención de algunas vitaminas del complejo B.

Su principal característica es su fotosensibilidad. En soluciones ácidas o neutras, pierde su cadena de ribitol y se transforma en lumicromo, sustancia que tiene fluorescencia azul, mientras que a pH alcalino se fotooxida a lumiflavina, ambas sin actividad biológica (figura 6.6).⁵³

Las longitudes de onda de 420 a 560 nm catalizan su destrucción fotoquímica, por lo que la luz fluorescente es menos dañina que la solar. En la leche, con un pH casi neutro de 6.7, se presentan las dos reacciones al exponerla al sol, ya que en dos horas se pierde hasta el 80% al convertirse en lumicromo y lumiflavina; por esta razón, el tipo de envase es muy importante para conservarla, lo cual se refleja en las energías de activación para su destrucción de 8.0 y 41.2 kcal/mol para el vidrio transparente y el cartón, respectivamente.⁵⁵ La velocidad de formación de la lumiflavina aumenta a medida

que se incrementa la temperatura y el pH, pero además depende de la intensidad y la longitud de onda de la luz así como del tiempo y de la superficie expuesta a la irradiación. Debido a que es un agente muy oxidante, la lumiflavina destruye las vitaminas A y C, y al actuar sobre la metionina, produce metional ($\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHO}$) y otras sustancias de bajo peso molecular responsables del sabor a “soleado” de la leche distribuida en botella de vidrio, expuesta a los rayos solares. La cinética de esta fotodegradación depende fundamentalmente del tipo de alimento de que se trate; la leche sigue una reacción de primer orden en una sola etapa,^{2, 55} mientras que las pastas, aunque de primer orden, se efectúa en dos etapas.²⁵ Esta reacción, al menos en la leche, se ha eliminado con el uso de envases laminados opacos de plástico-aluminio-cartón.

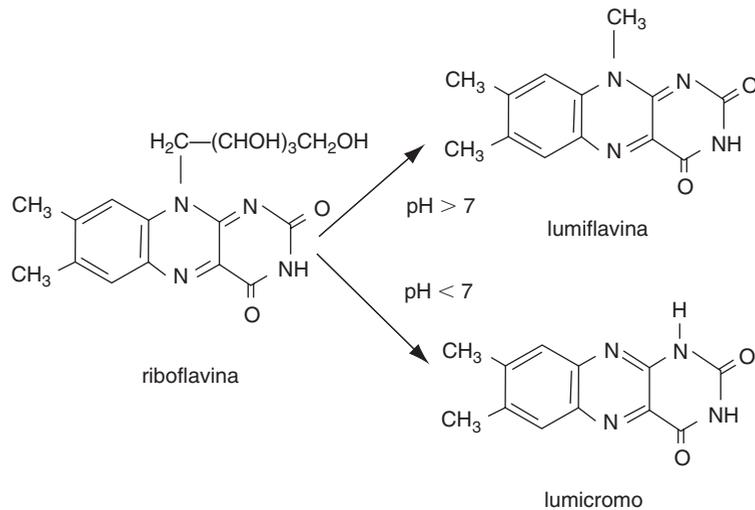
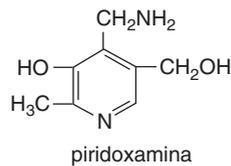
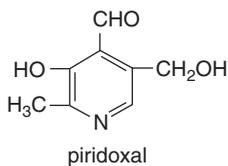
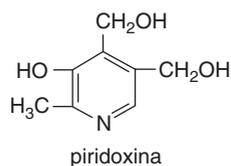


Figura 6.6 Degradación de la riboflavina.

Comercialmente se puede encontrar en forma cristalina, soluble en agua, que se añade para fortificar algunos alimentos. Su cuantificación se realiza a través de los métodos tradicionales microbiológicos (*Lactobacillus casei*) y fluorométricos, o bien por cromatografía líquida de alta presión.^{23, 64}

6.4.3 Vitamina B₆

Con este nombre se conocen tres vitámeros biológicamente activos con una estructura química semejante: piridoxina o piridoxol (alcohol), piridoxal (aldehído) y piridoxamina (derivado amina). Estos compuestos se encuentran en la sangre del hombre, la cual los distribuye por todo el cuerpo. En forma de fosfato, el piridoxal es la coenzima de un gran número de reacciones metabólicas que incluye la utilización y la síntesis de aminoácidos por medio de mecanismos de transaminación, descarboxilación y desulfhidración; también interviene en el metabolismo de lípidos y en la producción de aminas indispensables como serotonina, norepinefrina, adrenalina, dopamina, etcétera, algunas de las cuales son neurotransmisores.⁶ Su deficiencia puede causar desórdenes nerviosos, provocar convulsiones y neuropatías. Las recomendaciones de su consumo diario se muestran en el cuadro 6.1.



En los vegetales se encuentra como piridoxol y en los alimentos de origen animal, como piridoxal y piridoxamina (cuadro 6.4); la microflora intestinal del hombre la sintetiza, aprovechándose una porción que se absorbe; el tejido muscular tiene una cierta capacidad de almacenarla en forma fosforilada unida a la proteína y con una dieta adecuada y variada no suelen presentarse deficiencias. Esta vitamina se asocia mucho con las proteínas de los alimentos.

En general, los tres vitámeros resisten la mayoría de los tratamientos térmicos, pero la piridoxina es el más estable de ellos, por lo que es la forma que se usa para la fortificación. Al igual que la riboflavina y la vitamina C, la B₆ es fotosensible, aunque en menor grado.

Las altas temperaturas no les afectan cuando el pH es ácido, pero su sensibilidad se incrementa a medida que se aproxima a la neutralidad y más aún en la alcalinidad. Cuando se calienta en presencia de aminoácidos (ácidos aspártico y glutámico y los azufrados) o de algunos péptidos, se inducen reacciones que destruyen su actividad biológica.

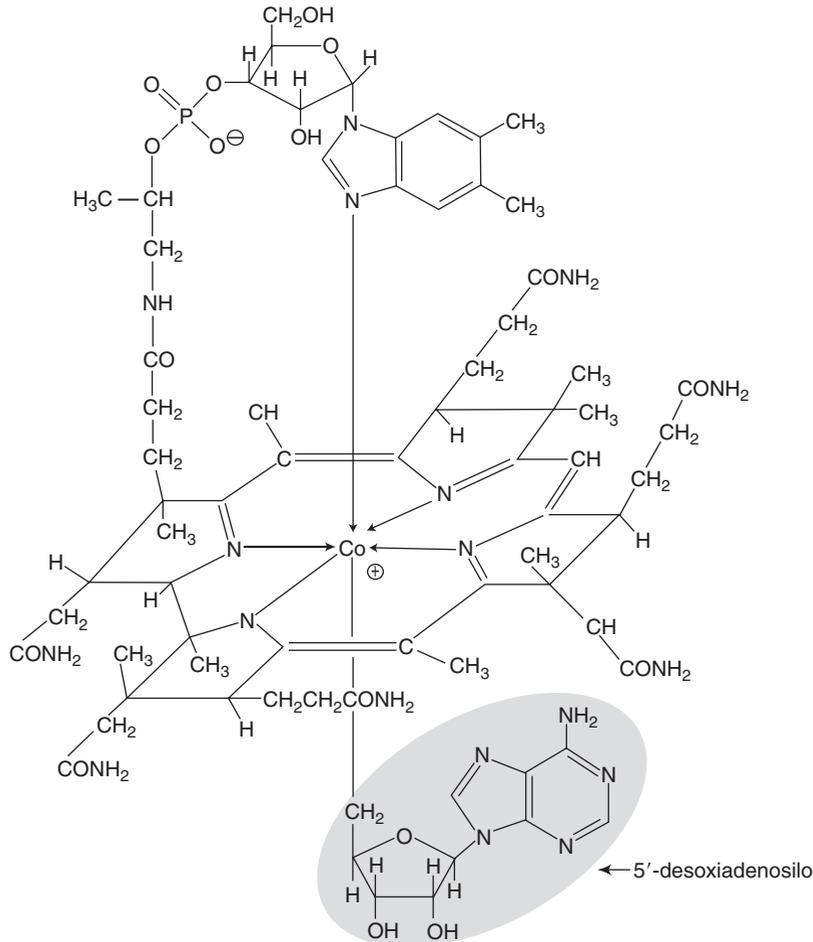
Su degradación térmica se ha evaluado principalmente en sistemas modelo, tanto líquidos, como deshidratados.^{43, 20} Sin embargo, los datos provenientes de estos modelos no necesariamente pueden extrapolarse y aplicarse a un alimento cuya composición química sea más compleja y en el que intervenga un gran número de otras variables; por ejemplo, con la caseína se observó que sucede una rápida interconversión de piridoxal y de piridoxamina, y que la estabilidad de la piridoxina es de 2 a 3 veces mayor que la de las otras dos. Las energías de activación para llevar a cabo su destrucción son de 27.3, 23.7 y 20.8 kcal/mol para la piridoxina, la piridoxamina y el piridoxal, respectivamente.²⁸

Por otra parte, se han realizado diversos estudios para determinar sus mermas en los alimentos comercialmente procesados, pero no hay uniformidad en los datos con que se cuenta; sólo como referencia, las pérdidas en los enlatados van de un 57 hasta un 78% en vegetales, y de un 42 a un 49% en carnes y pescados.⁵²

La forma comercial más empleada en la industria de los alimentos es la de clorhidrato de piridoxina, que son cristales incoloros sensibles a la humedad y a la luz.

6.4.4 Vitamina B₁₂

Esta vitamina tiene la estructura química más compleja, está constituida por cuatro anillos pirrólicos integrando un núcleo de corrina con un átomo de cobalto quelado y al cual se le une, por un lado, el 5,6-dimetilbencimidazol y por el otro, distintos grupos como el 5'-desoxiadenosilo (ver fórmula anexa), el cianuro, el nitrito, el metilo, el sulfito, el agua, etcétera; se presenta un intercambio entre los grupos anteriores para producir las diversas formas químicas de esta vitamina, algunas de las cuales tienen una actividad biológica. La más conocida es la cianocobalamina, que es la que normalmente se adiciona a los alimentos.



Vitamina B₁₂. Cuando el grupo 5'-desoxiadenosilo se sustituye con el CN⁻ se forma la cianocobalamina; con el CH₃⁻, la metilcobalamina; etcétera.

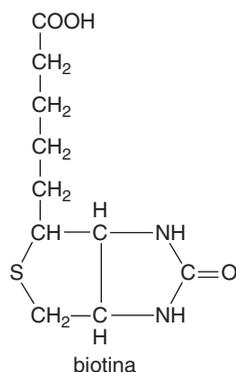
Actúa como coenzima en forma de metilcobalamina y como 5'-adenosilcobalamina en diversas reacciones de isomerización, deshidrogenación y metilación, y en la activación del ácido fólico; interviene en la utilización de ácidos grasos, en la formación de eritrocitos y, junto con los folatos, en la síntesis de metionina a partir de homocisteína; su deficiencia en la dieta o la imposibilidad de absorberla, ocasiona en el hombre estados de anemia perniciosa que implican diversos problemas metabólicos.⁶² Aunque la microflora intestinal la produce y una cantidad se absorbe, se recomienda para el hombre adulto un consumo de 2 μg diarios (cuadro 6.1). Los excesos provenientes de preparaciones farmacéuticas se eliminan en la orina y en la heces.

Esta vitamina no existe en alimentos vegetales y sólo se encuentra en la leche, la carne, el huevo (cuadro 6.4) y en otros productos de origen animal, como el hígado, corazón y riñones. Por esta razón, los vegetarianos estrictos, y también los niños amamantados por madres vegetarianas, pueden presentar problemas de anemia perniciosa.³ Debido a que los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) la sintetizan, los alimentos fermentados la contienen y, de hecho, muchas de sus preparaciones comerciales provienen de fermentaciones. Su determinación cuantitativa se lleva a cabo por métodos microbiológicos, usando el *Lactobacillus leichmannii*.

Es estable a las temperaturas de esterilización en un intervalo de pH de 4 a 6, aun cuando los tratamientos térmicos muy intensos, como la evaporación de la leche, provocan fuertes pérdidas. En condiciones alcalinas se vuelve muy inestable a las radiaciones electromagnéticas del UV y al calor, y la presencia del ácido ascórbico, de tiamina y de niacina conjuntamente, puede causar su destrucción. Las sales férricas la estabilizan y las ferrosas la destruyen. En general, la mayoría de los procesos industriales y caseros de preparación de los alimentos causan pocas mermas.

6.4.5 Biotina

Es una vitamina que corresponde al ácido carboxílico del heterociclo de la condensación de los anillos de imidazol y de tiofeno hidrogenados, que puede existir en ocho isómeros diferentes, pero sólo el *d*, que se encuentra en la naturaleza, tiene actividad biológica. Funciona como coenzima en la hidrólisis y la síntesis de ácidos grasos y de aminoácidos a través de reacciones de carboxilación y de transcarboxilación. Está presente en la levadura de cerveza deshidratada y en diversos alimentos (cuadro 6.4), sobre todo en los de origen animal, como hígado, riñón y músculo, y en los cereales; además, la microflora intestinal la sintetiza, por lo que el hombre generalmente no padece problemas por su deficiencia; sin embargo, cuando ocurre, su carencia provoca fatiga, depresión, náuseas, dermatitis y dolores musculares. No existe una recomendación para su consumo diario (no se incluye en el cuadro 6.1), pero se considera que una ingesta de 100 a 200 μg por día, o bien, 50 μg por cada 4,250 kJ (1,000 calorías) es adecuado.



Es una vitamina muy estable frente a los ácidos, los álcalis, al calor, al oxígeno y a la luz, y prácticamente no existen pérdidas en los alimentos procesados, excepto las que se ocasionan por lixiviación. Su determinación generalmente se lleva a cabo por métodos microbiológicos.

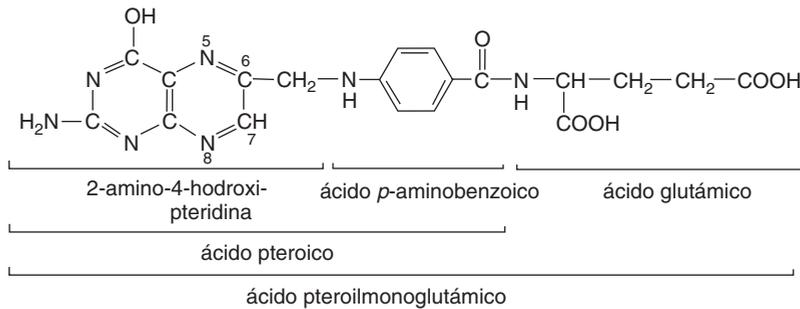
Una característica de la biotina del huevo es que reacciona con la glucoproteína avidina, formando un complejo insoluble que evita el aprovechamiento y la absorción de la vitamina cuando se consu-

me huevo crudo; el calentamiento del huevo causa la desnaturalización de la proteína y rompe dicha interacción, con lo que la biotina se vuelve biológicamente disponible.

6.4.6 Folatos

Los folatos, también llamados folacina (del latín, *folium*, hoja), son un grupo de compuestos que se diferencian por el número de residuos de ácido glutámico que contienen; el ácido fólico (ácido pteroilglutámico o ácido pteroilmonoglutámico) es el más representativo e importante y está formado por una molécula de ácido pterico al que se le une un ácido glutámico. A su vez, el ácido pterico está compuesto por el grupo 2-amino-4-hidroxi-pteridina enlazado a un ácido *p*-aminobenzoico. Los distintos folatos pueden contener hasta nueve residuos de ácido glutámico y por eso se presentan varios análogos.

Fisiológicamente esta vitamina actúa como ácido dihidrofólico, pero principalmente como ácido tetrahidrofólico, el cual se produce cuando las dobles ligaduras de los átomos 5-6 y 7-8 del ácido fólico desaparecen y se saturan con hidrógenos; en esta forma interviene en reacciones de transferencia de grupos de un solo átomo de carbono, como los metilos y los formilos, al igual que en el metabolismo de purinas, pirimidinas y de aminoácidos como metionina, histidina, glicina, valina y serina.



La recomendación de ingesta diaria de folacina para los adultos es de 200 μg (cuadro 6.1), pero aumenta hasta en 50% cuando se trata de mujeres lactantes o embarazadas; su deficiencia puede causar defectos en los recién nacidos, como la espina bífida. Los excesos se eliminan en la orina. Los folatos contribuyen, junto con las vitaminas B₆ y B₁₂, a metabolizar y a eliminar la homocisteína, un aminoácido natural del organismo humano, que en niveles altos propicia enfermedades cardiovasculares, ya que modifica la fluidez de la sangre.

La folacina se encuentra en los vegetales de hojas verdes, en el hígado (150 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), en la carne (5 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), en el riñón (30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) y en menor cantidad en las frutas. El hígado de pollo es particularmente importante y una ración de 20-25 g es suficiente para llenar los requerimientos de folatos y de vitamina A, conjuntamente. Es indispensable para el crecimiento del *Lactobacillus casei*, que es la base de su análisis cuantitativo, aun cuando hay métodos de cromatografía líquida de alta presión.

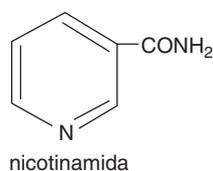
En relación con su estabilidad, en la literatura se encuentran cifras algo disímboles, ya que cada folato tiene una cinética de destrucción diferente, aun cuando todos se pierden por lixiviación.¹⁵ La forma de ácido fólico es la más estable de todas y por eso se utiliza en la fortificación de alimentos. Se destruye por oxidación, la cual se acelera con las temperaturas altas, como ocurre durante el co-

cimiento de los alimentos, tanto en el hogar como en la industria.⁴⁷ En ausencia de oxígeno resiste la esterilización. En los vegetales verdes, su degradación sigue una cinética de primer orden que depende de la temperatura, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius.²⁶ En este sentido, el pH también influye, ya que a valores de 3, 4, 5 y 6, las energías de activación son de 22.6, 19.5, 17.8 y 16.8 kcal/mol, respectivamente, lo que indica que es más estable a pH ácidos.⁴⁰

La presencia de nitritos y de sulfitos, y probablemente de fosfatos, acelera su destrucción. En los productos deshidratados, la actividad del agua y el contenido de agua residual influyen igualmente en la estabilidad.

6.4.7 Niacina

Con este nombre se designa a dos vitámeros con estructura semejante a la pirimidina: el ácido nicotínico (ácido piridín-3-carboxílico), que se encuentra en las plantas y se sintetiza vía el quinolinato, y a su correspondiente amida, la nicotinamida (piridín-3-carboxiamida) del reino animal, producida a partir del triptofano. La nicotinamida es indispensable para dos coenzimas muy importantes, el dinucleótido de adenina y nicotinamida (NAD) y su derivado fosfatado (NADP), son los encargados de la transferencia de hidrógenos en muchas reacciones metabólicas de las deshidrogenasas que actúan en proteínas, hidratos de carbono y lípidos. La importancia del NAD y del NADP radica en la facilidad con la que se reducen a NADH y NADPH, y en la facilidad con la que se oxidan. Su deficiente consumo da origen a la enfermedad llamada pelagra (del italiano “piel quebrada”), que ocasiona problemas de diarrea, dermatitis y demencia, por lo que también se le ha llamado la enfermedad de las “3D”. Los requerimientos diarios para el hombre se expresan como equivalentes de niacina y se indican en el cuadro 6.1 (un equivalente de niacina es igual a 1 mg de niacina o 60 mg de triptofano). Los excesos consumidos se eliminan en la orina.



A pesar de encontrarse ampliamente distribuida en la naturaleza, mucha de la niacina no está disponible, ya que forma complejos no asimilables con diversos constituyentes de los alimentos; el resultado de su análisis químico cuantitativo no refleja la cantidad que verdaderamente se puede aprovechar biológicamente, como es el caso de los cereales que la contienen unida a una proteína, y que forma un complejo difícil de romper en el tracto gastrointestinal. Esto es más notorio con el maíz, quien presenta grandes variaciones de biodisponibilidad de la vitamina entre los granos crudo, hervido y nixtamalizado (hervido con 1-3% de cal/20-40 min y reposo de 8-10 horas). Actualmente existen muchas poblaciones de Asia y de África que sufren de pelagra por tener un régimen alimentario muy pobre a base de maíz hervido. Cuando el grano se consume nixtamalizado, como en todo México, no sucede lo mismo pues dicho complejo se disocia y se libera la niacina; sin embargo, hay zonas en el sureste de la República que, para obtener una masa más blanca, lavan intensamente el maíz nixtamalizado, provocando la pérdida por lixiviación de la vitamina liberada. El tratamiento térmico-alcalino, además de hacer que la niacina esté disponible, también facilita el aprovechamiento del triptofano,

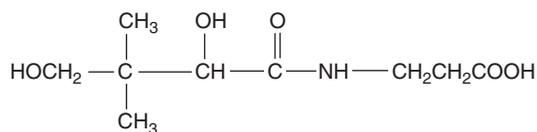
precursor de esta vitamina en el organismo humano; se considera que 60 mg del aminoácido sólo produce 1 mg de niacina.¹²

La leche, los huevos y otros productos de origen animal no son importantes proveedores de niacina, pero sí de triptofano; el hígado es una excelente fuente, al igual que otros tejidos animales (cuadro 6.5). La niacina es tal vez la más estable de las vitaminas, ya que no está sujeta a reacciones de oxidación, de reducción, de ataques nucleófilos y no es alterada por ácidos, álcalis o radiaciones electromagnéticas.

Comercialmente existen sus dos vitámeros sintéticos, que se añaden para fortificar algunos alimentos. Su determinación puede efectuarse usando el *Lactobacillus arabinosis*, o con diversos métodos espectrofotométricos y cromatográficos.

6.4.8 Ácido pantoténico

Su nombre indica su amplia distribución en la naturaleza (del griego, *pantós* que significa en todas partes). Esta vitamina es ópticamente activa, aunque sólo la forma dextrorrotatoria presenta propiedades biológicas; su importancia radica en que es parte de la coenzima A, además de que participa en la transferencia de grupos acetilo, como donador y receptor de H⁺, y en el metabolismo de moléculas con dos átomos de carbono, como en la utilización de hidratos de carbono y en la hidrólisis y síntesis de lípidos (ácidos grasos, colesterol y otros esteroides).⁶⁰ Se encuentra en muchos alimentos, tanto en forma libre como ligada, en cereales, levaduras, hígado, huevo, leche, etcétera, y por tanto es difícil observar casos de deficiencia en el hombre; sin embargo, cuando se presenta, el cuadro clínico incluye fatiga, náusea, problemas de sueño y ardor en los pies y las piernas. No hay recomendaciones de consumo diario (no se incluye en el cuadro 6.1), pero se considera que para un adulto, 10 mg diarios cubren todas las necesidades.

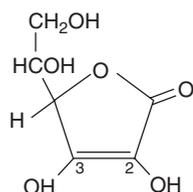


ácido pantoténico

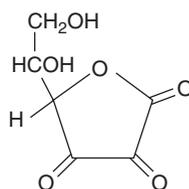
Se pierde por lixiviación, y aun cuando es estable a un pH 4-7, puede degradarse por efecto de las altas temperaturas, por lo que los productos esterilizados o deshidratados muestran pérdidas considerables; en pH muy ácidos o alcalinos se provoca su hidrólisis. Su determinación se efectúa microbiológicamente por medio del crecimiento del *Lactobacillus plantarum* o del *Saccharomyces cerevisiae* y por métodos químicos. Comercialmente existe como pantotenato de calcio, y se usa en la fortificación de los alimentos, ya que es más estable que la forma de ácido libre.

6.4.9 Vitamina C

Existen varias sustancias que presentan una actividad biológica de vitamina C, pero con excepción del ácido L-ascórbico y el ácido L-deshidroascórbico (producto de la oxidación del anterior), las demás tienen una importancia nutricional insignificante; sólo los isómeros L de estos dos vitámeros actúan como tal, ya que, por ejemplo, el ácido D-ascórbico no es activo. El ácido L-deshidroascórbico representa aproximadamente un 80% de la potencia vitamínica del ácido L-ascórbico.



ácido L-ascórbico



ácido L-deshidroascórbico

CUADRO 6.9 Contenido de vitamina C de diversas frutas y verduras frescas⁶¹

Frutas y verduras	mg/100 g
Durazno	4
Manzana	10
Plátano	10
Mandarina	25
Piña	25
Jitomate	25
Papa	30
Toronja	40
Naranja	50
Limón	50
Col	60
Chiles	120
Guayaba	300
Brócoli	300

La vitamina C es un derivado de los hidratos de carbono (su síntesis química parte de la D-glucosa), tiene una estructura de cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-1-gulofuranolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y altamente reductor, por lo que se oxida muy fácilmente.³⁷ Se encuentra principalmente en vegetales frescos (cuadro 6.9), y los cereales, al igual que la leche, las carnes y los pescados y sus derivados, no la contienen; por esta razón, el consumo rutinario de frutas y verduras aporta la vitamina C requerida diariamente, ya que, al ser hidrosoluble, el hombre no la almacena. A diferencia de otras vitaminas, el humano no la sintetiza, mientras que algunos animales sí la producen, por lo que para ellos no es indispensable. El jugo de 1 o 2 naranjas contiene aproximadamente 80 mg de ácido ascórbico, suficiente para satisfacer las necesidades de 60 mg diarios en los adultos (cuadro 6.1); los fumadores, los alcohólicos, los niños y las mujeres lactantes requieren de un mayor consumo. Su absorción ocurre en el intestino delgado mediante un mecanismo dependiente de Na^+ a una velocidad de 1.2 g/día, por lo que los excesos de las megadosis se eliminan en la orina.

Al igual que con todas las vitaminas, el contenido de ácido ascórbico de los vegetales varía de manera considerable conforme a muchos factores relacionados con las prácticas agrícolas (genética, fertilizantes, insolación, riego, etcétera), con el manejo postcosecha y con la preparación para su consumo. En el caso de las papas, las heridas o cortes que sufren provoca un gran aumento de la actividad

respiratoria y de la división celular, que van acompañadas de un incremento de la vitamina C. El frío inhibe su síntesis, mientras que las temperaturas cálidas y la oscuridad la favorecen.⁴¹

Es necesaria para la síntesis del colágeno, para la formación de los huesos, de la dentina de los dientes, de los cartílagos y de las paredes de los capilares sanguíneos; interviene en reacciones de oxidación-reducción y de hidroxilación de hormonas esteroidales y de aminoácidos aromáticos.¹⁸ La síntesis de norepinefrina a partir de dopamina requiere de esta vitamina y se considera que la regeneración de la vitamina E, después de actuar como antioxidante celular, se favorece por el ácido ascórbico. De igual manera ayuda en la absorción intestinal del hierro, por lo que es fundamental en la dieta de los pueblos que basan su alimentación en granos y semillas.¹⁰ Debido a esto, comercialmente existen complejos de hierro-ácido ascórbico estables a pH ácidos, que se adicionan a las harinas de trigo.¹¹

Su deficiencia en la dieta provoca el escorbuto, conocido desde las antiguas civilizaciones egipcia, griega y romana, que posteriormente se hizo muy notorio en los viajes largos por mar en donde la alimentación de los marineros no contemplaba frutas frescas; esta enfermedad vuelve al individuo muy susceptible a contraer diversas infecciones, algunas de las cuales son graves; también provoca inflamación articular, hemorragias subcutáneas, incapacidad de los osteoblastos (células productoras de las sustancias intercelulares óseas) para funcionar. Debido a su estructura química, de todas las vitaminas, la C es la más inestable y la más reactiva, por lo que algunos investigadores han propuesto usar su contenido residual en los alimentos como un índice de retención de nutrimentos: se considera que si resiste el procesamiento, el almacenamiento, etcétera, querrá decir que todos los demás nutrimentos se verán poco afectados.

Se oxida fácilmente, mediante una reacción reversible, a ácido deshidroascórbico, estableciendo un sistema de oxidación-reducción; a su vez, este ácido se sigue oxidando y se transforma en ácido 2,3-dicetogulónico que no tiene actividad biológica (figura 6.7). Por medio de la degradación de Strecker (capítulo 2), el ácido 2,3-dicetogulónico se cicla y produce anhídrido carbónico y furfural que se polimeriza y forma melanoïdinas de manera semejante a las del oscurecimiento no enzimático.⁴⁸ En su destrucción, el ácido ascórbico provee grupos carbonilos para que continúe la reacción, además de que se generan diversos compuestos, algunos de bajo peso molecular de olores indeseables.⁵⁹ Este mecanismo se complica considerablemente en presencia de azúcares reductores y aminoácidos que favorecen otras rutas de degradación, semejantes a las que se describieron en el capítulo 2.

La influencia del oxígeno en la cinética de la destrucción de esta vitamina se ha estudiado, y se recomienda, cuando el costo lo permita, que la concentración de los jugos de cítricos se haga a baja temperatura y al vacío y no en recipientes abiertos expuestos al aire.¹⁷ Sin embargo, y a pesar de eliminar este gas, la vitamina C se destruye térmicamente por vía anaeróbica no oxidativa, de menor importancia, que alcanza su máximo a pH 4 y que se ha observado en jugos de limón y concentrados de naranja en los que el oscurecimiento va acompañado de la formación de furfural, y cuya cuantificación refleja el daño térmico.⁴⁹

Su oxidación está en función de muchas variables, principalmente disponibilidad del oxígeno, temperatura, pH (más estable a pH ácidos), metales de transición (hierro y cobre) y luz; además, también influyen algunas sales, la actividad del agua, los peróxidos, ciertas enzimas (la ácido ascórbico oxidasa que contiene cobre) y la presencia de otras vitaminas, sobre todo de la riboflavina por ser fotosensible. Al procesar un alimento se presentan condiciones en las que actúan muchas de estas variables conjuntamente de manera sinérgica, y sólo en sistemas modelo se estudia individualmente cada una de ellas.

A medida que aumenta la actividad del agua se favorece su destrucción, ya que el Cu y el Fe actúan como catalizadores al solubilizarse, según se indicó en el capítulo 1; esto se ha visto en productos deshidratados, como los jitomates, cuya concentración vitamínica se reduce independientemente

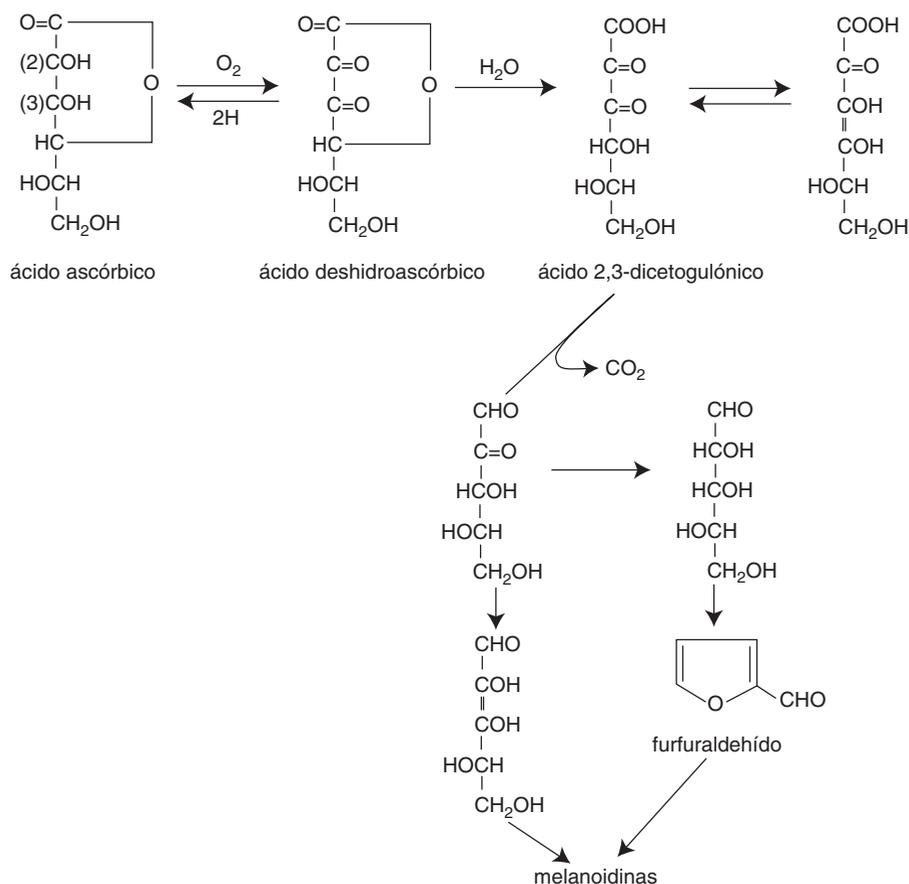


Figura 6.7 Degradación del ácido ascórbico.

te del oxígeno existente, pero de una manera proporcional a la actividad del agua: a valores menores de 0.4 no hay alteraciones, posiblemente porque no existe movilidad de los metales que les permita contacto con la vitamina, pero a más de 0.65, la velocidad del deterioro se incrementa de dos a cuatro veces, puesto que el agua facilita el acarreo del metal y favorece su acción.^{14, 31, 33}

A pesar de que el escaldado provoca pérdidas de las vitaminas hidrosolubles por la lixiviación y el calor, algunos autores indican que ayuda al mismo tiempo a conservar el ácido ascórbico en los productos deshidratados por la inactivación de la ácido ascórbico oxidasa; esta enzima actúa en productos frescos que no han sido sujetos a tratamientos térmicos que la desnaturalicen, y su acción provoca la transformación de la vitamina C en ácido deshidroascórbico mediante el consumo de $1/2 \text{O}_2$.

Lograr la retención del ácido ascórbico en los alimentos deshidratados y enlatados ha sido motivo de muchas investigaciones, ya que, dada su alta termosensibilidad, se destruye en las diversas etapas de la industrialización; los pretratamientos que reciben los vegetales (lavado, pelado, escaldado, sulfitación, etcétera) y las condiciones térmicas del secado y enlatado pueden variar considerablemente según el producto comercial de que se trate, por lo que los datos de la literatura varían mucho.

Conociendo los factores que influyen en su estabilidad y en la cinética de su destrucción, es posible optimizar las condiciones de procesamiento para conservar la mayor cantidad de vitamina; esto se ha hecho en nivel experimental con productos como las papas.³⁹

Comercialmente, además del ácido ascórbico, existen los L-ascorbatos de sodio, potasio y calcio, así como el palmitato de L-ascorbilo que se añaden a los alimentos por su función como nutriente, antioxidante (secuestrante) y conservador. Cuantitativamente se determina con métodos tradicionales, como el de la reducción del indicador 2,6-diclorofenol-indofenol (no considera el ácido deshidroascórbico), aun cuando hay interferencia de otros reductores; también se pueden utilizar diversas técnicas espectrofotométricas y cromatográficas, como la de gases y la líquida de alta presión.⁵¹

6.5 RESUMEN DE LA ESTABILIDAD DE LAS VITAMINAS

Los alimentos se deterioran principalmente por contaminaciones microbianas, y también por actividad enzimática y reacciones químicas; para evitar estos cambios y conservarlos por largo tiempo, se someten a uno de los procesos, o a una combinación de ellos, basados en altas temperaturas (escaldado, pasteurización, esterilización), en bajas temperaturas (refrigeración, congelación), en la eliminación del agua (deshidratación), en el control de la actividad del agua (concentración, alimentos de humedad intermedia), en el empleo de aditivos (benzoatos, sorbatos), en el control de pH (acidificación, fermentación), en el uso de radiaciones, etcétera.

Por su gran importancia, en esta sección se revisará básicamente la influencia de los tratamientos térmicos en la estabilidad de estos micronutrientes.

El calentamiento representa la forma más común y segura para eliminar microorganismos, pero su abuso afecta igualmente a las vitaminas. Como un primer paso en la industrialización de los vegetales enlatados está el escaldado (75-90°C/4-6 min), que sirve para inactivar enzimas y eliminar el oxígeno retenido en los tejidos; en el caso de la vitamina C, esta práctica se refleja en una mayor retención en el producto final al destruirse la ácido ascórbico oxidasa, pero no es una situación generalizada con el resto de las vitaminas; paralelamente, también ocurre una lixiviación que provoca la extracción y la liberación de las vitaminas hidrosolubles, algunas de las cuales se vuelven más sensibles al calor que en estado natural.³²

En el cuadro 6.10 se presenta una comparación de las resistencias térmicas de las vitaminas, de los compuestos que imparten las características de color, de textura y de sabor, y de los agentes indeseables, como enzimas, células vegetativas y esporas; los datos son muy generales, pero muestran una tendencia que es importante analizar.

CUADRO 6.10 Resistencia térmica de varios constituyentes de los alimentos³⁶

	Z (°C)	Ea (kcal/mol)	D ₁₂₁ (min)
Vitaminas	25-31	20-30	100-1000
Color, textura y sabor	25-45	10-30	5-500
Enzimas	7-56	12-100	1-10
Células vegetativas	5-7	100-120	0.002-0.02
Esporas	7-12	53-83	0.1-5.0

En la figura 6.8a se observa que la destrucción de microorganismos, vitaminas, enzimas, etcétera, sigue una relación logarítmica vs. el tiempo a temperatura constante; es decir, para pasar de una concentración de 100 a 10 o de 10 a 1, se requiere del tiempo D . Por lo tanto, por definición, el valor de D_{121} es el tiempo necesario a 121°C para reducir en 90%, o un ciclo logarítmico, la concentración del microorganismo o del compuesto en cuestión. Esto quiere decir que los valores de D muy grandes indican una alta resistencia térmica.

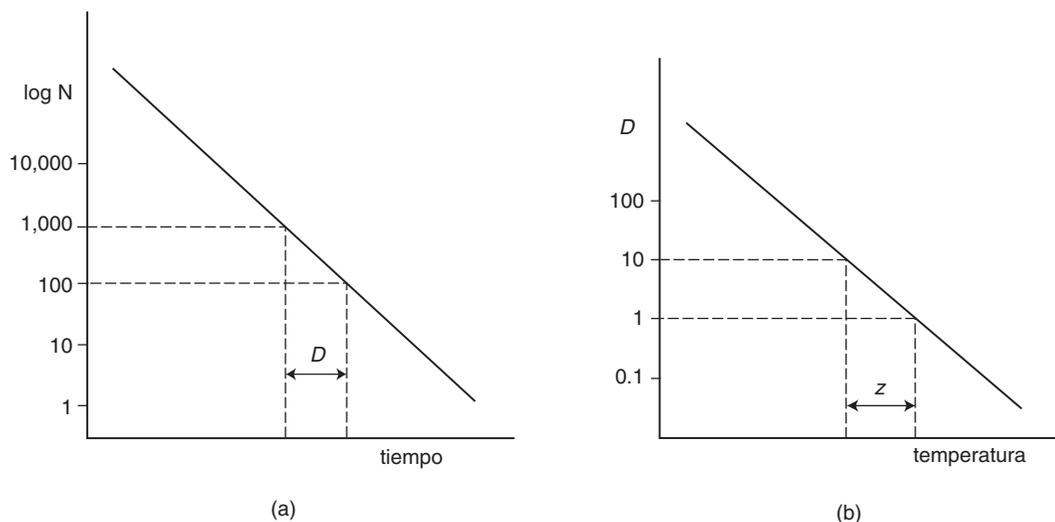


Figura 6.8 a) Curva de tiempo de reducción decimal; N representa la concentración de microorganismos, enzimas, vitaminas, etcétera, b) Curva de tiempo de muerte térmica (TMT).

Por otra parte, en la gráfica de valores de D vs. temperatura (figura 6.8b), Z representa el incremento de temperatura para reducir en un 90%, o un ciclo logarítmico, el tiempo D ; Z mide la dependencia de la reacción en la temperatura, por lo que conforme aumenta, también se incrementa la resistencia térmica.

La influencia de la temperatura T , se relaciona con la energía de activación E_a , mediante la constante de velocidad de reacción k , de acuerdo con la ecuación de Arrhenius (A y R son constantes):

$$k = A e^{-E_a/RT} \text{ o bien, } \ln k = \ln A - E_a/RT$$

Es decir, las reacciones con una energía de activación alta indican que son muy dependientes de la temperatura.

Debido a que la destrucción de microorganismos depende fuertemente de la temperatura (D_{121} y Z bajos y E_a alto), los tratamientos de alta temperatura y corto tiempo (en inglés HTST, *high temperature-short time*), resultan ser más efectivos. El daño térmico es menor en los nutrimentos cuando se emplean temperaturas elevadas por tiempos menores, como es el caso de la pasteurización de la leche que se efectúa actualmente a 71-72°C por 15 seg (en lugar del método antiguo 61.8°C/30 min), o bien la ultrapasteurización a 140-150°C por 1-5 segundos; el mismo principio se aplica en la esterilización comercial de los enlatados y cuya cinética de destrucción de nutrimentos ha sido estudiada.^{5, 42}

La influencia positiva de las altas temperaturas y tiempos cortos en la destrucción de microorganismos y paralelamente en la conservación de nutrimentos, se observa en la figura 6.9; es importante indicar que la pendiente de la curva de destrucción de microorganismos es más pronunciada que la de la tiamina, lo que muestra su mayor sensibilidad a las temperaturas altas.

Con base en esto, se puede concluir que si se diseñan adecuadamente los procesos, y particularmente los tratamientos térmicos, es viable la conservación de nutrimentos y de las propiedades sensoriales de los alimentos, al tiempo que se destruyen las enzimas y los microorganismos dañinos.

Por otra parte, en el cuadro 6.11 se muestran las pérdidas de vitaminas de algunos vegetales enlatados, resaltando las grandes variaciones porcentuales para una misma vitamina entre los diferentes productos, como la B₆ que se destruye en una proporción de 0 y 75% en el maíz y las espinacas, respectivamente; esto indica que su sensibilidad al calor depende de muchos factores, como temperatura/tiempo, pH, potencial de oxidación-reducción, actividad del agua, fuerza iónica, metales presentes y los efectos protectores de polímeros, como proteínas e hidratos de carbono, principalmente.³⁶

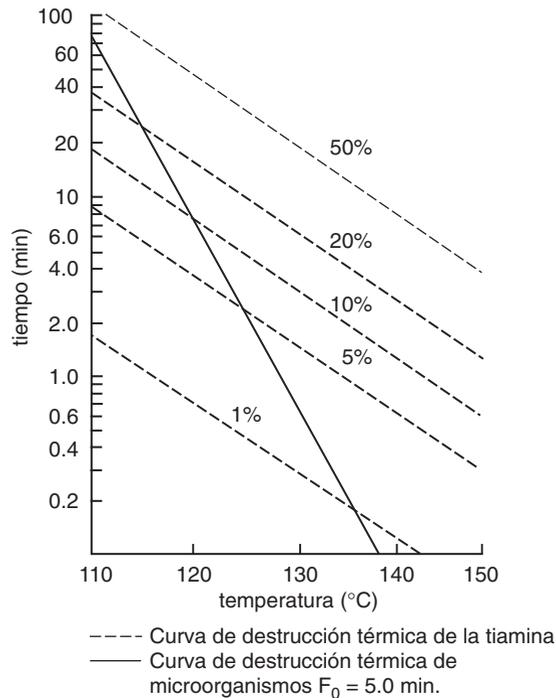


Figura 6.9 Curva de esterilización para la destrucción de esporas, comparada con soluciones de tiamina a diferentes concentraciones.³⁶

Durante los tratamientos térmicos a los que se someten los diversos derivados lácteos se destruyen muchas vitaminas (cuadro 6.12); el oxígeno residual de la leche es un factor muy importante durante su calentamiento, ya que cuando contiene una cantidad elevada del gas, la vitamina C y los folatos se pierden en corto tiempo. Debe notarse que al eliminar el oxígeno se retienen mejor las vitaminas

sensibles, pero al mismo tiempo se acentúa el sabor “cocido” que pudiera generarse por el tratamiento térmico.

CUADRO 6.11 Pérdida de nutrimentos durante el enlatado (%)³⁵

	<i>Biotina</i>	Ácido <i>fólico</i>	<i>Vit. B₆</i>	Ácido <i>pantoténico</i>	<i>Vit. A*</i>	<i>Tiamina</i>	<i>Vit. B₂</i>	<i>Niacina</i>	<i>Vit. C</i>
Espárrago	0.0	75.2	64.0	—	43.3	66.7	55.0	46.6	54.5
Haba	—	61.8	47.1	72.3	55.2	83.3	66.7	64.2	75.9
Ejote	—	57.1	50.0	60.5	51.7	62.5	63.6	40.0	78.9
Remolacha	—	80.0	9.1	33.3	50.0	66.7	60.0	75.0	70.0
Zanahoria	40.0	58.8	80.0	53.6	9.1	66.7	60.0	33.3	75.0
Maíz	63.3	72.5	0.0	59.2	32.5	80.0	58.3	47.1	58.3
Champiñón	54.4	83.8	—	54.5	—	80.0	45.6	52.3	33.3
Chícharo	77.7	58.8	68.8	80.0	29.7	74.2	64.3	69.0	66.7
Espinaca	66.7	34.7	75.0	78.3	32.1	80.0	50.0	50.0	72.5
Tomate	55.0	53.7	—	30.3	0.0	16.7	25.0	0.0	26.1
Promedio	51	61	54	61	39	69	55	46	64

*Como carotenoides.

CUADRO 6.12 Pérdida de vitaminas en derivados lácteos (%)⁵⁰

<i>Tipo de leche</i>	<i>Tiamina</i>	<i>Vit. B₆</i>	<i>Vit. B₁₂</i>	Ácido <i>fólico</i>	<i>Vit. C</i>
Pasteurizada	10	10	10	10	25
Ultrapasteurizada	10	10	10	10	25
Evaporada	20	40	80	25	60
Condensada-azucarada	10	10	30	25	25

A manera de resumen y en forma muy generalizada, en el cuadro 6.13 se muestra la estabilidad de diversos nutrimentos ante algunas condiciones; esta información se debe tomar con muchas reservas ya que, como se ha insistido en repetidas ocasiones, la estabilidad de las vitaminas es un fenómeno multivariable en el que interviene un gran número de factores. La sensibilidad a los tratamientos térmicos de las vitaminas C, D, E, B₁, B₂, B₆, ácido pantoténico y folatos, varía con el pH; el potencial de oxidación-reducción es un factor muy importante con la A y la E, al igual que con la C, la tiamina, la biotina, el ácido pantoténico y los folatos. En la destrucción del tocoferol influye fuertemente la actividad del agua. La tiamina es menos sensible al calor cuando está unida a proteínas que en estado libre, pero con otras vitaminas sucede lo contrario; algunas son más inestables en presencia de otras. El ácido fólico se destruye fácilmente cuando existe también ácido ascórbico; este último estabiliza la vitamina A mientras que afecta a la B₁₂; la riboflavina acelera la transformación de los ácidos fólico y ascórbico, etcétera.³¹

El uso de algunos aditivos influye en la degradación de las vitaminas, ya que los de carácter oxidativo degradan la A, C y E, mientras que los reductores promueven su estabilidad. Los nitritos y los

sulfitos, incluyendo los bisulfitos y metabisulfitos, al tiempo que protegen el ácido ascórbico, destruyen la tiamina y algo de la vitamina B₂.

Por último, en el almacenamiento de los alimentos también ocurren mermas de vitaminas ocasionadas por la exposición al sol y al oxígeno, por la temperatura, el tipo de envase, etcétera.

Los métodos modernos de procesamiento y de manufactura, junto con la práctica de la fortificación, contribuyen a eliminar las deficiencias vitamínicas crónicas en países en desarrollo. Se debe tomar en cuenta que la sobrefortificación, en lugar de traer beneficios, puede causar problemas de toxicidad.

CUADRO 6.13 Estabilidad de algunos nutrientes³⁰

Nutrientes	pH						Pérdidas máximas en el cocimiento (%)
	Neutro pH = 7	Ácido pH < 7	Alcalino pH > 7	Oxígeno o aire	Luz	Calor	
Vitamina A	E	I	E	I	I	I	40
Ác. ascórbico	I	E	I	I	I	I	100
Biotina	E	E	E	E	E	I	60
Caroteno	E	I	E	I	I	I	30
Colina	E	E	E	I	E	E	5
Cobalamina	E	E	E	I	I	E	10
Vitamina D	E	-	I	I	I	I	40
Ácido fólico	I	I	E	I	I	I	100
Inositol	E	E	E	E	E	I	95
Vitamina K	E	I	I	E	I	E	5
Niacina	E	E	E	E	E	E	75
Ác. pantoténico	E	I	I	E	E	I	50
Ác. <i>p</i> -amino benzoico	E	E	E	I	E	E	5
Piridoxina (B ₆)	E	E	E	E	I	I	40
Riboflavina (B ₂)	E	E	I	E	I	I	75
Tiamina (B ₁)	I	E	I	I	E	I	80
Tocoferoles	E	E	E	I	I	I	55

I = inestable; E = estable.

6.6 NUTRIMENTOS INORGÁNICOS

Por tradición, la palabra “minerales” (traducción directa de *minerals*) se usa para referirse a los diversos elementos químicos que se identifican en los alimentos; sin embargo, en los diccionarios se encuentra que mineral se equipara con lo “inorgánico” o “con las minas para el beneficio de los metales”. En la literatura científica en español se sigue usando el término “minerales”, aun cuando hay voces que sugieren que se debe sustituir por “nutrientes inorgánicos” por considerarlo más correcto.

El análisis de las cenizas de plantas, microorganismos, animales y cadáveres de seres humanos revela la presencia de más de 60 elementos químicos, de los cuales 36 se encuentran con regularidad: aluminio, antimonio, arsénico, azufre, bario, boro, bromo, cadmio, calcio, cinc, cloro, cobalto, cobre,

cromo, estaño, estroncio, flúor, fósforo, galio, hierro, litio, magnesio, manganeso, mercurio, molibdeno, níquel, plata, plomo, potasio, rubidio, selenio, silicio, sodio, titanio, vanadio y yodo. Sin embargo, la presencia de alguno de éstos en el organismo no prueba su participación en el metabolismo y, por lo tanto, su calidad de nutrimento; en muchos casos puede tratarse de simples contaminaciones.⁸ De manera conjunta, estos elementos representan aproximadamente el 4% del peso total del cuerpo humano, donde resaltan el calcio con un 2% y el fósforo con un 1 por ciento.

Al igual que las vitaminas, algunos elementos químicos son nutrimentos indispensables para el buen funcionamiento del organismo humano y su carencia puede provocar serios problemas de salud; la alimentación variada, cuando es viable, es la forma de evitar cualquier deficiencia de éstos y de otros nutrimentos.²¹ Actúan de diversas maneras en la formación de tejidos rígidos del cuerpo (Ca, P, F, Mg, etcétera), como cofactor de enzimas (Mn, Zn, Cu, Mo, Na, etcétera), como integrante de vitaminas, hormonas, mioglobina y hemoglobina (Co, I, Fe, etcétera), para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y del pH (Na, K, Cl, etcétera) y como parte constitutiva de algunas macromoléculas (S, P, Fe, etcétera). El hecho de consumirlos en la dieta no representa que se absorban y se aprovechen en el organismo humano, ya que su biodisponibilidad es muy distinta entre ellos; el sodio, potasio y cloro forman compuestos sencillos que existen en disolución, por lo que forman iones libres fácilmente absorbibles, mientras que el calcio, hierro, fósforo y magnesio, que integran compuestos insolubles, son más difíciles de asimilar. Las funciones y necesidades de Ca, I, Fe, Mg, Se y Zn en el hombre han sido estudiadas ampliamente por la FAO/WHO.²²

A diferencia de las vitaminas que se sintetizan *in situ*, todos los elementos químicos encontrados en los alimentos de origen animal y vegetal provienen de los productos del campo, que a su vez, dependen de las prácticas agrícolas, la genética, el suelo, los fertilizantes, los plaguicidas, el agua, etcétera. Debido a que son hidrosolubles, la mayor parte de sus pérdidas se producen por lixiviación en cualquier etapa en la que exista un contacto del alimento con el agua.

Una dieta balanceada aporta todos los nutrimentos inorgánicos suficientes para satisfacer las necesidades del hombre; sin embargo, es práctica común la adición de algunos de ellos, sobre todo de calcio, hierro, yodo y cinc. Además de esto, los distintos aditivos, como antiaglomerantes, emulsificantes, secuestradores, amortiguadores de pH, sales de horneado, etcétera, contienen diversos elementos químicos que igualmente contribuyen al contenido de los alimentos.

6.6.1 Calcio

Es el elemento químico más abundante en el ser humano y llega a representar hasta el 2% del peso corporal, equivalente a 1,000-1,500 g en un adulto. Aproximadamente, el 99% de este elemento se encuentra distribuido en las estructuras óseas y el resto, 1%, en los fluidos celulares y en el interior de los tejidos. A pesar de que esta segunda fracción es muy pequeña, tiene una enorme influencia funcional ya que interviene en un gran número de transformaciones y mecanismos, como son la coagulación de la sangre, la contracción muscular, la activación enzimática, la transmisión de impulsos nerviosos, etcétera.

Se recomienda una ingestión diaria de 800 mg para adultos y niños en crecimiento (cuadro 6.1), pero en el caso de embarazadas y madres lactantes esta cifra se incrementa hasta en un 50%. Del calcio que se consume, aproximadamente el 40% se absorbe a través del intestino delgado y el resto se elimina en las heces; la absorción se favorece por la acción de la vitamina D, la lisina, la arginina, la lactosa y pH ácidos, ya que es insoluble en condiciones alcalinas. La lactosa, al fermentarse en la parte distal del intestino delgado, produce ácido láctico que reduce el pH y solubiliza el calcio para

facilitar su absorción; la leche contiene una alta concentración de Ca, además de vitamina D y lactosa, por lo que es la mejor fuente de este elemento para los humanos. La fracción de calcio que no se absorbe (aproximadamente 60% del ingerido) y que se elimina, se incrementa por las dietas altas en grasas y bajas de vitamina D y por la presencia de alcohol, fosfatos, fitatos, oxalatos, tiroxina y corticoides, así como por la inmovilidad del individuo.¹⁹

Una vez que se absorbió, el calcio se acumula en el plasma sanguíneo, de donde se suministra para la formación de huesos y dientes mediante la hormona calcitonina y las vitaminas A y C; esto es más efectivo cuando la relación Ca/P es de 1 o más, ya que forman la hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ que integra la estructura rígida del hueso. En presencia de un exceso de fósforo (Ca/P <1.0), se pueden producir fosfatos de calcio que son insolubles y no absorbibles. Por ejemplo, en la leche humana se tiene una relación de Ca/P de 2.0 y en la de vaca, de 1.3.

El uso de agentes secuestradores como el EDTA y de fosfatos, pirofosfatos y tripolifosfatos en la industria alimentaria es muy común, y esto puede traer consigo problemas de absorción del calcio y de otros elementos al interactuar con ellos y hacerlos indisponibles.

Cabe aclarar que en México, una gran parte del calcio que se consume proviene del maíz nixtamalizado, ya que en su preparación se añade una cantidad considerable de este elemento en forma de cal; la relación Ca/P en estas condiciones es mayor de 1.5, lo cual facilita su absorción.

6.6.2 Fósforo

Este elemento se encuentra como fosfato, representa 1.0% del peso corporal, está muy relacionado con el calcio ya que juntos forman la hidroxiapatita y 80% se localiza en los huesos y en los dientes; el resto se concentra en los fluidos extracelulares y actúa como un amortiguador del pH en la sangre, o en las células en donde participa en el metabolismo de las proteínas, los lípidos y los hidratos de carbono; interviene en la fosforilación de la glucosa y del glicerol, se combina con ácidos grasos en los fosfolípidos, es parte del trifosfato de adenosina (ATP) y de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), forma las fosfoproteínas, etcétera. Su absorción es más sencilla que la del calcio, aunque se ve afectada por los mismos factores que antes se mencionaron; su biodisponibilidad varía, pero se considera que se aprovecha un 70% del consumido y el 30% restante se desecha en las heces. Las recomendaciones diarias de su consumo se muestran en el cuadro 6.1.

6.6.3 Hierro

Este elemento cumple diversas funciones biológicas en el humano, principalmente al transportar y almacenar el oxígeno mediante la hemoglobina y la mioglobina, respectivamente, además de actuar como cofactor de varias enzimas. Está presente en los alimentos en dos formas: como Fe hemo que se encuentra en la res, pollo, pescado, etcétera, y como Fe no-hemo o inorgánico presente en los granos, leguminosas y vegetales en general. El primero tiene una mayor biodisponibilidad (20-30%) que el segundo, que es de tan sólo de 2-10% y que depende de la presencia de los inhibidores de la absorción (fitatos, polifenoles, calcio y fosfatos) y de los promotores de la absorción (vitamina C, ácido cítrico, péptidos con cisteína, etanol y productos fermentados).²⁹

Se encuentra en dos estados de oxidación, aun cuando las sales ferrosas se aprovechan más fácilmente que las férricas, por lo que al adicionarlo a los alimentos se prefiere el fumarato, gluconato o sulfato ferroso, como en el caso de los cereales; el Fe^{+3} se reduce a Fe^{+2} gracias al ácido estomacal y en esta forma atraviesa la mucosa gastrointestinal. Su deficiencia provoca anemia, que ha sido iden-

tificada en niños menores de 10 años en las zonas rurales de México.⁴⁶ Las recomendaciones de su consumo diario se muestran en el cuadro 6.1.

6.6.4 Otros elementos

En forma conjunta, el cloro y el sodio forman parte del plasma sanguíneo y del líquido extracelular que rodea las células, en donde ayudan a mantener la presión osmótica, la acidez y la carga eléctrica. Además, el cloro se utiliza para la síntesis del ácido clorhídrico estomacal, mientras que el sodio actúa en la contracción muscular y en la conducción nerviosa. El NaCl es la principal fuente de sodio y se encuentra en la mayoría de los alimentos, aun cuando en ocasiones se usa en exceso en la cocina; la hipertensión arterial es común en personas con alta ingesta de sodio.

Por su parte, el cinc actúa como coenzima en las carboxipeptidasas y deshidrogenasas y su deficiencia causa pérdida de apetito y problemas en el crecimiento de los niños; su absorción en el intestino delgado, al igual que sucede con el Ca, Mg y Fe, se ve reducida cuando forma complejos con los fitatos, por ejemplo, con los de la soya y de los cereales.^{19, 44} Las recomendaciones de su consumo diario se muestran en el cuadro 6.1; la res, el pollo y el pescado son las mejores fuentes de estos elementos.

El magnesio interviene en la formación de huesos y dientes, como coenzima en el metabolismo de hidratos de carbono y constituyente de diversos líquidos intracelulares. El cobre es cofactor de varias enzimas. El yodo participa de la tiroxina de la hormona tiroidea y se encuentra en los alimentos de origen marino; junto con el flúor se ha usado para enriquecer la sal de mesa en una concentración de 25-50 mg/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdel-Rahman, A. 1982. "Effect of cooking time on the quality, minerals and vitamins of spaghetti produced from two Italian durum wheat varieties", *J. Food Technol.*, 17:349.
2. Allen, C. y Parks, O.W. 1979. "Photodegradation of riboflavin in milks exposed to fluorescent light", *J. Dairy Sci.*, 62:1377.
3. Allen, L.H. y Casterline, J. 1994. "Vitamin B₁₂ deficiency in elderly individuals: diagnosis and requirements". *Am. J. Clin. Nutr.* 60:12-14.
4. Ames, S.R. 1966. "Methods for evaluating vitamin A isomers", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 49:1071.
5. Barreiro, J.A., Guariguata, C. y Salas, G.R. 1984. "A manual method for predicting nutrient retention during thermal processing of conduction-heating foods in rectangular containers". *J. Food Sci.*, 49:478.
6. Bitsch, R. 1993. "Vitamin B₆". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:278-282.
7. Bourges, H. 1983. "Raquitismo y vitamina D", *Cuadernos de nutrición*, 6(10): 3, Instituto Nacional de la Nutrición, México.
8. Bourges, H. 1993. "Elementos de nutriología", en *Química de los alimentos*, p. 521-578, S. Badui. Pearson Educación, México.
9. Briozzo, J., Basualdo, R.N., Carrera, P.A., Alzamora, S.M. y Chirife, J. 1987. "Improvement of thiamin retention in canned low-acid foods through pH adjustment", *J. Food Sci.*, 52:827.
10. Clydesdale, F.M. 1983. "Physicochemical determinants of iron bioavailability", *Food Technol.* 37(10):133.
11. Clydesdale, F.M. y Nadeau, D.B. 1985. "Effect of acid pretreatment on the stability of ascorbic acid complexes with various iron sources in a wheat flake cereal", *J. Food Sci.*, 50:1342.

12. Combs, G.F. (Ed.). 1992. *"The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health"*, Academic Press, Inc., San Diego, California.
13. DeMan, J.M. 1981. "Light-induced destruction of vitamin A in milk", *J. Dairy Sci.*, 62:2031.
14. Dennison, D.B. y Kirk, J.R. 1982. "Effect of trace mineral fortification on the storage stability of ascorbic acid in a dehydrated model food system", *J. Food Sci.*, 47:1198.
15. DeSouza, S.C. y Eitenmiller, R.R. 1986. "Effects of processing and storage on the folate content of spinach and broccoli", *J. Food Sci.*, 51:626.
16. Dexter, J.E., Matsuo, R.R. y Morgan, B.C. 1982. "Effects of processing conditions and cooking time on riboflavin, thiamin and niacin levels in enriched spaghetti", *Cereal Chem.*, 59:328.
17. Eison-Perchonok, M.H. y Downes, T.W. 1982. "Kinetics of ascorbic acid autoxidation as a function of dissolved oxygen concentration and temperature", *J. Food Sci.*, 47:765.
18. Englard, S. y Seifter, S. 1986. "The biochemical functions of ascorbic acid". *Ann. Rev. Nutr.* 6:365-406.
19. Erdman, J.W. 1979. "Oilseed phytates: nutritional implications", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56:736.
20. Evans, S.R., Gregory, J.F. y Kirk, J.R. 1981. "Thermal degradation of pyridoxine hydrochloride in dehydrated model food systems", *J. Food Sci.*, 46:555.
21. FAO/ILSI. 1997. "Preventing Micronutrient Malnutrition: A guide to Food-Based Approaches", ILSI Press, Washington, D.C.
22. FAO/WHO. 2001. "Human Vitamin and Mineral Requirements". FAO, Roma, Italia.
23. Fellman, J.K., Artz, W.E., Tassinari, P.D., Cole, C.L. y Augustin, J. 1982. "Simultaneous determination of thiamin and riboflavin in selected foods by high-performance liquid chromatography", *J. Food Sci.*, 47:2048.
24. Finglas, P.M. 1993. "Thiamine". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:270-274.
25. Furuya, E.M. y Warthesen, J.J. 1984. "Influence of initial riboflavin content on retention in pasta during photodegradation and cooking", *J. Food Sci.*, 49:984.
26. Gami, D.B. y Chen, T.S. 1985. "Kinetics of folacin destruction in Swiss chard during storage", *J. Food Sci.*, 50:447.
27. Gaylord, A.M., Warthesen, J.J. y Smith, D.E. 1986. "Effect of fluorescent light on the isomerization of retinyl palmitate in skim milk", *J. Food Sci.*, 51:1456.
28. Gregory III, J.F. y Hiner, M.E. 1983. "Thermal stability of vitamin B₆ compounds in liquid model food systems", *J. Food Sci.* 48:1323.
29. Hallberg, L., Hulthen, L. y Gramatkovski, M. 1997. "Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption?", *Am. J. Clin. Nutr.*, 66:347-356.
30. Harris, R.S. y E. Karmas. 1975. *Nutritional Evaluation of Food Processing*, The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
31. Karel, M. 1979. "Effect of storage on nutrient retention of foods", *Food Technol.* 33(2):36.
32. Kozempel, M.F., Sullivan, J.F., DellaMonica, E.S., Egovalle, M.J., Talley, E.A., Jones, W.J. y Craig, J.C. Jr. 1982. "Application of leaching model to describe potato nutrient losses in hot water blanching", *J. Food Sci.*, 47:1519.
33. Labuza, T.P. 1972. "Nutrient losses during drying and storage of dehydrated foods", *Crit. Rev. Food Technol.*, 3:217.
34. Leichter, J. y Joslyn, M.A. 1969. "Kinetics of thiamine cleavage by sulphite", *Biochem. J.*, 113:611.
35. Lund, D.B. 1975. "Effects of heat processing on nutrients. Part I. Effects of blanching, pasteurization and sterilization on nutrients", en *Nutritional Evaluation of Food Processing*, Ed R.S. Harris y E. Karmas, The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
36. Lund, D.B. 1977. "Design of thermal processes for maximizing nutrient retention", *Food Technol.*, 31(2):71.
37. Maiani, G., Azzini, E. y Ferro-Luzzi, A. 1993. "Vitamin C". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:289-295.
38. Martorell, E.T. 1982. "Cereales", en *Química agrícola III. Alimentos*, Ed. E.P. Yufera, Editorial Alhambra, Madrid.
39. Mishkin, M., Saguy, I. y Karel, M. 1984. "Optimization of nutrient retention during processing: ascorbic acid in potato dehydration", *J. Food Sci.*, 49:1262.

40. Mnkeni, A.P. y Beveridge, T. 1983. "Thermal destruction of 5-methyltetrahydrofolic acid in buffer and model food systems", *J. Food Sci.*, 48:595.
41. Mondy, N.I. y Leja, M. 1986. "Effect of mechanical injury on the ascorbic acid content of potatoes", *J. Food Sci.*, 51:355.
42. Nadkarni, M.M. y Hatton, T.A. 1985. "Optimal nutrient retention during thermal processing of conduction-heated canned foods: application of the distributed minimum principle", *J. Food Sci.*, 50:1312.
43. Navankasattusas, S. y Lund, D.B. 1982. "Thermal destruction of B₆ vitamers in buffer solution and cauliflower puree", *J. Food Sci.*, 47:1512.
44. Nelson, K.J. y Potter, N.N. 1979. "Iron binding by wheat gluten, soy isolate, zein, albumen and casein", *J. Food Sci.*, 44:104.
45. "Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994". Secretaría de Salud, México, D.F.
46. "Perfiles nutricionales por países-México". Agosto 2003. FAO, Roma, Italia.
47. Reed, L.S. y Archer, M.C. 1980. "Oxidation of tetrahydrofolic acid by air", *J. Agr. Food Chem.*, 28:801.
48. Robertson, G.L. y Reeves, M.J. 1981. "Relationship between colour and brown pigment concentration in orange juices subjected to storage temperature abuse", *J. Food Technol.*, 18:535.
49. Robertson, G.L. y Samaniego, C.M.L. 1986. "Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of lemon juice during storage", *J. Food Sci.*, 51:184.
50. Rolls, B.A. y Porter, J.W.G. 1973. "Symposium on the effect of processing on the nutritive value of food". *Proc. Nutr. Soc.*, 32:9.
51. Russell, L.F. 1986. "High performance liquid chromatographic determination of vitamin C in fresh tomatoes", *J. Food Sci.*, 51:1567.
52. Schroeder, H.A. 1971. "Losses of vitamins and trace minerals resulting from processing and preservation of foods", *Am. J. Clin. Nutr.*, 24:562.
53. Sebrell, N.J. Jr. y Harris, R.S. 1972. *The Vitamins*, Academic Press, Nueva York.
54. Senyk, G.F. y Shipe, W.F. 1981. "Protecting milk from nutrient losses", *Dairy Field*, 164(3):81.
55. Singh, R.P., Heldman, D.R. y Kirk, J.R. 1975. "Kinetic analysis of light induced riboflavin loss in whole milk", *J. Food Sci.*, 40:164.
56. Speek, A.J., Schrijver, J. y Schreurs, W.H.P. 1985. "Vitamin E composition of some seed oils as determined by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection", *J. Food Sci.*, 50:121.
57. Sweeney, J.P. y Marsh, A.C. 1970. "Separation of carotene stereoisomers in vegetables", *J. Amer. Off. Anal., Chem.*, 53:937.
58. Takahashi, Y. y Khan, M.A. 1987. "Impact of infrared broiling on the thiamin and riboflavin retention and sensory quality of salmon steaks for foodservice use", *J. Food Sci.*, 52:4.
59. Tatum, J.H., Nagy, S. y Berry, R.E. 1975. "Degradation products formed in canned single strength orange juice during storage", *J. Food Sci.*, 40:707.
60. Tehiliani, A.G. y Beinlich, C.J. 1991. "Pantothenic acid in health and disease". *Vitam. Horm.* 46:165-228.
61. Ting, S.V. 1983. "Citrus fruits", en *Handbook of Tropical Foods*. Ed. H.T. Chan, Jr. Marcel Dekker, Nueva York.
62. Weir, D.G. y Scott, J.M. 1999. "Cobalamins Physiology, Dietary Sources and Requirements". *Encyclopedia of Human Nutrition* 1:394.
63. Wilkinson, S.A., Earle, M.D. y Cleland, A.C. 1982. "Effects of food composition, pH, and copper on the degradation on vitamin A in beef liver puree during heat processing", *J. Food Sci.*, 47:844.
64. Woodcock, E.A., Warthesen, J.J. y Labuza, T.P. 1982. "Riboflavin photochemical degradation in pasta measured by high performance liquid chromatography", *J. Food Sci.*, 47:545.
65. Yang, P.F. y Pratt, D.E. 1984. "Antithiamin activity of polyphenolic antioxidants", *J. Food Sci.*, 49:489.

Capítulo

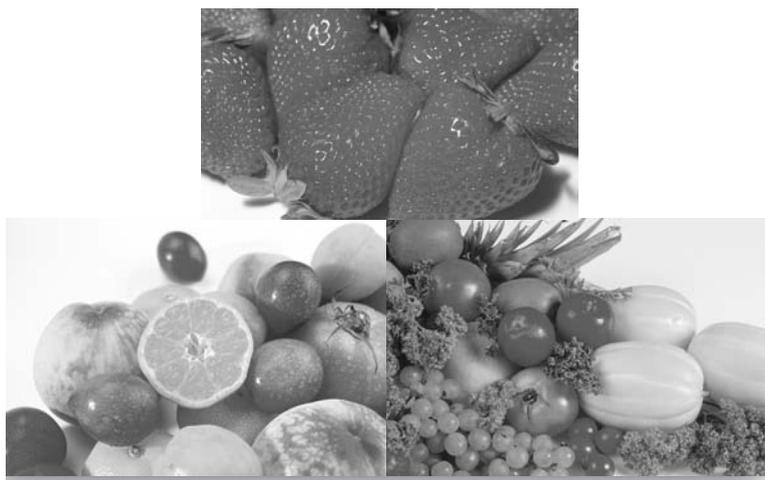
Isabel Guerrero Legarreta
Eloísa López Hernández
Roberto E. Armenta López

7

Pigmentos

- 7.1 Introducción
- 7.2 Pigmentos sintéticos y naturales
- 7.3 Carotenoides
- 7.4 Clorofilas
- 7.5 Pigmentos fenólicos
- 7.6 Betalainas
- 7.7 Hemopigmentos
- 7.8 Otros pigmentos naturales
- 7.9 Análisis de pigmentos y de color

Referencias bibliográficas



7.1 INTRODUCCIÓN

El color es una propiedad de la materia directamente relacionada con el espectro de la luz y que, por lo tanto, puede medirse físicamente en términos de energía radiante o intensidad, y por su longitud de onda. El ojo humano sólo puede percibirlo cuando su energía corresponde a una longitud de onda que oscila entre 380 y 780 nm; de ahí que una definición de color sea “la parte de la energía radiante que el humano percibe mediante las sensaciones visuales que se generan por la estimulación de la retina del ojo”.

La calidad de un alimento, sin tomar en cuenta los aspectos sanitarios, toxicológicos y nutricionales, se basa en los siguientes parámetros: color, sabor y olor, y textura. Sin embargo, el primer acercamiento del consumidor al alimento es por su color, ya que relaciona lo adecuado con la aceptación o el rechazo.⁶ En algunos alimentos, el color es el resultado

conjunto de sus características físicas y de los compuestos pigmentantes. Tal es el caso de la carne en la que, dependiendo del grado de turgencia de las fibras musculares, se percibe de rosa pálida a roja oscura. En la leche, el color se debe al efecto de dispersión de la luz que causan los glóbulos de grasa, las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también influye la presencia de carotenos y de riboflavina; cuanto más pequeños sean los glóbulos de grasa, los principales responsables de la dispersión de la luz, mayor será el efecto de la dispersión y mayor la blancura.

Los colores de los alimentos se deben a diferentes compuestos, principalmente orgánicos, algunos de los cuales se producen durante su manejo y procesamiento, como es el caso del color que se desarrolla debido a las reacciones de Maillard, a la caramelización o a los pigmentos sintetizados o modificados por procesos de fermentación.⁶ Sin embargo, la mayoría de los alimentos deben su color a las sustancias pigmentantes que contienen o que se añaden.⁴⁰ En la mayoría de los casos, estos pigmentos también tienen una función biológica; éste es el caso de la clorofila en la fotosíntesis y de la mioglobina en el almacenamiento del oxígeno en el músculo, entre otros. Muchos pigmentos también se extraen de la fuente natural y se emplean como colorantes en la elaboración de un gran número de alimentos.

7.2 PIGMENTOS SINTÉTICOS Y NATURALES

La industria de pigmentos es una de las de mayor volumen de ventas a nivel mundial; se producen 700 toneladas/año de pigmentos naturales y sintéticos. El mercado mundial de pigmentos sintéticos representa un volumen de ventas de 400 millones de dólares/año, de los cuales el 50% se dirige a la industria textil y 25% a la industria alimentaria.

Según la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos), un aditivo es un material que se añade de manera intencionada, por lo general en cantidades pequeñas, a otra sustancia para mejorar su apariencia, sabor, color o estabilidad. De acuerdo con la misma agencia, un pigmento es cualquier material que imparte color a otra sustancia obtenida por síntesis o arteificio similar, extraída o derivada, con o sin intermediarios del cambio final de identidad, a partir de un vegetal, animal, mineral u otra fuente y que cuando es añadida o aplicada a alimentos, medicamentos o cosméticos, es capaz de impartir color por sí misma.¹²⁰ Desde este punto de vista, en algunos casos, un pigmento es también un aditivo (capítulo 9).

Los pigmentos se pueden dividir en sintéticos y naturales. Los sintéticos requieren de una certificación; incluyen sustancias químicas sintetizadas con alto grado de pureza. Los principales son:¹¹⁸

- Azoicos (31.5% de ventas mundiales): su estructura es de mono, di o triazo. Producen casi todos los colores, se caracterizan por tener un grupo cromóforo $-N=N-$. Los de más venta son los amarillos 5 y 6, los rojos 2, 4 y 40, y el naranja B.
- Antraquinonas (21.6% de ventas mundiales): su estructura es uno o más grupos carboxilo en un sistema de anillos conjugados, tienen al menos tres anillos condensados.

Debido a la preocupación por la seguridad en el uso de pigmentos sintéticos, éstos se han estudiado exhaustivamente con respecto a su efecto sobre la salud. Aunque a la mayoría se les han atribuido daños en el comportamiento conductual de los niños, este hecho no se ha comprobado, pero aún queda duda sobre su posible participación en otras alteraciones en la salud. Por esto se ha reducido ca-

da vez más su uso en alimentos, aunque los aspectos de legislación varían ampliamente entre bloques comerciales y países dentro de cada bloque. En Europa y Japón, la demanda de pigmentos sintéticos ha disminuido, aunque en el resto del mundo ha aumentado (2 a 3% al año). En general, en alimentos sólo se aceptan nueve pigmentos sintéticos, con severas restricciones en su uso. Éstos son:^{14, 33, 80, 121}

- **Tartracina:** Autorizado para utilizarlo en más de sesenta países, incluidos Estados Unidos y la Unión Europea. Es ampliamente utilizado en repostería, galletas, productos cárnicos, sopas instantáneas vegetales en conserva, helados, caramelos y bebidas no alcohólicas, y como adulterante en platillos como la paella, en lugar de azafrán. Puede producir alergia en el 10% de los consumidores.
- **Amarillo anaranjado S:** Se utiliza para bebidas no alcohólicas, helados, caramelos, botanas y postres, entre otros. En Europa no se autoriza en conservas.
- **Azorrubina:** No autorizado en Estados Unidos, pero sí en Europa; se emplea principalmente en caramelos.
- **Rojo Ponceau:** Se emplea para producir el color fresa de caramelos y productos de repostería, así como en productos cárnicos en lugar de pimentón.
- **Negro brillante:** No se autoriza su uso en Estados Unidos, Canadá ni Japón, pero sí en Europa, en donde se emplea para productos de imitación de caviar.
- **Amarillo de quinoleína:** No se autoriza en Estados Unidos, Canadá y Japón, pero sí en la Unión Europea para su uso en bebidas de naranja, bebidas alcohólicas, repostería, conservas vegetales, helados y productos cárnicos, entre otros.
- **Eritrosina:** Muy usado en productos lácteos con sabor a fresa, en mermeladas, caramelos y productos cárnicos. Debido a su alto contenido de yodo, puede ser nocivo por su acción sobre la tiroides, por lo que en Europa no está autorizado para alimentos dirigidos a niños.
- **Indigotina:** Autorizado en todo el mundo, se emplea en bebidas no alcohólicas, caramelos, confitería y helados.
- **Azul V:** Se utiliza en conservas vegetales, mermeladas, repostería, caramelos y bebidas para lograr tonos verdes al combinarlo con colorantes amarillos

Los pigmentos sintéticos tienen las siguientes ventajas: firmeza de color; amplio intervalo de tinte; bajo costo; alta efectividad; homogeneidad entre lotes, y no presentan aromas o sabores.

Según la Secretaría de Salud de México, las especificaciones para el uso de pigmentos sintéticos son las siguientes mostradas en el cuadro 7.1.

Los pigmentos naturales son generados por microorganismos, vegetales, animales o minerales. El mercado mundial de pigmentos naturales representa 940 millones de dólares al año en ventas y, debido a la preocupación del consumidor por el consumo de productos que no alteren o ayuden a su salud, crece alrededor de 4% al año.¹⁹ Sin embargo, la palabra “natural” no tiene connotación legal, no significa que el color del que se trate sea propio del producto farmacéutico, alimentario o cosmético. Así, casi todos los colores en alimentos son añadidos y por tanto no son naturales. Los pigmentos naturales son aquellos obtenidos de fuentes presentes en la naturaleza, usados para impartir color a algunos productos. Son sujetos a las mismas pruebas de calidad y seguridad toxicológica que los sintéticos, pero la FDA y otras agencias gubernamentales no requieren que se certifique su pureza química, y por tanto se refiere a ellos como aditivos de color no certificados; sin embargo, algunos de estos pigmentos sí están sujetos a restricciones en su uso, como el nivel máximo permitido o el uso en animales y/o humanos. En el cuadro 7.2 se listan algunos de los pigmentos exentos de certificación por la FDA:⁸⁰

CUADRO 7.1 Especificaciones para el uso de pigmentos sintéticos en México

Nombre oficial	Clasificación química	Color	Usos
Rojo 3 Eritrosina	xantana	rosa-azul	Salsas, bebidas carbonatadas, pan, cereales, emulsiones aceite/agua
Rojo 40	monoazo	rojo-amarillo	Gelatinas, salsas, bebidas carbonatadas, bebidas en polvo, confitería, pan y cereales, emulsiones, aceite/agua
Amarillo 5 tartracina	pirazolona	verde-amarillo	Gelatinas, bebidas en polvo, bebidas carbonatadas confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua
Azul 1	trifenilmetano	verde-azul	Bebidas carbonatadas, bebidas en polvo, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua
Azul 5	índigo	azul intenso	Confitería, gelatinas, emulsiones aceite/agua
Verde 3	trifenilmetano	verde-azul	Gelatinas, bebidas en polvo, bebidas carbonatadas, confitería, pan y cereales, emulsiones aceite/agua
Naranja B	pirazolona	rojo-amarillo	Helados

CUADRO 7.2 Algunos pigmentos exentos de certificación por la FDA

Aceite de endospermo de maíz (sólo para alimento de aves)	Extracto de color uva (encianina) (sólo para alimentos, no bebidas)
Aceite de zanahoria	Gluconato ferroso (sólo para pigmentar aceitunas negras)
Ácido carmínico (extracto de cochinilla)	Glutamato de hierro
Aceite de semilla de algodón desgrasado	Harina de algas secas (sólo para alimento de aves)
Azafrán	Harina de semilla de algodón parcialmente tostada
Azul ultramarino (sólo para alimento animal)	Jugo de frutas
β -apo-8-carotenol	Jugo de vegetales
β -caroteno	Oleoresina de paprika
Betabel deshidratado	Oleoresina turmérica
Cantaxantina	Óxido ferroso (sólo para alimento animal)
Color caramelo	Paprika y oleoresina de paprika
Dióxido de titanio	Riboflavina
Extracto de anato (achiote)	<i>Tagetes erecta</i> (cempasúchil) extracto y harina
Extracto de cáscara de uva (sólo para bebidas)	(sólo para alimento animal)

Por su parte, la Unión Europea autoriza el uso de los pigmentos listados en el cuadro 7.3, entre los que se encuentran algunos sintéticos.^{33, 119}

CUADRO 7.3 Pigmentos autorizados por la Unión Europea para su uso en alimentos

Aluminio (sólo en superficies)	Eritrosina
Amaranto	Ester etílico del ácido β -apo-8'-carotenoico
Amarillo de quinoleína	Extracto de pimentón
Amarillo ocaso FCF	Indigotina
Antocianinas	Licopeno
Azorrubina	Litorrubina
Azul V	Luteína
β -apo-8'-carotenal	Marrón FK
Bixina	Marrón HT
Cantaxantina	Negro brillante BN
Carbón vegetal	Oro (sólo en superficies)
Caramelo amónico	Óxidos e hidróxidos de hierro (sólo en superficies)
Caramelo natural	Plata (sólo en superficies)
Caramelo de sulfito caústico	Riboflavinas
Caramelo de sulfito amoniaco	Rojo alura AC
Carbonato de calcio (sólo en superficies)	Rojo de remolacha
Carotenos	Rojo Ponceau 4R
Clorofilas y sus complejo cúpricos	Rojo 2G
Curcumina	Tartracina
Dióxido de titanio (sólo en superficies)	Verde S

La Secretaría de Salud de México reporta que, aunque no requieren certificación, deben cumplir con las siguientes especificaciones químicas y toxicológicas:

- No deben tener más de 3 mg de arsénico/kg.
- No deben tener más de 10 mg de plomo/kg.
- Máximo contenido de mercurio: 1 mg/kg.
- En su desecación debe de haber menos de 0.2% de pérdidas.
- Sea analizable por espectrofotometría de absorción.
- Sea analizable por cromatografías.

Los pigmentos naturales difieren ampliamente en su estructura química y en su origen. Aunque hay colorantes poco comunes, como el ácido carmínico, los más distribuidos en los alimentos pueden agruparse en ocho categorías:

1. Carotenoides.
2. Clorofilas.
3. Pigmentos fenólicos: flavonoides, antocianinas y taninos.
4. Betalaínas.
5. Hemopigmentos.
6. Otros pigmentos naturales.

Los cuatro primeros son de fuentes vegetales, aun cuando llegan a estar presentes en alimentos de origen animal, a los que ingresan a través de la dieta. La mayoría de los pigmentos vegetales se localiza en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plástidos,

que se observan al microscopio formando pequeñas placas o agujas de estructura cristalina; en algunos casos, cuando son solubles en agua, se encuentran disueltos en las vacuolas de las células.

El quinto grupo sólo se encuentra en productos de origen animal. En el sexto grupo se incluyen pigmentos que imparten color tanto a los tejidos vegetales como animales. Son poco abundantes en la naturaleza, pero no por eso menos importantes, debido a las características específicas de cada uno.

Por último, es necesario indicar que la estructura química determina propiedades de los pigmentos que van más allá del color, aunque ésta sea su característica evidente. La estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento; su reactividad con otros compuestos químicos para determinar tanto el color como la durabilidad o cambio de éste; su posible toxicidad, por lo que es necesario en algunos casos certificarlos para que cumplan las normas oficiales; y su posible capacidad como micronutrientes, son algunas de las características de los pigmentos.

El cuidado de la salud humana a través de la dieta es una preocupación constante del mundo actual; los procesos oxidativos, mediados por la presencia de radicales libres, están asociados con enfermedades degenerativas en humanos, incluyendo el cáncer y enfermedades coronarias. Tres tipos de pigmentos con características antioxidantes, flavonoides, antocianinas y carotenoides, han tenido particular interés para la reducción de la incidencia de estas enfermedades; por otro lado, algunos flavonoides se han reportado como antivirales, antihepatotóxicos y antiinflamatorios, mientras que otros, como algunos isómeros de naringinina, un flavonoide encontrado en la naranja, tienen poder edulcorante 1,500 veces más que la sacarosa.

7.3 CAROTENOIDES

Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos muy difundidos en los reinos vegetal y animal, producen colores que van desde el amarillo hasta el rojo intenso. Se han identificado en la naturaleza más de 600 de estos compuestos, y se estima que anualmente se sintetizan 100,000 toneladas de carotenoides de fuentes naturales. Son esenciales para que las plantas realicen la fotosíntesis, ya que actúan como atrapadores de la luz solar y, en forma muy especial, como escudo contra la fotooxidación destructiva. El nombre genérico deriva de la zanahoria, *Daucus carota*, ya que fue de esta hortaliza de donde se aislaron por primera vez. Se encuentran en frutas y verduras como jitomates, zanahorias, piñas y cítricos; flores como el cempasúchil y el girasol; semillas como el achiote; algunas estructuras animales como el plumaje de los flamencos y de canarios; músculos de algunos peces como los salmones y las truchas; crustáceos como camarón, langosta y cangrejo; microalgas como *Haematococcus pluvialis*; levaduras como *Phaffia rhodozyma*; y bacterias como *Corynebacterium poinsettiae*.^{7, 127} Aunque también se encuentran ampliamente distribuidos en las hojas verdes, en éstas sólo hacen su aparición en el invierno cuando la clorofila, que es mucho más abundante, desaparece. En algunas de las fuentes citadas, en particular en los microorganismos, se produce cuando se encuentran sujetos a condiciones extremas. Sin embargo, la presencia de carotenoides en animales es por ingestión, ya que éstos no pueden sintetizarlos *de novo*.

Todos los carotenoides pertenecen a la clase de los polienos, cadenas largas con dobles ligaduras conjugadas, cuya presencia explica el color intenso de los carotenoides ya que los sistemas conjugados presentan una resonancia posicional, lo que produce una deslocalización electrónica y, por lo tanto, absorben energía que se traduce en emisiones energéticas de determinadas longitudes de onda,

lo que da como resultado el color. El espectro de absorción tiene máximos cuyas longitudes de onda dependen del número de dobles enlaces conjugados.⁸³

7.3.1 Estructura y características químicas

Químicamente, los carotenoides se dividen en dos grupos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, sus derivados oxigenados. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y poco en etanol; entre éstos destacan los α , β y γ -carotenos y el licopeno. Las xantofilas pueden presentarse como ácidos, aldehídos o alcoholes y son solubles en etanol, metanol y éter de petróleo; ejemplo de estos compuestos son la fucoxantina, la luteína y la violaxantina. En ambos casos, carotenos y xantofilas, la estructura consiste en ocho unidades de isopreno unidas de tal forma que el arreglo de isoprenoides es reversible desde el centro de la molécula. Dado que un isopreno es una estructura repetitiva, se produce un gran número de isómeros geométricos de configuraciones *cis* y *trans*. La gran mayoría de los carotenoides en la naturaleza son compuestos *trans*; si se crea una configuración *cis* se desplaza el máximo de absorbancia y aparece una banda secundaria de menor longitud de onda.²⁶

Existen en forma libre disueltos en la fracción lipídica del tejido vegetal o animal, formando complejos con proteínas, unidos a carbohidratos como la gentiobiosa por medio de un enlace glucosídico, o como ésteres de ácidos grasos; la asociación con proteínas los hace más estables e incluso les cambia el color que tienen de manera individual. Un ejemplo es la astaxantina, pigmento presente en crustáceos; cuando está presente en el caparazón de estos animales, presenta una coloración rojo-anaranjado debido a su esterificación con una proteína de 260 kDa. Sin embargo, el mismo pigmento da coloración verde en los huevos de langosta cuando se une a otra proteína.¹⁰

En términos generales, en la naturaleza, la cantidad de xantofilas sobrepasa a la de carotenos; aunque el β -caroteno es, tal vez, el carotenoide de mayor importancia en la tecnología de alimentos. Éste tiene dos grupos cíclicos de ionona unidos a través de una cadena intermedia isoprenoide con nueve enlaces dobles conjugados que contribuyen a la estabilidad y al color; la apertura de los anillos o el aumento de la conjugación produce un cambio hacia el rojo, mientras que la epoxidación o la pérdida de dicha conjugación cambia hacia los amarillos. La diferencia química entre los tres carotenos se observa en la figura 7.1.

7.3.2 Carotenoides en alimentos

El maíz amarillo tiene de 1 a 4 ppm de carotenos y de 10 a 30 ppm de xantofilas, entre las que destacan la zeaxantina y la luteína. Esta última es también la principal responsable del amarillo de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*); por esta razón, en los últimos años se ha vuelto una práctica común en algunos países el adicionar los pétalos deshidratados en la alimentación avícola para propiciar la pigmentación de la yema del huevo, así como de la piel y las patas de los pollos.

La astaxantina, que se encuentra en pequeños crustáceos llamados *krill*, es consumida por salmones, langostas y camarones en estado salvaje. Sin embargo, al criarlos en granjas pierden su coloración debido a la falta de material pigmentante en su dieta. Por tanto, es fundamental suministrarla para conservar la coloración.²⁷ Recientemente se ha comercializado la trucha salmonada, que adquiere un color similar a los salmones al incluir en su dieta astaxantina sintética o natural; ésta, además de actuar como antioxidante y ser por tanto un nutraceutico, es también muy apreciada en la industria de cosméticos debido a su color rojo-anaranjado.

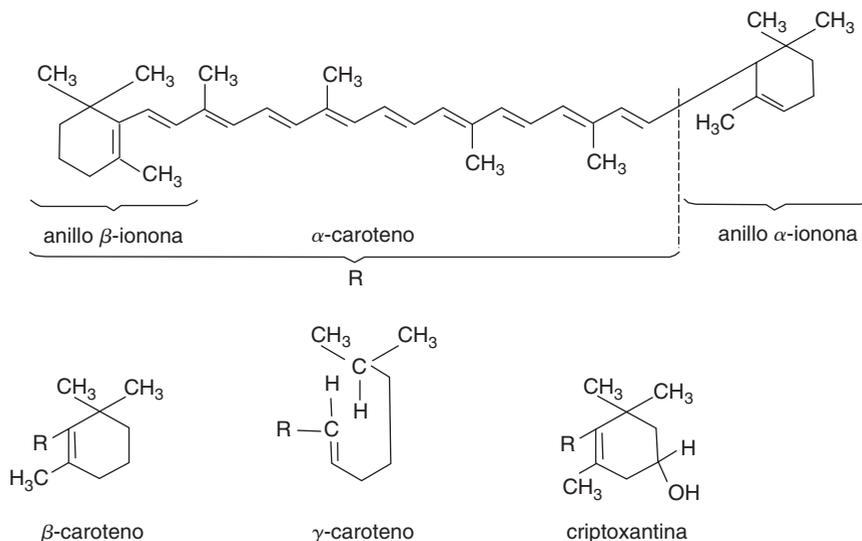


Figura 7.1 Diferencias químicas de los carotenoides.

De todos los carotenoides identificados en la naturaleza, aproximadamente 115 se encuentran en los cítricos; sin embargo, no está claro si todos éstos se sintetizan en los frutos o se generan por una modificación de otros causada por las condiciones en que se llevan a cabo la extracción y la identificación.^{49, 54} El jugo y la pulpa le deben su color amarillo-anaranjado a estos pigmentos; 70% de ellos se concentran en los plástidos del flavedo, que es la parte externa de la cáscara. Dependiendo de la variedad de la fruta, los jugos de naranja y de limón contienen de 1 a 2.5 mg de xantofilas/100 mL, y de 0.05 a 0.1 mg de carotenos. De estos pigmentos cabe destacar la presencia de la criptoxantina.¹⁰¹

A diferencia de otras frutas y hortalizas, los jitomates y las zanahorias presentan una mayor cantidad de carotenos que de xantofilas. El licopeno, de estructura lineal abierta, es el responsable del color rojo de los jitomates,⁴² aunque también existen pequeñas cantidades de β y α -caroteno y xantofilas, lo que hace un total de 20 a 60 ppm de carotenoides.¹ Por su parte, las zanahorias contienen de 50 a 60 ppm, de las cuales la mayor parte es el β -caroteno; el α -caroteno y las xantofilas sólo están presentes en una concentración de 5 a 10 ppm (figura 7.2).

La cantidad de los distintos carotenoides varía considerablemente con la madurez de los productos vegetales y con la pérdida de la clorofila. En algunas frutas, como manzanas y peras, estos pigmentos están en mayor cantidad en la cáscara o piel (5.6 y 5.4 ppm, respectivamente), que en la parte interna o carnosa (3 y 0.7 ppm, respectivamente). La composición de éstos es muy compleja, pues en realidad son una mezcla integrada por 50 o más pigmentos, alguno de ellos en mayor proporción; por ejemplo, en el durazno (melocotón) se han identificado los carotenoides como 26% de violaxantina, 12% de criptoxantina, 12% de persicaxantina, 10% de β -caroteno, 10% de fitoeno y 30% de otros.⁴⁹

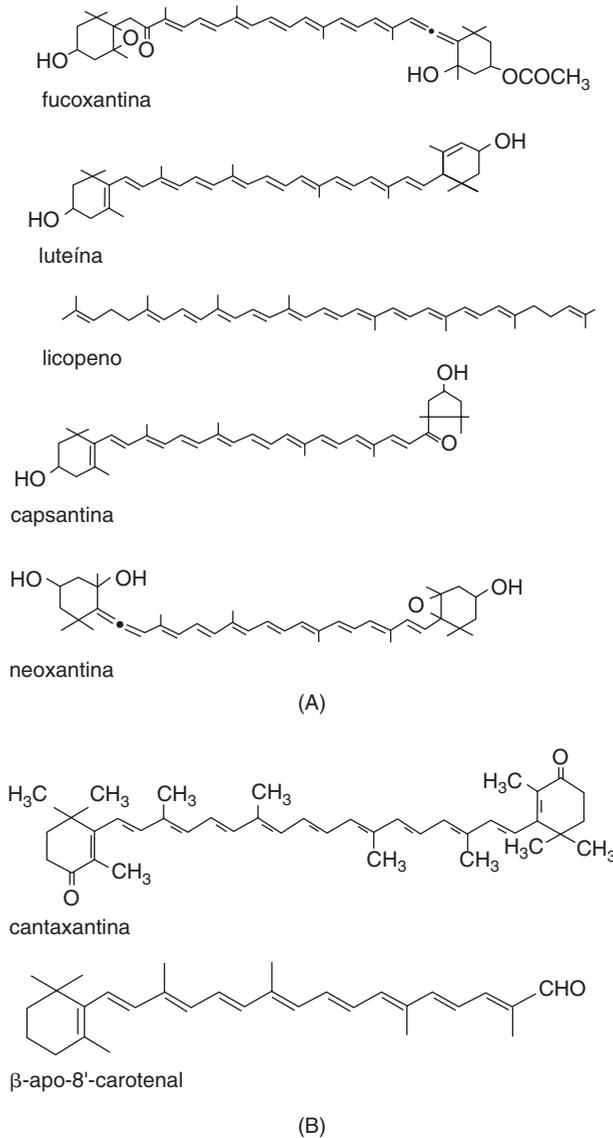
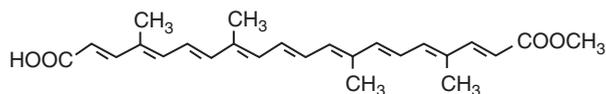


Figura 7.2 Estructura de los carotenoides naturales más importantes en alimentos (A) y estructuras de cantaxantina y β -8'-apo-carotenal (B), carotenoides sintéticos.

Además de los carotenoides ya mencionados, existen otros menos distribuidos en la naturaleza, pero no por eso menos valiosos. La bixina, un compuesto isoprenoide soluble en agua, es el principal componente del achiote o anato (*Bixa orellana*),¹⁷ que se utiliza como aderezo de color y sabor en la cocina mexicana y de otros países (figura 7.3).



bixina

Figura 7.3 Estructura de la bixina.

Los principales compuestos pigmentantes del azafrán son la crocina, que se sustituye por gentiobiosa, y la crocetina, también isoprenoides.¹⁷ Están presentes en los tres estigmas, unidos o no al estilo de la flor de *Crocus sativus* Lin.^{107, 132} Este pigmento es de tal valor que su explotación y comercialización está muy vigilada en los países de origen: España, Irán, Grecia, Marruecos e India; aún así es común encontrar imitaciones de este pigmento, que se obtienen al pigmentar estilos de otras flores con antocianinas, otro tipo de pigmento que se explicará más adelante.

7.3.3 Obtención

En la actualidad, una alta proporción de carotenoides se obtiene sintéticamente, ya que resulta más económico; sin embargo, debido a las restricciones legislativas, cada vez se emplean más los de origen natural. Debido a que los carotenoides son solubles en lípidos o en solventes como el hexano o éter de petróleo se obtienen por métodos de extracción; casi todos son estables a los álcalis, por tanto pueden purificarse por saponificación, para liberar la fracción pigmentante de otras fracciones como proteínas o carbohidratos.⁷⁵

Se han aislado y purificado cerca de 600 carotenoides; entre los principales están fucoxantinas (algas), luteína (cempasúchil), violaxantina y neoxantina (hojas verdes), β -caroteno (zanahorias), zeaxantina (maíz), licopeno (tomate), capsantina (pimiento), criptoxantina (naranja y maíz), bixina (achiote), astaxantina (crustáceos). En la actualidad, entre los carotenoides de uso comercial se tienen principalmente los α y β caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina, astaxantina, cantaxantina, capsantina y bixina.⁸⁸ La astaxantina se obtiene de residuos de crustáceos; primero se estabilizan al promover un ambiente reductor, y posteriormente se extrae con solventes,¹⁰ mientras que varios carotenoides se extraen por medio de solventes, a partir del *Terminalia catappa*, un árbol ampliamente distribuido en el trópico húmedo.^{77, 82}

La producción de pigmentos por vía microbiana es una tecnología promisoriosa. Se ha ensayado la producción a través de una gran diversidad de cepas de hongos, levaduras, bacterias y microalgas. El contenido de carotenos en algunos géneros de microalgas ha llegado hasta 800 $\mu\text{g/g}$ de peso seco con *Euglena gracilis*, de 0.18 mg de xantofilas/g con *Chlorella vulgaris*, y de hasta 9% del peso seco de *Dunaliella salina*, cantidades muy competitivas con otras formas de producción industrial de carotenoides. Algunas levaduras y hongos se reportan como productores de carotenoides, entre estos *Rhodotorula flava*, *R. gracilis* y *R. sannieli* producen β -caroteno, pero con bajos rendimientos. Las bacterias son más prometedoras como fuentes de carotenoides, como es el caso de algunas cepas de *Flavobacterium*. Los carotenoides metoxilados son particulares de ciertas bacterias fotosintéticas como *Athiorhodaceae* y *Thiorhodaceae* spp. Por medio de flavobacterias marinas se ha producido un pigmento similar a zeaxantina hasta en concentraciones de 190 $\mu\text{g/mL}$.

El campo de la biotecnología también ofrece la posibilidad de aumentar el rendimiento en la producción de pigmentos por vía microbiana, a través de técnicas de ADN recombinante. Sin embargo, existen problemas técnicos por resolver para aplicar esta tecnología, tales como la separación de los pigmentos de las membranas celulares y su cosecha de forma eficiente en el medio de cultivo.

Los procesos de producción industrial de carotenoides por síntesis química se basan en la obtención de β -ionona por síntesis total de acetona y acetileno vía dehidrolinalol o por síntesis parcial de β -pineno vía citrato. En 1954, Roche^{MR} introdujo comercialmente el β -caroteno sintético como colorante y fortificante de margarina; esa misma empresa introdujo en 1960 el β -apo-8'-carotenal, y en 1964, la cantaxantina.⁸⁵

Es probable que Hoffman-LaRoche^{MR} produzcan los carotenoides sintéticos de mayor venta; estos son Carophyl rojo^{MR} con 10,000 ppm de cantaxantina sintética, y Carophyl rosado^{MR} con 8,000 ppm de astaxantina sintética. Estos pigmentos se utilizan ampliamente en acuicultura para pigmentar salmones, truchas, langostas y camarones, entre otros organismos.

7.3.4 Estabilidad

7.3.4.1 Oxidación

Debido a su estructura insaturada, los carotenoides están sujetos a numerosos cambios químicos inducidos por las diferentes condiciones de procesamiento. Por esta razón, la presencia de agentes físicos o químicos que favorezcan la producción de radicales libres los afecta.⁴⁶ La oxidación y subsiguiente desintegración de los carotenoides se inicia en un extremo de la molécula; éste no es un proceso al azar ya que siempre ocurre en el extremo abierto, antes que en el anillo terminal de ionona. A medida que se saturan las dobles ligaduras y finalmente se rompen, el color característico de los carotenoides desaparece.^{91, 95} En sistemas modelo que simulan alimentos deshidratados, la pérdida del β -caroteno por oxidación sigue un mecanismo de reacción en cadena con una cinética típica de las transformaciones autocatalíticas por medio de radicales.^{101, 113} La oxidación se acelera por radicales libres, generados por temperaturas altas, metales, luz y por enzimas, pero se puede reducir durante el procesamiento por adición de antioxidantes como ácido ascórbico, BHA y BHT, y con EDTA como secuestrante de metales, o sulfitando aunque este método destruye la tiamina.^{43, 116}

7.3.4.2 Isomerización

La isomerización, además de provocar cambios de color, también reduce el valor nutritivo debido a que los de configuración *trans* cambian a *cis* y, en el caso del β -caroteno se destruye la actividad de la provitamina A.⁴⁴ Las temperaturas altas, aun en ausencia de oxígeno, provocan su degradación de diferentes maneras.⁴ Se han utilizado diversos compuestos volátiles provenientes de la ruptura del β -caroteno tales como iononas, tolueno, xileno y 2,6-dimetilnaftaleno al igual que compuestos oxidados como β -ciclocitral, β -ionona, 4,6-epoxi- β -ionona, 4-oxo- β -ionona y dihidroactinidiólido.^{52, 91} Se considera que se isomeriza un 15 a 35% de estos pigmentos durante el procesamiento.¹⁰⁹ Algunos de estos derivados son muy volátiles y responsables de los olores indeseables de diversos productos deshidratados como las zanahorias y las papas; de hecho las iononas tienen aroma a violetas.⁷⁵

7.3.4.3 Actividad del agua

Durante el proceso de secado, al reducir la actividad del agua, se concentran los antioxidantes y se protegen los carotenoides. A actividades de agua intermedias se ejerce un efecto protector, el cual se pierde en los alimentos sujetos a secado.^{3, 5} De igual manera en los pimientos deshidratados se observa que la eliminación de agua, hasta aproximadamente un 12%, hace que las sales cuprosas y el ácido ascórbico se concentren, con lo que se establece un medio reductor, y consecuentemente, un sistema antioxidante que protege los carotenoides.^{46, 109} Por otro lado, al ser insolubles en agua, no se pierden por lixiviación.

7.3.4.4 Procesamiento de aceites

La degradación de carotenoides varía si se encuentra en tejidos intactos o si éstos se han extraído de la fuente original, o adicionados a alimentos, ya que su estabilidad es una función de la permeabilidad de las células. Los aceites como los de soya y maíz, deben su color amarillo a los carotenoides disueltos, los cuales pueden desaparecer durante el proceso de refinación; por ejemplo, el aceite recién obtenido del maíz contiene 1.6 ppm de carotenos y 7.4 ppm de xantofilas, mientras que el aceite refinado presenta 0.5 y 4.8 ppm, respectivamente.⁴⁸ La saturación de los dobles enlaces de los carotenoides durante la refinación de aceites es la causa de la pérdida de color.

7.3.5 Usos

Los carotenoides se utilizan en una gran variedad de productos alimenticios a base de agua (jugos, refrescos, sopas, gelatinas, postres, pastas, productos de repostería y panadería y productos cárnicos), sustitutos cárnicos a base de triglicéridos (margarina, aceites, mantecas vegetales, mantequilla, quesos y productos lácteos), y se añaden a la alimentación de aves para mejorar el color de piel y de la yema de huevo.

Sin embargo, los usos de los carotenoides no se restringen a alimentos. Debido a la fuerte expansión de la acuicultura y a la necesidad de pigmentar animales de granja, en especial salmón, truchas, camarón y langosta, se ha generado a nivel mundial una gran demanda por fuentes pigmentantes.⁵⁹ Dentro de los productos que se han empleado como fuentes naturales de carotenoides están los desechos de procesamiento de crustáceos, algunas plantas, algas y levaduras, con resultados variables.¹⁰⁸

7.3.6 Carotenoides en la salud humana

Los rayos ultravioleta, el humo del cigarro, el aire contaminado, etcétera, producen diversas moléculas altamente reactivas que son capaces de generar distintos radicales libres, los que a su vez llegan a dañar las células; se considera que algunos de los problemas que causan son las enfermedades crónicas del corazón y de los pulmones, así como artritis y hasta cáncer; incluso algunos autores relacionan el proceso de envejecimiento con la producción de radicales libres.²⁵ Para protegerse contra agentes generadores de radicales libres, el ser humano cuenta con defensas naturales, entre otras con la acción de las vitaminas C y E y del β -caroteno. En el ser humano, como en todos los animales, los carotenoides son introducidos al organismo a través de los alimentos y son transportados por la sangre.⁹

Los carotenoides con un anillo de β -ionona presentan actividad biológica de provitamina A, ya que la mucosa intestinal de los animales superiores los oxida y los transforma en retinal.⁴⁴ Los carotenoides, biológicamente activos son los que tienen todas sus insaturaciones en posición *trans*.¹⁰⁶ Aunque la actividad de la provitamina A de algunos carotenoides está bien documentada, su potencial anticarcinogénico aún es objeto de intensas investigaciones; se ha estudiado con respecto a la reducción de enfermedades cardíacas y degenerativas de los ojos, así como en enfermedades de la piel.¹¹¹ El licopeno, un carotenoide que se encuentra en el tomate, previene la oxidación del colesterol de baja densidad, y reduce el riesgo de desarrollar arterosclerosis y enfermedades coronarias; según los estudios realizados en los lípidos del cuerpo humano, se demostró que el consumo de al menos 40 mg de licopeno/día son suficientes.^{9, 109} Otros investigadores manifiestan que también reduce el riesgo de desarrollar cáncer de próstata, pulmón, vejiga, cervix y piel y reduce la susceptibilidad de daños oxidativos en ADN de linfocitos.²⁵

7.4 CLOROFILAS

Las clorofilas se encuentran en todas las plantas que realizan la fotosíntesis; la clorofila es el principal agente capaz de absorber la energía lumínica y transformarla en energía química para la síntesis de los compuestos orgánicos que necesita la planta. Las hojas de la mayoría de las plantas deben su color verde a la clorofila, aunque ésta va desapareciendo al acercarse a la senescencia para dejar paso a otros pigmentos como los carotenoides. Este mismo proceso se presenta en los frutos inmaduros, que de color verde se tornan amarillos, rojos, etcétera, por la pérdida de la clorofila y la síntesis de otras sustancias coloridas en la etapa de maduración. En el caso del aceite de oliva, que se obtiene por un prensado de los frutos y se consume en forma directa ya que no se somete a ningún proceso de refinación, su color se debe a la presencia de β -caroteno y de clorofila; el primero actúa como filtro de luz, y protege al aceite contra la autooxidación, mientras que la clorofila propicia la generación de oxígenos en estado de singulete, lo que favorece esta transformación. Por esta razón, se ha comprobado que la fotooxidación del aceite de oliva está canalizada por la acción de la clorofila.³⁵

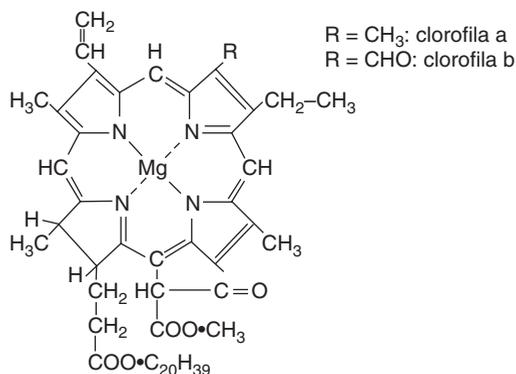


Figura 7.4 Estructura de las clorofilas a y b.

Desde el punto de vista de la tecnología de los alimentos, el interés por las clorofilas se centra en las reacciones poscosecha que degradan a estos pigmentos, incluso los que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento. Paralelamente se reconoce que la clorofila tiene efectos sobre la salud, tales como la reducción de algún tipo de tumores en animales de laboratorio.

Originalmente, a los pigmentos involucrados en la fotosíntesis de plantas superiores se les llamó genéricamente clorofilas, actualmente el nombre se extiende a todos los pigmentos fotosintéticos con estructura de porfirinas. Existen varias clorofilas reportadas: clorofilas a, b, c, d, e y bacterioclorofilas a, b, c, d y e. Las clorofilas a y b están presentes en el tejido fotosintético en una relación a:b (3:1); otras de menor importancia en alimentos son las clorofilas c (presentes en algas café, dinoflagelados y diatomeáceas, entre otras fuentes), las d (en algunas algas rojas), las e (en algas *Xanthophyta*) y las bacterioclorofilas a, b, c, d y e (en bacterias *Chromatiaceae* y *Rhodospirillaceae*).⁵⁵

Se localizan en los cloroplastos de las hojas, éstos a la vez están formados por granas de 0.2-2 μ ; estructuradas por laminillas cuyo tamaño oscila entre 0.01 y 0.02 μ ; la clorofila se encuentra en dichas laminillas formando conglomerados esféricos en un arreglo cristalino unida a lípidos, proteínas, lipoproteínas y, en ocasiones, a carotenoides.⁶² La clorofila se une a estos compuestos químicos por atracción mutua y por la afinidad del fitol a los lípidos, y la de grupo de porfirina por las proteínas. El contenido de clorofila de las hojas verdes de las plantas superiores varía con su estado de madurez, pero se puede considerar que es de aproximadamente 0.1%, en base húmeda.⁵⁶

7.4.1 Estructura

La estructura de las clorofilas es una dihidroporfirina, compuesta de cuatro pirroles y un anillo de ciclopentanona (figura 7.4). Este núcleo es el cromóforo responsable de absorber en la región visible. El compuesto metal-orgánico tiene una estructura planar resonante con 10 dobles ligaduras; este componente con magnesio también tiene una fuerte influencia en el espectro de absorción y el color de los derivados de clorofila. Por último, están presentes cadenas laterales de metilo, etilo, vinilo y ácido propiónico. La clorofila b difiere de la clorofila a debido a que tiene un grupo formilo que sustituye una de las cadenas metilo lateral, mientras que la clorofila a tiene un metilo en esta posición. La cadena lateral de ácido propiónico está esterificada a un alcohol de 20 átomos de carbono, el fitol.⁷² En el cuadro 7.4, se resumen los términos empleados para designar a las clorofilas y sus estructuras componentes.

CUADRO 7.4 Componentes de las clorofilas^{55, 72}

Grupo	Descripción
Pirrol	Uno de los cuatro anillos componentes del núcleo
Porfina	Esqueleto de 4 pirroles unidos por un puente de metilo
Porfirina	Los cuatro anillos con puentes de metilo y sustituidos por metilo, etilo o vinilo
Clorinas	Porfirinas deshidratadas
Forbina	Porfirina con adición de anillo C ₉ -C ₁₀
Forbido	La posición 7 está esterificada con fitol y no contiene Mg
Fitol	Alcohol isoprenoide de 20 átomos de carbono
Clorofila a	En posición 3 hay un metilo
Clorofila b	En posición 3 hay un formilo
Feofitina	Clorofilas sin Mg
Clorofilidas	Clorofilas sin fitol
Feoforbido	Clorofilas sin fitol ni Mg

Los espectros de absorción de la clorofila y sus derivados son específicos de cada compuesto, con dos picos de absorción máxima, uno en la región del rojo (640 a 660 nm) que da el color verde de los derivados de la clorofila, y otro en la región cercana a 440 nm, este último llamado banda de Soret, la cual identifica la presencia de clorofila (presencia de porfirina intacta) en extractos vegetales.¹⁶ Los espectros de la clorofila y la feofitina son muy diferentes en la región verde (475 a 525 nm). En general, el espectro de absorción de todos los pigmentos derivados de porfirinas y porfinas se caracteriza por bandas en amarillo, rojo o cercano infrarrojo y en el violeta o cercano violeta.¹⁰²

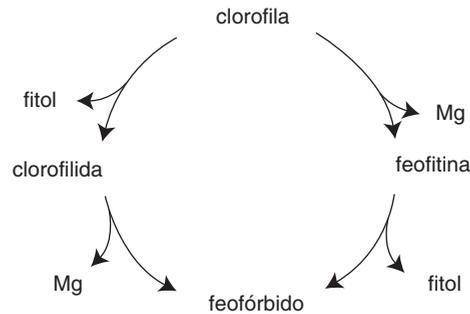


Figura 7.5 Transformaciones de la clorofila.

7.4.2 Efecto del procesamiento

La importancia en alimentos de la estabilidad de las clorofilas se debe al deterioro que sufre durante el procesamiento de vegetales. Las clorofilas se emplean poco como aditivos alimentarios, con excepción de algunas pastillas o goma de mascar.¹⁰⁴ Sin embargo, están autorizados por la Unión Europea como pigmentos naturales, junto con sus sales cúpricas.³³ En Estados Unidos se emplean como aditivos a través del uso de jugos de vegetales.⁸⁰

Los principales problemas de deterioro que ocurren en alimentos debido a la reactividad de las clorofilas se describen en el cuadro 7.5.

CUADRO 7.5 Problemas de deterioro en alimentos debidos a la reactividad de las clorofilas

- Se produce fotooxidación en productos deshidratados empacados en películas transparentes.
- En productos deshidratados, la conversión de clorofila a feofitina se relaciona con el grado de escaldado anterior.
- A actividades del agua menores a 0.32, la clorofila no se convierte a feofitina en gran escala, pero ocurren otras reacciones.
- Se produce un cambio de color durante el congelamiento y posterior almacenamiento.
- En chícharo y frijol se destruye la porfirina debido a lipoxigenasas, si no hay inhibición de esta enzima en etapas anteriores del proceso.
- En vegetales fermentados, como pepinillos que se someten a fermentación acética, se forman feofitinas, clorofilas y feoforbidos.

La alteración más común durante el procesamiento es la feofitización, que es el reemplazo del magnesio por hidrógeno y formación de feofitinas a y b color café y olivo, respectivamente. Las clorofilidas se forman por la eliminación del grupo fitol; tienen las mismas características espectrales que la clorofila y son más solubles en agua. Si a éstas se les elimina el magnesio por medio de temperaturas elevadas, se produce feofóbido hidrosoluble con las mismas características espectrales que la feofitina (figura 7.5).¹⁰⁵

Otras reacciones son la ruptura del anillo isocíclico o la ruptura del tetrapirrol, lo que produce un pigmento sin color, o clorinas, dihidroporfirinas de color café. La degradación por hidroperóxidos produce rancidez oxidativa.^{23, 103}

La eliminación del magnesio de la clorofila es un proceso irreversible. Si están presentes iones metálicos como Zn^{2+} o Cu^{2+} , que tienen un número atómico menor, forman complejos con la feofitina, produciendo un color verde brillante que, aunque no idéntico al de la clorofila, es más brillante y atractivo que el verde olivo de la feofitina.⁸³ El procesamiento de chícharos en recipientes de cobre forma la feofitina cúprica; este proceso se empleó por un tiempo para mejorar el color de los chícharos, además de que se añadía $CuSO_4$, lo que ahora es ilegal.⁷²

Esta reacción puede ocurrir a temperatura ambiente con la presencia de ácidos fuertes, o debido a fermentación ácida como es el caso de encurtidos, y pueden llevarse a cabo en forma secuencial.

7.4.2.1 Solubilidad

Por ser insoluble en agua, este pigmento no se pierde por lixiviación. Entonces, el lavado, el remojo, etcétera, de las frutas y hortalizas no provocan la disminución del color. La naturaleza no polar de la estructura hace que las clorofilas sean solubles en lípidos, dietiléter y otros solventes no polares. Las clorofilidas y feoforbidos son insolubles en grasas y solubles en agua.¹⁰⁴

7.4.2.2 Efecto del pH

Si el pH disminuye, se favorece la feofitinización por eliminación del magnesio. Esta reacción implica una modificación probable de la resonancia de los anillos, lo que da como resultado la transformación del verde al café-olivo típico de la feofitina. Los ácidos orgánicos, naturalmente presentes en algunos vegetales, también producen feofitinización. Las temperaturas altas favorecen estos cambios, ya que la clorofila se vuelve más susceptible cuando se desnaturalizan las lipoproteínas que la acompañan.¹⁰² Tal es el caso del enlatado de chícharos y espinacas procesadas, lo que se puede evitar ajustando el pH a condiciones alcalinas. Sin embargo, en estas condiciones los dos ésteres presentes se saponifican para producir clorofilidas solubles, fitol y metanol. La formación de feofitinas también ocurre durante la fermentación ácida de algunos vegetales, como los pepinillos y las aceitunas verdes.⁶²

Las condiciones alcalinas producen un ablandamiento considerable del tejido debido a la desesterificación, transeliminación de la pectina y gelatinización y solubilización de la hemicelulosa, celulosa y otros polisacáridos, por lo que debe de haber un ajuste preciso de pH para reducir la formación de feofitina sin ablandar demasiado el tejido. En el ámbito doméstico se acostumbra usar bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), mientras que en el ámbito industrial se emplea el proceso patentado Blair que consiste en ajustar el pH del agua de escalde con $NaOH$ o $Mg(OH)_2$.⁷²

7.4.2.3 Presencia de enzimas

La enzima clorofilasa (clorofil clorofílido-hidrolasa) cataliza la eliminación del fitol produciendo metil clorofilida hidrosoluble, mientras que el metiléster permanece intacto.¹⁰² Esta enzima también convierte a la feofitina en feoforbido hidrosoluble.⁸³

Los derivados de clorofilida se forman en las primeras etapas de la fermentación de aceitunas verdes, pero en etapas posteriores se convierten en feoforbido, por el desplazamiento de magnesio. La reacción ocurre naturalmente durante el proceso de maduración, catalizado por el etileno, así como en el almacenamiento de los vegetales frescos.⁸³ Generalmente, el escaldado es suficiente para inactivar la enzima, por lo que ésta no actúa en alimentos que han sido sometidos a este proceso.¹⁰⁵

Los peróxidos producidos por la lipoxigenasa de los chícharos son muy activos y pueden fácilmente oxidarla; esto ocurre cuando en los vegetales deshidratados o congelados las enzimas no fueron completamente inactivadas en el escaldado.

7.4.2.4 Exposición a la luz

La exposición muy intensa a la luz causa cambios semejantes a los producidos por las lipoxigenasas; la oxidación de la clorofila es más evidente a pH ácidos.⁶²

7.4.2.5 Tratamiento térmico

Además de promover la feofitización, las temperaturas altas causan la degradación de los monosacáridos del producto y los transforman en ácidos como el acético. Además, la pirofeofitina se sintetiza a partir de la feofitina por efecto del calentamiento en diversos vegetales enlatados.¹⁰⁵

7.5

PIGMENTOS FENÓLICOS

Los pigmentos fenólicos son sustancias con uno o más anillos aromáticos y, al menos, un sustituyente hidroxilo. Existen dos grandes grupos: los ácidos fenólicos (benzoico y cinámicos) y los flavonoides (flavonoides, antocianinas y taninos). Los ácidos fenólicos tienen un solo anillo, mientras que los flavonoides tienen dos anillos fenólicos unidos por un anillo heterocíclico. Los pigmentos fenólicos reaccionan fácilmente con un ácido orgánico o un azúcar, como los flavonoides y las antocianinas, o entre sí para formar polímeros, como los taninos.

7.5.1 Flavonoides

Los flavonoides (del latín *flavus*, amarillo) y las antocianinas son compuestos fenólicos solubles en agua, metanol y etanol, con características de glucósidos; contienen como aglucón un núcleo flavilo al cual se une una fracción azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. En realidad, algunos flavonoides son precursores en la biosíntesis de antocianinas.⁶⁵

Son pigmentos no nitrogenados, con un esqueleto de difenilpropano derivado del ácido shiquímico.⁹⁴ Los flavonoides pueden tener estructuras simples o muy complejas, debidas a la polimerización, como es el caso de los taninos condensados, que alcanzan pesos superiores a 30,000 Da. Hay

13 subclases de flavonoides, lo que da un total de más de 5,000 compuestos que proporciona colores amarillos y naranjas a frutas como peras, fresas, manzanas, cerezas, duraznos, naranjas y limones;¹¹⁴ así como a hortalizas como cebollas y brócoli, y otros alimentos como el té verde, en donde son responsables en gran parte de su astringencia. Otros flavonoides proporcionan el color rojizo de las hojas de otoño.¹¹⁵ Muchas veces los flavonoides son la respuesta adaptativa de las plantas a la radiación intensa. Dado que tienen una estructura química muy parecida a la de las antocianinas, normalmente se encuentran en diversos frutos junto con ellas ya que ambos grupos de pigmentos siguen un proceso biosintético común. Muchos flavonoides son especies reactivas que sirven de sustratos a varias enzimas, a través de los cuales se forman otros pigmentos debido a degradación o decoloración, o por la formación de pigmentos por transformación *de novo* a partir de precursores coloridos o incoloros.²⁸

Aunque se ha descrito que poseen propiedades benéficas para la salud, existe controversia sobre la actividad biológica de algunos flavonoides, sobre todo de los provenientes de las cáscaras de los cítricos;¹³³ a éstos se les ha llamado genéricamente vitamina P o bioflavonoides, y se considera que ayudan a mantener una permeabilidad adecuada de los capilares del sistema circulatorio y que protegen contra las infecciones virales, como el resfriado común; también se les atribuye una acción sinérgica con la vitamina C y un efecto antagonista con la hialuronidasa.⁵⁷ Sin embargo, estas propiedades no han sido completamente comprobadas, por lo que es todavía un asunto de estudio.

7.5.1.1 Estructura

El aglucón está formado por un esqueleto consistente en dos anillos bencénicos (A y B) y uno heterocíclico con oxígeno (C) formando un núcleo fenil-2-benzopirona.²⁸ Por la posición trivalente del oxígeno, al aumentar el grado de oxidación se producen más dobles ligaduras y, en consecuencia, mayor deslocalización de electrones, lo que hace que la estructura absorba a mayor longitud de onda.^{30, 74} Por tanto, el grado de deslocalización de electrones hace que existan pigmentos incoloros cuando el anillo C está saturado como en el caso de los flavonoles, o produciendo varias clases de coloraciones, desde los amarillos (como las flavonas, flavonoles y chalconas) hasta las antocianinas rojas y azules.^{56, 84}

Estos aglucones se unen a glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ácido glucurónico. Se sustituyen en posiciones 7, 5, 4', 7 y 4', 3'. La posición más común, a diferencia de las antocianinas, es la 7 por ser la más ácida; pueden estar acil-sustituídos como en el caso de las antocianinas.¹²⁸

7.5.1.2 Flavonoides en alimentos

Enseguida se presentan los flavonoides de mayor importancia en los alimentos (figura 7.6).^{56, 128, 133}

El de los *flavonoles* es el grupo más importante: la quercetina se encuentra en la cebolla, miel, manzanas, brócoli, cerezas, uvas, col, col de Bruselas, espinacas y habas; el kampferol en fresas, puerro, brócoli, rábano y remolacha; y la miricetina en uvas. Dada su capacidad de capturar radicales libres y de crear complejos con los iones metálicos, tienen una actividad antioxidante muy alta; sin embargo, el hecho de que sean poco solubles en lípidos los hace poco adecuados para este fin; también inhiben la oxidación de la vitamina C en algunos alimentos. La rutina, un flavonol derivado de la quercetina, interacciona con iones hierro y estaño; con los primeros forma complejos muy oscuros que se han identificado en los espárragos enlatados, mientras que con el estaño produce coloraciones amarillas; esto se debe tomar en cuenta durante el procesamiento de esta hortaliza, sobre todo

en relación con la calidad del agua que se debe emplear y con el tipo de lata que se requiere para este propósito.

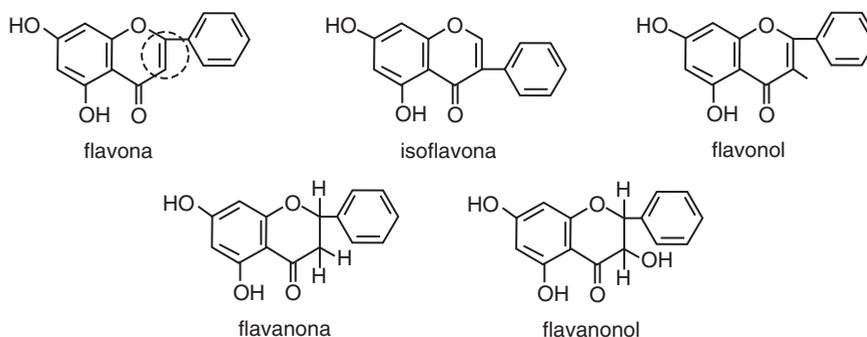


Figura 7.6 Diferencias básicas de los aglucos de los flavonoides.

Los *flavandioles*, que aunque son incoloros, aquí se consideran por su similitud estructural con las antocianinas y en algunas condiciones dan productos con color. La estructura básica es el flavan-3,4-diol, que forma trímeros o polímeros superiores por uniones 4-8 o 4-6. Todos producen una antocianina al calentarse con ácido mineral. También contribuyen al sabor de aceitunas, plátanos, chocolate, té y vino, y a reacciones de oscurecimiento por sus grupos ortohidroxilo. Su tamaño molecular es de 2 a 8 unidades.

Las *isoflavonas* tienen actividad estrogénica, sobre todo la genisteína, la daidzeína y la gliciteína, que se encuentran como glucósidos en la soya, la alfalfa y en otras plantas. En términos generales, su acción es reducida, sin embargo, cuando algunos animales las consumen en exceso, presentan problemas en su reproducción. Se encuentran en soya y comidas preparadas con esta leguminosa: tofu, tempeh, leche de soya, texturizados, miso, etcétera. Los dos isoflavonoides más abundantes son la genistina y la daidzeína.

Las *protoantocianidinas* o *leucoantocianidinas* están constituidas por unidades flavilo con diversos grados de condensación; además contienen carbohidratos y restos de aminoácidos (figura 7.7). Se presentan en la madera, la corteza y las raíces de plantas como el eucalipto, oyamel y mangle. Como reaccionan con las proteínas de la misma forma que el ácido tánico con la piel, también se les llama taninos condensados, aunque es un término incorrecto. Su presencia más importante es en semillas de uva, vinos tinto, rosado y fortificados como el jerez. Estos compuestos son incoloros, pero por medio de una modificación química pueden formar su correspondiente antocianina coloreada.

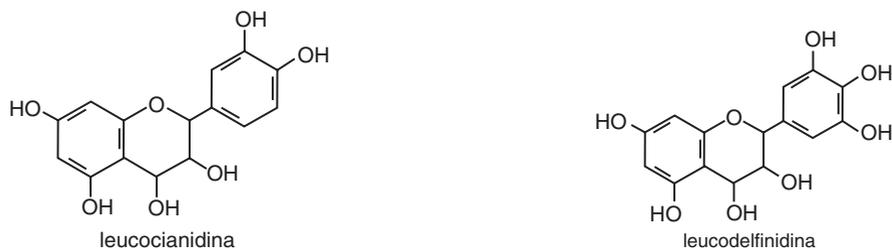


Figura 7.7 Dos protoantocianidinas comunes en alimentos.

Entre las *flavonas*, *flavanonas*, *chalconas* y *dihidrochalconas* destacan la hesperidina, encontrada en limones, mandarinas y naranjas, y la naringina en toronjas y naranjas amargas, que se pueden cuantificar mediante técnicas cromatográficas y por lo tanto identificar en los diferentes cítricos. En la fabricación de jugos concentrados se depositan pequeños cristales de estos flavonoides en el equipo de procesamiento; estos cristales se eliminan aprovechando su solubilidad en hidróxido de sodio y, si se desea, pueden recuperarse por precipitación con ácido. La naringina está constituida por la naringenina, una flavona, cuya posición 7 está sustituida por el disacárido neohesperidosa,⁶ el cual, a su vez consiste en una molécula de ramnosa unida a otra de glucosa por medio de un enlace glucosídico $\beta(1,2)$. La naringina es en gran medida responsable del sabor amargo de la naranja y de la toronja, aunque su aglucón correspondiente es insípido. Su sabor se pierde por la acción de la enzima naringinasa con actividad de carbohidrasa que hidroliza la neohesperidosa. En los cítricos, al igual que en algunos hongos como *Aspergillus* spp. se ha identificado la enzima e incluso se ha aislado y usado para eliminar el amargor de jugos de naranja provenientes de ciertas variedades. Recientemente, la naringina y la neohesperidina han adquirido mucha importancia ya que, tanto sus chalconas como sus dihidrochalconas, tienen un dulzor de aproximadamente 1,500 veces el de la sacarosa. Se han realizado numerosas investigaciones sobre estos derivados por considerar que pueden ser sustitutos de los edulcorantes sintéticos, que se han eliminado del mercado de muchos países por su toxicidad. Las chalconas se obtienen por un tratamiento alcalino y, cuando se reducen catalíticamente con hidrógeno, se producen las dihidrochalconas, aún más dulces que las primeras (figura 7.8).⁴⁰

Otros flavonoides son: catequinas (catequina y epicatequina presentes en té verde *Magnolia sinensis*, peras, nueces y cacao, proporcionando astringencia), auronas (floretilina y floridizina, entre otras), dihidroflavonoles y flavanoles. Las antocianidinas, pertenecientes también a los flavonoides, por su importancia en alimentos se tratarán a continuación.

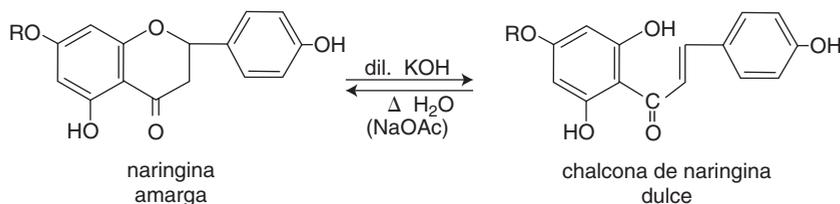


Figura 7.8 Conversión de naringinina a dichalcona de naringinina.

7.5.2 Antocianinas

Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) se consideran una subclase de los flavonoides; también se conocen como flavonoides azules. Son compuestos vegetales no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides, de amplia distribución en la naturaleza. A pesar de contener pocos grupos cromóforos, se han identificado 300 de estos compuestos, que son responsables de una gama muy amplia de colores, desde el incoloro hasta el púrpura. Producen colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, fresas y otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y las manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las fresas y las ciruelas.

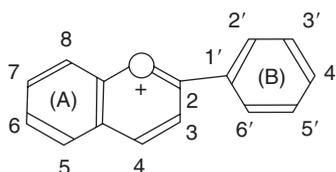


Figura 7.9 Estructura del grupo flavilo.

Al igual que los flavonoides, el aglucón está formado por un esqueleto consistente en dos anillos bencénicos y uno heterocíclico con oxígeno. El núcleo central flavilo constituye la antocianidina, que unida a la fracción azúcar, forma las antocianinas. Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares generan aproximadamente las 300 antocianinas que se mencionaron antes. Es muy común que una misma antocianidina interactúe con más de un carbohidrato para formar diferentes antocianinas.

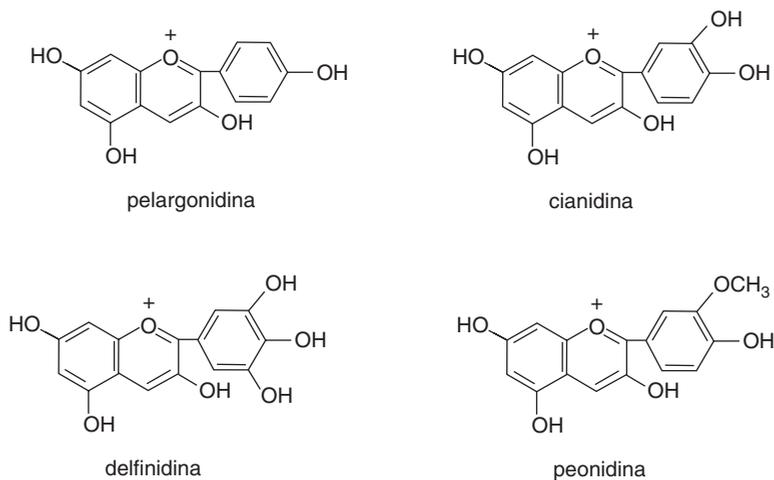


Figura 7.10 Estructura de algunas antocianinas de importancia en alimentos.

7.5.2.1. Estructura

Las antocianinas son las formas catiónicas de flavilo. Todas las antocianinas están hidroxiladas en las posiciones 3, 5 y 7, pero difieren en la sustitución del anillo B. Por el fenómeno de deslocalización de electrones, a medida que el número de sustituyentes de la fracción antocianidina aumenta, el color del catión flavilo absorbe a mayores longitudes de onda, desde 520 en la pelargonidina hasta 546 nm en la delfinidina. Por otro lado, la metilación de los grupos hidroxilo promueve un efecto ba-

tocrómico, es decir, desplazamiento de la absorción máxima, por tanto, la petunidina y malvinidina absorben a 543 y 542 nm, en lugar de 546 nm en la delfinidina.¹⁰³

Sólo se han encontrado cinco azúcares que forman parte de la molécula. En orden de abundancia son: glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa y, ocasionalmente, gentiobiosa, rutinosa y soforosa; todos estos compuestos se unen a la antocianidina principalmente por medio del hidroxilo de la posición 3, y en segundo término, en posición 5 o 7. De acuerdo con el número de azúcares que contengan son monóxidos (en posición 3), bióxidos (en posiciones 3 y 5) y trióxidos (dos en posición 3 y una en posición 5). La glucosilación también da como resultado un efecto batocrómico, además de aumentar la solubilidad y estabilidad del pigmento.⁵⁶

Cuando en una misma molécula se encuentran dos azúcares, éstos se localizan en los hidroxilos 3 y 5, generalmente acilados con ácidos cinámicos (p-cumárico, caféico y ferrúlico) y con ácidos alifáticos (acético, malónico y succínico) e hidroxibenzoicos, que producen una estructura que generalmente es más estable que cuando sólo contienen un solo monosacárido. La acilación no tiene efecto en el color, pero hace más estable al pigmento, por ejemplo, algunas antocianinas muy estables, como las de uvas, col morada y rábano, están aciladas, lo que permite que las antocianinas de cáscara de uva y de jugo de col morada sean comercializados como colorantes de alimentos.¹³

Debido a que las antocianidinas no existen en estado libre en los alimentos, su presencia es indicio de una posible hidrólisis química o enzimática del enlace glucosídico; esta reacción no necesariamente causa la pérdida del color, pero el aglucón se vuelve más sensible a muchos factores externos, e incluso puede precipitar; en ambos casos el color se ve fuertemente afectado después de algún tiempo.⁶

7.5.2.2 Estabilidad

A pesar de que las antocianinas abundan en la naturaleza, no se ha formalizado su uso como colorantes en alimentos, ya que son poco estables y difíciles de purificar para emplearlas como aditivo. Los desechos de la industria vitivinícola y de la de jugos de frutas, son buenas fuentes de estos pigmentos; éstas se pueden obtener por extracciones alcohólicas y se ha sugerido emplearlas en algunos productos deshidratados.¹⁵

Efecto del pH

El núcleo de flavilo es deficiente en electrones y por lo tanto muy reactivo, lo que lo hace muy sensible a cambios de pH. Por otra parte, al madurar las frutas, el pH cambia, y con ello el color. Estos cambios de las antocianinas se deben a modificaciones en su estructura, que en muchos casos son reversibles.

Las diferentes coloraciones de las antocianinas también se deben a la conversión del catión flavilo a formas secundarias de las antocianinas en medios acuosos así como a interacciones moleculares. Debido a una deficiencia del núcleo de flavilo, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH. A pH ácidos adquieren una estructura oxonio estable de catión flavilo colorido. Al aumentar el pH se promueve la desprotonación del catión flavilo; a pH 7.0 y superiores debido a la desprotonación continuada predominan las formas quinoidales, en estos casos el efecto batocrómico es considerable y afecta el color en tal forma que se presenta una coloración azul. Otro ejemplo es el cambio de color de las fresas; el pH del glucósido de pelargonidina-3-glucósido, predominante de las fresas, es 3.0; sin embargo, el jugo de fresa tiene un pH 3.5, lo que hace que cerca del 50% del pig-

mento sea incoloro. Las fresas, con pH 3.5, tienen un cambio de color de rojo a azul rojizo cuando se añaden a yogurt a pH 4.3. Por tanto, una limitante del uso de colorantes basados en antocianinas es que se reduce su intensidad y aumenta la tonalidad azul al pH de la mayoría de los alimentos procesados, además de producirse las formas hemiacetal y quinoidal azules o incoloras, menos estables y más fáciles de degradarse.^{15, 28, 40}

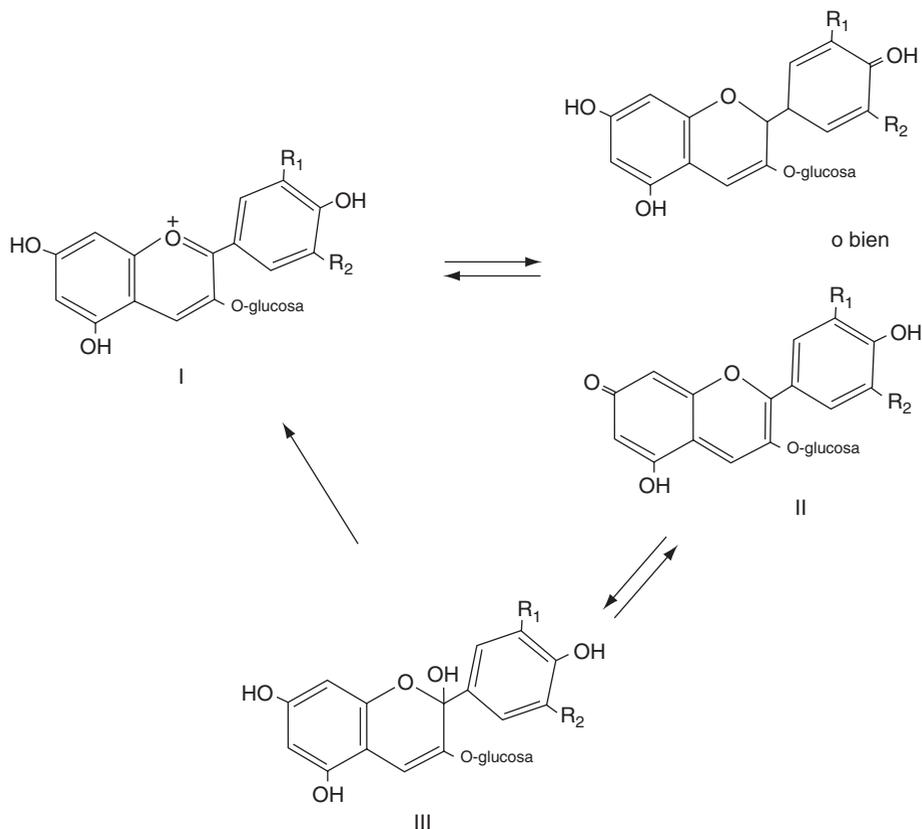


Figura 7.11 Reacciones de la transformación estructural de las antocianinas en el intervalo de pH de 1 a 7. En un pH ácido se encuentra en forma de flavilo (I) de color rojo; en un pH > 5 se produce la base anhidra (II) de color púrpura. Tanto la sal del flavilo como la base anhidra pueden convertirse en la base carbinol (III) incolora que predomina en el intervalo de pH de 4 a 5.

Asociación con otros compuestos y iones

En el intervalo de pH encontrado en las plantas y sus derivados, 3 a 7, las antocianinas están como estructuras incoloras, a menos que haya un mecanismo estabilizante que forme complejos del cromóforo antocianina con otras especies, que pueden ser otra molécula idéntica (autoasociación), con uno de sus grupos sustituyentes acilo (pigmentación intramolecular), o con otra molécula (copigmentación).²⁸

El cambio de color de los vinos de rojo púrpura a café-rojizo se debe a la formación de polímeros estables de antocianina-taninos, resultado de la copigmentación ya mencionada. Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (catequinas, taninos o flavonoides) o con algunos polisacáridos, ya que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores.⁴⁰ En ocasiones, como en el caso de los vinos tintos con un alto contenido de taninos, se producen grandes agregados poliméricos con tamaños y características coloidales que pueden llegar a sedimentar.⁸⁶ A medida que el vino se añeja, cambia de un rojo brillante a un rojo-café o más oscuro; esto va acompañado de una reducción de la concentración de las antocianinas monoméricas y de un incremento en la producción de compuestos poliméricos.^{67, 81} En algunas frutas, como la fresa de las mermeladas, se presenta un fenómeno similar; en este caso, al cabo de algunos meses su color rojo ya no se debe a las antocianinas monoméricas, sino a las formas poliméricas.⁷⁸

La pigmentación intramolecular y la copigmentación favorecen tanto la intensidad del color como su estabilidad. Los pigmentos rojos de antocianinas se aíslan también de flores azules. Estos colores se definen como copigmentación de antocianinas, sobre todo con aquellas que tienen dos grupos en posición *orto*, con flavonoides amarillos y otros polifenoles, o a la formación de complejos con iones de aluminio, potasio, hierro, cobre, calcio o estaño, así como con aminoácidos, proteínas, pectinas, carbohidratos o polifenoles, produciendo compuestos café-rojizos de degradación llamados flavofenos, que también contribuyen al color de los vinos. El mecanismo de decoloración en presencia de azúcares reductores, sobre todo de la fructuosa, se relaciona con la descomposición de este monosacárido a hidroximetilfurfural, que reacciona a la vez con los pigmentos.³²

Por esta razón se recomienda que las latas que se empleen para los alimentos que contengan antocianinas se recubran con una laca protectora que evite el desprendimiento de los metales como Na⁺, K⁺ o con Ca²⁺ o Mg²⁺ que promueven el cambio de color al formar sales. También hay que tener en cuenta las sales y los minerales propios del agua empleada en la preparación industrial de las frutas y hortalizas.⁵¹

Efecto de enzimas

Cuando la integridad del tejido se daña, las enzimas como polifenoloxidasas, peroxidadas, glicolasas y esterasas degradan a los compuestos fenólicos, transformando a los substratos incoloros en pigmentos amarillos a través de oscurecimiento enzimático. Aunque las antocianinas no reaccionan fácilmente con las polifenoloxidasas de las plantas, sí reaccionan con las *o*-quinonas producidas por la oxidación enzimática de fenoles a través de la formación de quinonas. Las peroxidadas afectan a las antocianinas por ruptura del anillo heterocíclico al degradarse rápidamente cuando existe catecol, ya que éste, al transformarse en *o*-quinona, oxida estos pigmentos. Las glucosidasas rompen la unión del aglucón, lo que genera compuestos incoloros.⁷⁸ Otra causa de las pérdidas de estas sustancias son las reacciones efectuadas por enzimas endógenas o fúngicas con actividad β -glucosidasa, o antocianidasas, que hidrolizan el enlace glucosídico en posición 3, y producen el correspondiente aglucón, el cual es más inestable que la antocianina de donde proviene, por lo que su degradación es más rápida. Por tener estructuras fenólicas, son atacadas también por fenolasas.

Efecto de ácidos

El ácido ascórbico decolora a las antocianinas en presencia de iones cobre o hierro por formación de peróxido de hidrógeno, produciéndose la degradación de ambos compuestos cuando se almace-

nan por tiempos prolongados. El mecanismo incluye la formación de peróxidos, producto de degradación del ácido ascórbico, los cuales reaccionan con el azúcar en posición 3 incluso a un pH 2, cuando el pigmento es más estable.¹¹² La estabilización de las antocianinas del jugo de algunas variedades de naranja se ha logrado con la adición de ácido tartárico que cambia el equilibrio del sistema hacia la forma de flavilio, y con glutación que actúa como antioxidante; igualmente, estos pigmentos son más estables cuando forman un complejo con compuestos fenólicos, como la rutina y el ácido caféico.⁷⁸

Sulfitado

El sulfitado de frutas es importante para el almacenamiento de frutas antes de fabricar jaleas o conservas. Sin embargo, puede inducir decoloración de antocianinas, lo que hace que la fruta tome un color amarillo debido a la presencia de otros pigmentos. El proceso se debe a la adición de sulfito en posiciones 2 o 4, produciendo pigmentos incoloros. El anhídrido sulfuroso y los sulfitos que se usan en la conservación de los frutos tienen un efecto decolorante sobre estos pigmentos, pues se producen formas sulfónicas en las posiciones 2 y 4 que son incoloras, aunque la reacción es reversible; la eliminación de estos agentes con ácidos o mediante calor, regenera la coloración. Como es de esperar, la concentración de SO_2 tiene una influencia muy marcada en la velocidad de decoloración del vino tinto; cabe indicar que estas mismas formas sulfónicas ejercen paralelamente un efecto estabilizador sobre el enlace glucosídico y evitan la hidrólisis de la antocianina.¹² Las figuras 7.12 y 7.13 muestran estas transformaciones.

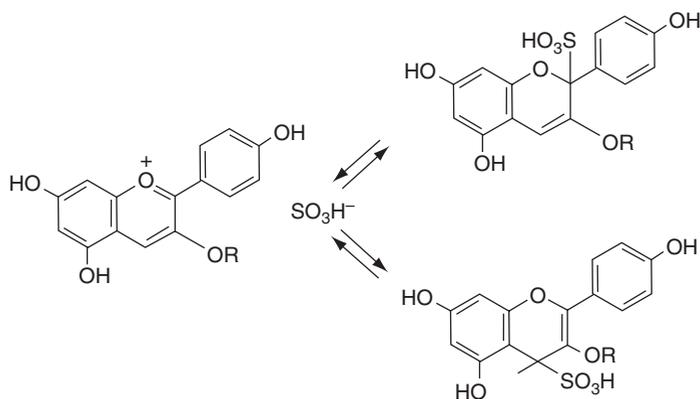


Figura 7.12 Reacción de antocianinas con bisulfito de sodio.

Presencia de oxígeno

El oxígeno disuelto tiene un efecto negativo en la estabilidad de las antocianinas,⁴⁷ sobre todo en las del vino; puede eliminarse por varios métodos como la reacción con glucosa oxidasa, ya que consume oxígeno durante la transformación de la glucosa en ácido glucorónico. Se recomiendan espacios de cabeza muy pequeños o envasar los vinos en atmósferas inertes para evitar los cambios de color durante el almacenamiento.⁸¹

Procesamiento

En general, los flavonoides son más estables ante el calor y las reacciones de oxidación que las antocianinas y resisten la mayoría de los tratamientos térmicos que se emplean en la manufactura de los alimentos enlatados. Los tratamientos térmicos también influyen marcadamente en la destrucción de las antocianinas; se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida del color y la temperatura.⁵⁶ La figura 7.14 muestra la degradación de las antocianinas del jugo de uva cuando es calentado en diferentes condiciones y almacenado; se puede observar una gran diferencia entre la absorbancia del control de los productos tratados térmicamente. Así como ocurre con las vitaminas y otros pigmentos, los sistemas de alta temperatura-corto tiempo son más adecuados para conservar el color de los alimentos; esto se debe a la diferencia de los valores de Z y de D_{121} entre los microorganismos y las antocianinas (capítulo 6).

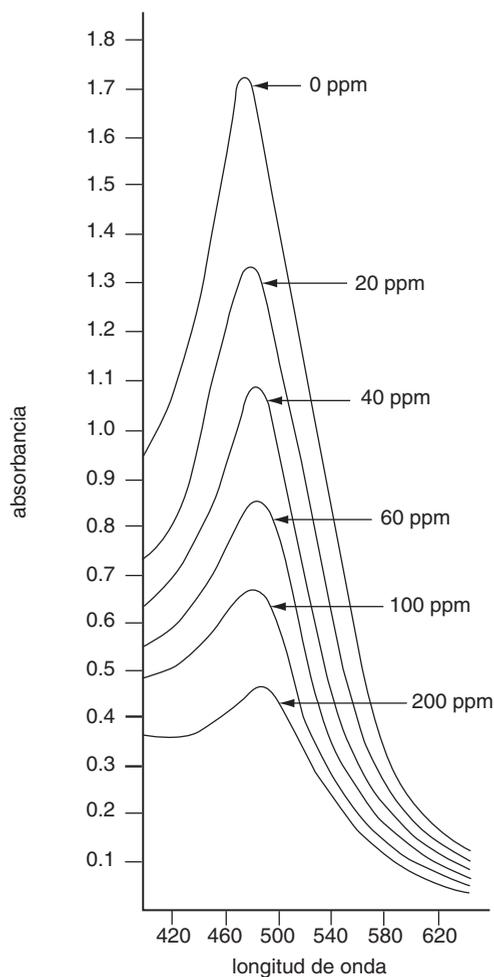


Figura 7.13 Decoloración de las antocianinas del jugo de uva por acción del anhídrido sulfuroso.

Dada su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos se pueden perder fácilmente por lixiviación; a medida que aumenta la temperatura se acelera la decoloración de las frutas, ya que se favorece la extracción, por lo que incluso se llega a obtener productos prácticamente incoloros.¹²⁷

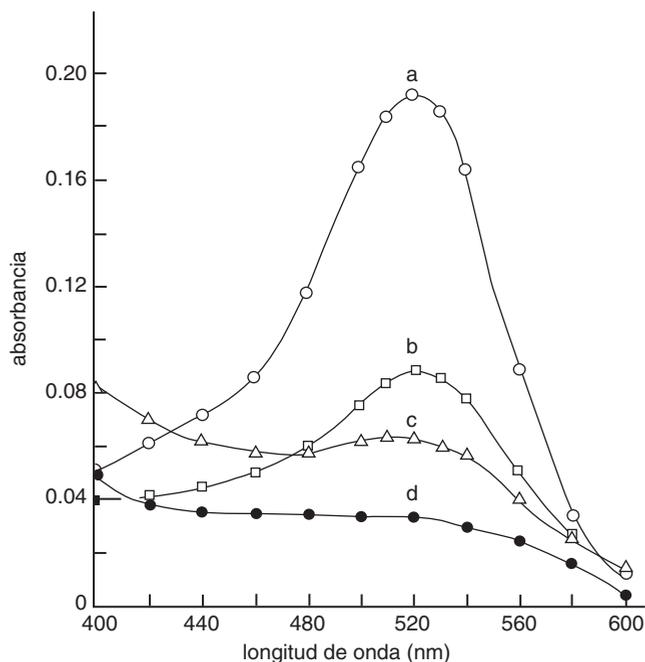


Figura 7.14 Curva espectrofotométrica de la degradación de las antocianinas del jugo de uva durante el almacenamiento: (a) control sin calentar; (b) calentando a 99°C por 1 hora; (c) calentando a 99°C por 2 horas; (d) jugo de uva comercial.

7.5.3 Taninos

El Index Merck define los taninos como una mezcla compleja encontrada en la corteza del roble. Sin embargo, están presentes en aproximadamente 500 especies de plantas, se acumulan en raíces, cortezas, frutos, hojas y semillas. Entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos están: *Leguminosae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Rhizophoraceae* y *Myrtaceae*. Algunos géneros como las acacias (*Acacia* spp.), los encinos (*Quercus* spp.) y algunos pinos (*Pinus* spp.) que habitan los bosques de pino-encino o zonas de transición son importantes en la producción de estos pigmentos a escala industrial.¹³⁴

Son una clase de compuestos fenólicos incoloros o amarillo-café, y con sabor astringente y amargo, solubles en agua, alcohol y acetona. De acuerdo con su estructura y reactividad con agentes hidrolíticos, particularmente ácidos, se han dividido en dos grupos: taninos hidrolizables o pirogálicos y taninos no hidrolizables o condensados. Su peso molecular varía normalmente de 500 a 3,000 Da; por su estructura presentan propiedades reductoras. Los taninos hidrolizables son sustancias poliméricas complejas que a su vez se clasifican en galotaninos cuando derivan del ácido gálico, y elagita-

minos cuando provienen del ácido elágico, dímero del ácido gálico. El ácido gálico puede estar en forma de glucósido al unirse a una molécula de glucosa, o esterificarse consigo mismo produciendo ácidos di y trigálicos. Por su parte, los taninos no hidrolizables o condensados son dímeros de la catequina (flavan-3-ol) o de antocianidinas (flavan-3,4-diol); algunos de ellos producen una antocianidina coloreada cuando se tratan con ácidos calientes.²⁸ Los taninos condensados o protoantocianidinas tienen una estructura flavonoide, por tanto se trataron en el apartado de estos pigmentos (7.5.1).

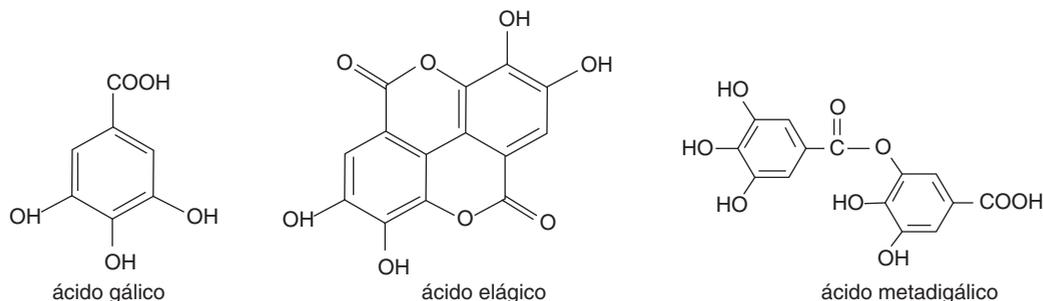


Figura 7.15 Estructura de los ácidos gálico, elágico y metadigálico.

7.5.3.1 Reactividad

Antiguamente los taninos se utilizaban como colorantes de pieles y alimentos. Su capacidad como precipitantes de proteínas se ha utilizado en la curtiduría de pieles, el mecanismo es una interacción de los taninos con las cadenas peptídicas, que establece uniones resistentes al agua y al calor. Esta combinación de los taninos con las proteínas forma precipitados resistentes al ataque microbiano, lo que impide la putrefacción.¹³³ Su poder astringente, fundamentalmente una reacción muy suave de precipitación de glucoproteínas de la saliva que reduce las características de lubricación de ésta, es una característica deseable en algunos alimentos como el vino tinto, y algunas jaleas y mermeladas.

Los taninos se consideran también antioxidantes, con capacidad de atrapar los radicales libres.¹³⁴ Se oxidan con facilidad en presencia de oxígeno, e intervienen en reacciones de oscurecimiento en algunas mermeladas, a través de reacciones de tipo fenólico.

Los taninos reaccionan con cloruro férrico y otras sales, presentan combustión a un punto de ignición de 199°C y autoignición a 528.5°C. La mayoría de los animales no metabolizan los complejos que se forman entre proteínas y taninos, lo que hace que se reduzca el valor nutritivo del alimento; las interacciones de estos dos conjuntos se favorecen a temperaturas altas y en ciertas condiciones de pH y de fuerza iónica.

7.5.3.2 Extracción de taninos de fuentes vegetales

Actualmente la producción de taninos de origen vegetal es reducida, ya que en el mercado se consumen derivados de procesos químicos alternativos; así, se estima que en Estados Unidos sólo el 18% de los taninos que se comercializan se obtienen de especies de bosque templado.

La corteza de árboles que se utiliza con fines industriales de producción se recolecta de árboles vivos o de árboles de reciente derribo, principalmente de acacias y encinos, entre los meses de abril a mayo. El aprovechamiento de zonas forestales está legislado por la Norma Oficial Mexicana NOM-005-RECNAT-1997, la cual se refiere específicamente al género acacia. La extracción de los

taninos es por lixiviación con agua caliente (60 a 82°C), posterior filtración para eliminar impurezas no tánicas, blanqueo por sulfitado y, por último, secado para la obtención de un polvo.¹³⁴

7.5.3.3 Taninos en alimentos

Además de proporcionar color a algunas mermeladas y jaleas, la presencia de taninos en productos alimentarios como salvia y menta, contribuyen al sabor de éstos. De especial importancia es la presencia de taninos en vinos. Además de que se emplean como clarificantes al precipitar proteínas presentes en los mostos, la presencia de determinada cantidad de taninos define su sabor. Los que se encuentran en los vinos jóvenes son taninos hidrolizables con dos o tres unidades, mientras que en los vinos viejos están presentes taninos condensados, con hasta 10 moléculas; los polímeros de más de 10 unidades fenólicas son insolubles y precipitan. Una forma de expresar el contenido de taninos en los vinos es por su equivalente de ácido gálico: el rojo de mesa contiene 750 mg de equivalentes/litro, mientras que el de tipo jerez y el rosado presentan 150 y 110, respectivamente.⁹⁰ Los fenoles se oxidan fácilmente a quinonas, catalizados por sistema enzimáticos como lacasa y tirosinasa. La calidad de los vinos depende de la proporción de fenoles y quinonas presentes; una oxidación controlada produce un vino “maduro”; en cambio, cuando la oxidación es muy rápida o muy intensa, se producen sabores y olores indeseables.⁸¹

Los taninos también sirven de sustrato en las reacciones de oscurecimiento enzimático, sobre todo en productos como el café y el cacao, y son los responsables de la astringencia de muchos frutos en estado inmaduro, como el plátano, la pera, la uva, la manzana, etcétera.⁶

7.6 BETALAINAS

Este término se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados de la 1,7-diazoheptametina, y que se han dividido en dos grandes clases: los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas.⁴⁰

Son parecidas a las antocianinas y flavonoides en apariencia visual. Anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran sólo en 10 familias: *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellanaceae*, *Cactaceae*, *Chenopodaceae*, *Didiereaceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaccaceae* y *Portulacaceae*.⁴¹ También se han encontrado algunas betalainas de origen fúngico. Las betalainas, al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas celulares de las flores, frutas y hojas que las sintetizan, principalmente en la epidermis y subepidermis.

A la fecha se ha aislado una betacianina violeta, la muscapurpurina, y siete betaxantinas amarillas, las muscaurinas, del hongo venenoso *Amanita muscaria*. De las fuentes de betalainas, sólo el betabel, el amaranto y las frutas de cactáceas (tunas rojas, pitaya, garambullo, jiotilla)⁴¹ son productos alimentarios. En el betabel, la betalaina corresponde a un 75-95% de los pigmentos, los otros son isobetanina, prebetanina e isoprebetanina; los dos últimos son monoésteres sulfatados de la betanina e isobetaina, respectivamente. Los pigmentos amarillos más abundantes en el betabel son vulgaxantina I y II. La presencia de betalainas en plantas es mutuamente excluyente de la de antocianinas. La del amaranto (*Amaranthus tricolor*), amarantina (figura 7.16), es una de las betacianinas que últimamente ha sido motivo de investigación, se ha usado en algunos países para colorear diversos alimentos.^{20, 61, 117}

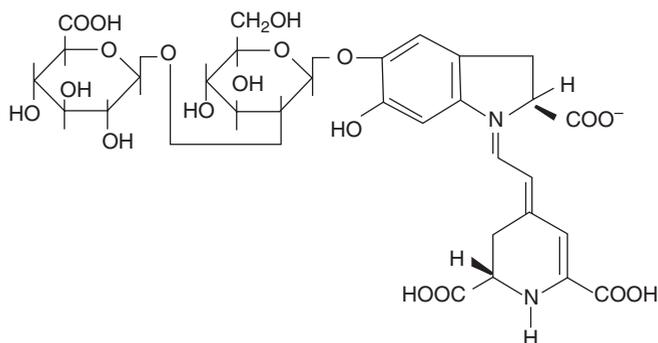


Figura 7.16 Estructura de la amarantina.

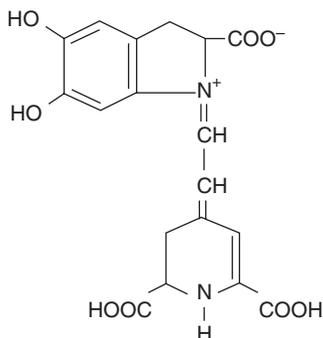


Figura 7.17 Estructura de la betanidina.

Las betalinas son uno de los pigmentos autorizados como aditivos por la FDA que no necesitan certificación; se comercializan como polvo de betabel, que incluye el pigmento y estabilizantes como azúcares y proteínas y antioxidantes.

Dado que existen restricciones de tipo legal en el uso de colorantes rojos sintéticos, se ha sugerido emplear a las betalaínas en diversos alimentos; sin embargo, por las limitaciones en su estabilidad, su uso se restringe a alimentos como gelatinas, bebidas y postres en general, en los que el pigmento se conserva más fácilmente. Las betalaínas se obtienen en forma de concentrado o de deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido; la purificación de los pigmentos se logra por medio de ultrafiltración y de ósmosis inversa. Incluso, debido a su potencial, se ha ensayado el cultivo de tejidos para producir betabeles con un mayor contenido de betaninas.¹²⁶

7.6.1 Estructura

Las betaxantinas y betacianinas se diferencian por la sustitución del anillo 1,7-diazaheptametina protonado, el aglucón cromóforo.⁶⁵ Las betaxantinas amarillas no incluyen a los grupos R y R' en el sis-

tema resonante del anillo cromóforo; si la resonancia se extiende a los grupos R y R', se produce el color rojo de las betacianinas. En las betaxantinas, el anillo ciclodopa de la betacianina (figura 7.17) es desplazado por un grupo amino o por un aminoácido; por lo que puede haber más de 200 betaxantinas. En los frutos del cactus *Opuntia ficus indica*, la principal betaxantina es la indicaxantina que contiene a un triptofano.⁹⁸ En la remolacha se encuentran la vulgaxantina I y vulgaxantina II, sustituidas por glutamina y ácido glutámico, respectivamente.⁶⁰

Las betacianinas tienen como aglucón a la betanina o isobetanidina, como contiene tres grupos carboxilo su naturaleza es altamente iónica, además de un grupo fenol y dos carbonos asimétricos en las posiciones 2 y 5; se pueden hidrolizar con ácidos o enzimas para formar aglucones y el azúcar respectivo. El aglucón se presenta en dos formas isoméricas, como betanina e isobetanina en el betabel, y como amarantoina e isoamarantina en el amaranto.⁵⁸ Sin embargo, también existen otras formas, de acuerdo con el sustituyente unido al aglucón; por ejemplo, en el betabel además de betanina e isobetanina, también se encuentran prebetanina, isoprebetanina, betanidina e isobetanidina. Las betacianinas absorben luz a 537 nm y las betaxantinas a 480 nm. La betacianina más abundante es 5-O- β -glucósido de betanidina; los azúcares esterificados más abundantes son glucosa, soforosa y ramosa.⁵⁸ Puede ocurrir también la acilación si el grupo acilo está esterificado al azúcar. Los grupos acilo pueden ser: ácidos sulfúrico, malónico, cítrico, 3-hidroxi-3-metilglutámico, *p*-cumárico, ferrúlico, cafeico y sinápico.¹²⁷

7.6.2 Estabilidad

La estabilidad de las betalainas es restringida, debido a que su color se altera por varios factores: pH, temperatura, actividad acuosa y luz; no se ha logrado la estabilización de estos pigmentos a través de acilación o sustitución de la molécula, aunque su estabilidad puede aumentar si se añaden antioxidantes como ácido ascórbico, BHT y BHA.^{73, 122} Las betaxantinas se degradan con mayor rapidez que las betacianinas, además que por su color amarillo en general se enmascaran por las betacianinas u otros compuestos presentes. Todas las reacciones se aceleran por la acción catalítica de algunos metales, principalmente el cobre.⁶¹

7.6.2.1 Efecto del pH

El color permanece inalterado en un intervalo de pH de 3 a 7; por debajo del pH 3.0 el color cambia a violeta, y su intensidad decrece. Arriba del pH 7.0, el color es más azulado debido a un efecto batocrómico. La mayor intensidad de azul se observa a un pH 9.0.¹²³

7.6.2.2 Efecto de la temperatura

Las betalainas son muy sensibles a la temperatura. La degradación de betalainas como betanina y vulgaxantina-I sigue una reacción de primer orden en un intervalo de pH 3.0 a 7.0, en ausencia de oxígeno. La betanina, por otra parte, produce isobetanina y/o betanina descarboxilada cuando se calienta a un pH de 3.0 a 4.0. La fracción azúcar es muy sensible a la ruptura en altas temperaturas, así como a reacciones de oxidación, lo que iniciará una polimerización que dará productos similares a las melaninas.

7.6.2.3 Efecto de radiaciones

Al igual que las antocianinas, las betalainas son muy susceptibles a la degradación iniciada por radiación de varios tipos; la degradación por fotooxidación depende del pH, y ocurre con más intensidad a pH de 3.0 que a 5.0.¹²³ La radiación gamma incrementa la velocidad de degradación de betanina, y se pierde totalmente a dosis de 100 krad.¹²⁹

7.6.2.4 Efecto del oxígeno

La presencia de oxígeno afecta la velocidad de fotooxidación y de degradación por temperatura; los iones metálicos (hierro, cobre, estaño, aluminio) aceleran la oxidación en presencia de oxígeno.¹¹ La presencia de ácido ascórbico o α -tocoferol no protegen a las betalainas de la oxidación; sin embargo, el ácido cítrico y EDTA sí la reducen, posiblemente al neutralizar parcialmente el efecto electrofílico del núcleo.²⁰

7.6.2.5 Efecto de la actividad del agua

Son estables en productos deshidratados con una actividad del agua menor a 5.0. Los tocoferoles y la vitamina C sólo funcionan como antioxidantes de las betalainas a 1,000 ppm, pero a esa concentración son prooxidantes que afectan el pigmento. La betanina se vuelve más inestable a medida que se aumenta la actividad del agua y el contenido de humedad del alimento; por esta razón, los sólidos del betabel deben almacenarse con la menor cantidad de agua posible y en las condiciones más secas.¹²⁴ Igualmente, en función de la actividad del agua, el oxígeno retenido en el betabel deshidratado puede causar modificaciones en la betanina.¹⁰⁰

7.6.2.6 Acción enzimática

Otro mecanismo de decoloración de la betacianina y de la betaxantina, particularmente en el betabel, es por la acción enzimática que alcanza su máximo a un pH 3.4;¹¹⁰ en apariencia debido a la actividad de la peroxidasa.

7.7

HEMOPIGMENTOS

El color rojo de la carne se debe principalmente a los hemopigmentos: la hemoglobina y la mioglobina. Sin embargo también existen, aunque en pequeñas concentraciones, diferentes sistemas enzimáticos cuyas coenzimas o grupos prostéticos tienen propiedades cromóforas; entre éstos se cuentan las peroxidases y las enzimas responsables del mecanismo del transporte de electrones, como los citocromos y las flavinas, que contienen riboflavina de color amarillo.⁸

La hemoglobina se encarga de transportar oxígeno, mientras que la mioglobina es responsable de almacenarlo hasta que se consume por el metabolismo aeróbico. El papel de la mioglobina como elemento que almacena oxígeno queda claro por el hecho de que los músculos estriados de la ballena, un mamífero que requiere aire para realizar sus funciones metabólicas pero vive bajo el agua, contienen cantidades excepcionalmente altas de mioglobina. En cada 100 g de sangre de mamíferos hay

aproximadamente 78 g de agua y 18.5 de proteínas; éstas están constituidas por 1.2 g de globulinas, 2.3 g de albúminas y 15 g de hemoglobina.^{2, 130}

7.7.1 Estructura

Ambas hemoproteínas, hemoglobina y mioglobina, son proteínas sarcoplásmicas con una estructura globular, solubles en agua y en soluciones salinas diluidas. La hemoglobina es un tetrámero con un peso molecular de 67,000 Da, integrada por dos polipéptidos o cadenas α con 141 aminoácidos cada uno, y dos cadenas β con 146 aminoácidos; el interior de cada monómero, al igual que la mioglobina, es hidrófobo, mientras que el exterior es hidrófilo. La hemoglobina de las diferentes especies estudiadas presenta una estructura terciaria globular y una cuaternaria de tetrámero. Cada una de las cuatro proteínas contiene su correspondiente grupo hemo planar, con un átomo de hierro en el centro, se unen entre ellas por puentes de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos.³⁷

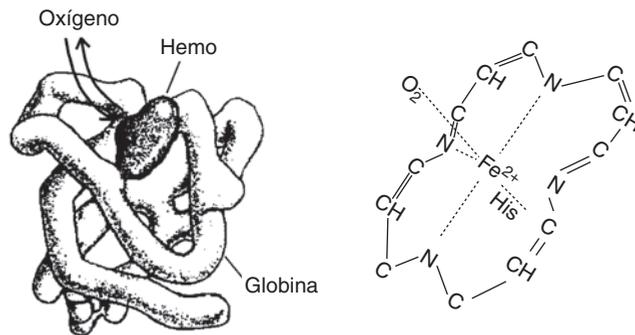


Figura 7.18 Estructura de la mioglobina.

La mioglobina forma alrededor del 20% de los pigmentos totales del músculo; está constituida por una parte proteínica, la apomioglobina o globina, y un grupo prostético hemo constituido por un centro de hierro, rodeado por cuatro pirroles que forman un anillo de porfirina. El hierro, al ser un metal de transición, está coordinado con cuatro nitrógenos del anillo de porfirina y a un residuo de histidina de la globina, queda una sexta posición disponible para unirse con otro ligando de acuerdo con el grado de oxidación del hierro y, por tanto, de esto depende el color que se produce.⁵⁰ La fracción proteica, la globina, es incolora, con un peso molecular de aproximadamente 17,800 Da, con 153 aminoácidos, 70% de los cuales establecen ocho zonas que tienen una estructura secundaria de hélice α alrededor del grupo hemo. La secuencia de aminoácidos de la globina varía entre especies, por lo que su reacción inmunológica puede emplearse como método de identificación entre especies en productos no procesados.⁹⁶

Desde el punto de vista de procesamiento de carnes, el pigmento más importante es la mioglobina, dado que la hemoglobina se elimina durante el desangrado de los animales en el proceso de matanza. En un músculo promedio de bovino, el 10% del hierro está en forma de mioglobina, mientras que después del sacrificio del animal, es decir, una vez que ha sido desangrado y por lo tanto eliminado la mayor parte del hierro en la hemoglobina, el 95% del hierro está presente como mioglobina.⁶³ Por otra parte, cuando el animal no se desangra adecuadamente después del sacrificio, una fracción de la

hemoglobina de la sangre se difunde hacia el músculo; en estas condiciones contribuye al color y en ocasiones, puede representar hasta el 40% del total de los pigmentos de la carne. Sin embargo, el desangrado ineficiente hace que la presión de los vasos sanguíneos aumente, lo que provoca coágulos en el músculo, llamados ptequias, lo que demerita en forma importante la carne.⁶⁹

7.7.2 Color en carne fresca

La pigmentación del músculo estriado varía en intensidad, de acuerdo con la cantidad del pigmento y de tonalidad, según el grado de oxidación del grupo hemo dado por el ambiente gaseoso. La cantidad de mioglobina en el músculo depende del tipo de metabolismo que se lleva a cabo en un músculo en particular: glucolítico (movimientos lentos) en el cual son más abundantes las fibras blancas con poca mioglobina, u oxidativo (movimientos rápidos) con mayor abundancia de fibras rojas con más cantidad de mioglobina, entre otras características que los diferencian.^{53, 69} La especie animal y la edad también son determinantes de la cantidad de mioglobina presente. En general, la carne de cerdo y de ternera presentan una baja concentración de mioglobina (0.06 a 0.1%) y su color es claro o pálido, mientras que la de cordero contiene 0.25 a 0.40% y la de res de 0.5 a 1.0%. Los animales más viejos presentan una concentración más alta de mioglobina que los animales jóvenes, lo que produce una musculatura más oscura.⁶⁶

La mioglobina es una molécula altamente reactiva, con capacidad de producir compuestos iónicos y covalentes con otras moléculas; los de interés para el tecnólogo de alimentos son los segundos, ya que en esta categoría están los responsables de los colores típicos de la carne y sus derivados. El estado de oxidación de la mioglobina varía con las condiciones de almacenamiento, y presenta tres pigmentos diferentes derivados del grado de oxidación: la mioglobina con el hierro en estado reducido, que produce un color rojo púrpura, la oximioglobina con el hierro en estado reducido, que da un rojo brillante, y la metamioglobina con el hierro en estado oxidado, que da un color café-gris.⁷¹ El color de la carne fresca depende de la relación de concentraciones de estos tres pigmentos (figura 7.19).¹⁸

El hierro también puede reaccionar con otras moléculas como el monóxido de carbono y formar la carboximioglobina; de igual manera, cuando se oxida en presencia de sulfitos o ascorbatos produce la sulfomioglobina y la colemioglobina, respectivamente; ambos pigmentos verdes que pueden ser producido por reacciones de origen químico o bacteriano.²⁴

Cuando se maneja carne fresca es importante evitar cualquier agente prooxidante: luz, metales, grasas oxidadas, ya que el pigmento se oxida convirtiéndose en metamioglobina.¹³¹ Si bien los tres tipos de pigmentos en la carne están permanentemente interconvirtiéndose, cuando la metamioglobina representa el 60% del total de pigmentos, el color café es irreversible.⁵⁰

7.7.2.1 Efecto del ambiente gaseoso

Como el grado de interconversión de los pigmentos también afecta la disponibilidad del ligando, el color se ve influido principalmente por la composición de la atmósfera en que se encuentra almacenado el producto. Cuando se tienen condiciones anaerobias, el color de la carne es púrpura debido al estado reducido de la mioglobina; en este caso, la penetración de oxígeno depende de la presión parcial del gas en la superficie, de la velocidad de utilización del oxígeno por el tejido y de la difusión del gas a través del tejido.³¹ Si la carne se almacena en presiones parciales altas de oxígeno, se forma una capa gruesa de oximioglobina en la superficie, que aumenta la presión parcial de oxígeno, y se obtiene como resultado el color rojo brillante, que el consumidor asocia con carne de buena calidad.⁷⁹

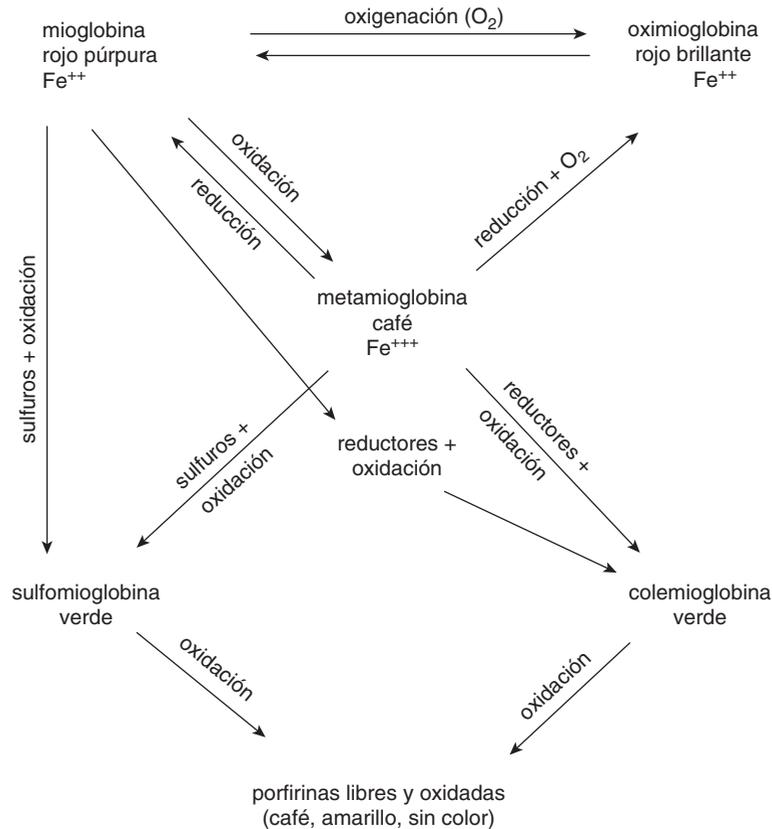


Figura 7.19 Interconversión de los pigmentos de la carne, en función del ambiente químico.

El empaque al vacío, si bien es el más eficiente para conservar la calidad microbiológica de la carne si se utiliza en conjunto con refrigeración, tiene la desventaja de que en ausencia de oxígeno no se desarrolla el color rojo brillante deseado por el consumidor; al abrir el paquete y exponer la carne al aire, se produce oximioglobina y el color la vuelve más apetecible.^{50, 66}

El color rojo oscuro de la carne fresca puede ser también conservado por algunos días en atmósferas ricas en oxígeno y dióxido de carbono, aunque el uso de este último gas es a menudo acompañado de algunos efectos colaterales indeseables en el color, como el oscurecimiento del tejido. En concentraciones altas de dióxido de carbono se presenta un tinte grisáceo en la superficie, el cual puede enmascarar al color rojo. Este tinte se debe a la falta de desarrollo del estado oxigenado (reducido) que produce el color rojo brillante o a una disminución del pH por la formación de ácido carbónico, y en consecuencia, a la precipitación de proteínas sarcoplásmicas.²⁹

El color café de la carne sometida a altas temperaturas se genera por una gran variedad de reacciones, entre las que destaca la oxidación del hierro a Fe^{3+} , y la desnaturalización de la parte proteínica de la mioglobina;³⁶ en estas condiciones, el color permanece café mientras no se reduce el hierro, por lo que a medida que se incrementa la intensidad del tratamiento térmico, los compuestos reductores

se van destruyendo y con ello la posibilidad de regenerar la mioglobina. Paralelos a estas reacciones suceden otros cambios, como la oxidación y la polimerización de las grasas, y diversas rutas de degradación que implican proteínas e hidratos de carbono, que contribuyen al color final de la carne cocida.⁷⁰

Cabe hacer notar que los iones de hierro de la mioglobina pueden acelerar la oxidación de los lípidos de la carne; la mioglobina es un sensibilizador muy importante en la formación de átomos de oxígeno en estado de singulete, agentes muy reactivos que actúan sobre las grasas.¹²⁵

7.7.3 Color de carne curada

Los pigmentos de la carne fresca son estabilizados durante el procesamiento, al convertirlos a nitrosocompuestos por la adición de nitratos y nitritos en las mezclas de sales de cura.⁹³ Los nitratos son reducidos a nitritos por acción microbiana, especialmente por géneros de micrococos. El radical nitró reacciona con el par de electrones no apareados del radical hemo, produciendo nitrosohemocromos de color rosa estable característicos de las carnes curadas.²²

7.8 OTROS PIGMENTOS NATURALES

7.8.1 Cúrcuma

La cúrcuma, azafrán de las Indias o turmerica (*Curcuma longa*) es una planta de la familia de las zingiberáceas, cultivada desde hace más de dos mil años en India, China y Oriente Medio; actualmente se cultiva en todas las regiones tropicales del mundo. Además de sus propiedades pigmentantes, la cúrcuma imparte también olor intenso, picante y fresco, y sabor es amargo y picante, con notas de almizcle, naranja y jengibre.⁹⁷ Es uno de los principales ingredientes del curry, mezcla de condimentos siempre presente en la cocina tradicional asiática. Su principio pigmentante es la curcumina, compuesto fenólico que se obtienen de la rizoma de la planta; es insoluble en agua y soluble en lípidos; imparte un color amarillo anaranjado intenso.

7.8.2 Ácido carmínico

El ácido carmínico es el pigmento líder a nivel mundial, seguido por los carotenoides y el color caramelo; se obtiene de la hembra de la cochinilla *Dactylos coccus costa*, originaria de Perú, México, Centroamérica y Chile; vive en varias especies de cactáceas, en especial en *Nopalea cochenillifera*. El colorante, una antraquinona, se obtiene al moler los insectos secos, y extraer el principio pigmentante con agua; se necesitan 700,000 insectos hembra para producir 500 gramos de colorante.⁸⁶ Aunque se usan alternativas al ácido carmínico a partir de antocianinas extraídas de plantas, ninguna es tan estable ni de colores tan variados. El pigmento es amarillo pálido a un pH 4, forma tonos rojo brillante con complejos con metales, como aluminio o calcio-aluminio; según el pH y los metales empleados, se logra la amplia gama de colores del ácido carmínico¹²⁷ (figura 7.20).

7.8.3 Quinonas

Las quinonas son un grupo numeroso de pigmentos; se conocen cerca de 200 quinonas que producen colores que van desde el amarillo pálido al negro. Se obtienen fundamentalmente de plantas superio-

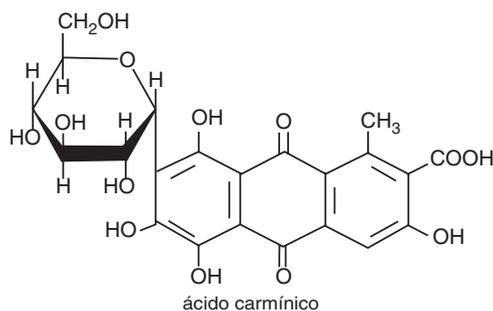


Figura 7.20 Estructura del ácido carmínico.

res, sin embargo, también están presentes en hongos, líquenes, insectos y animales marinos. Aunque en algunos casos no se relacionan directamente con alimentos, son de importancia en el campo de la tecnología de alimentos ya que intervienen en fenómenos de oxidación; son sustancias biológicamente muy activas. Las quinonas son dicetonas aromáticas provenientes de la oxidación de los difenoles. Se subdividen en:³⁹

- Benzoquinonas: sustancias monocíclicas, se encuentran como parte de los pigmentos de algunos hongos.
- Naftoquinonas: son bicíclicas, entre ellas están la plumbagone de las droseras; la juglona del nogal; la lawsona de la henna; la vitamina K₁ presente en la alfalfa. Un subgrupo de naftoquinonas son las naftocenequinonas, pigmentos rojos presentes en los actinomicetos.
- Antraquinonas: el subgrupo más abundante son las antraquinonas, de las cuales muchas han sido pigmentos y purgantes naturales por siglos. Son moléculas tricíclicas, constituyen purgantes en plantas como el aloe, el ruibarbo y los champiñones debido a la acción de estos compuestos sobre el músculo liso del colon, que dificulta la reabsorción de agua. Ejemplo de éstas es la emodina, presente en champiñones.

Hay numerosas benzo y naftoquinonas con propiedades antimicrobianas, sobre todo contra bacterias Gram positivas; actúan inhibiendo a las enzimas microbianas.

7.8.4 Xantonas

Las xantonas son un grupo de 20 pigmentos similares a las quinonas y flavonas.³⁹ Una xantona empleada por muchos años en fármacos de aplicación cutánea, la genciana, procede de la raíz de la *Gentiana lutea*, con un sabor fuertemente amargo. Las xantonas son antioxidantes muy eficientes, por lo que los alimentos que la contienen se consideran como nutraceuticos. Entre éstos ha recibido especial atención el mangostán (*Garcinia mangostana* L.), planta originaria del sureste asiático, la cual se ha comercializado fresca o en bebidas no alcohólicas tanto en Europa como en el norte, centro y sur de América. La xantona más estudiada es la mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona), presente como glucósido en los mangos, y a la que se atribuyen propiedades de protección contra la oxidación de tejidos.

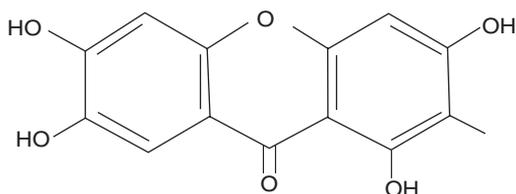


Figura 7.21 Estructura de la mangiferina.

7.8.5 Color caramelo

El color caramelo es el pigmento más utilizado en alimentos, el 90% del total de los empleados en esta industria. Existen varios métodos para fabricarlo, todos ellos por medio de calentamiento del azúcar: en un medio ácido, se añade ácido acético, cítrico, fosfórico o sulfúrico; en medio alcalino (hidróxido o carbonato de sodio o de potasio); con adición de amoníaco o sales de éste (sulfato, carbonato o fosfato); con adición de anhídrido sulfuroso o amoniacal. Aunque tiene una connotación de pigmento natural, la fabricación con presencia de amoníaco produce 2-acetil-4-(5)-tetrahidroxibutilimidazol, que puede afectar al sistema inmune, por lo que el color caramelo producido por este método se limita legalmente a una ingesta diaria a 200 mg/kg de peso;³⁴ el color caramelo “al amoníaco” está prohibido en la Unión Europea en algunos alimentos, como ciertas clases de pan.³³ Además de las bebidas no alcohólicas de cola, se emplea en la fabricación de caramelos, cerveza, helados, postres, sopas instantáneas y productos cárnicos.

7.8.6 Gluconato ferroso

Por último, el gluconato ferroso se usa casi exclusivamente, para colorear aceitunas negras, formando un complejo entre el hierro y los fenoles de las aceitunas, lo que promueve una mayor solubilidad y, en consecuencia, una difusión del pigmento dentro del fruto.¹²⁷

7.9 ANÁLISIS DE PIGMENTOS Y DE COLOR

El análisis de los pigmentos y su propiedad física directa, el color, puede llevarse a cabo por métodos físicos o químicos. Químicamente implica la extracción del o los compuestos pigmentantes mediante su solubilización en disolventes polares o no polares, según su estructura. Después se identifica mediante un barrido espectral con el que se obtienen las longitudes de onda en las que hay una absorbancia máxima. Los carotenoides, por ejemplo, absorben la energía radiante alrededor de 440 nm, mientras que las clorofilas, las antocianinas y la mioglobina lo hacen en longitudes de onda de 655, 510 y 555 nm, respectivamente. Los progresos en los últimos años sobre el análisis y separación de los pigmentos carotenoides se debe principalmente a la introducción de nuevos métodos, tales como la fase reversa no acuosa y fluidos supercríticos, así como la detección en línea por multilongitud de onda en HPLC con detector de arreglo de diodos. La separación de los pigmentos a mayor escala puede llevarse a cabo empleando columnas empacadas con resinas de intercambio iónico, o por extracción sólido-líquido.

Aunque algunos investigadores coinciden en que el método más adecuado para separar y cuantificar pigmentos es la cromatografía líquida de alta resolución, otros continúan utilizando métodos tradicionales como la cromatografía en capa fina y cromatografía en columna abierta. Una gran ventaja que tiene la separación en columna abierta es que su equipo es simple, de bajo costo, así como los reactivos y solventes que se utilizan. En contraparte, el HPLC es más caro, requiere de un cuidadoso mantenimiento, alta pureza y solventes caros. El espectro de resonancia magnética permite reconocer las características estructurales más importantes; los glucósidos (antocianinas, flavonoides, betalainas) generalmente se analizan mediante este método.

Por otra parte, el color impartido por estos compuestos puede medirse por varios métodos colorimétricos.³⁸ El método de reflectancia presenta la ventaja de que se correlaciona con la percepción del color por el ojo humano; se lleva a cabo midiendo la superficie del alimento.⁶⁴ El método de espectrometría de reflexión se basa en tres coordenadas: el tono (rojo, azul, verde y amarillo, y combinaciones de éstos), la cromaticidad o saturación (qué tan intenso es el color) y la luminosidad (componente blanco o negro). El CIE (Comisión Internacional de la Iluminación) desarrolló un sistema basado en una fuente de iluminación estándar y un observador estándar,⁶⁸ sobre el que se construyó un sistema tricromático basado en la percepción del ojo humano: rojo, verde y azul, y tres parámetros: L^* = luminosidad, a^* = rojo a verde; b^* = amarillo a azul.^{76, 87} Con el espacio de color CIELAB es posible describir cualquier color. Por otra parte, existen dos magnitudes psicofísicas, el tono (h^*) y el croma (C^*), calculadas a través de fórmulas matemáticas a partir de a^* y b^* .⁹²

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abushita, A.A., Daood, H.G. y Biacs, P.A. 2000. "Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors", *J. Agric. Food Chem.*, 48(6):2075.
2. Agulló, E., Centurión, M.E., Ramos, V. y Bianchi, M.A. 1990. "Determination of total pigments in red meats", *J. Food Sci.*, 55:250.
3. Akanbi, C.T. y Oludemi, F.O. 2004. "Effect of processing and packaging on the lycopene content of tomato products", *Int. J. Food Prop.*, 7(1):139.
4. Anese, M., Falcone, P., Fogliano, V., Nicoli, M. C. y Massini, R. 2002. "Effect of equivalent thermal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees", *J. Food Sci.*, 67(9):3442.
5. Anguelova, T. y Warthesen, J. 2000. "Lycopene stability in tomato powders". *J. Food Sci.*, 65 (1):67.
6. Anónimo. 1986. "Food colors", *Food Technol.*, 4(1):49.
7. Arad, S. y Yaron, A. 1992. "Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics", *Trends Food Sci. Technol.*, 3(4):91.
8. Aranda, V. 1994. "Short overview on raw meat colour". *Proc. 40th Int. Cong. Meat Sci. Technol.* La Haya, Holanda.
9. Argawi, S. y Rao, AV. 1998. "Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention", *Lipids*, 33:981.
10. Armenta, R., Guerrero, I. y Huerta, S. 2002. "Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the caroprotein complex", *J. Food Sci.*, 67(3):1002.
11. Attoe, E.L. y Von Elbe, J.H. 1985. "Oxygen involvement in betaine degradation: Effect of antioxidants", *J. Food Sci.*, 50:106.
12. Bakker, J. y Peter, P. 1992. "Stawberry juice color: the effect of sulphur dioxide and EDTA on the stability of anthocyanins", *J. Sci. Food Agric.*, 60:477.

13. Baranowski, E.S. y Nagel, C.W. 1983. "Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model systems", *J. Food Sci.*, 48:419.
14. Barros Santos, C. 1999. "Legal aspects of food colorants and pigments in Spain and the European Union". *Proc. 1st Int. Cong. Pigments in Foods*. Sevilla, España.
15. Baublis, A, Spomer A., y Berber-Jiménez, MD. 1994. "Anthocyanin pigments: comparison of extract stability", *J. Food Sci.*, 59(6):1219.
16. Berset, C. y Caniaux, P. 1983. "Relationship between color evaluation and chlorophyllian pigment content in dried parsley leaves", *J. Food Sci.*, 48:1854.
17. Bhaskarachary, J., Sankar Rao, D.S., Deosthales, Y.G. y Reddy, V. 1995. "Carotene content of some common and less familiar foods of plant origin", *Food Chem.*, 54:189.
18. Boyle, R.C., Tappel, A.L., Tappel, A.A., Chen, H. y Andersen, H.J. 1994. "Quantitation of heme proteins from spectra of mixtures", *J. Agric. Food Chem.*, 42:100.
19. Britton, G. 1999. "Pigments in foods. More than just colours", *Proc. 1st Int. Cong. Pigments in Foods*. Sevilla, España.
20. Butera D., Tesoriere L., Di Gaudio F., Bongiorno A., Allegra M., Pintaudi A.M., Kohen R. y Livrea M.A. 2002. "Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruits extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin", *J. Agric. Food Chem.*, 50:6895.
21. Cai, Y., Sun, M., Wu, H., Huang, R. y Corke, H. 1998. "Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species", *J. Agric. Food Chem.*, 46(6):2074.
22. Carballo, J., Cavestary, M. y Jiménez-Colmenero, F. 1991. "Effect of light on colour and reaction of nitrite in sliced pork bologna under different chilled storage temperatures", *Meat Sci.*, 30:235.
23. Cardador-Martínez A., Loarca-Pina G. y Oomah B.D. 2002. "Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L)", *J. Agric. Food Chem.*, 50:6975.
24. Cassens, R.G., Demeyer, D., Eidelenboom, G., Honikel, K.O., Johansson, G., Nielsen, T., Renner, M., Richardson, Y. y Sakata, R. 1995. "Recommendation of reference method for assessment of meat color", *Proc. 41th Int. Cong. Meat Sci. Tech.* San Antonio, Texas.
25. Castenmiller J.J. M. y West C.E. 1997. "Bioavailability of carotenoids", *Pure Appl. Chem.*, (69)10:2145.
26. Chandler, L. A. y Schwartz, S. J. 1987. "HPLC separation of *cis-trans* carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables", *J. Food Sci.*, 52:669.
27. Chen, H.M., Meyers, S.P., Hardy, R.W. y Biede, S.L. 1984. "Color stability of astaxanthin-pigmented rainbow trout under various packaging conditions", *J. Food Sci.*, 49:1337.
28. Cheyner, V. 1999. "Structure and colour properties of anthocyanins and related pigments", *Proc. 1st Int. Cong. Pigments in Foods*. Sevilla, España.
29. Conforth, D.P., Vahabzadeh Capendter, C.E. y Bartholomew, D. T. 1986. "Role of reduced haemochromes in pink colour defect of cooked turkey", *J. Food Sci.*, 51:1132.
30. Crozier, A., Lean, Mc Donald y Black C. 1997. "Analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery", *J. Agric. Food Chem.*, (45)3:590.
31. Cunha Da Silva, E.M., Moss, B.W. y Gault, N.F.S. 1994. "Stability of dried salted lamb stored under tropical conditions", *Proc. 40th Int. Cong. Meat Sci. Technol.* La Haya, Holanda.
32. Debicki-Pospisil, J., Lovric, T., Trinajstic, N. y Sabljic, A. 1983. "Anthocyanin degradation in the presence of furfural and 5-hydroxymethylfurfural", *J. Food Sci.*, 48:411.
33. European Food Information Council. <http://www.eufic.org>. Fecha de acceso: 20 de marzo de 2005.
34. FAO/WHO Joint Expert Committee of Food Additives. 1987. "Caramel colours". en *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants*. Roma, Italia.
35. Fakourelis, N., Lee, E.C. y Min, D.B. 1987. "Effects of chlorophyll and β -carotene on the oxidation stability of olive oil", *J. Food Sci.*, 52:234.
36. Fernández-López, J., Pérez Álvarez, J.A., y Aranda-Catalá, V. 2000. "Effect of mincing degree on color properties in pork meat", *Color Res. Appl.*, 25:376.
37. Fox, J.B. 1994. "Los pigmentos de la carne", en *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*, Ed. por J.F. Price y B.S. Schweigert. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

38. Francis, F.J. 1983. "Colorimetry of Food", *Food Technol.*, 26(7):45.
39. Francis F.J. 1996. "Less common natural colorants", en *Natural Food Colorants*, Ed. Por G.A.F. Hendry G. A. F. y J.D. Houghton. Blackie Academic and Professional. Glasgow, Escocia.
40. Francis, F.J. 1999. "Colorants", en *Practical Guides for the Food Industry*. American Association of Color Chemists. Eagan Press, St. Paul, Minnesota.
41. Franco Zavaleta, M. 2004. *Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de jiotilla (Escontria chiotilla) una cactácea subexplotada*. Tesis de maestría en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México D.F.
42. Frazer, P.D., Truesdale, M.R., Bird, C.R. Schuch, W. y Bramley, P.M. 1994. "Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development", *Plant Physiol.*, 105:405.
43. Galicia Cabrera, R.M., Saucedo Veloz, C., Ponce Alquicira, E. y Guerrero Legarreta, I. 2004. "Efecto del tratamiento térmico en la estabilidad y actividad antioxidante del licopeno de tomate Saladette", *III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos*. Bilbao, España
44. Ganguly, J. y Sastry, P.S. 1985. "Mechanism of conversion of β -carotene into vitamin A: central cleavage versus random cleavage", *Wld. Rev. Nutri. Diet.*, 45:198.
45. Ghiselle A., Nardini M.; Baldi A. y Scaccini, C. 1998. "Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine", *J. Agric. Food Chem.*, (46)2:361.
46. Goldman, M., Horev, B. y Saguy, I. 1983. "Decolorization of beta-carotene in models systems simulating dehydrated foods. Mechanism and kinetic principles", *J. Food Sci.*, 48:751.
47. Gordon M. H. y An J. 1995. "Antioxidant activity of flavonoids isolated from licorice", *J. Agric. Food Chem.*, 43:1784.
48. Gouldson, M.J. y Warthesen, J.J. 1999. "Stability and antioxidant activity de beta carotene in conventional and high oleic canola oil", *J. Food Sci.*, 64(6):996.
49. Gregory, G.K. Chen T.S. y Philip, T. 1987. "Quantitative analysis of carotenoids and carotenoid esters in fruits by HPLC: Red bell peppers", *J. Food Sci.*, 52:1071.
50. Guerrero, I. y Lara, P. 1995. "Efectos químicos y microbiológicos en carnes rojas de las atmósferas modificadas", *Ciencia*, 46:350.
51. Guisti, M. y Wrolstand, R.E. 1996. "Characterization of red raddish anthocyanins". *J Food Sci.*, 61(2):322.
52. Hackett, M.M., Lee, J.H., Francis, F.J. y Schwartz, D. 2004. "Thermal stability and isomerization of lycopeno in tomato oleoresins from different varieties", *J. Food Sci.*, 69(7):536.
53. Han, D., Mcmillin, K. W. y Godber, J. S. 1994. "Hemoglobin, myoglobin, and total pigments in beef and chicken muscles: chromatographic determinations", *J. Food Sci.*, 59(6):1279.
54. Hart, D.J. y Scott, J.K. 1995. "Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK", *Food Chem.*, 54:101.
55. Hendry G.A.F. 2000. "Chlorophylls", en *Natural Food Colorants*, Ed. por G.J. Lauro y F.J. Francis. Science and Technology. Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Nueva York.
56. Hendry, G.A. y Houghton, J.D. 1996. *Natural Food Colorants*. Blackie Academic and Professional. Glasgow, Escocia.
57. Hertog M.E., Hollman P.G. y Katan M. 1992. "Content of potencialmente anticarcinogénico flavonoides de 28 vegetales y 9 frutas comúnmente consumidas en los Países Bajos", *J. Agricul. Food Chem.*, 40:2379.
58. Heuer, S., Richter, S., Metzenger, J.W., Wray, V., Nimtz, M. y Strack, D. 1994. "Betacyanins from bracts of *Bougainvillea glabra*", *Phytochem.*, 37:761.
59. Hinojosa G.C., Huberman A., De la Lanza G. y Monroy-Ruiz E. 1997. "Pigmentation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with oil extracted astaxanthin from the langostilla (*Pleuroncodes planipes*)". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 4(3):237.
60. Huang, A.S. y von Elbe, J.H. 1985. "Kinetics of the degradation and regeneration of betanine", *J. Food Sci.*, 50:1115.
61. Huang, A.S. y von Elbe, J.H. 1986. "Stability comparison of two betacyanine pigments: amarantina and betanina". *J. Food Sci.*, 51:670.

62. Humphrey, A.M. 1984. "Chlorophyll", *NATCOL Quaterly Information Bulletin*, 4:3.
63. Hunt, M.C., Acton, J.C., Benedict, R.C., Calkins, C.R., Cornforth, D.P., Jeremiah, L.E., Olson, D.P., Salm, C.P. y Savell, J.W. 1991. "Guidelines for Meat Color Evaluation". American Meat Science Association. National Live Stock and Meat Board. Chicago, Illinois.
64. Hutchings, J.B. 1994. "Food Colour and Appearance". Blackie Academic and Professional. Glasgow, Escocia.
65. Jackman R. L. y Smith D. L. 1996. "Anthocyanins and betalains", en *Natural Food Colorants*, Ed. por G.A.F. Hendry y J.D. Houghton. Blackie Academic and Professional, Glasgow, Escocia.
66. Kanner, J. 1994. "Oxidative processes in meat products: quality implications", *Meat Sci.*, 36:169.
67. Kotamballi N., Chidambara M., Ravendra P.S. y Guddarangavvana K.J. 2002. "Antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts". *J. Agricul. Food Chem.*, 50:5909.
68. Krammer, A. 1994. "Use of color measurements in quality control of food". *Food Technol.*, 48(10):62.
69. Ledward, D.A. 1992. "Colour of raw and cooked meat", en *The Chemistry of Muscle-Based Foods*, Ed. por D.A. Ledward, D.E., Johnston y M.K. Knight. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra.
70. Lee, E.J., Love, J. y Ahn, D.U. 2003. "Effects of antioxidants on consumer acceptance of irradiated turkey meat". *J. Food Sci.*, 68:1659.
71. Lee, S., Hoo, S.T., Alderton, A.L., Hill, D.W. y Faustman, C. 2003. "Oxymyoglobin and lipid oxidation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) loins", *J. Food Sci.*, 68:1164.
72. Lee, Y.K. y Khng H.P. 2002. "Natural color additives", en *Food Additives*, Ed. por L.A. Branen. Marcel Dekker, Nueva York.
73. Lee, Y.N., Wiley, R.C., Sheu, M.J. y Schlimme, D.V. 1982. "Purification and concentration of betalains by ultrafiltration and reverse osmosis", *J. Food Sci.*, 47:465.
74. Lewis C., Walker, J., Lancaster J. y Sutton K. 1988. "Determination of anthocyanins flavonoids and phenolic acids in potatoes. Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L.", *J. Sci., Food Agricul.* 77:45.
75. Liaaen-Jensen, S. y Pfander, H. 1995. "Isolation and Analysis", en *Carotenoids*, Ed. por G. Britton. Birkhauser Verlag, Basilea, Suiza.
76. Little, A.C. 1975. "Off on a tangent". *J. Food Sci.*, 40:410.
77. López-Hernández E., Ponce-Alquicira E., Cruz-Sosa F. y Guerrero-Legarreta I. 2001. "Characterization and stability of pigments extracted from *Terminalia catappa* leaves". *J. Food Sci.*, (66)6:832.
78. Maccarone, E. Maccarrone, A. y Rapisarda, P. 1985. "Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice", *J. Food Sci.*, 50:901.
79. MacDougall, D.B. 1982. "Changes in the colour and opacity of meat". *Food Chem.*, 9(1/2):75.
80. Marmion, D.M. 1991. "Handbook of U.S. Colorants". John Wiley and Sons, Nueva York.
81. Martínez de Toda, F. 2005. "Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos", *Rev. Enol. Asoc. Catalana Enólogos*. http://www.acenologia.com/ciencia59_1.htm Fecha de acceso: 22 de marzo de 2005.
82. Mejía, L., Hudson, E., González, E. y Vázquez, F. 1988. "Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annum*) as determined by HPLC", *J. Food Sci.*, 53(5):1448.
83. Mínguez-Mosquera, M.I. 1997. "Clorofilas y Carotenoides", en *Tecnología de Alimentos*. Editorial Universidad de Sevilla. Sevilla, España.
84. Miyake Y., Yamamoto K., Morimitsu Y. y Osawa T. 1997. "Isolation of C-glucosyl-flavone from lemon peel and antioxidative activity of flavonoid compounds in lemon fruits", *J. Agricul. Food Chem.*, (45)12:4619.
85. Muller, R.K., Bernhard, K., Kienzle, F., Mayer, H. y Ruttimann, A. 1980. "Some recent advances in the synthesis of natural carotenoids", *Food Chem.*, 5:15.
86. Nagel, C.W. y Wulf, L.W. 1979. "Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation and aging of Merlot and Cabernet Sauvignon", *Am. J. Enol. Viticul.*, 30:111.
87. Neitz, J. y Jacobs, G. 1986. "Perception of colour", *Nature*, 323:623.

88. Nguyen, M.L. y Schwartz, S.J. 2000. "Lycopene", en *Natural Food Colorants*, Ed. por J.G. Lauro y F.J. Francis. Marcel Dekker, Nueva York.
89. Norma Oficial Mexicana. 1995. NOM-001-SSA1. Bienes y Servicios. Colorantes orgánicos naturales. Especificaciones sanitarias. *Diario Oficial*, 20 de octubre de 1995.
90. Oh, H.I. y Hoff, J.E. 1979. "Fractionation of grape tannins by affinity chromatography and partial characterization of the fractionation", *J. Food Sci.*, 44:87.
91. Onyewu, P.N., Daun, H. y Ho, C.T. 1982. "Formation of two degradation products of β -carotene", *J. Agric. Food Chem.*, 30:1147.
92. Pérez Álvarez, J.A., Cartagena, R., Sayas-Barbera, M.E., Rosmini, M.R., Fernández-López, J. y Martínez, F. 1999. "Estudio de los parámetros de color del blanco", *Alimentaria*, 303:85.
93. Pérez Álvarez, J.A., Sánchez Rodríguez, M.E., Fernández-López, J., Gago-Gago, M.A., Ruíz Peluffo, M.C., Rosmini, M.R., Pagán Moreno, M.J., López Santoveña, F. y Aranda Catalá, V. 1997. "Chemical and color characteristics of 'Lomo embuchado' during salting seasoning", *J. Muscle Foods*, 8(4):395.
94. Pérez Trueba, G. 2005. "Los flavonoides antioxidantes o prooxidantes". http://www.bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol22_1_03/ibi07103.htm. Fecha de acceso: 2 de marzo de 2005.
95. Pfander H. 1992. "Carotenoids: an overview", en *Methods in Enzymology*, Ed. por L. Packer. Academic Press Inc., Londres.
96. Ponce, E., Linforth, R., Hall, M., Guerrero, I. y Taylor A.J. 1994. "Stability of haem pigments in model systems and cooked meat", *Meat Sci.*, 38:141.
97. Raina B., Agarwal S.G., Bhatia A.K. y Gaur G.S. 1996. "Changes in pigments and volatiles of saffron (*Crocus sativus L*) during processing and storage", *J. Sci. Food Agricul.*, 71:27.
98. Reynoso, R., García, F.A., Morales, D.A. y González, E. 1997. "Stability of betalain pigments from a cactaceae fruit", *J. Agric. Food Chem.*, 45:2884.
99. Rodríguez-Amaya, D. 1999. "A guide to Carotenoid Analysis in Foods". Omni Research-Ilsi Press. Washington, D. C.
100. Saguy, I., Goldman, M., Bord, A. y Cohen, E. 1984. "Effect of oxygen retained on beet powder on the stability of betanine and vulgaxanthine I", *J. Food Sci.*, 49:99.
101. Saguy, I., Goldman, M. y Karel, M. 1985. "Prediction of betacarotene decolorization in model system under static and dynamic conditions of reduced oxygen environment", *J. Food Sci.*, 50:526.
102. Scheer, H. 1991. "Chlorophylls". CRC Press, Boca Ratón, Florida.
103. Schwartz, S. J. 1994. "Pigment analysis", en *Introduction to the Chemical Analysis of Foods*, Ed. por S.S. Nielsen. Bartlett Publishers International. Boston.
104. Schwartz, J.A. y Lorenzo, T.V. 1990. "Chlorophylls in Foods", *Crit. Rev. Food Sci. Technol.*, 29:1.
105. Schwartz, S.J. y Von Elbe, J.H. 1983. "Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables", *J. Food Sci.*, 48:1303.
106. Scita, G. 1992. "Stability of β -carotene under different laboratory conditions", en *Methods in Enzymology*, Ed. por L. Packer. Academic Press Inc., Londres.
107. Scotter M. J. 1995. "Characterization of the coloured thermal degradation products of bixin from annato and a revised mechanism for their formation", *Food Chem.*, 53:177.
108. Shahidi, F., Matusalach, A. y Brown, J.A. 1998. "Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 38(1):1.
109. Shi, J. y Maguer, L. 2000. "Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 40(1):1.
110. Shih, C.C. y Wiley, R.C. 1982. "Betacyanine and betaxanthine decolorizing enzymes in the beet (*Beta vulgaris*) root", *J. Food Sci.*, 47:164.
111. Simpson, K.L. 1983. "Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A", *Proc. Nutr. Soc.*, 42:7.
112. Starr, M.S. y Francis, F.J. 1968. "Effect of ascorbic acid on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice", *J. Food Technol.*, 22:1293.
113. Stefanovich, A.F. y Karel, M. 1982. "Kinetics of beta-carotene degradation at temperatures typical of air drying of foods", *J. Food Process. Preserve.*, 6:227.

114. Stewart, I. 1980. "Color as related to quality in citrus", en *Citrus Nutrition and Quality*, American Chem. Soc., Washington, D.C.
115. Stintzing C.F., Stintzing S.A., Carle R., Frei B. y Wrolstad R. 2002. "Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments", *J. Agricul. Food Chem.*, 50:6172.
116. Terao L., Nagao A., Pank D. y Limb B. 1992. "A lipid hydroperoxide assay for antioxidant activity of carotenoids", en *Methods in Enzymology*, Ed. por L. Packer. Academic Press Inc., Londres.
117. Teutonico, R.A. y Knorr, D. 1985. "Amaranth: composition properties, applications of a rediscovery food crop", *Food Technol.*, 39(4):49.
118. Thorngate, H.J. 2002. "Synthetic food colorants", en *Food Additives*, Ed. por L.A. Branen. Marcel Dekker, Nueva York.
119. Unión Europea. 1994. Directiva 94/36/CE. "Lista de aditivos colorantes autorizados para su uso en la elaboración de productos alimenticios".
120. Vaca R. M. y Santana A. K. 1999. "Principales requisitos para la importación de colorantes en Estados Unidos". Gerencia de Desarrollo de Productos de Información. Banco de Comercio Exterior, México.
121. Vaca R. M y Santana A. K. 1999. "La importación de colorantes a Estados Unidos". Gerencia de Desarrollo de Productos de Información". Banco de Comercio Exterior, México.
122. Vereltzis, K.P. y Buck, E.M. 1984. "Color stability and sensory attributes of chicken frankfurters made with betalains and potassium sorbate versus sodium nitrite", *J. Food Protec.*, 47(1):41.
123. Von Elbe J. H. y Goldman I. L. 2000. "The betalains", en *Natural Food Colorants*, Ed. por G.J. Lauro y F.J. Francis. Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Nueva York.
124. Von Elbe, J.H. Schwartz, S.J. y Hildenbrand, B.E. 1981. "Loss and regeneration of betacyanine pigments during processing of red beets", *J. Food Sci.*, 46:1973.
125. Warris, P. D. y Rhodes, D.N. 1977. "Haemoglobin concentrations in beef", *J. Sci. Food Agricul.*, 28:931.
126. Weller, T.A. y Lasure, L.L. 1982. "Betalains in beet root tissue culture", *J. Food Sci.*, 47:162.
127. Wrolstad, R.E. 2000. "Colorants", en *Food Chemistry and Applications*, Ed. por G.L. Christen y J.S. Smith. Science Technology System, West Sacramento, California.
128. Wrolstad R. E. 2000. "Anthocyanins", en *Natural Food Colorants*, Ed. por G.J. Lauro y F.J. Francis. Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Nueva York.
129. Wybraniec, S. y Mizrahi, Y. 2002. "Fruit flesh betacyanine pigments in *Hylocereus cacti*", *J. Agricul. Food Chem.*, 50:6086.
130. Young, O.A. y West, J. 2001. "Meat color", en *Meat Science and Applications*, Ed. por Y.H. Hui, W.K. Nip, R.W. Rogers y O.A. Young. Marcel Dekker, Nueva York.
131. Zerby, H.N., Belk, K.E., Sofos, J.N., McDowell, L.R., Williams, S.N. y Smith, G.C. 1999. "Display life of fresh beef containing different levels of vitamin E and initial microbial contamination", *J. Muscle Foods* 10:345.
132. <http://www.infoagrao.com/aromaticas/azafran.asp> fecha de acceso: 19 de marzo de 2005.
133. <http://www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/feb2002/taninos.htm>. Fecha de acceso: 2 febrero de 2003.
134. <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/Taninos.html>. Fecha de acceso: 22 de febrero de 2005.

8

Aroma y sabor

- 8.1 Introducción
- 8.2 Sabor
- 8.3 Aromas
- 8.4 Aspectos fisicoquímicos en la percepción del sabor y del aroma
- 8.5 Mecanismos de la generación de aromas y sabores
- 8.6 Precursores y desarrollo de aroma y sabor en alimentos
- 8.7 Análisis de compuestos de aroma y sabor

Referencias bibliográficas



8.1 INTRODUCCIÓN

La aceptación de un alimento depende de muchos factores, entre los que destacan sus propiedades sensoriales como el color, el aspecto, el sabor, el aroma, la textura y hasta el sonido que se genera durante la masticación. Hasta este capítulo se han estudiado los macrocomponentes de los alimentos, como agua, hidratos de carbono, proteínas y lípidos, y otros que se encuentran en menor proporción, como vitaminas, minerales y pigmentos. Los compuestos responsables del aroma y del sabor son los constituyentes que están en la menor concentración, pero tienen un efecto fundamental en la calidad y aceptación de los alimentos. Los hábitos alimentarios de un pueblo están determinados en gran medida por el aroma y el sabor de los productos que consumen y que permiten su desarrollo y sobrevivencia. Se ha demostrado que la selección de alimentos e incluso la percepción agradable o desagradable de los mismos dependen

de factores sociales y culturales, pero que las necesidades nutricionales y el estado de salud del ser humano tienen un mayor impacto en el momento de la ingesta. Por ejemplo, si un individuo ha pasado mucho tiempo sin tomar sal, el sabor salado le resultará muy agradable, pero cuando se ha consumido un exceso de sal ocurrirá lo contrario. En general, el dulzor se asocia con una fuente energética y el amargor con sustancias potencialmente tóxicas. Los niños prefieren los sabores dulces a los amargos, y a medida que crecen aceptan otros que no necesariamente se relacionan con sus necesidades metabólicas.

Los cambios en el patrón de consumo tradicional, así como el avance en el conocimiento de la generación de aromas y sabores, han hecho posible el desarrollo de nuevos alimentos. Si bien, el mercado de nuevos productos se basa en grandes campañas de mercadotecnia y publicidad, los consumidores aceptarán o rechazarán los productos primordialmente en función de sus características de aroma y sabor, independientemente de la calidad nutricional, toxicológica o de las ventajas del nuevo alimento. Por esta razón, para desarrollar nuevos productos es necesario conocer los factores involucrados en la generación y estabilidad de aroma y sabor; así como de la correcta adición de aromatizantes y saborizantes empleados para restituir y conservar las características sensoriales que tienen en su forma natural, con lo que se garantiza su consumo y aceptación.³⁵

A nivel mundial, la industria de sabores y aromas reportó un crecimiento anual del 5.4%, con ventas de 18.4 billones de dólares durante el año 2004. En el mismo periodo, América del Norte representó el 32% del mercado, seguido de Europa con un 30%, Asia Pacífico con 26%, Sudamérica con 6% y Oriente Medio junto con África representaron el 6%. Se prevé un incremento en el mercado para China, India, España, Brasil, México y Chile.⁴⁰ Asimismo, las tendencias señalan que, los aceites esenciales, los extractos naturales y los sabores complejos idénticos a los naturales desplazarán a los productos sintéticos. Por lo que el reto para este sector de la industria de alimentos será la creación de aromas y sabores idénticos a los naturales, que sean seguros, de alta calidad y que se encuentren en equilibrio con el resto a los componentes del producto; tanto para alimentos tradicionales como en alimentos funcionales, bajos en grasa o en carbohidratos, nutraceúticos, alimentos infantiles y geriátricos, suplementos alimenticios, etcétera.^{39, 40}

Si bien el aroma y el sabor de los alimentos son fenómenos fisiológicos estrechamente relacionados entre sí; los compuestos responsables en cada caso tienen propiedades físicas y químicas diferentes; en el primero, son sustancias de mayor peso molecular, no volátiles, solubles en agua y están en menor número que aquellas relacionadas con el aroma, que forzosamente deben ser volátiles para que lleguen a los centros olfativos. Otra característica fundamental es la naturaleza quiral de estos compuestos, ya que los receptores químicos del aroma y sabor son capaces de distinguir entre las diversas formas enantioméricas. En este capítulo se revisarán las características de las moléculas asociadas con el aroma y sabor de alimentos, los mecanismos en la generación de los mismos, así como los métodos para analizarlos.

8.2 SABOR

El sabor implica una percepción global integrada por excitaciones de los sentidos del gusto y del olfato, y en muchas ocasiones, se acompaña de estímulos dolorosos, visuales, táctiles, sonoros y hasta de temperatura. Cuando se habla de sabor, en realidad se refiere a una respuesta compuesta por muchas sensaciones y cuyo resultado es aceptar o rechazar el producto. Aunque, estrictamente hablando, el

sabor es sólo la sensación que ciertos compuestos producen en la superficie de la lengua, el paladar y los receptores trigeminales. Si bien una persona puede percibir cientos de sabores distintos, todos ellos son combinaciones de los sabores primarios, como sucede con la percepción del color.

En general, el sabor se considera como un fenómeno multidimensional, integrado por cinco sabores primarios: dulce, amargo, salado, ácido y *umami*. Este último se incluyó recientemente como parte de los sabores primarios, debido al hallazgo de receptores gustativos específicos. Cada uno de los sabores básicos corresponde a un determinado tipo de compuesto; así, el sabor dulce es producido por diferentes compuestos, como azúcares, aldehídos, alcoholes y cetonas; el sabor amargo es producido principalmente por alcaloides; el salado se debe a las sales de sodio; el ácido es generado por iones hidrógeno; y el *umami* por aminoácidos como el glutamato monosódico.^{69, 86}

La identificación de cada sabor se lleva a cabo en la lengua y en el paladar, aunque de manera específica, ésta tiene lugar en los botones gustativos localizados dentro de las papilas gustativas. Las papilas gustativas son de cuatro tipos: fungiformes, filiformes, foliadas y calciformes; se encuentran localizadas en zonas más o menos definidas de la lengua, y cada una de ellas contiene de uno a quince botones gustativos. Alrededor de 100 células conforman la estructura de los botones gustativos, aunque sólo algunas actúan como receptoras del sabor, y se encuentran localizadas alrededor de una terminal nerviosa. Las células receptoras responden sólo a uno de los cinco sabores primarios, aunque en un mismo botón existen células receptoras para todos ellos, en diferente proporción, por lo que cada botón responde preferentemente a un sabor específico. Para poder percibir el sabor de una sustancia, ésta debe disolverse en la saliva y difundirse a través de un canal localizado en la parte superior del poro gustativo. Las sustancias como sales y otros compuestos de bajo peso molecular (< 6000 daltons) se difunden rápidamente hacia los receptores, a diferencia de otras moléculas de mayor tamaño, como proteínas, que en general carecen de sabor. Una vez que alguna sustancia presente en la superficie de la lengua llega a las células receptoras, ésta interacciona con las proteínas receptoras de la membrana celular acopladas a las proteínas G (sabores dulce, amargo y *umami*), o bien, entra a través de los canales iónicos (salado y ácido), produciendo una diferencia de cargas eléctricas entre el interior y el exterior de la membrana celular, lo que da lugar a la liberación de los neurotransmisores y la transmisión del impulso nervioso al bulbo raquídeo y al tálamo, donde la información se integra junto con las sensaciones del tacto y el olfato. Después, la información se envía a la corteza cerebral, donde el sabor es identificado 3×10^{-3} segundos después. Las proteínas G en estado inactivo generalmente se encuentran cerca de las proteínas receptoras; cuando el receptor es activado por contacto con alguna sustancia, la proteína G responde activándose a sí misma por un breve periodo, y después pasa a la forma inactiva. La proteína G consta de tres subunidades llamadas alfa (gustidicina), beta y gamma. En su forma inactiva las subunidades se encuentran unidas entre sí. La subunidad alfa está asociada a una molécula de guanosín difosfato (GDP); cuando el receptor activa la proteína G, la subunidad alfa intercambia el GDP por una molécula de guanosín trifosfato (GTP), y se separa de las subunidades beta y gamma. La subunidad alfa-GTP activa la enzima adenilato ciclasa que transforma el ATP en 3-5-AMP cíclico, el cual actúa como segundo mensajero, mientras que las subunidades beta y gamma inducen un aumento en la concentración de calcio intracelular. Lo que en conjunto lleva a la liberación de neurotransmisores y la transmisión del impulso nervioso.⁵⁶

Los receptores del gusto son proteínas transmembrana formadas por siete dominios, que se unen a los compuestos del sabor sólo cuando éstos se encuentran en solución. Estas proteínas se denominan T1Rs; entre ellas, los T1R2 y T1R3 actúan como receptores del sabor dulce y el receptor T1R3 en combinación con el T1R1 funciona como receptor de aminoácidos en mamíferos. Además, los nucleótidos estimulan la respuesta del receptor T1R3, por lo que probablemente forma parte de los recep-

tores del *umami*; otros probables receptores de este sabor son el mGluR4 y mGluR.^{53, 69} Si bien cada botón gustativo puede detectar todos los sabores, algunas áreas de la lengua reconocen ciertos sabores mejor que otras, aunque existe un cierto traslape. Lo ácido se percibe principalmente en los márgenes laterales del tercio posterior de la lengua; lo amargo en la parte posterior, lo salado en la punta y en los lados, y lo dulce en la punta. El cerebro detecta el tipo de sabor, según la proporción de estimulación de las diferentes papilas gustativas.²⁹ Es por ello que los catadores profesionales de vino mueven lentamente la bebida desde la punta de la lengua hacia los lados y hacia atrás para así poder apreciarlo en su conjunto.

Las células perceptivas tienen una vida promedio relativamente corta y son reemplazadas por nuevas células, pero su número se reduce a medida que aumenta la edad del individuo.

En este proceso influyen varios factores como la temperatura, la textura o las propiedades reológicas del alimento y la presencia de otros compuestos. La interacción de dos o más sabores primarios puede aumentar o disminuir la intensidad de uno de ellos, como es el caso del dulce, que inhibe el salado o le confiere un sabor más agradable al amargo; estas combinaciones se conocen muy bien y se usan comúnmente en la elaboración casera o industrial de alimentos. Además de estos factores, la sensibilidad de cada individuo es diferente y genéticamente determinada. Un hombre adulto tiene la capacidad de identificar la sacarosa en concentraciones de 0.1%, mientras que la quinina en tan sólo $5 \times 10^{-5}\%$. En general, los hombres son más sensibles a lo amargo y las mujeres a lo dulce y a lo salado. Además, la respuesta de los niños a ciertos sabores difiere de los adultos; en general, los niños tienen una mayor preferencia por sabores dulces y ácidos, que parece estar ligada a factores genéticos, culturales, sociales y a su disposición para probar sabores nuevos asociados con estímulos visuales intensos.⁵⁵ Con la edad y con el uso de algunos medicamentos disminuye el nivel de percepción, debido principalmente a la disminución del flujo salival, alteración de la composición de la saliva y sobre todo por reducción y atrofia de las papilas gustativas; se ha demostrado clínicamente que las personas mayores de 70 años requieren de una concentración 10 veces superior a los jóvenes y adultos, para diferenciar una solución de azúcar, y que además presentan una reducción significativa en la percepción del sabor salado.²⁹ Algunos individuos pueden percibir sabores mucho más intensamente, debido a que tienen un número mayor de papilas gustativas que otros.

8.2.1 Sabor dulce

La estereoquímica de los agentes saporíferos es lo que definitivamente provoca una determinada sensación; por ejemplo, la sacarina es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa, pero su metilación en posición *para*, reduce este poder edulcorante a la mitad; aún más, cuando se convierte en *m*-nitrosacarina por medio de una nitración, presenta un amargor tan pronunciado como el de la quinina (figura 8.1).

La misma situación se presenta con el 2-amino-4-nitropropoxibenceno que es 4,000 veces más dulce que la sacarosa, mientras que el 2,4-dinitropropoxibenceno es muy amargo. Lo mismo sucede con los isómeros de varios azúcares, como es el caso de la α -D-manosa, que es dulce, mientras que la β -D-manosa es amarga; la L-glucosa es ligeramente salada y la D-glucosa es dulce; por otra parte, los aminoácidos D y L también presentan este fenómeno, como muestra el cuadro 8.1. Estas variaciones se deben a modificaciones en la estructura química, ya que el sitio receptor es específico para cada estímulo y además existe una relación entre la percepción de lo dulce y de lo amargo.

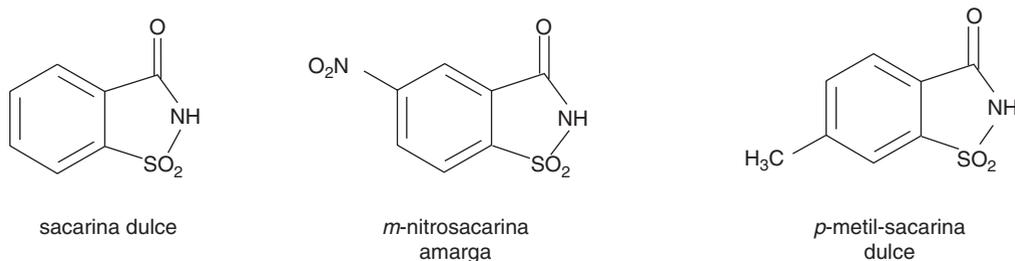


Figura 8.1 Estructura de la sacarina, *m*-nitrosacarina y *p*-metilsacarina.

CUADRO 8.1 Sabor de algunos aminoácidos en sus formas isoméricas		
Aminoácido	<i>L</i> -Isómero	<i>D</i> -Isómero
Ácido glutámico	Único	Sin sabor
Asparagina	Insípido	Dulce
Fenilalanina	Ligero amargo	Dulce con resabio amargo
Histidina	Sin sabor-amargo	Dulce
Isoleucina	Muy amargo	Dulce
Leucina	Ligero amargo	Muy dulce
Metionina	Sin sabor	Dulce
Serina	Ligero dulce	Muy dulce
Valina	Ligero dulce	Muy dulce

Cada compuesto tiene una determinada capacidad para provocar estas sensaciones y por esta razón se llevan a cabo análisis sensoriales para cuantificar su poder o intensidad soporífera. Así, en el caso de los sabores dulces, la capacidad o poder edulcorante se mide en relación con la sacarosa, a cuyo dulzor subjetivamente se le otorga un poder edulcorante de 1 o de 100. Los otros compuestos dulces tendrán valores menores o mayores si son menos o más potentes que la sacarosa para provocar esta sensación. El cuadro 8.2 muestra el poder edulcorante de varios compuestos sintéticos y naturales, en relación con la sacarosa. Esta información se puede obtener, comparando sensorialmente las capacidades de amargo, salado o ácido de algunos grupos de compuestos.

Después de que se propusieron varias teorías sobre el mecanismo de percepción del sabor dulce, se llegó a una que originalmente se desarrolló para los sabores dulces, pero que al parecer se puede extrapolar a otros sabores. En esta teoría, se considera que tanto la molécula estimulante como el sitio receptor bucal contienen dos átomos electronegativos, A y B, separados por una distancia de 3 Å, uno de los cuales está protonado como AH (figura 8.2). La interacción inversa entre estos dos pares de átomos provoca que AH establezca puentes de hidrógeno con B y se genere una pequeña diferencia de potencial que es transmitida al cerebro.

CUADRO 8.2 Poder edulcorante de algunos compuestos en relación con la sacarosa⁷²

<i>Compuesto</i>	<i>Potencia</i>
Lactosa	0.27
Dulcitol	0.4
Sorbitol	0.5
Maltosa	0.5
Galactosa	0.6
D-Glucosa	0.7
D-Xilosa	0.7
Manitol	0.7
Glicina	0.7
Azúcar invertido	1.3
Glicerol	0.8
Xilitol	1.0
D-Fructosa	1.8
<i>p</i> -Anisilurea	18
Ciclamato (ciclohexisulfamato de sodio)	30-80
Cloroformo	40
Gliciricina	50-100
Dulcina (<i>p</i> -etoxi fenil urea)	70-350
Aspartamo (metiléster de aspartilfenilalanina)	100-200
6-Clorosacarina	100-350
5-Nitro-2-metoxianilina	167
Acesulfam K	130-200
5-Metilsacarina	200
Sacarina de sodio	200-270
<i>n</i> -Hexicloromalonaamida	300
Esteviósido	300
Narangina dehidrochalcona	350
Filodulcina	400
Glucósidos de la fruta lo-han	400
1-Bromo-5-nitroanilina	700
5-Nitro-2-etoxianilina	950
Hernandulcina	1,000
Perillaldehído antio-aldoxima	2,000
Neohesperidina dehidrochalcona	2,000
Monelina	2,000-2,500
Taumatina	2,500
5-Nitro-propoxilnilina (P-4000)	4,000

En el caso de los azúcares, no es necesario que contengan carbonos anoméricos libres para inducir esta sensación, puesto que la sacarosa, por ser un compuesto no reductor, es dulce. Algunos isómeros de los monosacáridos, como la galactosa y la manosa, llegan a establecer uniones intramoleculares y reducen la posibilidad de interactuar con el sitio activo de la boca.

Existen muchas sustancias sintéticas, y algunas naturales, que tienen un poder edulcorante mucho mayor que el de la sacarosa (cuadro 8.2); para explicar esto, se modificó la teoría anterior y se

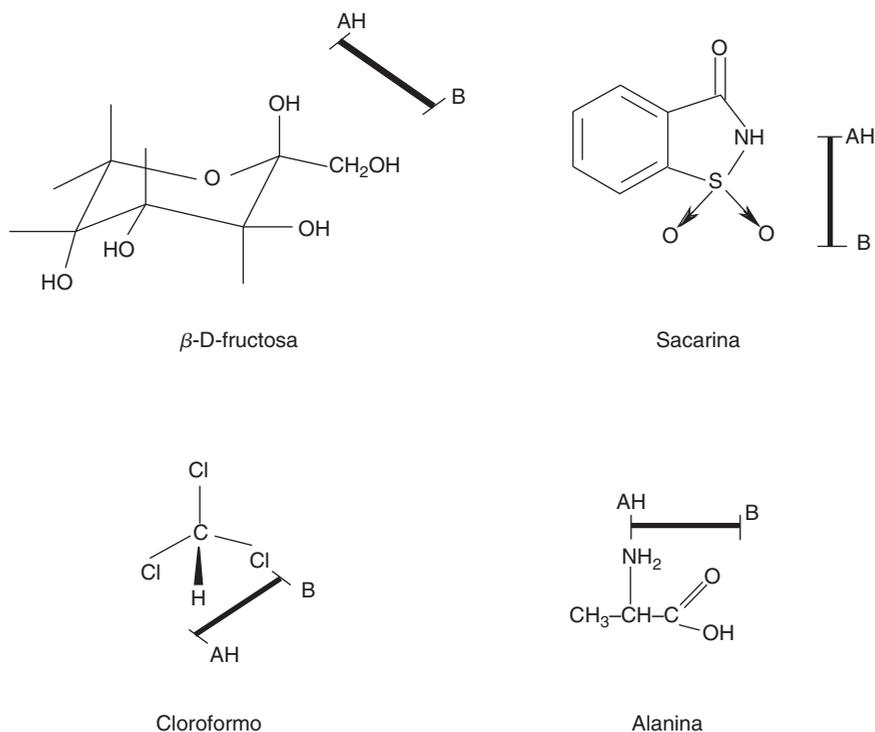


Figura 8.2 Representación esquemática de las unidades AH, B en diferentes compuestos químicos.

añadió el llamado factor γ que representa la parte hidrófoba del agente dulce y del receptor, y que puede ser un metilo, un metileno o un fenilo. Debido a que la membrana de las células de la lengua tiene un carácter lipoproteínico, un determinado grado de apolaridad en la molécula aumenta la interacción, ya que ahora se unen tanto por puentes de hidrógeno como por enlaces hidrófobos; es decir, se considera que el acoplamiento de los triángulos formados por AH, B y γ (del edulcorante y del receptor) son los verdaderos responsables de la percepción.^{45, 77} Con este modelo se explica el alto dulzor de la fructosa con su grupo metileno, $-\text{CH}_2-$, como factor γ (figura 8.3). Algunos compuestos sintéticos, como la sacarina, son de 240 a 350 veces más dulces que la sacarosa, lo cual se relaciona con su estructura AH-B rígida y con su alta hidrofobicidad (figura 8.3); además, no sufre transformaciones de tautomerismo al disolverse en agua, por lo que no cambia la intensidad de dulzura con el tiempo. Se ha visto que cuando la estructura química de los azúcares y de otros edulcorantes sufre pequeñas transformaciones, se provocan grandes alteraciones, ya que fácilmente pasan de dulce a amargo; esto incluso se puede observar con la sacarina, ya que algunas personas consideran que es una combinación de los sabores dulce y amargo; por estas razones, se piensa que debe existir una similitud entre los mecanismos de percepción de ambos. De hecho, el modelo AH-B es igualmente aplicable a los amargos, con algunas ligeras diferencias con respecto al modelo descrito para el dulce.⁴

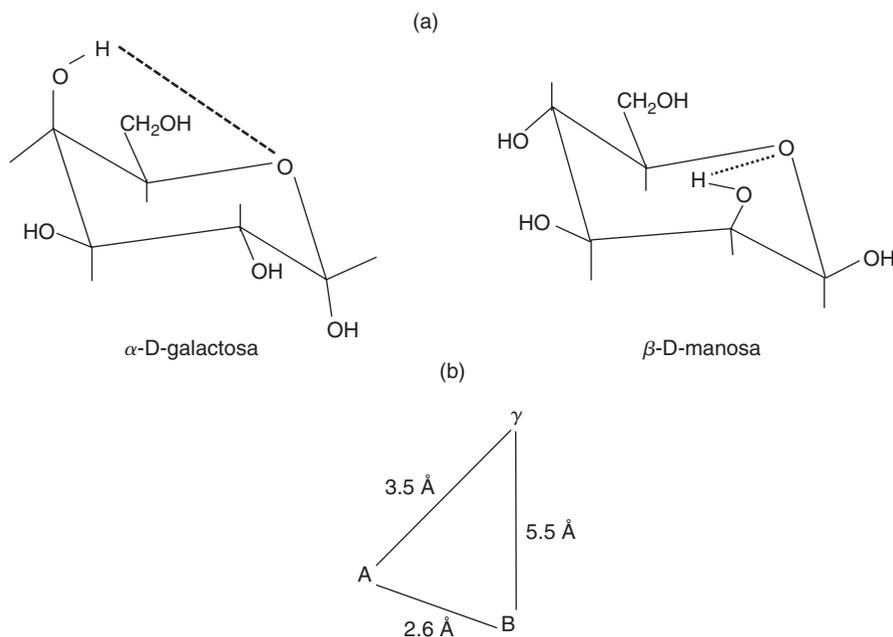


Figura 8.3 (a) Puentes de hidrógeno intramoleculares que impiden la interacción del azúcar con los sitios receptores, y (b) localización del factor hidrófobo con respecto a los grupos AH, B.⁷⁷

8.2.2 Sabor amargo

La percepción del sabor amargo es similar a la del dulzor debido a su dependencia estereoquímica con las moléculas que desencadenan este estímulo. La mayoría de las sustancias amargas poseen la unidad AH-B idéntica a la de las moléculas dulces, así como un grupo hidrófobo (γ). La orientación de las unidades AH-B en el receptor genera una respuesta dulce o amarga, lo cual explica que los D-aminoácidos sean dulces y los isómeros L posean un sabor amargo (cuadro 8.1). Al parecer, cuando la distancia entre AH y B se reduce a la mitad, la percepción se transforma de dulce a amargo; en estas condiciones la cercanía de estos grupos induce el establecimiento de puentes de hidrógeno intramoleculares que provocan una pequeña hidrofobicidad y hacen que la molécula no produzca puentes de hidrógeno abiertos como en el caso del dulce.

La mayor parte de las sustancias responsables del sabor amargo son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y alcaloides, presentes en fármacos y sustancias potencialmente tóxicas. Cuando la intensidad del sabor amargo es muy elevada puede provocar rechazo y vómito, por lo que se le atribuye una función de defensa para ayudar a la sobrevivencia.⁵⁵

8.2.3 Sabor salado

La sensación de lo salado se debe fundamentalmente a las interacciones de los cationes y los aniones con los receptores de la lengua, así como sucede con el sabor amargo. Los cationes causan el sabor salado y los aniones lo inhiben, además a concentraciones bajas las sales pueden producir un sabor

dulce. El cloruro de sodio se toma como referencia del sabor salado y a diferencia de otras sales, incrementa la salivación y la percepción del dulzor, además, enmascara o disminuye notas metálicas y amargas.

Las sales inorgánicas de sodio y litio como el NaCl y LiCl, con un diámetro iónico inferior a 6.5Å, producen únicamente sabores salinos, mientras que el potasio y otros iones producen notas salinas y amargas. A medida que aumenta el diámetro iónico de la sal, el sabor salado se reduce y se incrementa lo amargo, así el KCl (6.28Å), el CsCl (6.96Å) y el MgCl₂ (8.5Å), resultan amargos en orden creciente. Algunos aniones como el lauril sulfato de sodio y los polifosfatos, no sólo enmascaran el sabor del catión sino que producen una sensación de sabor compleja que se describe como jabonosa o básica.

8.2.4 Sabor ácido

El sabor ácido es considerado como el más simple de todos los sabores y es causado por muchas sustancias que en disolución generan iones hidrógeno; el ácido clorhídrico se emplea como estándar del sabor ácido. Sin embargo, cada sustancia llega a tener otras notas, como el ácido cítrico que produce cierto dulzor. En las mismas condiciones de pH, los ácidos orgánicos, como el acético tienen un sabor ácido de mayor intensidad que ácidos de los minerales; sin embargo, a valores de pH de 6.5 la diferencia en el sabor es mínima.³⁷ La percepción del sabor ácido depende de la naturaleza de la molécula, del pH, de la acidez y del efecto amortiguador de la saliva, así como de otros componentes presentes en el alimento. Recientemente, se ha señalado que la intensidad del sabor ácido es proporcional a la suma de la concentración molar de los ácidos orgánicos con al menos un grupo carboxilo protonado, más la concentración molar de los iones hidrógeno libres; donde el grado de ionización de los ácidos orgánicos depende del pH del sistema.⁴²

8.2.5 Umami

El sabor *umami* es un sabor único, difícil de describir y que se asocia al glutamato monosódico y a nucleótidos como inosinato y guanilato de sodio (figura 8.4). Este sabor es parecido al de la carne y se encuentra en alimentos ricos en proteínas, aunque alimentos como jitomate, huevo, pescado y productos fermentados como el queso y la salsa de soya también contienen compuestos relacionados con el *umami*. El mecanismo de acción es aún desconocido, pero se sabe que actúa de manera sinérgica para aumentar la percepción del sabor, por lo que particularmente el glutamato de sodio se ha empleado como potenciador del sabor.

El *umami* incrementa la sensación de dulzor en alimentos ácidos, amplifica la sensación de sabor producida por diversas sustancias y modifica el tiempo de residencia con los receptores gustativos, balanceando la percepción del sabor en general. El adenosín-monofosfato (AMP), que fue aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA) como bloqueador del sabor amargo, también se relaciona con el grupo de compuestos responsables del *umami*.

8.2.6 Fenómenos de percepción asociados con los sabores básicos

Existen otros fenómenos en la percepción del sabor como astringencia, pungencia, sabor metálico y efecto refrescante.⁸⁸ La astringencia sólo se percibe en la cavidad bucal y no en la lengua; se describe como una sensación de sequedad acompañada de un fuerte encogimiento de los tejidos, debido a

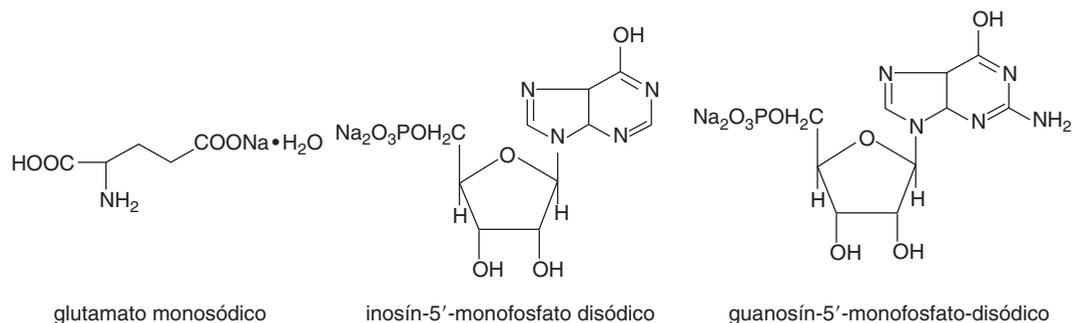


Figura 8.4 Estructura de los principales compuestos responsables de la percepción del *umami*.

algunos ácidos y a moléculas con grupos hidroxilos adyacentes, como los taninos y polifenoles que pueden formar agregados hidrófilos con proteínas y mucopolisacáridos de la saliva. Es frecuente confundir la astringencia con el gusto amargo debido a que algunos compuestos generan ambas sensaciones. La astringencia es una característica de calidad en bebidas como el té negro y el vino tinto. También confiere sabores desagradables en frutos como el plátano y es un indicativo de una maduración insuficiente.⁴² El efecto picante o pungente es producido por compuestos como capsaicinoides, piperina y gingeroles, que están presentes en especias y vegetales como pimienta negra, jengibre, mostaza, rábano, cebolla, ajo, clavo y chile. La pungencia se describe como un conjunto de sensaciones trigeminales no específicas que producen dolor quemante, aguijoneo, irritación y lagrimeo que se conoce colectivamente como picante. El término trigeminal se refiere a los nervios que corren del cerebelo a la cara y las cavidades bucal y nasal. Los chiles habanero, de árbol y piquín, pertenecientes al género *Capsicum* son muy picantes, con valores de 200,000, 150,000, y 60,000 unidades Scoville (prueba subjetiva para medir el grado de pungencia), respectivamente; cuyo sabor es causado en un 90% por la presencia de capsaicina y dehidrocapsaicina. La figura 8.5 muestra la estructura de los principales capsaicinoides.¹⁰

Por otra parte, el efecto refrescante se produce cuando ciertos compuestos como la menta, hierbabuena y xilitol estimulan receptores específicos de gusto y olfato. Por último, el gusto metálico que generalmente se asocia con la oxidación es generado por la presencia de sales de mercurio, plata, hierro, cobre o estaño.⁸⁸

8.3 AROMAS

Por definición, el olor es una sustancia volátil percibida por el sentido del olfato y por la acción de inhalar. En muchas ocasiones, este término tiene una connotación desagradable, ya que los que generalmente se consideran agradables reciben el nombre de aromas. En la mayoría de los casos, un olor desagradable está asociado a la descomposición de alimentos, pero también están ligados al comportamiento sexual de los animales, incluyendo al hombre. Un olor también puede hacernos evocar una situación emocional en un instante, por lo que en algunos países como Japón y Estados Unidos de América se emplean olores específicos para aumentar la motivación en áreas de trabajo,

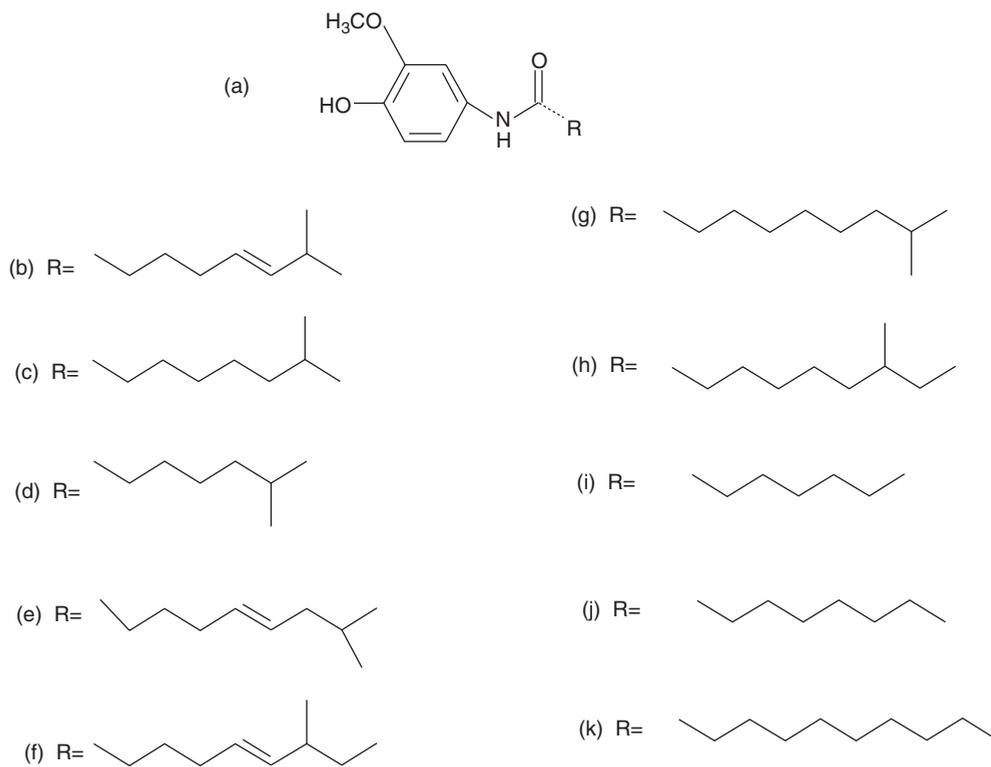


Figura 8.5 (a) Estructura general de capsaicinoides; (b) capsaicina, (c) dihidrocapsaicina, (d) norhidrocapsaicina, (e) homocapsaicina i, (f) homocapsaicina ii, (g) homodihidrocapsaicina i, (h) homodihidrocapsaicina ii, (i) N-vanilil-octamida, (j) N-vanilil-nonamida, (k) N-vanilil-decamida.¹⁰

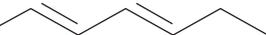
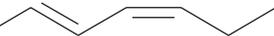
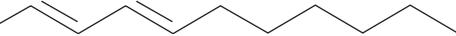
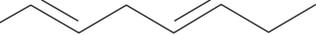
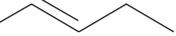
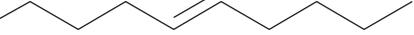
hogares y lugares de recreación. El aroma juega un papel indiscutible en la aceptación y elección de alimentos, si un aroma indeseable es percibido o no corresponde a las expectativas del consumidor, el producto será rechazado.⁵⁰

Para que pueda percibirse algún olor, la molécula estimulante debe ser volátil (de bajo peso molecular) y además, se requiere de una corriente de aire para que la transporte a los centros olfativos de la nariz; éstos son muy sensibles, tienen un alto poder discriminatorio, son capaces de captar aproximadamente 10,000 compuestos diferentes en 20 niveles de concentración y con un umbral mínimo de 10^{-18} molar. Además de que la cantidad del agente activo es muy importante para captar un determinado olor, la velocidad de flujo a través del conducto nasal influye en forma decisiva; por esta razón, el umbral de percepción puede ser modificado hasta 100 veces, al estimular el sistema nervioso simpático, ya que éste controla el tamaño de los vasos sanguíneos y por tanto el volumen de aire que circula en la nariz. Debido a que este sistema depende a su vez de los estados de salud y psicológico del individuo, la sensibilidad para captar un olor puede cambiar de un día a otro, o incluso durante el mismo día. Además, el cerebro no sólo puede captar y reconocer los miles de compuestos odoríferos, también puede almacenar la información y recordarla después de largos periodos de tiempo. Al

igual que en el sabor, se distinguen siete olores primarios descritos como alcanfor, etéreo, mentolado, floral, pungente, pútrido y almizcle o perfumado.⁸⁸

El ser humano tiene de 10 a 20 millones de receptores olfativos localizados en una superficie de 10 cm² de la región posterior de la nariz. Cuando un compuesto volátil llega al epitelio olfativo situado en el techo de la cavidad nasal, se acopla a receptores específicos, la unión o acoplamiento entre el compuesto odorífero con el receptor se produce por afinidad química, al igual que en la percepción del sabor, ésta depende de la estructura química de la sustancia en cuestión, generando una señal nerviosa que puede procesar el cerebro. Cada olor se caracteriza por la activación de varios receptores, la combinación de estos receptores es propia de cada olor y permite que el cerebro lo reconozca. Una molécula volátil es capaz de acoplarse a varios receptores, y a su vez, un mismo receptor interviene en olores distintos. Por lo que, cuando el compuesto activo llega al epitelio olfativo, genera un patrón de activación específico que se transmite al bulbo olfativo, donde la información es reorganizada para crear un mapa exclusivo del olor que se está percibiendo y que permite al cerebro reconocer la naturaleza de cada aroma.⁹⁰ La acción del agente activo depende de su tamaño y de sus grupos funcionales, por lo que la estereoquímica desempeña un papel muy importante. Cambios aún muy pequeños en la calidad y la concentración en la composición del olor pueden modificar el patrón de percepción y modificar la calidad del olor percibido. Por ejemplo, el trans-2-enal, por encima de su límite de percepción (0.1 µg/kg), tiene un olor a madera, por arriba de 8 µg/kg tiene un olor a grasa y a 30 µg/kg el olor se vuelve desagradable. Asimismo, en el caso de los aldehídos, el tamaño de la cadena es determinante para que se produzca una percepción sensorial específica; el cuadro 8.3 muestra esta situación, así como los umbrales mínimos de detección de varias de estas sustancias.⁴⁴

CUADRO 8.3 Umbrales de detección de algunos aldehídos en alimentos⁴⁴

Aldehído	Descripción	Umbral (µg/kg)	
		Olor	Sabor
O=C 	Plátano	0.3	0.04
O=C 	Rancio	10	0.5
O=C 	Manzanas podridas	4	0.055
O=C 	Nuez	1	0.15
O=C 	Grasa de pollo	2	0.25
O=C 	Pepino	2.5	0.35
O=C 	Manzana	2.5	0.35
O=C 	Tomate	0.15	0.15
O=C 	Naranja	34	5.5
O=C 	Melón	5	1

8.4 ASPECTOS FISICOQUÍMICOS EN LA PERCEPCIÓN DEL SABOR Y DEL AROMA

El reto para la industria de los sabores es producir la misma nota de sabor y aroma en cada uno de los diversos grupos de alimentos; por ejemplo, el sabor a fresa en productos líquidos (como leche o licuados), semisólidos (como el yogurt) o sólidos (como caramelo macizo). La percepción del aroma y sabor está directamente asociada con la estructura, naturaleza química y propiedades fisicoquímicas (como hidrofobicidad, solubilidad, volatilidad, etcétera) de los compuestos activos, pero también con la composición y estructura de cada alimento. La matriz que conforma la estructura de los alimentos es compleja y comprende varias fases, ya sea líquida, sólida o gaseosa. La afinidad de los componentes del sabor por alguna de estas fases puede acelerar o retardar la liberación de alguno de los componentes del sabor y por tanto modificar la percepción global del sabor, por lo que se han desarrollado cientos de formulaciones para un solo tipo de sabor, pero con aplicaciones específicas acordes a la composición de cada producto.^{64, 80}

8.4.1 Proceso de masticación

Durante la masticación, los compuestos volátiles y no volátiles se disuelven y son extraídos de la matriz del alimento a la fase líquida de la saliva. Los compuestos no volátiles son percibidos en los receptores del gusto; mientras que los compuestos volátiles son transportados desde la saliva a la fase de vapor en la cavidad bucal y, posteriormente, conducidos a través de la garganta hasta los receptores del olfato. La intensidad del estímulo depende de la fracción de los componentes de aroma y sabor que pueda tener acceso a los centros receptores. Sin olvidar que la velocidad con la que éstos compuestos son liberados y transportados, depende de las propiedades fisicoquímicas de las macromoléculas que constituyen la matriz del alimento. La liberación de los componentes del sabor *in vivo* involucra también factores fisiológicos y aspectos del comportamiento humano como: volumen de la cavidad bucal, la cantidad de saliva, el flujo de aire entre la boca y la nariz, el número de veces que el alimento es masticado, etcétera.

En condiciones ideales, la liberación o extracción, así como el transporte de los componentes de un sistema dependen de los coeficientes de partición y difusión entre dos fases (aire-agua, aceite-agua, aire-aceite, etcétera). El coeficiente de partición (ecuación 1) es un parámetro que describe la distribución de un compuesto entre dos fases en un sistema en equilibrio, y es una medida de su volatilidad. No obstante, la masticación e ingesta de alimentos es un proceso dinámico, donde los compuestos activos presentes en el alimento pasan a una fase líquida, sin que se alcance el equilibrio.

Existen dos mecanismos que describen la liberación de componentes entre dos fases; el primero es el modelo convectivo (ecuación 2), en el que se asume que las fases forman una mezcla homogénea, y el transporte de masa a través de la interfase ocurre por difusión interfacial. El segundo mecanismo, corresponde al modelo difusivo que ocurre cuando ambas fases forman una mezcla heterogénea; en este caso, el transporte de masa depende de la difusión (ecuación 3), de la distancia entre las fases, de la viscosidad y del tiempo.^{36, 80}

$$P_{gL} = C_g/C_L \quad [\text{Ec. 1}]$$

$$1/k = 1/k_g + P_{gL}/k_L \quad [\text{Ec. 2}]$$

donde:

k = transporte de masa a través de la interfase.

k_g y k_L = transporte de masa en las fases de gas y líquida, respectivamente.

P_{gL} = coeficiente de partición entre las fases líquida y gaseosa.

C_g y C_L = concentración en las fases gaseosa y líquida, respectivamente.

$$k_L = D_L/h_L \quad [\text{Ec. 3}]$$

donde:

D_L = coeficiente de difusión.

h_L = espesor de la interfase.

En una emulsión, que es un sistema formado por dos fases inmiscibles, la fase dispersa en forma de pequeñas partículas se encuentra dentro de la fase continua. En el equilibrio, la concentración de volátiles en la fase de vapor de una emulsión depende de la transferencia de masa entre la fase de vapor y la de emulsión (K_{ge}), donde: C_g y C_e = concentración de volátiles en las fases gaseosa y emulsión, respectivamente como sigue:

$$K_{ge} = C_g/C_e \quad [\text{Ec. 4}]$$

La concentración de volátiles en la emulsión depende del volumen de la fracción de la fase dispersa (Φ_d), así como de la concentración de volátiles en las fases continua (C_c) y dispersa (C_d):

$$C_e = (1 - \Phi_d) C_c + \Phi_d C_d \quad [\text{Ec. 5}]$$

Por lo que la concentración de volátiles en la fase de vapor (C_g) en el equilibrio, puede expresarse en términos de la ecuación 5 como sigue:³⁶

$$C_g = K_{ge} C_c [(1 - \Phi_d) + \Phi_d K_{dc}] \quad [\text{Ec. 6}]$$

reordenando,

$$K_{ge} = K_{gc}/1 + (K_{dc} - 1) \Phi_d \quad [\text{Ec. 7}]$$

donde:

K_{gc} = coeficiente de partición en el equilibrio entre la fase de vapor y la continua.

K_{dc} = coeficiente de partición en el equilibrio entre la fase dispersa y la continua.

Si se considera que en la realidad no se llega al equilibrio, la concentración de volátiles en la fase de vapor de la emulsión depende de la variación del coeficiente de transferencia, de la superficie interfacial y de la variación de la viscosidad del alimento durante el proceso de masticación. Un alimento está muy alejado de las condiciones ideales, pues dentro de la matriz del producto se pueden encontrar varias interfases. La masticación no sólo rompe la estructura, también induce cambios en la viscosidad, volumen y composición del alimento. La saliva constituye el medio de transferencia hacia los receptores de gusto y olfato; las enzimas presentes en ella como la α -amilasa y lipasa inducen cambios en la composición y viscosidad del alimento, lo que modifica la difusión interfacial de los

compuestos del sabor. Asimismo, por su capacidad para neutralizar ácidos, la saliva puede incrementar la volatilidad de algunas bases como el 2-acetil-piridina y el 2-metoxi-3-metil-pirazina. Del mismo modo, se genera un efecto de dilución, ya que sólo una fracción 10 a 100 veces menor de los compuestos volátiles extraídos por la saliva son transferidos a los centros receptores del gusto y del olfato, debido a que una parte de éstos se une a las glucoproteínas presentes en la saliva, lo que modifica la intensidad del estímulo (S) (ecuación 8). Además del efecto de dilución, algunos compuestos pueden permanecer un mayor tiempo en la cavidad bucal y en la cavidad retronasal, debido a que quedan retenidos en la mucosidad que recubre boca, garganta y nariz.

$$S = K_S C^{n_s} \quad ; \quad P = K_p C^{n_p} \quad \text{[Ec. 8]}$$

donde:

S = intensidad.

P = persistencia.

K_S y K_p = constantes asociadas con la facilidad de acceso entre el compuesto y el receptor.

n_s y n_p = superíndices asociados con la interacción del compuesto con el receptor.

Este último fenómeno se denomina persistencia (P) (ecuación 8), y es deseable en algunos productos; por ejemplo, el mentol, que es uno de los compuestos de mayor persistencia, se emplea como ingrediente activo en productos como chicle, pasta y enjuague bucal.⁸⁰

8.4.2 Efecto de macromoléculas en la percepción del sabor

La liberación de los compuestos de aroma y sabor depende también del grado de unión y afinidad tanto química y física de estos compuestos con las macromoléculas de la matriz del alimento. Por ejemplo, los aldehídos pueden unirse con proteínas por medio de un enlace covalente, para formar una base de Schiff; o bien, los grupos tiol pueden formar enlaces disulfuro con grupos azufrados de proteínas, por lo que la fracción libre de estos compuestos disminuye significativamente.

8.4.2.1 Papel de los lípidos en la percepción del sabor

Los lípidos tienen un gran impacto en las características sensoriales de alimentos, ya que no sólo modifican la percepción del sabor, también son responsables de su estabilidad, porque a partir de ellos se sintetizan un gran número de compuestos volátiles y no volátiles.⁸⁰ La distribución de los componentes entre la fase oleosa y líquida es heterogénea y depende del coeficiente de partición entre las dos fases ($P_{oL} = C_o / C_L$); a mayor valor de P_{oL} , mayor será la hidrofobicidad del compuesto. En un producto libre de grasa, los compuestos hidrófobos o lipófilos se encontrarán en una alta proporción en la fase de vapor del producto; sin embargo, la presencia de lípidos modificará la distribución de estos compuestos, ya que se podrán distribuir en tres fases (líquida, grasa y aire); los compuestos hidrofóbicos se encontrarán unidos principalmente a la fase oleosa, por lo que tendrán una menor volatilidad (figura 8.6). En general, la presencia de lípidos aumenta la persistencia de compuestos de carácter hidrofóbico, debido a un mayor tiempo de residencia y exposición ante los receptores de gusto y olfato, lo que explica en parte, la rápida extinción de la percepción del sabor en los productos bajos en grasa y la necesidad de emplear saborizantes encapsulados.^{12, 54, 80}

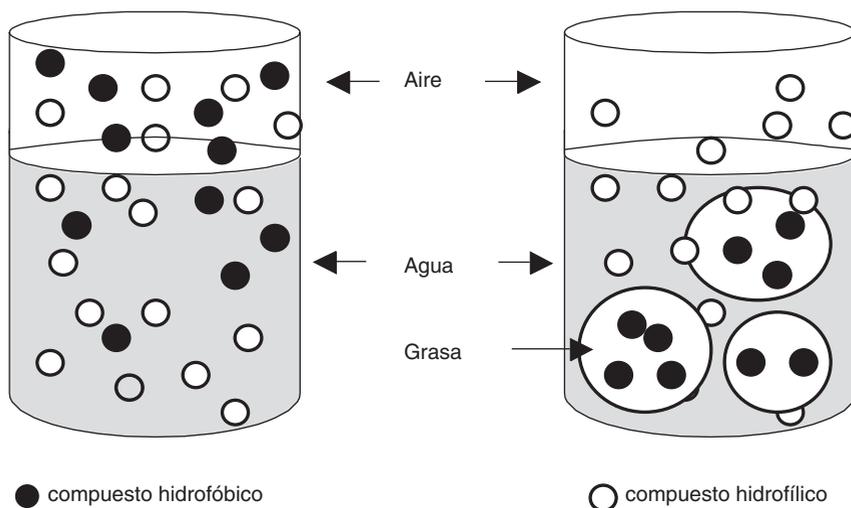


Figura 8.6 Papel de los lípidos en la concentración de compuestos volátiles en la fase de vapor en equilibrio.¹²

Los lípidos también son responsables de la estabilidad física y química de aroma y sabor. Al reducir el contenido de lípidos, los compuestos hidrofóbicos tenderán a volatilizarse con mayor facilidad y se perderán durante el almacenamiento prolongado. Igualmente, las reacciones de deterioro de lípidos alteran el sabor de alimentos.¹²

8.4.2.2 Papel de los carbohidratos en la percepción del sabor

Al igual que los lípidos, los carbohidratos tienen un papel preponderante en las características de aroma y sabor. Como se mencionó antes, los carbohidratos incluyen compuestos de bajo peso molecular que participan directamente como agentes del sabor, así como oligosacáridos y polisacáridos. Estos últimos carecen de sabor, pero modifican el patrón de percepción. Además, una gran cantidad de compuestos del aroma y sabor provienen de la degradación de carbohidratos que se produce mediante las reacciones de oscurecimiento no enzimático. En particular, las gomas y el almidón, se emplean como extensores, espesantes o gelificantes; incrementan la viscosidad del sistema y retrasan la velocidad de liberación de los agentes de sabor y aroma. Por ejemplo, la pectina y el almidón reducen la volatilidad y extracción de compuestos del sabor y aroma en yogurt, así como la intensidad del sabor dulce de la sacarosa.^{13, 54}

El proceso de difusión en una solución depende del contenido de humedad y del diámetro de la molécula, así como de las propiedades reológicas del sistema. A mayor diámetro molecular se observa una menor difusión. Si además hay un aumento en la viscosidad del sistema, la velocidad de difusión será menor, y se inducirá un cambio en el perfil de sabor y aroma, debido a un cambio en la velocidad con que las moléculas alcanzan a los receptores. El efecto de los polisacáridos depende de su concentración; cuando éstos se encuentran por debajo de la concentración crítica (*C), el efecto en la percepción del sabor es mínimo, pero cuando se sobrepasa *C, el aumento en la viscosidad del sistema reduce significativamente la percepción del sabor. El valor *C se define como la mínima con-

centración a la cual las cadenas del polisacárido se superponen entre sí para formar una red tridimensional. Aunado al cambio en la viscosidad del sistema; la amilosa, las ciclodextrinas y en menor grado la amilopectina, forman complejos de inclusión molecular, estabilizados por interacciones hidrofóbicas, en donde algunos compuestos volátiles y ácidos grasos quedan atrapados en la región helicoidal de estos polisacáridos, con lo que se reduce la concentración de compuestos que alcanzan la fase de vapor del sistema.^{28, 80}

8.4.2.3 *Papel de las proteínas en la percepción del sabor*

Es necesario recordar que la percepción del aroma y sabor se da precisamente por la interacción de los componentes activos con las proteínas que constituyen los centros receptivos. Las proteínas pueden unirse a los compuestos de aroma y sabor a través de dos mecanismos: *a)* reversible a través de interacciones de Van der Waals y *b)* de forma irreversible mediante el establecimiento de interacciones covalentes o electrostáticas. Tanto los aldehídos como las cetonas y en menor grado los ésteres, se unen con proteínas; en particular, los aldehídos pueden reaccionar con grupos amino libres de la lisina o con grupos imidazol de la histidina y quedar irreversiblemente unidos a proteínas, mientras que los ésteres se pueden unir a proteínas mediante interacciones hidrofóbicas.

El tipo de interacciones depende de la conformación de la proteína y de la distribución específica de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos. Cuando una proteína se encuentra en un estado desnaturado, ya sea por efecto de tratamiento térmico o por cambios en el pH, y expone un mayor número de residuos hidrofóbicos, tiene una mayor tendencia a formar complejos con compuestos volátiles por medio de interacciones hidrofóbicas. Asimismo, los compuestos de aroma y sabor pueden quedar físicamente atrapados dentro de la red de proteínas en los procesos de gelificación, por lo que el grado de interacción entre los compuestos de aroma y sabor con proteínas depende en gran medida de factores como pH, temperatura y fuerza iónica que afectan la conformación de la cadena polipeptídica.^{24, 67, 80}

8.4.2.4 *Materiales de empaque*

Por otra parte, el empaque juega un papel primordial en la percepción de aroma y sabor, dado que tiene como principal función proteger al producto y prolongar la vida útil. Desde el punto de vista de la química del sabor, el material de empaque debe evitar la pérdida de compuestos volátiles o la entrada de compuestos odoríferos ajenos al producto, brindar protección contra reacciones de deterioro como la oxidación, y sobre todo no interactuar con los componentes del producto.⁶

8.5

MECANISMOS DE LA GENERACIÓN DE AROMAS Y SABORES

El número de compuestos volátiles descritos en la literatura aumenta continuamente, debido en gran parte al desarrollo de técnicas de extracción y análisis instrumentales cada vez más sensibles, que son capaces de detectar los compuestos odoríferos que están presentes en concentraciones extremadamente pequeñas. En la actualidad se han reportado más de 10,000 diferentes compuestos responsables del aroma y sabor en más de 400 productos, de los cuales, un porcentaje elevado corresponde a los volátiles que afectan directamente el olfato y en menor proporción a compuestos de sabor; aunque

se sabe que existe una interacción entre la percepción del gusto y olfato.⁸⁵ Por ejemplo, el sabor dulce aumenta la percepción del olor a fresa, en tanto que el sabor salado incrementa la percepción del olor de productos como salsa de soya.¹⁶

Las principales reacciones en la generación de los compuestos responsables del aroma y sabor son la hidrólisis y la oxidación de lípidos, reacciones enzimáticas, reacciones de oscurecimiento no enzimático y reacciones fotoquímicas. Los compuestos del sabor son moléculas que pueden ser no volátiles (con baja presión de vapor, como sacarosa, glucosa, capsaicina, etcétera) o volátiles, que al entrar en la boca se volatilizan y generan aromas; las primeras sólo estimulan el sentido del gusto, y las segundas estimulan tanto el gusto como el olfato; estos compuestos derivan primordialmente de la hidrólisis de proteínas, carbohidratos, lípidos, ribonucleótidos y pigmentos. Estos biopolímeros tienen muy poco efecto en el gusto, pero los productos provenientes de la hidrólisis generan sabores dulce, salado, amargo, ácido y *umami* en alimentos y bebidas. Por otra parte, los compuestos del aroma son compuestos volátiles de bajo peso molecular, generados por la oxidación de lípidos, reacciones de Maillard, caramelización, degradación y por la interacción de los productos de estas reacciones. Debido a que cada uno de los constituyentes de los alimentos (tanto frescos como procesados) es un sustrato potencial en alguna transformación química, enzimática o microbiológica, el número de reacciones que éstos favorecen es muy grande, por lo que existe una amplia variedad de compuestos tales como ácidos, alcoholes, aldehídos, azúcares, cetonas, ésteres, éteres, furanonas, furanos, mercaptanos, terpenos, sales, aminoácidos, lactonas, pirazinas, pirroles, piridinas, pirimidinas, piranonas, sulfuros, oxazoles, oxazolinas, tiofenos, tiazoles y otros, que forman parte del sabor y del aroma de muchos productos.^{51, 62, 79} Tradicionalmente se ha considerado que la síntesis de todas estas moléculas químicamente tan distintas, se efectúa mediante uno de los cuatro mecanismos siguientes: biosintético, enzimático directo, enzimático indirecto y pirolítico (cuadro 8.4).

Sin embargo, éstos pueden reunirse en dos grandes grupos: biosintético y por efecto de las altas temperaturas. En el primero se incluyen todas las transformaciones que se efectúan por los sistemas enzimáticos y por los microorganismos propios, añadidos o contaminantes.

CUADRO 8.4 Mecanismos de formación de sabores en alimentos⁷⁴

Nombre	Mecanismo	Características
Biosintético	Metabolitos secundarios sintetizados durante el desarrollo normal de tejidos.	Los sabores son terpenos y ésteres como en la menta, los cítricos, la pimienta y el plátano.
Acción enzimática directa	Los sabores se forman por la acción de enzimas sobre moléculas precursoras del sabor.	Formación del sabor de la cebolla por la acción de la aliinasa sobre sulfóxidos.
Acción enzimática indirecta (oxidación)	Los sabores se forman por la oxidación de los precursores del sabor, mediante agentes oxidantes generados enzimáticamente.	Los sabores se caracterizan por la presencia de grupos ácidos y carbonilos.
Pirolítico	Los sabores se forman de precursores, al someter el alimento a tratamientos térmicos.	Los sabores se caracterizan por la presencia de pirazinas, derivados furánicos y otros.

Por otra parte, en el segundo caso están considerados los cambios que sufren los alimentos cuando se someten a un tratamiento térmico, como cocción, freído y esterilización. Los productos crudos de origen animal, como la leche y la carne, tienen un aroma y un sabor muy pobre; sólo después de que éstos se exponen a un tratamiento térmico, desarrollan las propiedades sensoriales que los hacen tan atractivos al consumidor. En estado crudo, el sabor de estos alimentos se debe a sales, aminoácidos, azúcares, ácidos grasos libres y algunas otras sustancias de bajo peso molecular. Cabe señalar que los aromas y sabores desagradables también son originados por estos mecanismos, como consecuencia de un mal procesamiento y deterioro durante su almacenamiento, propiciado por contaminación ambiental con agua y aire, por interacción con otros componentes del alimento y con los materiales de empaque, así como por alteración microbiana.⁷⁹ A continuación se explicarán brevemente los dos mecanismos de síntesis de las sustancias responsables del sabor y del aroma de la mayoría de los alimentos.

8.5.1 Biosíntesis

Los compuestos generados mediante biosíntesis también se denominan naturales; en general, son metabolitos secundarios, que se forman durante el ciclo normal de crecimiento de los tejidos vegetales y frutos, de microorganismos o por la acción de sistemas enzimáticos endógenos y/o exógenos. Estos compuestos permanecen *in situ*, es decir, dentro del producto, y el sabor se percibe directamente cuando se consume el alimento. Los productos vegetales como frutas, verduras, hojas y flores son los productos que en estado natural contienen una mayor cantidad de compuestos volátiles y no volátiles generados por biosíntesis. Procesos bioquímicos como glucólisis, ciclo de Krebs, y otros distintivos de cada especie generan un gran número de compuestos: *a)* amargos, como la cafeína del café, la teobromina del cacao, la limonina de los cítricos, etcétera; *b)* ácidos, como ascórbico, cítrico, fumárico, acético y málico; *c)* pungentes como la capsaicina de los chiles (ajís, pimentón, etcétera) y la piperina de la pimienta; además de un gran número de sustancias volátiles responsables del aroma. Estas sustancias no están distribuidas homogéneamente en el tejido, por lo que es común que las propiedades sensoriales de frutos y vegetales varíen dentro del mismo producto.

Los ciclos bioquímicos y por ende la producción de compuestos volátiles y no volátiles se asocia con múltiples factores. En primer término, la genética de cada fruto o planta establece un metabolismo diferente, por lo que cada producto exhibe un perfil sensorial característico, ocasionado por la proporción cualitativa y cuantitativa de esas moléculas activas. Estas diferencias también se presentan incluso en una misma variedad de producto, ya que se pueden sintetizar los mismos componentes, pero en diversas concentraciones. Además de los aspectos genéticos, las condiciones climatológicas (temperatura, humedad, tiempo de exposición a la luz solar), tipo de suelo (pH, disponibilidad de nutrientes) y las prácticas culturales (rotación de cultivos, riego, fertilización, adición de hormonas, formación de injertos) también influyen de manera decisiva. En general, cuando una planta se cultiva en circunstancias desfavorables, como falta de agua o temperaturas extremas, tiene un bajo rendimiento y frutos pequeños, pero con una alta concentración de compuestos de bajo peso molecular, que incluyen tanto compuestos del aroma como sus precursores.²⁵ La calidad de los frutos también depende de las condiciones en las que se efectúe su maduración, ya que ésta no es igual si se termina en la planta o si el fruto se cosecha inmaduro y se almacena en una cámara acondicionada para la maduración. Los frutos también se ven afectados por las condiciones de almacenamiento, ya que acorde con la temperatura y la disponibilidad de oxígeno se favorece un ciclo bioquímico específico que repercute en la síntesis de ciertos volátiles.⁵ En general, el proceso de maduración se acelera por un

aumento en la temperatura; por ejemplo, la mayor concentración de acetato isoamílico, principal componente del sabor en plátanos (*Musa sapientum*), se presentó cuando la maduración se llevo a cabo de 20 a 25°C; sin embargo, al madurar estos frutos a 30°C la concentración de este compuesto disminuyó significativamente y aumentó la producción de etanol.⁴⁹

En la mayoría de los productos vegetales, el contenido de proteínas y lípidos es muy bajo; estos compuestos son fundamentales para establecer los procesos biosintéticos, cuya integración es compleja. A manera de resumen, en la figura 8.7 se muestra la forma en que interactúan y los grupos de compuestos que derivan de ellos; de igual manera, en el cuadro 8.5 se indican sólo algunas de las múltiples sustancias que provienen de estos mecanismos.⁸⁴

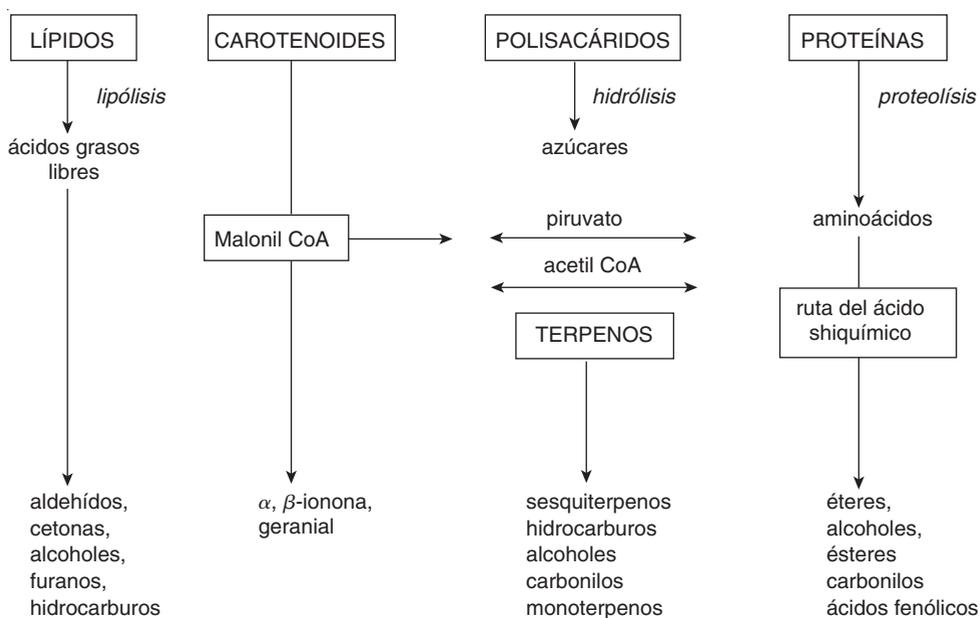


Figura 8.7 Esquema de las principales reacciones involucradas en la síntesis de aroma y sabor en frutas.⁸⁴

A pesar de que todos los vegetales deben su aroma a las diversas rutas metabólicas, existen diferencias entre aquellas que se presentan en las frutas y las de las verduras. El etileno es un gas conocido como hormona universal de maduración y es producida por la mayoría de las frutas y vegetales; se sintetiza a partir de la metionina vía la *S*-adenil metionina y el ácido aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) por acción de las enzimas ACC-sintetasa y ACC oxidasa.¹¹ Esta hormona induce la maduración al igual que la senescencia o envejecimiento en frutas y tejidos vegetales. Las frutas se dividen en dos grupos de acuerdo con la producción y la respuesta al etileno como: frutas climatéricas (plátano, aguacates, manzanas, peras, tomate, etcétera) y frutas no climatéricas (uvas, fresas, cítricos, sandía, etcétera). Las frutas crecen en la planta hasta alcanzar un máximo, para dar inicio a la maduración; en las frutas climatéricas, este proceso es acompañado por un aumento en la tasa de

CUADRO 8.5 Algunos aromas generados por el metabolismo de los principales constituyentes de los alimentos

<i>Componente</i>	<i>Aroma</i>
I. Carbohidratos: glucosa, fructosa, sacarosa	<p>a) Ácidos orgánicos: pirúvico, acético, propiónico, acetoacético, butírico, hexanoico, octanoico.</p> <p>b) Ésteres: piruvatos, acetatos, propionatos, butiratos, acetoacetatos, hexanoatos, octanoatos.</p> <p>c) Alcoholes: etanol, propanol, butanol, hexanol, octanol.</p> <p>d) Aldehídos: acetaldehído, propanal, butanal, hexanal, octanal.</p> <p>e) Terpenos: linalol, limoneno, pinenos, citronelal, citral, geranial.</p>
II. Aminoácidos: alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, serina, treonina, glicina, cistina, cisteína, serina	<p>Ácido pirúvico, acetaldehído, etanol, isopropanal, isopropanol, ácido α-ceto-isobutírico, 3-metilbutanal, 3-metilbutanol, ácido α-ceto-isocaproico, 2-metilbutanal, 2-metilbutanol, benzaldehído, fenilacetaldehído, cinamaldehído, hidroxinamaldehído, <i>p</i>-hidroxibenzaldehído, <i>p</i>-hidroxi-fenilacetaldehído, <i>p</i>-hidroxi-cinamaldehído, tiazoles, glioxal.</p>
III. Ácidos grasos: linoleico	<p><i>trans</i>-2-<i>trans</i>-decadienal, hexanal, <i>trans</i>-2-<i>octenal</i>, <i>trans</i>-2-pentanal, <i>trans</i>-2-hexenol, <i>cis</i>-3-hexenal, <i>cis</i>-3-hexenol, propanal.</p>
IV. Ácidos orgánicos: cítrico, málico, oxalacético, láctico	<p>Ácido pirúvico, acetaldehído, etanol.</p>
V. Carotenoides: β -caroteno	<p>β-ionona.</p>

respiración y producción de etileno, a diferencia de las frutas no climatéricas cuya tasa de respiración basal no aumenta luego de alcanzar su máximo crecimiento. Las frutas climatéricas generalmente se recolectan inmaduras para distribuir las comercialmente, y terminan de madurar fuera del árbol; se recomienda evitar la acumulación de etileno y reducir la temperatura, para aumentar su periodo de conservación. Aunque, hay frutas climatéricas como la manzana que tienen una actividad respiratoria baja y que pueden almacenarse durante más tiempo. La presencia de etileno también puede reducir la vida útil de frutos y vegetales, por ejemplo, el brócoli tiene una producción de etileno muy baja, pero es muy sensible a éste compuesto y muestra un cambio en la coloración del verde al amarillo, en demérito de sus características de calidad.^{14, 15}

8.5.1.1 Frutas climatéricas y no climatéricas

Las frutas climatéricas en estado inmaduro presentan un periodo bien definido en el que su respiración basal es reducida; después de algunos días, la respiración se incrementa bruscamente, dando inicio al climaterio y a la maduración. Por otra parte, las frutas no climatéricas se caracterizan porque su patrón de respiración permanece prácticamente constante una vez cortadas de la planta o del árbol; a diferencia de las anteriores, éstas normalmente permanecen en el árbol hasta que maduran.^{14, 15}

El etileno aun en concentraciones muy bajas, del orden de 0.1 ppm, causa una fuerte alteración a los sistemas genéticos, induce la síntesis de un gran número de enzimas, tales como proteasas, li-

pasas, amilasas, pectinasas, lipoxigenasas, clorofilasas y otras más. En estas condiciones de actividad enzimática establece una complicada red de cambios metabólicos, que se traslapan y acoplan, lo que da origen a la conversión del almidón, de las pectinas, de la clorofila, etcétera; con esto, el fruto verde, duro, astringente, y falto de sabor, adquiere características sensoriales aceptables.^{11, 14, 15} Cabe indicar que el periodo preclimaterico puede incrementarse para mantener la fruta inmadura durante más tiempo, y reducir la cantidad de oxígeno disponible para la respiración y mantener la temperatura de 15°C; una temperatura inferior puede provocar daño por frío. Durante este proceso de maduración, aparecen los compuestos volátiles responsables del aroma. Se ha visto que en estado inmaduro existen muy pocos volátiles; por ejemplo, en el plátano, el 70% de éstos corresponden al hexanal y al *trans*-2-hexenal, sin embargo, el producto maduro, puede tener más de 375 de estas sustancias, entre las que destacan los grupos de ésteres, alcoholes, carbonilos y éteres fenólicos, tales como los que se presentan en el cuadro 8.6.

CUADRO 8.6 Compuestos volátiles del aroma del plátano

Acetato 3-metil-butílico	Butirato amílico
Acetato isoamílico	Eugenol
Propionato amílico	Acetato metílico
Butirato amílico	Pentanona
Alcohol hexílico	Butanol
Acetato butílico	Alcohol amílico
Butirato butílico	Éter metílico del eugenol
Acetato hexílico	

Por otra parte, en estudios realizados en manzanas se observó que la producción de ésteres está directamente relacionada con la presencia de etileno, debido a que este compuesto regula la acción de la enzima alcohol-acil-CoA-transferasa (AAT); a diferencia de la acumulación de azúcares, ácidos, aldehídos y alcoholes regulados por las enzimas alcohol deshidrogenasa (ADH) y lipoxigenasa (LOX).^{11, 14, 15} La compleja gama de compuestos que se encuentran en el aroma de frutas se sintetiza según seis mecanismos principales: *a*) transformación de carbohidratos con incremento en la concentración de azúcares solubles y degradación de la pared celular; *b*) conversión de aminoácidos, como la leucina y la valina, en moléculas ramificadas metiladas, derivadas de ésteres y de alcoholes; *c*) utilización de los ácidos grasos para la síntesis de alcoholes, ésteres, cetonas y ácidos; *d*) oxidación enzimática de los ácidos linoleico y linoléico y generación de hexanal y nonanal y los oxiácidos de nueve a 12 átomos de carbono, *e*) conversión de la L-fenilalanina en ésteres fenólicos, principalmente, el eugenol y su derivado metílico, y *f*) síntesis de terpenos y derivados carotenoides.^{7, 83}

a) Conversión de azúcares. Los azúcares son los componentes no volátiles de mayor importancia en frutas, no sólo por su asociación con el sabor dulce, ablandamiento y el desarrollo de color, sino porque brindan un balance con los ácidos generados durante la maduración. El contenido de azúcares solubles aumenta durante la maduración y éstos actúan como fuente de carbono para los precursores del aroma. Los principales azúcares presentes en fresas son sacarosa, fructosa, glucosa, y en menor proporción inositol y sorbitol. La fructosa y en menor grado la glucosa actúan como precursores en la formación de furanonas como 2,5-dimetil-4-hidroxi-furanona (DMHF), que tiene un gran impacto en el sabor de fresas, debido a su bajo nivel de detección de hasta 4×10^{-5} mg/kg (figura 8.8).⁷ Los

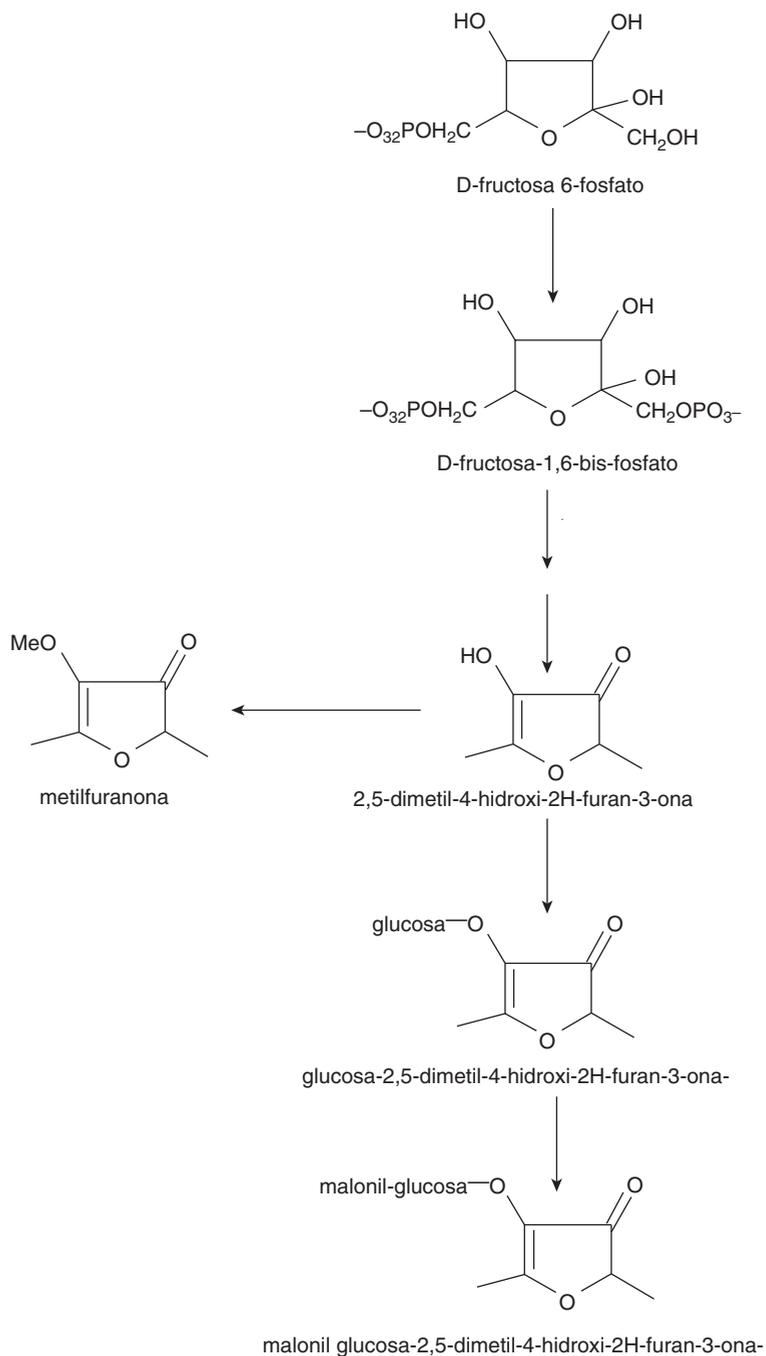


Figura 8.8 Síntesis de furanonas a partir de fructosa, durante los procesos de maduración de la fresa.⁷

aldehídos, como la vainillina y benzaldehído (figura 8.9) forman parte importante de los compuestos aromáticos en frutas; este último, es el principal componente del aroma de almendras amargas, y se encuentra también en durazno, ciruela y chabacano. Ambos aldehídos se producen por la acción de las enzimas beta-glucosidasa e hidroxilasa a partir de glucósidos cianogénicos.

b) *Conversión de aminoácidos.* El contenido de alanina, leucina, isoleucina y valina se incrementa considerablemente en el climaterio, gracias a la acción de las proteasas; a su vez, estos aminoácidos son sustratos en transformaciones de desaminación, decarboxilación, reducción y esterificación, con lo cual se sintetizan diversos ésteres y alcoholes, como el acetato de isopentilo típico en plátano, butirato de metilo en manzana, butirato de etilo en piña y manzana, acetato de octilo en naranja, y otros muy importantes, según se observa en la figuras 8.9 y 8.10.⁸⁸

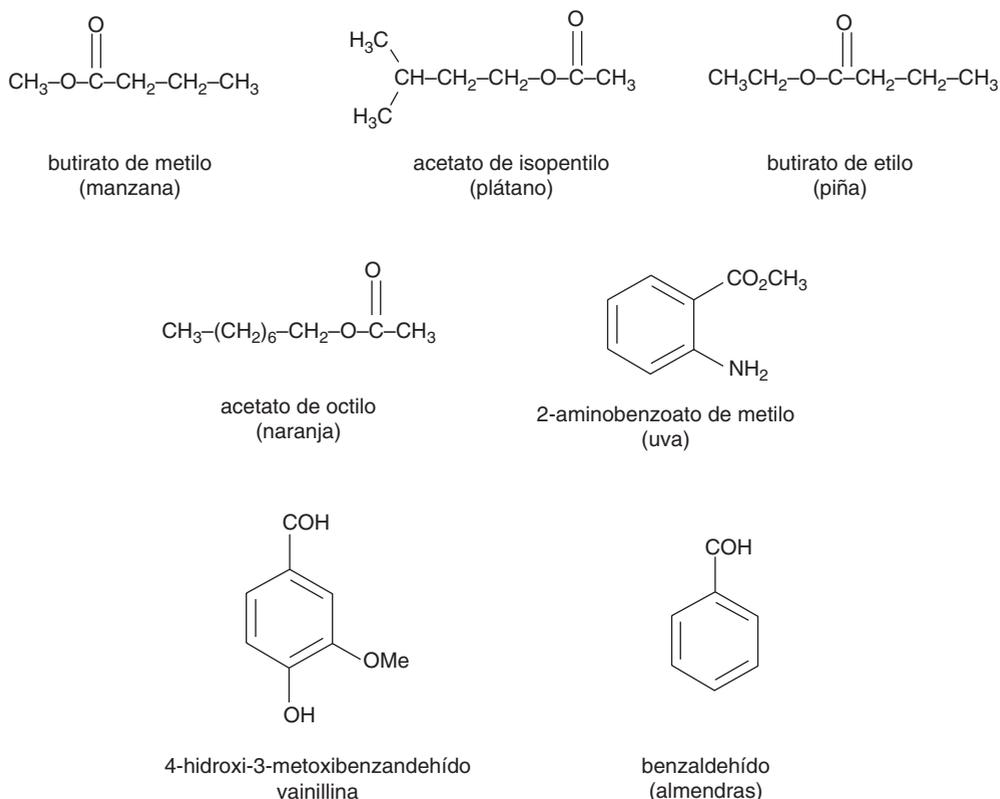


Figura 8.9 Ésteres y aldehídos presentes en frutas.³

En frutos no climatéricos como la fresa, el contenido de aminoácidos libres se encuentra asociado con la formación de ésteres, en donde participan varias enzimas como la alcohol aciltransferasa (ATT) que cataliza la transferencia de grupos acilo, la α -amino-transferasa, la α -ceto-descarboxilasa y la alcohol-deshidrogenasa (ADH), entre otras.⁷ Es interesante mencionar que aun dentro de un mismo fruto, cada aminoácido es utilizado en diferentes fracciones celulares; por ejemplo, en el caso del

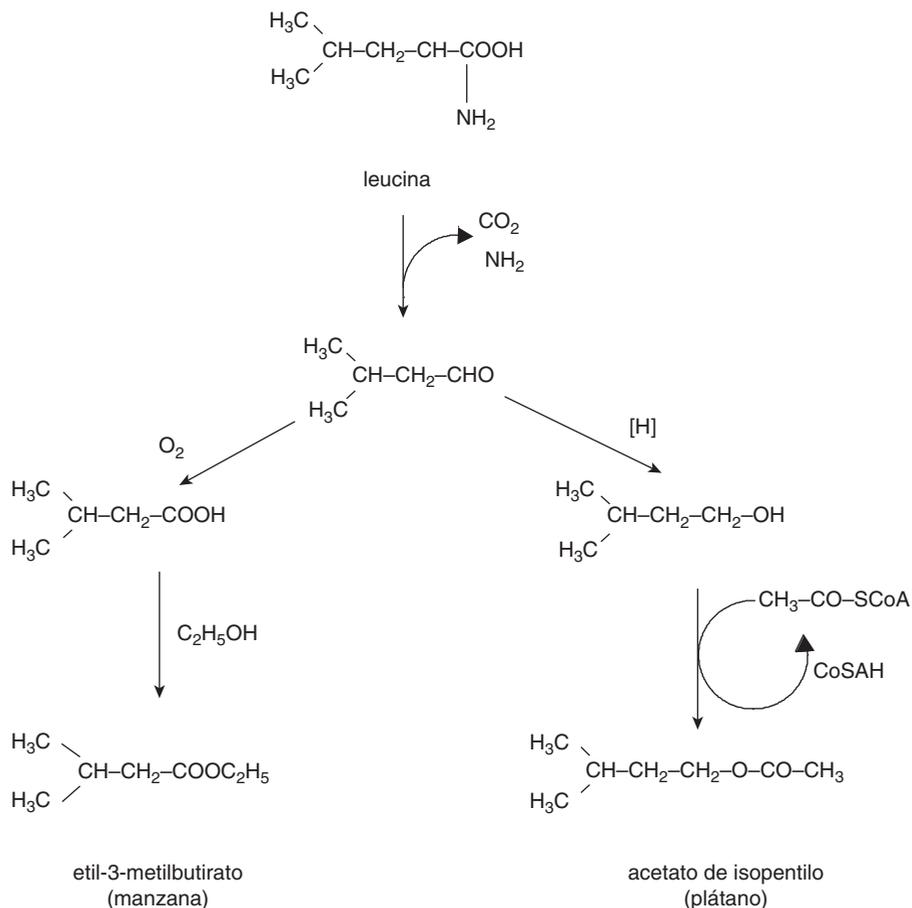


Figura 8.10 Transformación de la leucina en moléculas aromáticas.^{3, 7, 38, 88}

jitomate, los sistemas enzimáticos solubles actúan sobre la leucina, mientras que la mitocondria utiliza la alanina y el ácido aspártico.⁸⁹ A partir de la leucina se obtienen compuestos como el 3-metil-butanol y ésteres como los 3-metilbutiratos y 2-cetoisocaproatos; de la isoleucina se derivan el alquil-2-metilbutanoatos, el 2-metilbutirato; y de la valina se sintetizan el 2-metil-1-propanol, el acetato 2-metil-propílico, el ácido 2-metil-propiónico y el ácido 2-cetovalérico.

c) y d) Utilización de ácidos grasos. Como se indicó en el capítulo de lípidos, sólo los ácidos grasos libres de cadena corta (menos de 12 átomos de carbono), son volátiles y presentan un determinado olor. Sin embargo, aunque los de cadena más larga no huelen, son precursores importantes en la síntesis de los aromas de muchos frutos. Para su utilización, como primer paso debe haber una actividad lipásica que los libere de los triacilglicéridos. Los ácidos grasos poliinsaturados localizados en la membrana celular son extraídos de ella durante el picado, o por cambios en la estructura celular debida a la senescencia o a procesos de limpieza, manejo y congelación.⁶¹ Una vez libres, los ácidos linoleico y linolénico entran en la β -oxidación y la oxidación por la lipoxigenasa. Este con-

junto de transformaciones trae consigo la síntesis de aldehídos, alcoholes, cetonas, ésteres, ácidos, lactonas, etcétera, todos de bajo peso molecular que se han identificado en la fracción volátil de muchas frutas (figura 8.11).

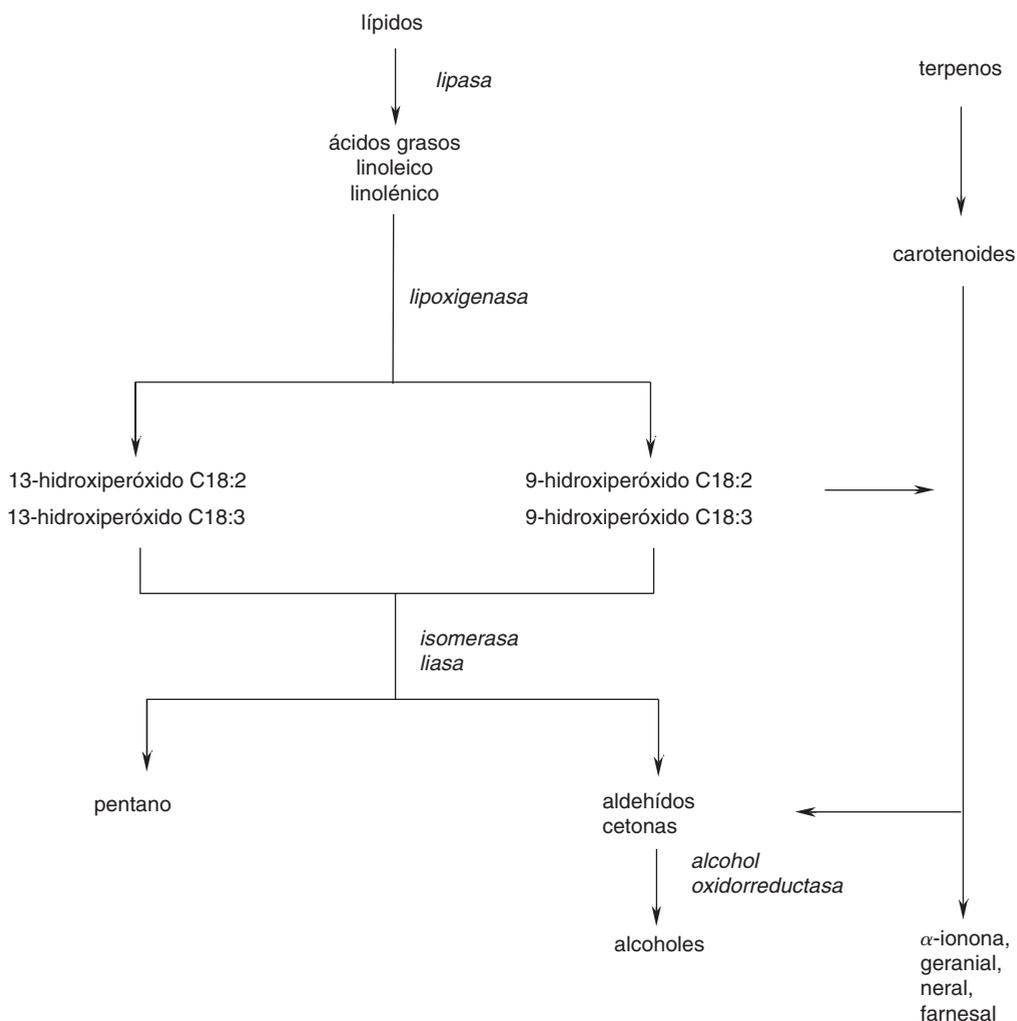


Figura 8.11 Formación de aromas a partir de ácidos grasos insaturados.

La acción de la lipoxigenasa es igualmente decisiva en la síntesis de los aromas, ya que de ella se deriva la mayoría de los componentes volátiles en casi todos los vegetales, pero en cada caso su acción es muy particular. La lipoxigenasa oxida los ácidos grasos y produce los correspondientes hidroperóxidos, que en el caso del ácido linoleico están en los carbonos 9, 12, 13 y 16; de todos éstos, los que están en posición 9 y 13 son los más comunes, y en el jitomate se generan en una proporción

de 95:5, respectivamente.²⁶ Su ruptura produce una serie de sustancias volátiles que son diferentes según se trate del carbono 9 o del 13. Sin embargo, el jitomate no cuenta con la enzima que hidroliza el hidroperóxido 9, pero tiene al menos seis isoenzimas (TomoloxA, TomoloxB, TomoloxC, TomoloxD y TomoloxD9) que actúan en el hidroperóxido 13, y que generan sustancias volátiles de seis carbonos, tales como hexanal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$), 3-hexenal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$) y 2-hexenal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCHO}$); el primero a partir del ácido linoleico y los dos restantes, del ácido linolénico (figura 8.12).⁹ Cabe indicar que a pesar de que en los jitomates inmaduros se encuentra la mayor actividad lipoxigenasa, no hay gran producción de volátiles, debido a que en estas condiciones, existe muy poca acción de la lipasa y, por ende, no hay producción de los ácidos grasos libres que sirven de sustrato a la enzima oxidativa.

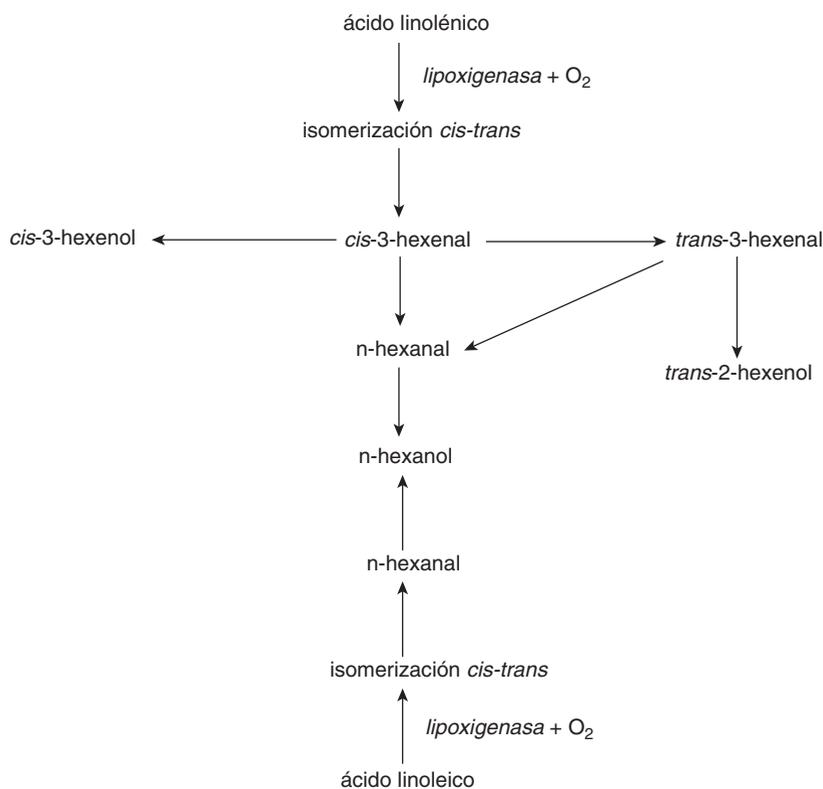


Figura 8.12 Formación de aldehídos y alcoholes a partir de ácidos grasos del jitomate.

Cuando los hidroperóxidos 9 también se rompen, como en el caso del pepino, se producen otras sustancias igualmente importantes, tales como 2,6-nonadienal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCHO}$) y 2-nonenal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCHO}$). Otros aldehídos que también se han identificado son el 2,4-heptadienal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCHO}$), el 2,4-decadienal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCHO}$), el 2-heptanal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCHO}$) y el 2-octenal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCHO}$). A su vez, estos aldehídos pueden transformarse en alcoholes

por medio de la alcohol deshidrogenasa, o bien, en ácidos mediante la correspondiente oxidación; los ésteres derivan de la reacción entre estos alcoholes y ácidos. Este tipo de mecanismos se presenta en frutas tales como el mango, cuyo aroma y sabor están relacionados con su composición de ácidos grasos, de donde derivan alrededor de 100 compuestos que constituyen el 25% del total de volátiles actualmente identificados.^{2, 66}

e) *Conversión de la L-fenilalanina, la L-tirosina y el ácido cinámico.* En el caso del plátano, mediante la degradación de la L-fenilalanina, se obtiene eugenol y su derivado metílico, ambos típicos del aroma de esta fruta. Sin embargo, en otros vegetales también se emplea la tirosina y el ácido cinámico, que siguen una ruta común, como muestra la figura 8.13. Cabe indicar que los cinamatos de metilo y de etilo se consideran volátiles importantes en muchas otras frutas.

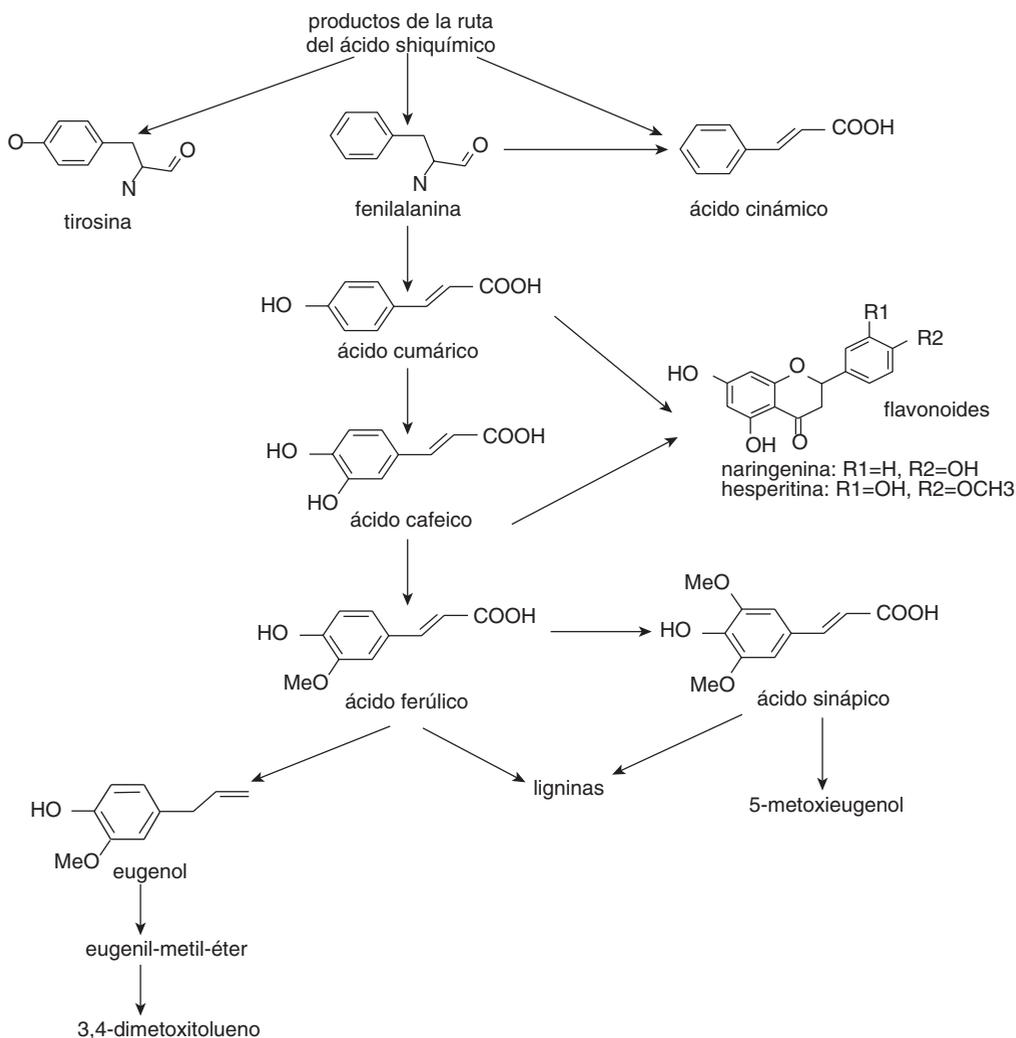


Figura 8.13 Mecanismo de síntesis de ácidos fenólicos, flavonoides y ésteres en el metabolismo de frutas.

f) *Síntesis de terpenos y derivados carotenoides*. Estos compuestos constituyen un grupo muy importante de compuestos aromáticos. Los apocarotenoides o norisoprenos derivan de compuestos carotenoides que comparten con los monoterpenos el mismo origen biosintético, dado que derivan de la condensación de pirofosfato isopentenílico, quien es transformado a pirofosfato de geranilo como muestra la figura 8.14.^{27, 48} Además, el pirofosfato de geranilo da lugar a muchos otros terpenos por la acción de diversas enzimas como oxidorreductasas (figura 8.15).

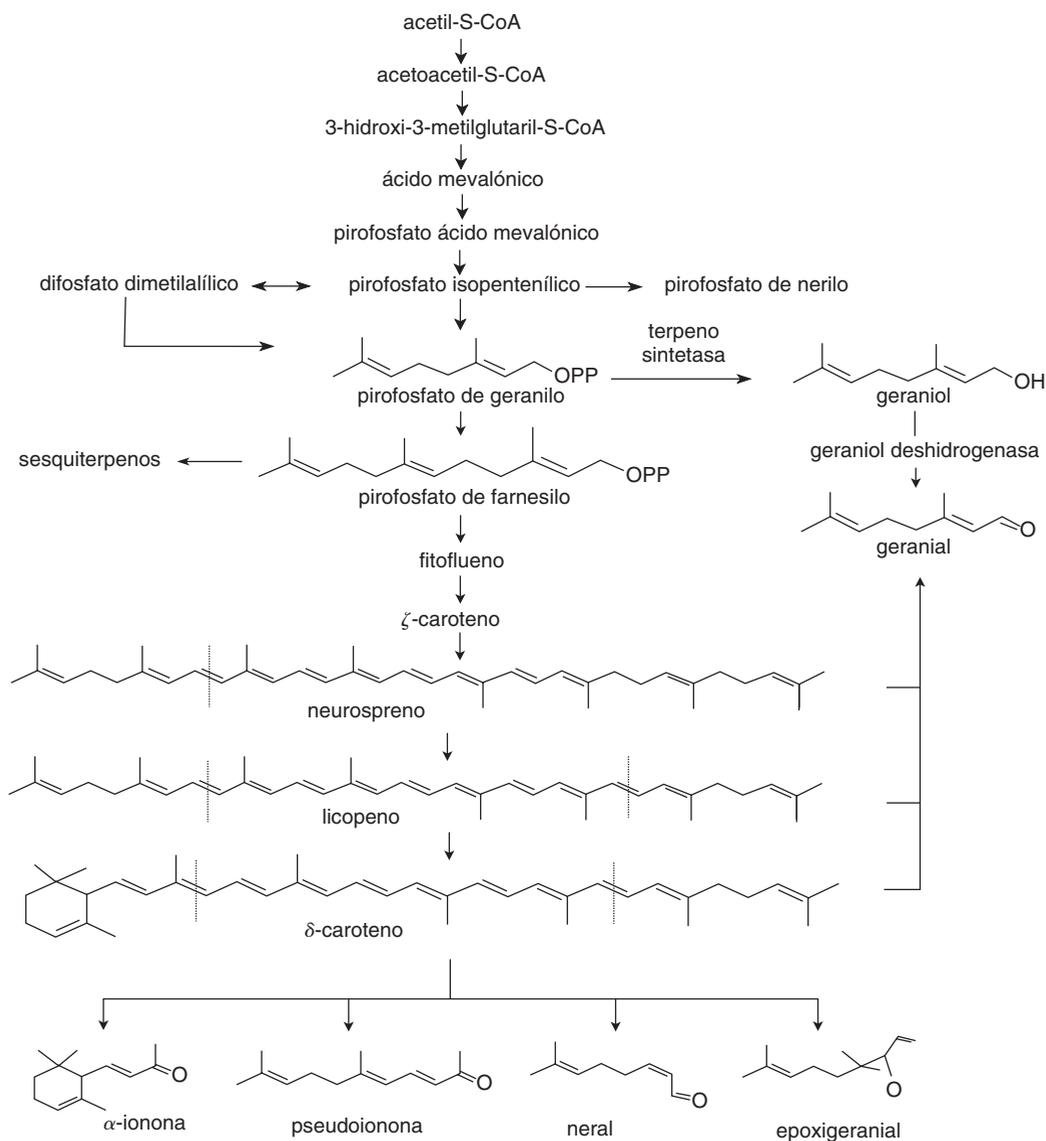


Figura 8.14 Síntesis de geranial y carotenoides por la ruta del ácido mevalónico. Terpenos derivados de la hidrólisis de carotenoides.⁴⁸

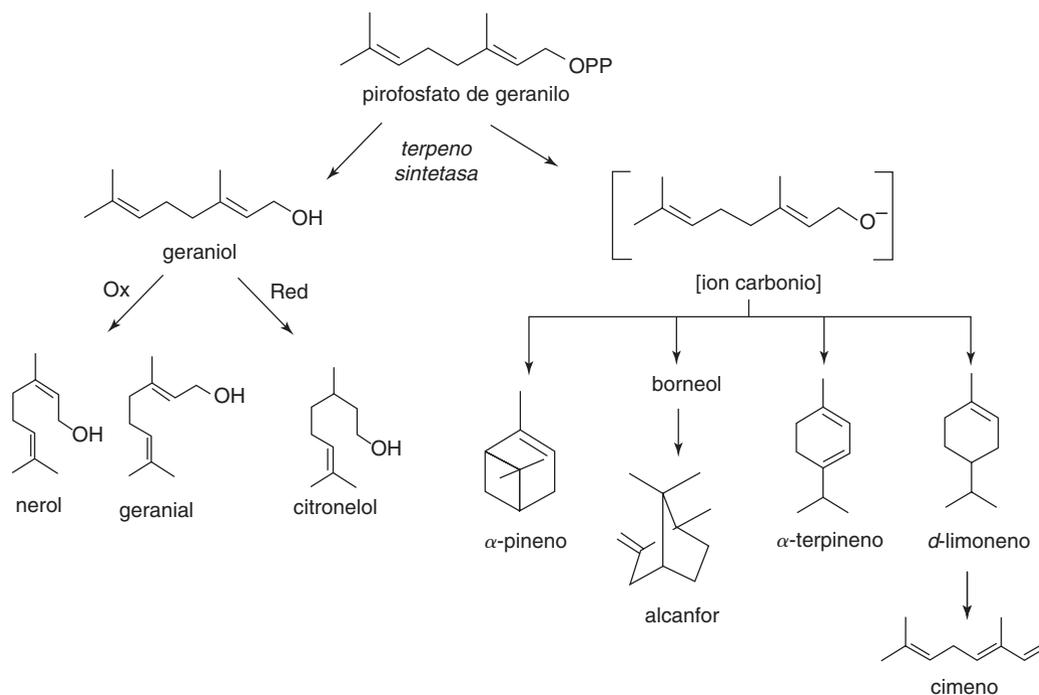


Figura 8.15 Síntesis de terpenos a partir del pirofosfato de geranilo.

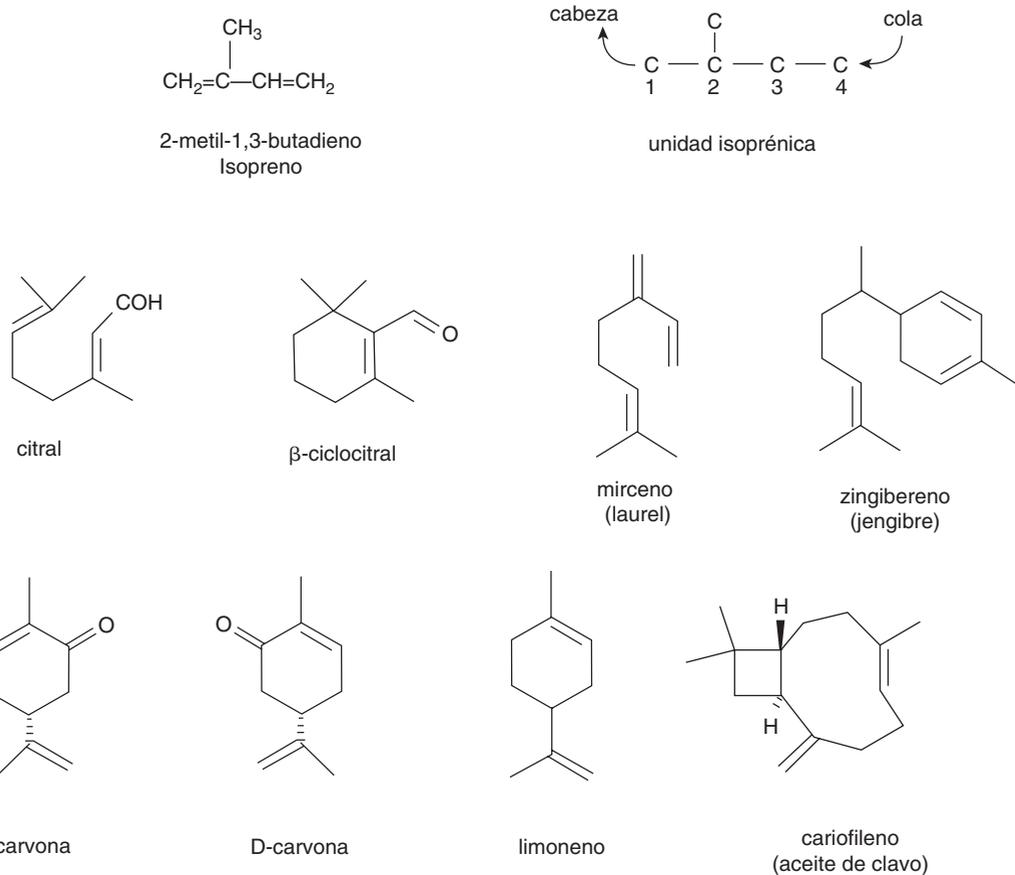
En particular, los cítricos deben su aroma a la presencia de diversos terpenoides (figura 8.16); éstos se sintetizan en las glándulas que están distribuidas en forma heterogénea en las capas pigmentadas del flavedo y que producen aproximadamente 12 mL del correspondiente aceite esencial por cada 100 cm² de cáscara. El tejido blanco interno llamado mesocarpo o albedo no tiene la capacidad de generar estos aceites, pero contiene diversos glucósidos amargos: la hesperidina se encuentra en el limón y la naranja, y la naringina en la toronja.

Los terpenoides no son exclusivos de los cítricos como agentes aromatizantes; también abundan en tomate, melón, papaya, fresa, en diversas especias, hierbas y flores. Son un grupo de compuestos derivados del hidrocarburo isopreno de cinco átomos de carbono que actúa como monómero, de los cuales existen varias clases: los de dos unidades de isopreno se llaman monoterpenos, los de tres, cuatro, seis y ocho reciben los nombres de sesquiterpenos (del latín *sesqui*, que significa uno y medio), diterpenos, triterpenos y tetraterpenos, respectivamente (cuadro 8.7).

Las moléculas de isopreno se unen generalmente en un arreglo tipo cabeza-cola, como ocurre con los monoterpenos, pero también existen en forma de cola-cola, para integrar las dos partes de los carotenoides. Sólo los terpenoides volátiles (principalmente monoterpenos y en segundo término los sesquiterpenos) contribuyen al aroma de los vegetales; sin embargo, algunos como la limonina (de 401 átomos de carbono y no volátil), son responsables del sabor amargo de varios cítricos.

CUADRO 8.7 Clase de terpenos en la naturaleza

	<i>Unidades de isopreno</i>	<i>Fórmula condensada</i>	<i>Ejemplo</i>
Monoterpeno	2	C ₁₀ H ₁₆	Citral, limoneno
Sesquiterpeno	3	C ₁₅ H ₂₄	Farnesol, β-sinesal
Diterpeno	4	C ₂₀ H ₃₂	Fitol, vitamina A
Triterpeno	6	C ₃₀ H ₄₈	Esteroles, limonina
Tetraterpeno	8	C ₄₀ H ₆₄	Carotenoides
Politerpeno	Varios cientos	Varios miles	Caucho

Figura 8.16 Estructura de algunos terpenoides en frutas.⁸

Tanto los monoterpenos como los sesquiterpenos pueden estar oxigenados en forma de aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos y ésteres; son los derivados oxigenados los realmente responsables de los aromas de los cítricos. Por ejemplo, en el aceite de limón hay 95% de limoneno y sólo 2% de citral; a pesar de que este aldehído se encuentra en tan baja proporción, es suficiente para conferir las propiedades sensoriales típicas a este producto.

Los monoterpenos pineno, mentol, geraniol, carvona, etcétera, son sustancias típicas que se encuentran en los volátiles de diversas frutas y especias; dada su estructura química, algunos presentan carbonos asimétricos y por lo tanto existen en dos formas ópticamente activas; así, el pineno se encuentra como *a* y *b*, al igual que la carvona en sus isómeros *L* y *D*, y difieren en sus propiedades sensoriales (figura 8.17).

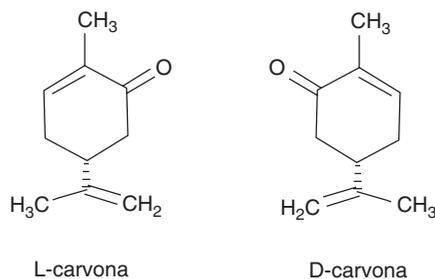


Figura 8.17 Estructura de la L-carvona y D-carvona. Los dos enantiómeros tienen propiedades físicas idénticas (punto de ebullición, presión de vapor, etcétera), pero difieren en aroma.¹⁷

Entre los sesquiterpenos, el β -selineno, el α -eudesmol y la notcatona se encuentran en los aceites esenciales de apio, de eucalipto y de naranja, respectivamente. Cabe indicar que por tener una cadena mayor de átomos de carbono, los sesquiterpenos tienen temperaturas de ebullición más altas que las de los monoterpenos. Los mecanismos moleculares involucrados en la generación de aromas presentan cambios asociados con procesos de adaptación, por ejemplo, al comparar el perfil de terpenoides de fresas cultivadas se encuentra dominado por el monoterpeno, linalool y el sesquiterpeno nerolidol; a diferencia de las fresas silvestres que contienen monoterpenos olefinicos y mirtenil derivados del pineno. Este cambio en el perfil de aromas se debe a la pérdida del gen citocromo-P540, que codifica la enzima que cataliza la hidroxilación del pineno a mirtenol en las fresas cultivadas (figura 8.18).¹

Los norisoprenoides son volátiles de nueve a 13 carbonos derivados de la degradación de carotenos (C_{40}), tienen un límite de detección extremadamente pequeño y se forman *in vivo* por reacciones enzimáticas o por degradación térmica; por ejemplo, la α -ionona, β -ionona, β -ciclocitral y β -damascenona provienen del α y β -caroteno, de la α y β -criptoxantina y neoxantina, respectivamente; aun cuando estos compuestos contribuyen al 8% del total de la intensidad del aroma, representan el 78% del aroma floral del jugo de naranja.⁵²

8.5.1.2 Aroma en las verduras

Las frutas se caracterizan por producir ésteres, y las verduras por sintetizar diversos compuestos derivados del azufre, por lo que mucha gente los considera como olores desagradables y no aromas. En

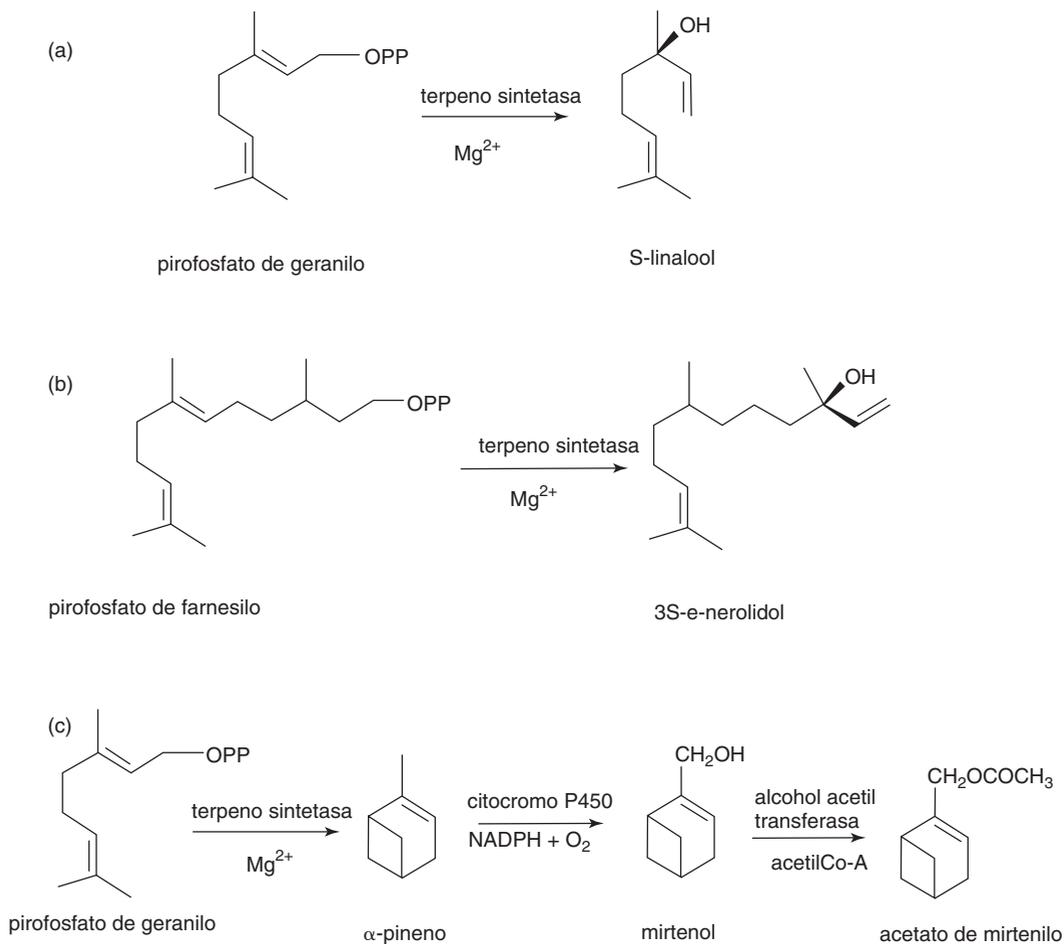


Figura 8.18 Síntesis de terpenos en fresa por acción de la enzima terpeno sintetasa: (a) Alcohol monoterpeno linalool; (b) Sesquiterpeno nerolidol. (c) Síntesis de pineno por acción de la terpeno-sintetasa, formación de mirtenol por hidroxilación en el C-10 por la enzima citocromo P450, y producción de acetato de mirtenol por la alcohol-acil-transferasa.¹

esta categoría de alimentos se encuentran la cebolla, el ajo, la cebolleta y muchos otros del género *Allium*, así como el rábano, la mostaza, el berro, la col, etcétera, de la familia de las crucíferas. El mecanismo que genera estos compuestos se considera enzimático directo, según la clasificación original que muestra el cuadro 8.4. Al igual que con las frutas, estas transformaciones son muy complejas y se interrelacionan; es decir, los metabolismos de los ácidos grasos, de los hidratos de carbono y de los aminoácidos están conectados mediante una complicada red enzimática, los precursores no volátiles se convierten en una gama muy amplia de compuestos azufrados. En el tejido intacto, estos productos contienen tanto las moléculas aromáticas como sus respectivos precursores; estos últimos son generalmente sulfóxidos o glucósidos de peso molecular más alto, no volátiles, cuya aglucona es propiamente el aroma. Cuando el fruto sufre un daño mecánico (golpe, mordida, corte, congelación, es-

caldado, etcétera) que rompe su estructura celular, una enzima glucosidasa se pone en contacto con el precursor y lo hidroliza, liberando la fracción volátil odorífica.⁶¹

Algunos sistemas enzimáticos tienen la peculiaridad de regenerar el aroma perdido de vegetales que han sido sometidos a un tratamiento térmico. Por ejemplo, cuando se deshidrata el brócoli, la zanahoria, la cebolla y el rábano, en el proceso se volatilizan sus aromas y queda un producto poco aromático, pero que contiene los precursores correspondientes. El aroma perdido puede regenerarse si estos deshidratados se incuban con un extracto enzimático proveniente de un fruto fresco, pues en estas condiciones las enzimas actúan sobre dichos precursores y liberan los aromáticos volátiles. Como ya se indicó anteriormente, los compuestos azufrados son determinantes en estas verduras. Estas sustancias son orgánicas, de peso molecular bajo, tienen olor fuerte cuando están concentradas, pero agradable cuando se diluyen. Se conocen aproximadamente 420 moléculas que contienen azufre y que han sido identificadas en diversos alimentos;⁷⁸ muchas están en forma natural en algunos productos, otras se sintetizan cuando se someten a un tratamiento térmico, y otras se generan por alguno de los mecanismos que a continuación se explicarán.

a) *Productos del género Allium*. En este caso, los precursores son sulfóxidos de la L-cisteína, cuyo azufre está unido a diversos grupos. En la cebolla está el sulfóxido de *S*-1-propenil cisteína, mientras que en el ajo se encuentra el sulfóxido de *S*-2-propenil cisteína. La enzima llamada aliinasa (*S*-alquil-L-cisteína sulfóxido liasa) es la que efectúa la ruptura de estas moléculas. La acción de la aliinasa en la cebolla genera amoníaco, ácido pirúvico y ácido sulfénico; este último es muy inestable y se descompone sin intervención enzimática, en monosulfuros ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHSH}$), disulfuros ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHS}-\text{SCH}=\text{CHCH}_3$) y trisulfuros ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHS}-\text{S}-\text{SCH}=\text{CHCH}_3$), así como en óxido de *S*-tiopropanal ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{S}=\text{O}$, agente responsable del efecto lacrimatorio), en mercaptanos y en tiofenos. Además, en una segunda etapa, el óxido de *S*-tiopropanal reacciona con el piruvato y sintetiza propanol y 2-metil-pentanal-2. Cabe indicar que en la cebolla, una proporción del sustrato está unida a residuos de ácido aspártico y que la enzima sólo actúa en el sustrato libre del aminoácido. Por esta razón, se encuentra la γ -L-glutamyl-transpeptidasa, que transfiere el ácido glutámico a otro aminoácido, liberando el sulfóxido. Se ha visto que la actividad de esta segunda enzima es más fuerte en las cebollas tiernas que en las que están muy maduras, por lo que en estas últimas, la aliinasa sólo utiliza una fracción del sulfóxido.^{75, 88} En el caso del ajo, el sulfóxido de *S*-2-propenil cisteína se convierte en amoníaco, ácido pirúvico y tiosulfinato de dialilo; este último, también llamado aliicina (figura 8.19), también se convierte en diferentes sulfuros y disulfuros de metilo y de alilo, característicos de los volátiles del ajo.⁸⁸

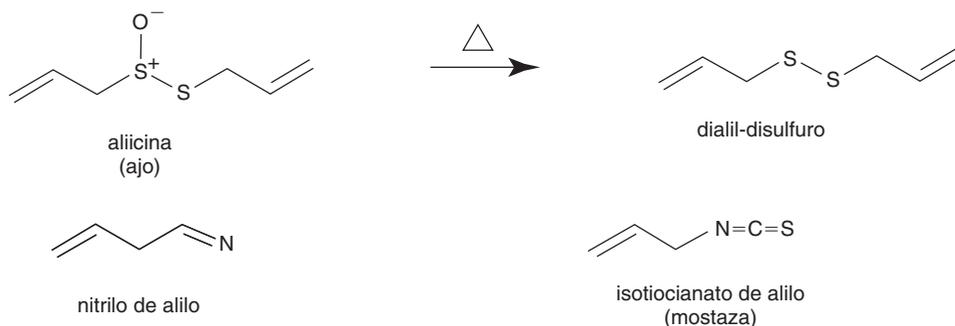


Figura 8.19 Isotiocianatos presentes en vegetales.⁸⁸

Además de los productos del género *Allium*, existen otros de la familia brásica, como brócoli, coliflor y calabaza, que también contienen sulfóxidos de alquil-cisteína. Por su importancia destaca el sulfóxido de *S*-metil-cisteína, del cual se derivan disulfuros, trisulfuros y tetrasulfuros de metilo y de etilo; también se encuentra el sulfóxido de *S*-metil-metionina que da origen al sulfuro de dimetilo, típico de estos vegetales y que tiene un umbral de detección muy bajo, de aproximadamente $0.33 \mu\text{g/L}$.

Otro ejemplo de este mecanismo de generación de aromas mediante sulfóxidos es el hongo *Leptinus edodes*, cuyo precursor está unido a un residuo de ácido glutámico (igual que en la cebolla) que se libera por la acción de la γ -L-glutamyl-transpeptidasa. En este caso, el ácido lentínico es atacado por la *S*-alquil-L-cisteína sulfóxido liasa, y lo transforma en ácido tiosulfínico, que a su vez se convierte químicamente en lentionina, que es el compuesto cíclico responsable del aroma (cuadro 8.8).

CUADRO 8.8 Compuestos azufrados presentes en aceites esenciales de ajo y cebolla⁵⁷

<i>Monoazufrados</i>	<i>Disulfuros</i>	<i>Trisulfuros</i>
Metil-alilsulfuro	Dimetil disulfuro	Trimetil disulfuro
3-alil tio-ácido propiónico	Metil-propil-disulfuro	2-propenil-metil-trisulfuro
Metanetiolo	Metil-etil-disulfuro	2-propenil-trisulfuro
Tiazolidina	1,3 ditiano	Dipropil-trisulfuro
3-3'-tio bis,1-propeno	1,3-propan ditiol	1,2,4-tritiolano-3,5-dietil
2,5-dimetil-tiofeno	2-propenil disulfuro	
2,5-dimetil-tiazolio	Dialil disulfuro	
3,3-tienil-2-ácido propenoico	2-propenil-metil-disulfuro	

b) Productos de las crucíferas. Los sustratos son glucosinolatos o tioglucósidos, como la β -D-tiogluconosa, responsable del aroma y de la pungencia de estos vegetales. Entre los principales glucosinolatos responsables del aroma podemos mencionar la singrina, la sinalbina y la mirosina, que se encuentran en productos tales como la col, el rábano y la mostaza, entre otros.⁸¹ El mecanismo es semejante al de la cebolla y el ajo, ya que una vez dañado el tejido, la enzima tioglucosidasa actúa sobre el sustrato no volátil y libera la aglucona que, mediante diversos arreglos químicos, se transforma en isotiocianatos y nitrilos; a su vez, éstos se convierten en otros compuestos, tales como tioles, alcoholes, mercaptanos, sulfuros, disulfuros y trisulfuros. De todos los volátiles sintetizados, el isotiocianato de alilo y el nitrilo de alilo (figura 8.19) son los más comunes.

8.5.1.3 Generación de aroma y sabor por enzimas microbianas

En contraste con los vegetales y frutas, en donde la acción de enzimas endógenas es responsable de las características sensoriales de los productos, los productos lácteos y carnes fermentadas, masas de panadería, vino, cerveza, etcétera, deben su aroma y sabor a la acción de enzimas endógenas y exógenas, estas últimas generalmente de origen microbiano. De la misma forma, algunas bacterias presentes en carne y enzimas endógenas son responsables de la proteólisis y de la transformación de algunos aminoácidos libres. A partir de aminoácidos azufrados como cisteína y cistina, se genera anhídrido sulfuroso, y a partir del triptofano se genera indol. Asimismo, por descarboxilación se generan aminas con olores putrefactos extremadamente desagradables, como cadaverina a partir de li-

sina, putrescina a partir de glutamina, histamina a partir de histidina y tiramina a partir de tirosina, etcétera, por lo que es fundamental tener un control de los procesos enzimáticos que tienen lugar durante el almacenamiento y procesamiento de alimentos.^{32, 34}

Se ha reconocido la capacidad de ciertos microorganismos para sintetizar compuestos como alcoholes, ésteres, lactonas y terpenos, entre otros, a partir de diversos medios de cultivo. Por ejemplo, el *Geotrichum candidum* y las levaduras de los géneros *Hansenula* y *Pichia* producen alcoholes y ésteres; la *Trichoderma viride* produce la lactona gentil-6-alfa pirina, que tiene un fuerte olor a coco; algunas especies de *Ceratocystis*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sacharomices* y *Pseudomonas* sintetizan terpenos volátiles, con la ventaja de que estas biotransformaciones son estereoespecíficas.³³

8.5.2 Generación de aromas por el efecto de tratamiento térmico

En general, los productos crudos de origen animal como leche, carne, huevo, pescado, así como cereales y oleaginosas son insípidos. La aplicación de un tratamiento térmico, mejora su textura, aroma y sabor por lo que éstos se vuelven más apetitosos. En la generación del aroma y sabor por efecto del tratamiento térmico intervienen varios mecanismos como la pirolisis o degradación térmica, la caramelización, degradación de ribonucleótidos y tiamina, la reacción de Maillard y la degradación térmica de lípidos (figura 20).^{58, 59, 60}

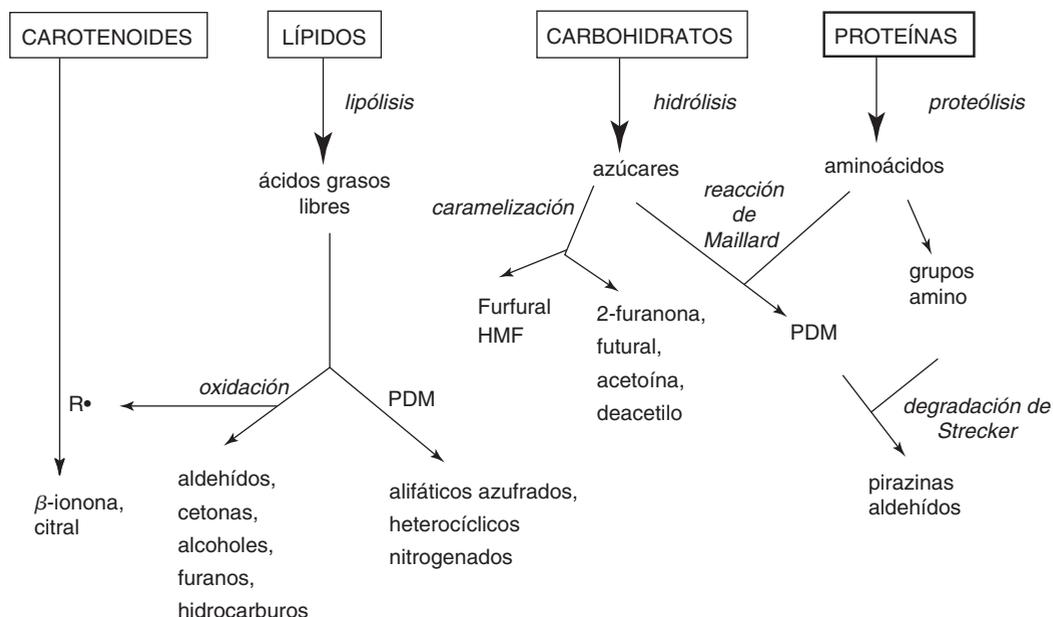


Figura 8.20 Esquema de las principales reacciones involucradas en la síntesis del aroma y sabor por efecto de tratamiento térmico. (PDM = Productos de la reacción de Maillard).⁷⁹

Tanto la reacción de caramelización como la de oscurecimiento no enzimático o de Maillard, no sólo producen pigmentos oscuros, sino que también son responsables de la formación de un gran número de sustancias volátiles. Ambas reacciones son complejas y no se conocen exactamente los procesos de síntesis de muchas de las sustancias que resultan de ellas. La sola descomposición térmica de la glucosa genera aproximadamente 80 compuestos orgánicos de bajo peso molecular, tales como aldehídos, cetonas, dicetonas, lactonas, furanos y dihidrofuranos. El número y tipo de compuestos aumenta significativamente con la adición de un sólo aminoácido, dentro de la reacción de Maillard por lo que se explicará con mayor amplitud (cuadro 8.9).⁴³

CUADRO 8.9 Principales compuestos producidos por reacciones de oscurecimiento no enzimático

<i>Caramelización (glucosa)</i>	<i>Reacción de Maillard (alanina y glucosa)⁴³</i>
Monóxido de carbono	<i>Pirazinas</i>
Bióxido de carbono	Metil-pirazina
Formaldehído	2,6- Dimetil-pirazina
Ácidos fórmico, acético, láctico, pirúvico, acrílico	2,5-Dimetil-pirazina
Acetaldehído	2-Etil-5-metilpirazina
Glicolaldehído	2,3,5-Trimetil-pirazina
Glioxal	2-Etil-3,5-dimetil-pirazina
Ácido glioxílico	3,5-Dietil-2-metil-pirazina
Acroleína	2-Metil-pirazina-6-acetilpirazina
Pirivaldehído	2-Etil-6-metilpirazina
5-Metil-2-furaldehído	<i>Carbonilos</i>
2-Furil-metil-cetona	3-hidroxi-2-butanona
Acetona	1-hidroxi-2-propanona
Acetol	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopentanona
Dihidroxiacetona	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopentanona
Gliceraldehído	<i>Compuestos heterocíclicos</i>
Acetoína	2,3-dihidro-5-hidroxi-6-metil-4(H)piranona
Diacetilo	Furaneol
Ácido levulínico	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4(H)piranona
Furano	5-hidroximetil-2-furfural
2-Metil-furano	Dihidro-2-metil-3(2H)-furanona
Alcohol furfurílico	4-hidroximetil-2-metil-1,3-dioxalano
Ácido 2-furoico	5-metil-2-furfuriol
2-Furaldehído	<i>Compuestos heterocíclicos nitrogenados</i>
5-(Hidroxi-metil)-2-furaldehído	2-acetil-pirrol
Isomaltol	Dimetil-1(H)-benzimidazol
2-Furil-hidroximetil-cetona	2,3-dihidro-1-metil-4(H)-pididina

8.5.2.1 Reacción de Maillard

La reacción de Maillard tiene diversas vías que resultan en la formación de un gran número de compuestos de bajo peso molecular. Los principales compuestos volátiles derivados de la reacción de

Maillard son aldehídos, cetonas, dicetonas, y compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno, nitrógeno y azufre; entre estos últimos destacan pirazinas piridinas, pirroles, porrolidinas, pironas, pirrolizinas, piperazinas, furanos, furanonas, oxazoles, oxazolinas, tiofenoas, tiazoles, ditiolos, ditiainos, ditiinas, triotiolanos, tiazolinas, tiazolidinas y tretatianos.^{58, 59, 60} Un esquema simplificado de la generación de compuestos del aroma y sabor se presenta en la figura 8.21; los valores de la energía de activación y la velocidad de reacción según el modelo de Arrhenius se muestran en el cuadro 8.10.⁴³ En general, los compuestos volátiles generados por la reacción de Maillard se pueden dividir en tres grupos: *a)* productos de la fragmentación de azúcares: furanos, pironas, ciclopentanos, carbonilos y ácidos, *b)* productos de la degradación de aminoácidos: aldehídos y compuestos azufrados, y *c)* producidos de reacciones secundarias: pirroles, piridinas, imidazoles, oxasoles, tiazoles y compuestos de condensación aldólica.

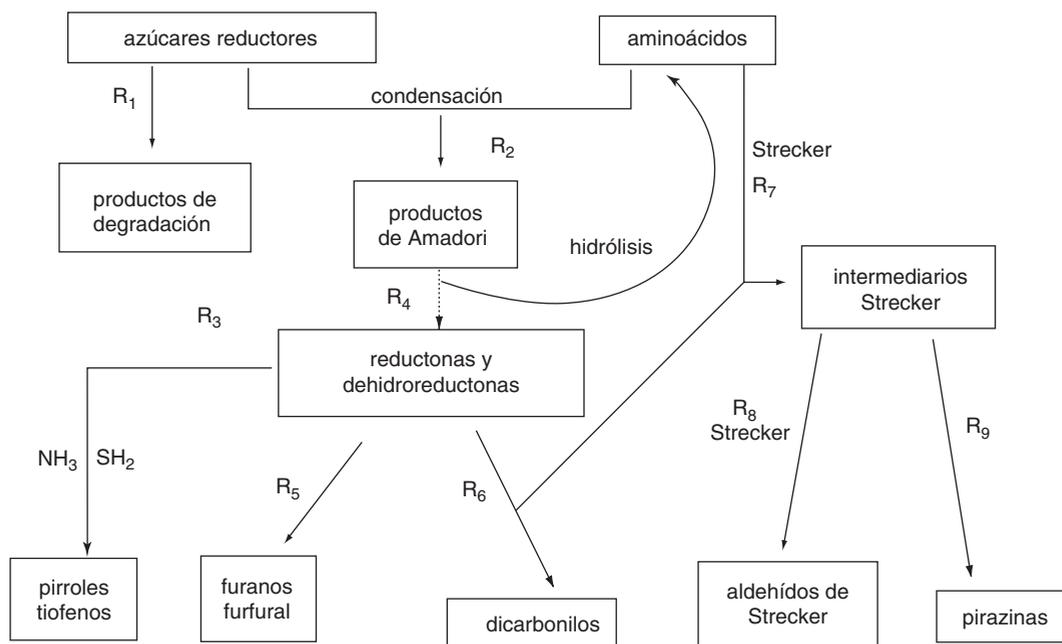


Figura 8.21 Esquema simplificado de la generación de aromas y sabores en la reacción de Maillard.⁴³

Es muy importante resaltar el papel que desempeña la temperatura. Cada posible ruta de síntesis que se observa en estas transformaciones tiene una determinada energía de activación y, por lo tanto, su velocidad está en función de la temperatura. Es decir, según sea la temperatura que se alcance en un sistema, será la vía degradativa que prevalezca y la generación de un determinado tipo de compuestos. En un alimento con una composición compleja, podría haber cientos de líneas semejantes integrando un sistema de muy difícil estudio.³⁸

CUADRO 8.10 Energía de activación y velocidad de reacción según el modelo de Arrhenius para las diversas rutas de la reacción de Maillard presentadas en la figura 8.21⁴³

Mecanismo	Ea (kJ/mol)	Velocidad de reacción	
		20°C	100°C
R1	150	3.6×10^{-13}	1.9×10^{-7}
R2	128.8	7.9×10^{-10}	6.7×10^{-5}
R3	73.3	1.4×10^{-7}	8.7×10^{-5}
R4	52.9	8.3×10^{-7}	8.8×10^{-5}
R5	109.3	3.1×10^{-9}	4.8×10^{-5}
R6	56.5	1.9×10^{-7}	2.7×10^{-5}
R7	99.7	5.9×10^{-4}	3.8×10
R8	115	3.1×10^{-11}	7.7×10^{-7}
R9	—	—	—

La reacción de Strecker, que forma parte del mecanismo de oscurecimiento no enzimático, involucra la deaminación oxidativa y descarboxilación de aminoácidos en presencia de compuestos dicarbonílicos, y forma aldehídos con un átomo de carbono menos que el aminoácido original y una aminocetona. Esta reacción es la fuente principal de compuestos carbonílicos; sin embargo, a pesar de su abundancia, no son tan importantes en el aroma como lo son los compuestos heterocíclicos. La cisteína es susceptible a la degradación de Strecker, ya que forma no sólo el aldehído y la aminocetona correspondientes, sino además sulfuro de hidrógeno, amoníaco y acetaldehído; estos últimos son a su vez intermediarios en la formación de compuestos altamente odoríferos, como el amoníaco que actúa como sustrato en la formación de pirazinas (figura 8.22).⁵⁸ En el cuadro 8.11 se muestran algunos aldehídos que se derivan de aminoácidos, mediante la transformación de Strecker.

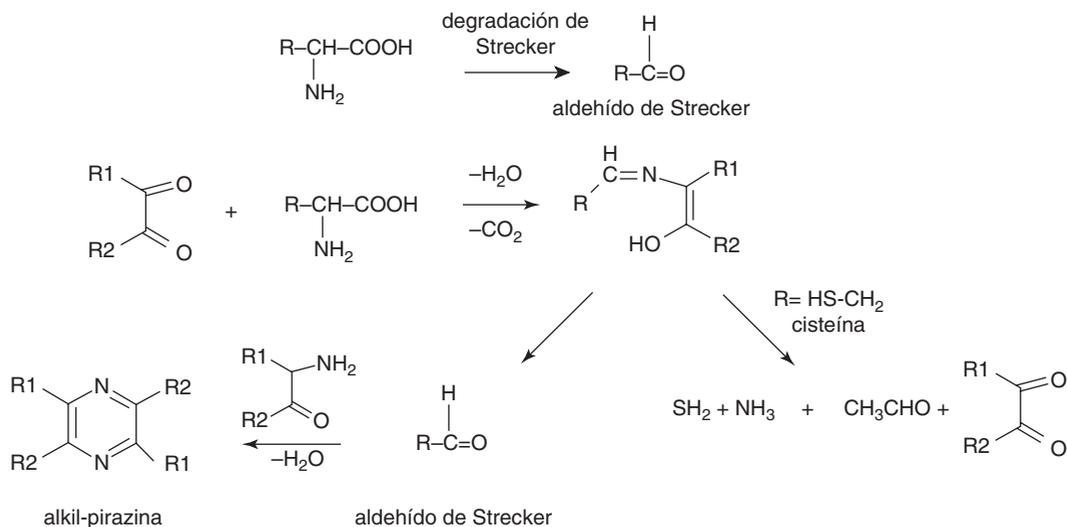
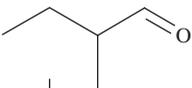
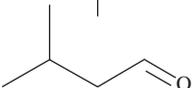
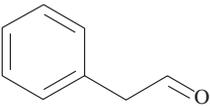


Figura 8.22 Formación de alquil-pirazinas a partir de la degradación de aminoácidos vía la reacción de Strecker. Así como la formación de sulfuro de hidrógeno, amoníaco y acetaldehído a partir de cisteína.^{58, 59}

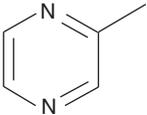
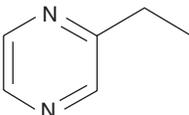
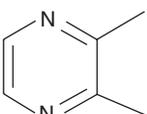
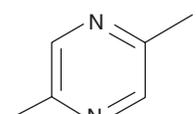
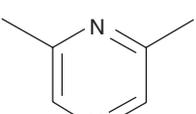
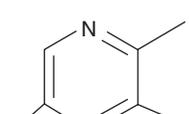
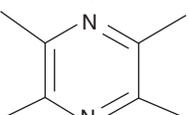
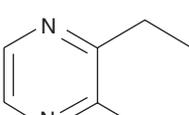
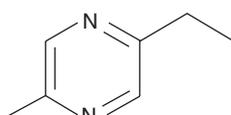
CUADRO 8.11 Aldehídos derivados de aminoácidos mediante la degradación de Strecker ³				
Aminoácido	Aldehído	Estructura	Aroma	Límite de detección (μg/L)
Glicina	Formaldehído	CH ₂ O		50 × 10 ³
Alanina	Acetaldehído		frutal, dulce	8.7
Isoleucina	2-metil-butanal		malta	1.3
Leucina	3-metil-butanal		malta	0.4
Fenilalanina	Fenil-acetaldehído		floral, miel	4

Las pirazinas son un grupo de sustancias muy importantes y claramente relacionadas con los aromas de los productos fritos, cocidos y horneados, tales como papas, café, nueces, cacao, galletas, etcétera. También se han identificado en diversos vegetales en estado fresco; son tan potentes que su umbral de detección está generalmente por debajo de 1 ppm. En el cuadro 8.12 se presenta la estructura y el límite de detección de algunas pirazinas, entre las que destacan varios grupos importantes:

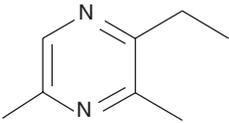
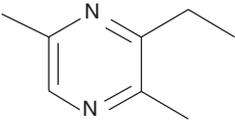
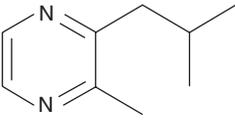
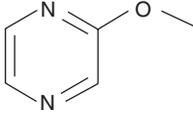
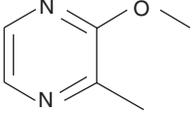
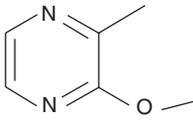
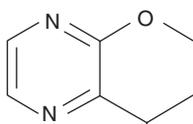
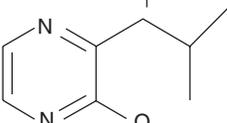
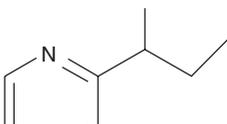
- Alquil-pirazinas.* Incluyen compuestos como la 2,5-dimetil-pirazina, la 3-etil-2,5-dimetil-pirazina y la 2-etil 3,5-dimetil-pirazina, típicos de las papas horneadas, y se sintetizan en la cáscara de este tubérculo; también se han identificado otras 13, tales como 2-isobutil-3-metil-pirazina, 2,3-dietil-5 metil-pirazina y 2,6-dietil-3-metil-pirazina. Se generan mediante la degradación de Strecker, por la reacción de las α -dicetonas con aminoácidos para formar α -amino-cetonas que a su vez, si se condensan entre sí, generan un compuesto heterocíclico que a través de una oxidación genera la pirazina.
- Metoxi-pirazinas.* En este grupo está la 2-isobutil-3-metoxi-pirazina, responsable del aroma típico de los pimientos verdes recién cortados (*Capsicum annuum*), los chícharos (*Pisum sativum*), el café tostado y algunos chiles (ajís); está considerada como una de las sustancias más potentes conocidas, ya que su umbral de detección en agua es de 0.002 μg/L.
- Acetil-pirazinas.* De éstas, las más conocidas son la 2-acetil-pirazina, la 5-acetil-pirazina y la 6-acetil-pirazina, que se han identificado en productos fritos y tostados, tales como las palomitas de maíz, el tabaco, el cacao, el café y la carne. Dentro de esta categoría se encuentran la 2-acetil-3-metil-pirazina y la 2-acetil-3-etil-pirazina.
- Otras pirazinas.* En este grupo se incluyen muchas otras pirazinas de menor importancia, tales como la acetil-pirazina y las pirazinas bicíclicas.

Por su parte, los pirroles son compuestos nitrogenados que se supone derivan de la prolina y de la hidroxiprolina por la degradación de Strecker; sin embargo, también se pueden formar mediante un meca-

CUADRO 8.12 Estructura y umbral de detección de algunas pirazinas^{3, 39}

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (µg/L)
2-metil-pirazina		Hierba, nueces, cocoa, papa, amoniacal	60,000
2-etil-pirazina		Nueces, mantequilla, cacahuete, chocolate, tostado	6,000
2,3-dimetil-pirazina		Hierba, nueces, papa, cocoa, café, caramelo, carne	2,500
2,5-dimetil-pirazina		Chocolate, nueces tostadas, tierra	800
2,6 dimetil-pirazina		Chocolate, nueces tostadas, papa frita	200
2,3,5-trimetil-pirazina		Nuez, papa horneada, cacahuete, cocoa, quemado	400
2,3,5,6-tetrametil-pirazina		Nuez, chocolate	1,000
2-etil-3-metil-pirazina		Papa, nuez quemada, tostado, cereal, tierra	0.4
2-etil-5-metil-pirazina		Nuez, tostado, pasto	100

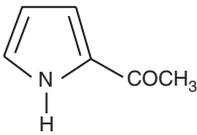
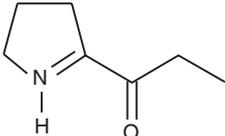
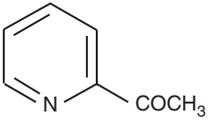
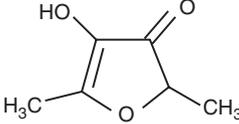
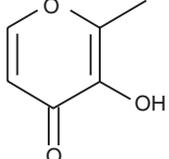
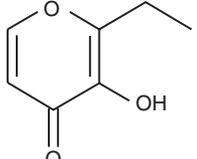
CUADRO 8.12 (Continuación)

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (µg/L)
2-etil-3,5-dimetil-pirazina		Cocoa, chocolate, nueces, almendra quemada	1
2-etil-3,6-dimetil-pirazina		Cocoa, chocolate, nuez, almendra quemada	0.4
2-isobutil-3-metil-pirazina		Hierba, tierra	35
2-metoxi-pirazina		Nuez, dulce, cocoa	400
2-metoxi-3-metil-pirazina		Cacahuete, nuez, almendra	3
2-etil-3-metoxi-pirazina		Almendra tostada, tierra	0.4
2-metoxi-3-isopropil-pirazina		Tierra, pimienta verde, papa	10
2-isobutil-3-metoxi-pirazina		Pimiento verde	0.002
2-secbutil-3-metoxi-pirazina		Pimiento verde, chícharo	0.001

nismo distinto que requiere de otros aminoácidos y de azúcares de seis átomos de carbono. Entre los más conocidos están el 2-formil-pirrol y el 2-acetil-pirrol. Las piradinas son compuestos que en concentraciones bajas tienen un aroma agradable, pero que se torna muy fuerte y desagradable cuando están concentradas; contienen nitrógeno en su molécula y no son tan abundantes como las pirazinas o los pirroles.

Los furanos también representan otro grupo importante de compuestos, ya que se han identificado 70 en el aroma del café, 25 en el del pan y así en muchos otros alimentos; entre los principales resalta el maltol, con un característico aroma de caramelo, y su derivado, el etil-maltol, que es de cuatro a seis veces más potente que el primero. Como los furanos no contienen nitrógeno, su síntesis se lleva a cabo sólo con monosacáridos, por medio de su deshidratación o de la degradación de Strecker. En el cuadro 8.13 se muestra la estructura de algunos furanos y piridinas derivados de la reacción de Maillard.

CUADRO 8.13 Estructura de piridinas y furanos derivados de la reacción de Maillard^{3, 39}

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (µg/L)
2-acetil-pirrol		Carne cocida, palomitas de maíz	0.1
2-propionil-pirrol		Palomitas de maíz	0.1
2-acetil-piridina		Pan	19
4-hidroxi-2,5-dimetil furanona		Caramelo	25
3-hidroxi-2-metil-4-pirona (maltol)		Caramelo, café	35 (mg/kg)
3-hidroxi-2-etil-4-pirona (etil-maltol)		Caramelo, café	5 (mg/kg)

Los compuestos heterocíclicos azufrados derivados de la reacción de Maillard incluyen tiazoles y tiofenos, además de tritiolanos, tiazolinas, tetraitanos y otros; éstos se sintetizan por la reacción entre la metionina, la cistina, la cisteína o el anhídrido sulfuroso (proveniente de la descomposición de la cisteína), con diferentes compuestos intermedios, tales como aldehídos, amoniaco y otros (figura 8.23).

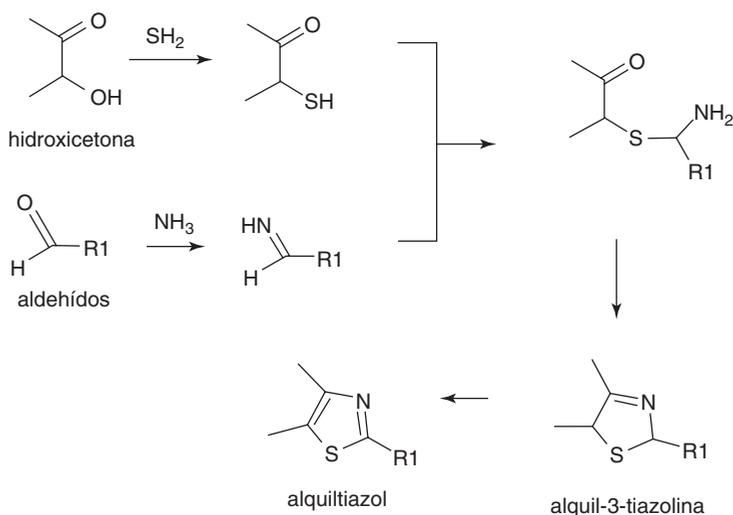
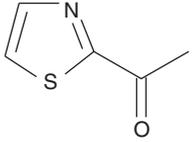
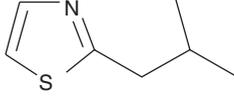
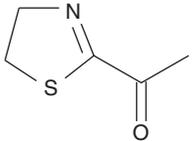
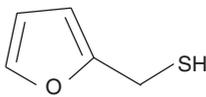
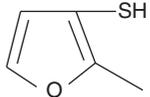
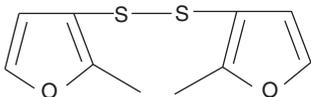


Figura 8.23 Síntesis de tiazolinas y tiazoles a partir de la reacción de hidroxiketonas y aldehídos con amoniaco y sulfuro de hidrógeno.⁵⁸

Los derivados de los tiazoles, como el trimetil-tiazol y el 2-isobutil-tiazol, tienen aromas que recuerdan el del cacao y el del jitomate, respectivamente. Por su parte, los tiofenos sólo se han encontrado en alimentos que han sido sometidos a altas temperaturas; en cambio, las pirazinas existen en ciertos vegetales frescos; se ha observado que el dimetil-tiofeno y algunos trisulfuros insaturados se producen a expensas de trisulfuros saturados y disulfuros insaturados. El cuadro 8.14 muestra la estructura de algunos compuestos azufrados derivados de la reacción de Maillard.^{58, 59, 60}

En el café tostado se han identificado varios compuestos azufrados que incluyen mercaptanos, sulfuros, disulfuros y trisulfuros, entre los que destacan el 5-metil-furfuril-mercaptano y el furfuril-mercaptano; este último tiene un umbral de detección muy bajo de $0.01 \mu\text{g/L}$ y en concentraciones hasta de $0.5 \mu\text{g/L}$ da la nota agradable de café, pero a más de $5 \mu\text{g/L}$, es desagradable. Por otra parte, en los vegetales cocidos se genera una serie de compuestos volátiles muy similares, que varían únicamente en su concentración y que sugiere son el resultado de una degradación de metabolitos comunes; en sistemas modelo se ha comprobado que algunos de ellos derivan de diferentes aminoácidos. Durante la cocción de papa, zanahoria, coliflor, maíz, lechuga, apio, cebolla y otros, se sintetizan anhídrido sulfuroso, metanol, propanal, acetona, sulfuro de dimetilo, metilpropanal, 3-metilbutanol, metanol y acroleína.⁷³ Durante el cocimiento de espárragos se identifica un aroma característico del sulfuro de dimetilo, que se encuentra en una concentración que va de 3 a 10 ppm; éste proviene de la hidrólisis térmica de los precursores correspondientes, principalmente de la metilmetionina. Paralelamente también se genera el compuesto cíclico 1,2-ditiaclopentano, proveniente de la descarboxilación del ácido asparagúxico (figura 8.24), cuya biosíntesis ya se describió.^{82, 83, 84}

CUADRO 8.14 Tiazoles y otros compuestos azufrados derivados de la reacción de Maillard ^{3, 39}			
Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (µg/L)
2-acetil-tiazol		Cereal, cacao	10
2-isobutil-tiazol		Jitomate, vino, hierba	3
2-acetil-2-tiazolina		Palomitas de maíz	1.3
furfuril-mercaptano		Café, cacao, carne cocida	0.01
2-metil-furfuril		Cacao, carne cocida	0.007
bis (-2metil-3furfuril) disulfato		Carne cocida	2×10^{-5}

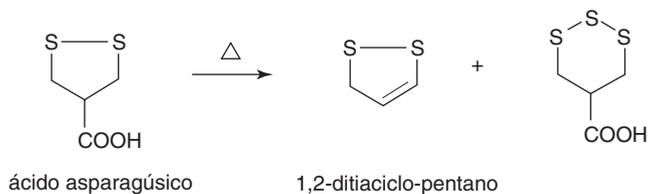


Figura 8.24 Degradación térmica del ácido asparagúsico.⁸²

8.5.2.2 Degradación de la tiamina

La tiamina o vitamina B1 es un compuestos bicíclico (figura 8.25) formado por una pirimidina sustituida y un anillo de tiazol unidos mediante un enlace metilénico que puede romperse cuando a esta molécula se le aplica un tratamiento térmico a un $\text{pH} \geq 4.5$; la porción de pirimidina es estable pero

el derivado metil-tiazólico es susceptible a degradación térmica, por lo que puede generar compuestos volátiles azufrados y nitrogenados de intenso aroma como furanos, tiofenos y anhídrido sulfuroso que imparten aromas cárnicos. Muchos de estos compuestos pueden también formarse por la reacción de Maillard, como el 2-metil-3-furfuril y el bis(2-metil-3-furfuril) disulfuro, y son algunos de los principales componentes del aroma de carne de res y pollo. Se ha reportado que la degradación térmica de la tiamina genera una concentración 20 veces mayor del 2-metil-3-furfuril que la ribosa, cuando reacciona con cisteína a un pH de 5.7.^{23, 60}

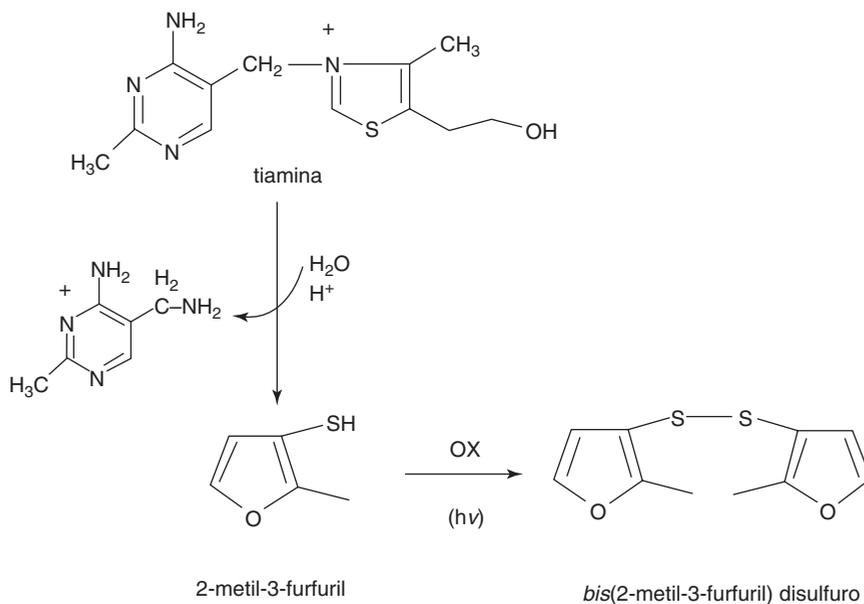


Figura 8.25 Compuestos azufrados derivados de la degradación térmica de la tiamina.^{3, 76, 88}

8.5.2.3 Degradación térmica de lípidos

Los lípidos incluyen triacilglicéridos, fosfolípidos y colesterol; este grupo de compuestos tiene un papel multifuncional, pues está relacionado con la percepción bucal, además actúa como vehículo de compuestos no polares relacionados con el aroma. La fracción lipídica es un sustrato fundamental en la generación de volátiles, pues una gran cantidad de los compuestos del aroma y sabor provienen de la degradación de lípidos, e incluyen hidrocarburos alifáticos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas y alquilfuranos.^{23, 58, 60} El tratamiento térmico puede inducir la ruptura del enlace éster de los triacilglicéridos con la consecuente liberación de ácidos grasos, además acelera oxidación de las cadenas alifáticas, donde las grasas insaturadas son más susceptibles a la reacción de autoxidación que las grasas saturadas. Por otra parte, los fosfolípidos que forman parte de la membrana celular, contienen una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados que los triglicéridos por lo que son muy sensibles a la oxidación. Asimismo, la ruptura del enlace éster de los fosfolípidos es más

rápida que la de los triacilglicéridos, por lo que son una fuente importante de compuestos volátiles.²⁰ Del mismo modo, el colesterol es también susceptible a la oxidación cuando se expone a luz, calor y oxígeno. El 7-cetocolesterol es uno de los compuestos más representativos derivado de la oxidación del colesterol; la carne de res y los productos cárnicos pueden contener cerca de 3.5 ppm de este compuesto, cantidad sólo inferior a la reportada para el huevo en polvo, pero mayor a la de otros alimentos como leche, queso y cereales.⁴⁷

La autooxidación de los lípidos ocurre en forma espontánea en presencia de oxígeno, generando numerosos productos intermediarios y finales. El mecanismo de autooxidación involucra la formación de radicales libres en donde un lípido RH es activado por calor, luz o por catalizadores metálicos para descomponerse en radicales libres inestables R• y H•. En presencia de oxígeno estos radicales libres forman el radical peróxido ROO•, que reacciona con otro lípido RH y genera un hidroperóxido ROOH y el radical libre R• correspondiente, a través del cual se propaga la reacción en cadena. La reacción termina cuando los radicales libres se combinan entre sí, formando compuestos estables que se acumulan en el sistema. Los hidroperóxidos son intermediarios importantes en la autooxidación de grasas, son no volátiles, inodoros e insípidos y relativamente inestables, por lo que tienden a fragmentarse y forman compuestos odoríferos. Los hidroperóxidos pueden formar radicales alcoxi e hidroxilo que se descomponen rápidamente por oxidación, ruptura o ciclización, formando un sinnúmero de compuestos volátiles como aldehídos, alcoholes, cetonas, además de radicales libres que reingresan a la cadena de propagación. La naturaleza de los volátiles formados a partir de la degradación de hidroperóxidos depende de la composición de la cadena y del punto de ruptura. Los compuestos generados incluyen al hexanal, heptanal, octanal, nonanal, undecanal, 2-nonenal, 2-docenal, 3-hexenal, 4-decenal, 2,3-nonadienal, 2,4-decadienal, entre otros; todos ellos responsables del olor a grasa y rancio (figura 8.26). En general, estos compuestos tienen umbrales de detección superiores, por ejemplo, los aldehídos trans-2-nonenal y el trans-2-trans-4-decadienal poseen un umbral de detección de 0.08 y 0.07 ppb, ambos imparten notas a grasa, en tanto que los ácidos carboxílicos son responsables de la sensación acre común en el aroma a carne (capítulo 4).^{19, 20, 23}

El malonaldehído y otros compuestos que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico son los principales productos de la ruptura de los hidroperóxidos provenientes de los ácidos araquidónico y linoleico. Además de la autooxidación, los ácidos grasos saturados e insaturados pueden sufrir reacciones de descomposición cuando se someten a temperaturas elevadas en presencia o ausencia de oxígeno por deshidratación, descarboxilación, hidrólisis y deshidrogenación. La degradación de los ácidos grasos saturados con oxígeno lleva a la formación de mono-hidroxiperóxidos, cuya ruptura produce compuestos de bajo peso molecular semejantes a los producidos por la reacción de autooxidación. Sin embargo, se ha demostrado que al eliminar el oxígeno mediante una corriente de nitrógeno, se reduce la formación de compuestos derivados de la oxidación de lípidos. Asimismo, al calentar los lípidos a una temperatura superior a los 200°C los triacilglicéridos se fragmentan, generando cetonas, lactonas, ésteres, metilcetonas, hidrocarburos saturados e insaturados, aldehídos, acroleína, monóxido de carbono, entre otros compuestos de bajo peso molecular.^{19, 20, 23, 76}

Los umbrales de percepción de los compuestos volátiles derivados de los lípidos son superiores a los que presentan los compuestos azufrados y nitrogenados provenientes de la reacción de Maillard, por lo que tienen un impacto menor en el aroma. Sin embargo, los aldehídos saturados e insaturados de seis a 10 carbonos representan la principal proporción de componentes volátiles. Las notas de aroma que imparten estos aldehídos se describen como verdes, grasos y rancios, como muestra el cuadro 8.15.

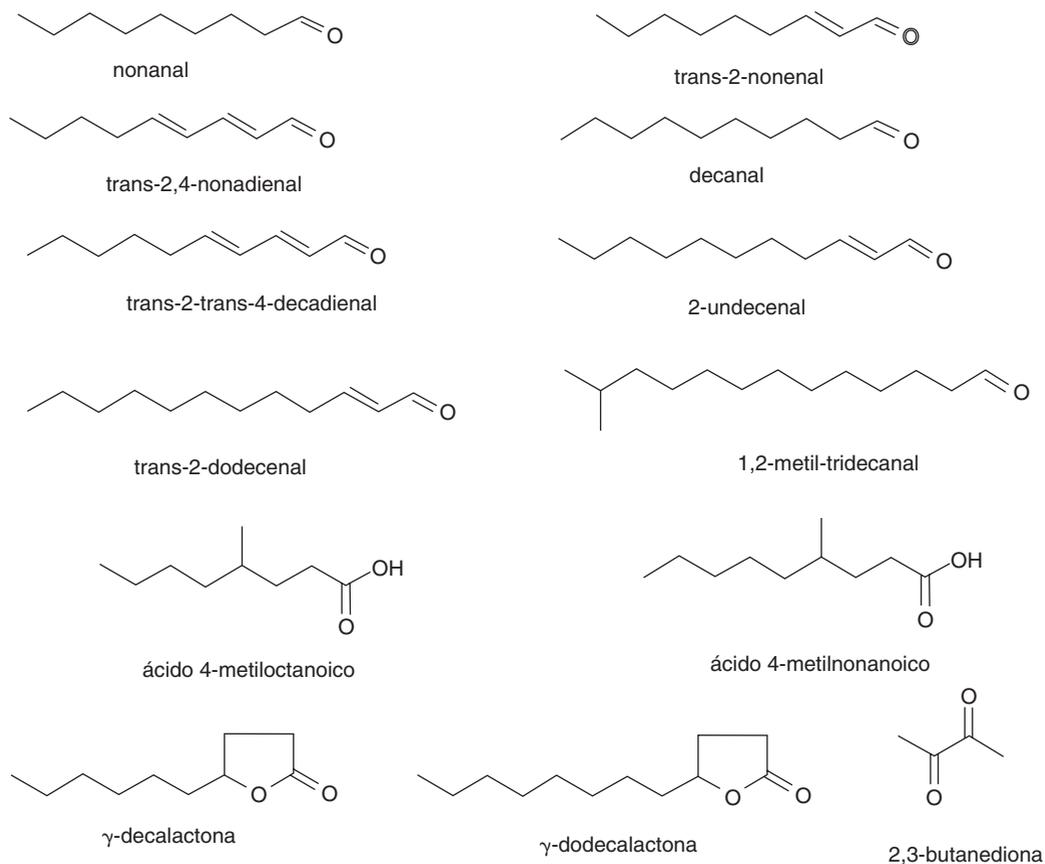


Figura 8.26 Estructura de compuestos alifáticos derivados de la oxidación de lípidos.^{20, 23}

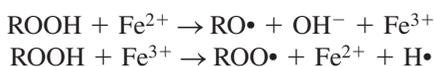
CUADRO 8.15 Umbral de detección de algunos aldehídos saturados^{3, 39}

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección ($\mu\text{g/L}$)
Propionaldehído	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	Café tostado, hierba	9.5
Butiraldehído	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	Frutal, plátano, hierba	9
Pentanal	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}$	Acre, pungente, chocolate	12
Hexanal	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	Hierba, pasto, grasa, fruta	4.5
Heptanal	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}$	Grasa, rancio, nuez, coñac	3
Octanal	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	Grasa, rancio, fruta, cítrico	0.7
Nonanal	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	Grasa, floral, cera, cítrico	1
Decanal	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$	Grasa, dulce, naranja, cítrico	0.1
Undecanal	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}$	Dulce, rancio, grasa, cera, floral	5
Dodecanal	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}$	Dulce, rancio, cera, violeta	2

Los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6 han recibido gran atención debido a que su consumo reduce la incidencia de enfermedades coronarias. Un incremento de ácidos grasos poliinsaturados generó una mayor cantidad de compuestos volátiles derivados de la oxidación térmica de lípidos en el aroma de la carne de diversas especies animales, con una mayor concentración de alcoholes y aldehídos saturados e insaturados, n-alcanos, 2-alquenos, 1-alcanoles y alquifuranos de cuatro a nueve carbonos.^{19, 20, 21}

Aunque estos compuestos no provienen directamente de la degradación de ácidos grasos poliinsaturados, sino de la autooxidación del ácido oleico (C18:1 n-9) y del ácido linoleico (C18:2 n-6), por lo que la presencia de ácidos grasos poliinsaturados parece promover la reacción de autooxidación del ácido oleico y linoleico.

Por otra parte, los iones Fe(III) y Fe(II) pueden propiciar la ruptura de hidroperóxidos y la formación de radicales libres que posteriormente pueden generar aldehídos, cetonas y ácidos:



Aunque el ácido ascórbico actúa como antioxidante, se ha observado que a niveles de alrededor de 800 ppm, este compuesto puede acelerar las reacciones de oxidación de lípidos catalizadas por iones metálicos. Este efecto se debe a que el ácido ascórbico reduce el Fe(III) a Fe(II); este último cataliza la ruptura de hidroperóxidos a una mayor velocidad que el Fe(III).⁴¹

8.6

PRECURSORES Y DESARROLLO DE AROMA Y SABOR EN ALIMENTOS

8.6.1 Carne y productos cárnicos

Los principales compuestos que intervienen en la generación del aroma a carne son moléculas de bajo peso molecular solubles en agua o lípidos. Otros componentes de la carne, como las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, tienen un efecto mínimo en el desarrollo del aroma a carne, con excepción de la mioglobina que puede actuar como catalizador en los procesos de generación del aroma. Como resultado del tratamiento térmico se genera un gran número de sustancias volátiles responsables del aroma y sabor a carne, en donde la naturaleza de los compuestos generados depende fundamentalmente de la intensidad del tratamiento térmico aplicado. Por otra parte, los lípidos que forman parte del tejido adiposo, así como la grasa intramuscular y los fosfolípidos tienen un papel primordial en la generación del aroma cárnico. Se ha reportado que la fracción lipídica provee de volátiles, que son característicos de cada especie animal, mediante reacciones de oxidación y descomposición térmica; mientras que el tejido magro provee aquellos compuestos responsables del aroma a carne que son comunes en todas las especies animales.^{18, 60, 76}

La ribosa es uno de los azúcares más importantes de la carne, la mayor proporción de la ribosa se encuentra como parte del nucleótido inosin 5'-monofosfato, y en menor cantidad se le puede encontrar como ribosa 5-fosfato o ribosa libre. El inosin-5'-monofosfato se forma vía defosforilación enzimática y deamidación del ATP durante la etapa post-mortem. La ruptura enzimática del inosin-5'-monofosfato puede dar lugar a la formación de ribosa y ribosa-5-fosfato, aunque la mayor parte de la ribosa permanece unida al nucleótido. El inosin-5'-monofosfato, además de actuar como agente potenciador del sabor, también es una fuente de ribosa para la reacción de Maillard durante la cocción,

y genera compuestos volátiles azufrados (tioles, mercaptocetonas, furanotioles, tiofenos y disulfuros) con un fuerte olor a carne, y en menor proporción otros compuestos no azufrados como el 2-furfural y 2,4-pentadienona. La ribosa 5-fosfato puede perder el grupo fosfato y sufrir una deshidratación para formar 4-hidroxi-5metil-3-furanona y 1-deoxipentanona. Esta furanona puede generar tiofuranos y tiofenos al reaccionar con el sulfuro de hidrógeno producido por la degradación de cisteína.⁵⁹

La formación de los compuestos responsables del aroma de la carne no sólo depende de la concentración de precursores, sino de una gran variedad de factores intrínsecos y extrínsecos que alteran la intensidad y características del aroma, como el pH de la carne, especie animal, género, genotipo, edad, régimen de producción, tipo de alimentación, manejo post-mortem, temperatura y método de cocción, adición de especias, saborizantes, otros aditivos no cárnicos, etcétera.⁶⁶ Asimismo, el sabor característico de cada especie animal deriva primordialmente de los lípidos presentes. La carne de cerdo y pollo contienen una mayor proporción de ácidos grasos insaturados que la carne de res o cordero, y ésto da lugar a una mayor proporción de aldehídos volátiles insaturados, por lo que se supone que éstos aldehídos son los principales compuestos asociados con el olor de las diferentes especies animales.⁷⁶ La carne de oveja es rica en ácidos grasos ramificados con grupos metilo, como por ejemplo los ácidos 4-metiloctanoico y 4-metil-nonanoico, que no se han detectado en otros tipos de carne, éstos son responsables del olor característico de la carne de cordero que puede ser objetable por ciertos consumidores.⁷¹ El 1,2-metiltridecanal presente principalmente en carne de res, ternera, cordero y venado, imparte notas grasas a la carne. Otros aldehídos metilados de 11 a 17 carbonos imparten aromas a carne de res cocida y también se han detectado en carne de pollo y cerdo, aunque en menor proporción.^{18, 23, 28, 76}

Los productos cárnicos procesados incluyen en su formulación nitrito de sodio, junto con el cloruro de sodio, fosfatos y agentes reductores, entre otros. Los nitritos además de estabilizar el color de la carne e inhibir el crecimiento de *Clostridium botulinum*, actúan como agentes antioxidantes que evitan el deterioro de las grasas insaturadas y por tanto modifican el perfil de compuestos volátiles generados durante la cocción. La acción antioxidante se debe a la formación de nitrosomioglobina y nitrosil-hemocromógeno que inhiben la acción del hierro hemínico como agente prooxidante.^{46, 66}

8.6.2 Leche y productos lácteos

El sabor de productos lácteos como queso, crema, yogurt y mantequilla está asociado en cierto grado con la hidrólisis de lípidos y proteínas, con la generación de ácidos grasos de cadena corta, ésteres etílicos, aldehídos, etcétera. Lo cual requiere un estricto control de las condiciones de maduración y modificación de los métodos tradicionales de fabricación, por la adición de lipasas y proteasas o por inoculación con cultivos iniciadores de bacterias psicotrópicas de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*. Cuando estas modificaciones bioquímicas no son reguladas adecuadamente, se obtiene un producto de mala calidad, que no será aceptado. La lactosa es el principal precursor del diacetilo (2,3-butadiona), que imparte una nota cremosa a los productos lácteos como quesos frescos, mantequilla y queso *cottage*; el sabor es ligero y ácido, típico del ácido láctico y acético. En los quesos madurados, la cuajada se somete al proceso de maduración que puede durar varios meses (incluso años), en donde se generan más de 200 compuestos volátiles. Todas estas transformaciones se deben a la acción de enzimas propias de la leche, a los microorganismos propios como añadidos, así como a las enzimas añadidas para acelerar la maduración. Durante la primera etapa, la lactosa se transforma en ácido láctico, los lípidos se hidrolizan y generan glicerol y ácidos grasos libres de cuatro a 10 átomos de carbono y los de cadena mayor se convierten mediante la β -oxidación en metilcetonas como pen-

tanona; los insaturados se transforman en ésteres metílicos y aldehídos, y finalmente los ácidos grasos hidroxilados se ciclan y forman lactonas (figura 8.27). Por otra parte, las caseínas sufren proteólisis, descarboxilación y desaminación; la metionina genera anhídrido sulfuroso, metanotiol y sulfuro de dimetilo. El gusto quemado del queso *gruyère* se debe a la combinación de péptidos derivados de proteólisis con 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-furanona. Algunos aminoácidos pueden oxidarse para formar su correspondiente ácido, como la alanina que forma el ácido pirúvico.

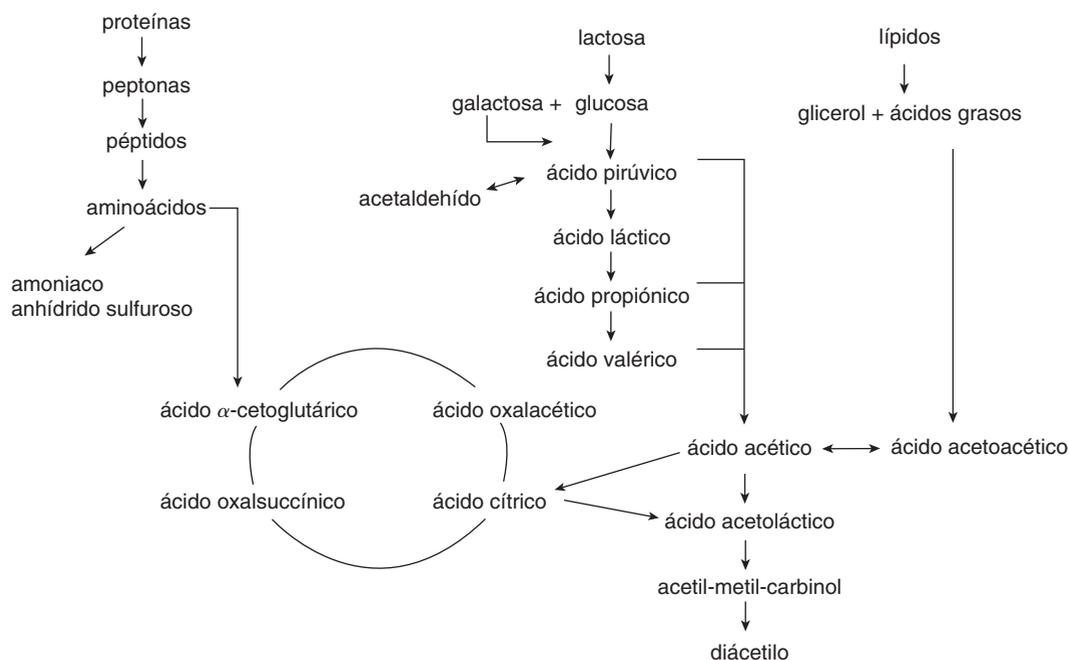


Figura 8.27 Rutas metabólicas de las fermentaciones de la lactosa y el citrato.³³

8.6.3 Bebidas alcohólicas

El mezcal y el tequila son bebidas alcohólicas mexicanas con denominación de origen, que se obtienen por fermentación de cabezas de diferentes especies de agave. El tequila se obtiene según la norma mexicana NOM 006-SCFI-1994 de la región de Tequila, Jalisco, a partir del *Agave tequilana Weber var. azul*, mientras que el mezcal se obtiene del *Agave salmiana* o de otras variedades, según la región. En función del tiempo de almacenamiento, las mezclas se clasifican en: joven, reposado y añejo, y pueden estar ornamentadas con gusano.^{22, 31} Las etapas de elaboración incluyen primeramente cosecha, cocimiento y molienda. El *Agave tequilana Weber var. azul* contiene agua (60%), inulina (24%), fibra (11%), azúcares reductores (1.5%), proteínas (0.02%) y cenizas (2.7%). La inulina es un oligosacárido de la familia de las fructanas y su contenido varía en función de la edad del agave y de la estación del año. El jugo crudo contiene algunos compuestos volátiles, donde los ésteres se encuentran en mayor proporción.

El mosto tequilero obtenido durante esta etapa contiene compuestos como 5-hidroximetilfurfural, 2-metil-2-furoato, furfural, 2(5H)furanona, 5-acetoximetil-2-furfural, 3,5-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4(h)piran-4-ona. La mayoría de estos compuestos se genera por la reacción de Maillard durante el cocimiento.³¹ También se ha detectado la presencia de otros compuestos como ácidos grasos, aldehídos, alcoholes, terpenos y vainillina que juegan un papel importante en el aroma del producto. Asimismo, el mosto contiene del 4 a 10% de azúcares simples, principalmente fructosa y algo de glucosa.

La segunda etapa es la fermentación, ya sea espontánea o por adición, de un inóculo de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. La velocidad de fermentación depende de la temperatura, composición del mosto y condiciones de operación, pero sobre todo de la cepa empleada. Esta etapa puede durar de 20 horas a tres días a una temperatura óptima de 35°C. Si la temperatura sobrepasa los 40°C se detiene la fermentación por inactivación de la levadura. El pH inicial del mosto es de 4.5 y, a medida que avanza la fermentación, disminuye a valores cercanos a 3.9. La concentración de azúcares disminuye hasta un 0.4%. En esta etapa pueden desarrollarse otros microorganismos de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*.³¹ Ésta es la etapa de mayor importancia, ya que los azúcares se transforman en etanol y otros compuestos que contribuyen al sabor y aroma característicos del tequila. Los alcoholes superiores como el alcohol isoamílico, isobutanol, 1-propanol, fenil y 1-butanol, junto con ésteres, aldehídos y metanol son los componentes volátiles de mayor concentración. Posteriormente, en la destilación, el tequila define su carácter sensorial, ya que además de concentrar y separar el etanol, en esta etapa se modifican las concentraciones relativas de los volátiles menores que forman parte del mosto fermentado. La destilación en alambique se efectúa en dos etapas, la primera llamada de destronamiento, donde el mosto se destila hasta obtener una concentración alcohólica del 20 al 30% alcohol volumen. La segunda etapa, también llamada de rectificación, enriquece el contenido alcohólico hasta en un 55% de alcohol volumen para depurar el producto, donde en cada paso se separan las cabezas y colas (primera y última fracciones del destilado). Las cabezas contienen compuestos de bajo punto de ebullición como acetaldehído y alcoholes superiores; las colas contienen compuestos menos volátiles como el ácido acético, lactato y furfural, que por su sabor fuerte afectan de manera negativa al tequila, al igual que algunos ácidos grasos y sus ésteres de ocho a 14 carbonos con aroma jabonoso.

Por último, durante el añejado o maduración en barricas de madera de roble o encino, se extraen algunos componentes de la madera como fenoles simples (eugenol), lactosas y taninos; productos derivados de la hidrólisis y tostado de la madera, como ácido acético y siringaldeído, pirrazinas y piroles, entre otros. Asimismo, durante este periodo se forman algunos compuestos derivados de la interacción de polifenoles de la madera con los volátiles del destilado, así como la esterificación y pérdida o concentración de componentes del aroma (cuadro 8.16).²²

8.7

ANÁLISIS DE COMPUESTOS DE AROMA Y SABOR

El estudio de los compuestos volátiles responsables del aroma resulta muy complejo, por varias razones:^{63, 70}

- a) Se encuentran en concentraciones muy bajas, en ocasiones en partes por billón, por lo que el equipo analítico para estudiarlos tiene que ser muy sensible. A principios de la década de

CUADRO 8.16 Compuestos volátiles presentes en diversas etapas de la elaboración del tequila²²

	<i>Jugo crudo</i>	<i>Mosto</i>	
		<i>Cocido</i>	<i>Fermentado</i>
Alcoholes	10	23	29
Terpenos	8	18	26
Hidrocarburos	9	13	5
Ésteres	15	36	57
Aldehídos	9	18	10
Furanos	7	25	13
Cetonas	3	20	18
Fenoles	1	9	9
Ácidos orgánicos	—	23	16
Compuestos azufrados	—	11	4
Lactonas	—	2	2
Piranos	—	8	2
Compuestos nitrogenados	—	9	1
Otros	—	3	13

1960 sólo se conocían unos cuantos cientos de compuestos, pero hoy en día ya se conocen más de 10,000. Gracias al avance de la ciencia y la tecnología, actualmente se cuenta con una gran cantidad de sistemas de extracción y técnicas instrumentales cada vez más sensibles y confiables, que permiten evaluar desde diferentes ángulos los componentes del aroma y del sabor de los alimentos.⁷⁰

- b) La concentración de cada componente no siempre es un indicativo de su influencia en el aroma y sabor, ya que un solo compuesto, aún en baja concentración, puede provocar una fuerte estimulación sensorial. Por lo que se hace necesario analizar cada componente en relación con su concentración y al umbral de detección. Este último se define como la mínima cantidad de un compuesto que genera un olor o sabor detectable por un número específico de evaluadores.⁷⁶ Antes de continuar con el tema y como una nota aclaratoria, es muy importante distinguir el concepto de partes por billón (ppb) en el sistema de medida de Estados Unidos del que se usa en México y en otros países que emplean el sistema métrico decimal; en EU, un billón equivale a mil millones (10^9), mientras que en México equivale a un millón de millones (10^{12}), por lo que una ppb de EU equivale a 1,000 ppb de México.
- c) Los métodos usados para recuperar y concentrar estos compuestos pueden causar modificaciones cualitativas y cuantitativas. Incluso, durante el almacenamiento previo al análisis se inducen alteraciones; tal es el caso del 5-hidroxi-decanoato de etilo y el 5-hidroxi-octanoato de etilo que se encuentran en algunas frutas y que se convierten en sus respectivas lactonas, las cuales tienen un fuerte olor a coco.

Existen muchos tipos y clases de compuestos, y cada uno requiere una técnica diferente de preparación para su análisis. Como ya se indicó, en los volátiles se encuentran diversos grupos de sustancias, tales como aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, mercaptanos, etcétera, y para analizarlos es preciso manejarlos de maneras diferentes. El análisis de los compuestos del aroma y sabor comprende varias etapas. En primer lugar, se realiza una extracción para separar estos compuestos del resto del

producto; luego se concentran para incrementar la capacidad del análisis, se fraccionan y, por último, se identifican y cuantifican. Las técnicas analíticas comúnmente empleadas en la separación e identificación de los constituyentes del aroma incluyen a la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC), la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), la cromatografía de gases acoplada a un detector de emisión atómica (GC-AED), la cromatografía de gases y olfatometría (GC-O); la espectroscopia de infrarrojo (IR), la resonancia magnética nuclear (RMN), el análisis de enantiómeros, etcétera.²²

8.7.1 Extracción de compuestos del aroma y sabor

Un punto clave para el éxito en el análisis de compuestos del aroma y sabor es la preparación de la muestra. El método de extracción se selecciona tomando en cuenta la naturaleza y estabilidad del compuesto a analizar, así como la naturaleza de la muestra, dado que los compuestos del aroma y sabor se liberan de forma diferente según la estructura y composición de la matriz que conforma el alimento. Una técnica inapropiada puede producir la pérdida o la generación de otros componentes “artefactos”, que no se encontraban inicialmente en el producto. Las técnicas de extracción incluyen la extracción líquido-líquido, la destilación y el aislamiento de compuestos en la fase vapor del alimento, entre otras. Todas ellas se basan en las diferentes propiedades fisicoquímicas (solubilidad, volatilidad, polaridad, etcétera) de los compuestos de interés, por lo que pueden mostrar una imagen diferente del aroma y sabor de cada alimento.^{17, 22, 33}

En el proceso de extracción líquido-líquido, generalmente se emplean solventes orgánicos de alta pureza, ya que la presencia de contaminantes puede alterar el resultado del análisis. El solvente se selecciona con base en la polaridad, miscibilidad, toxicidad, costo, y en la facilidad con la que éste se elimina después de la extracción. Este sistema de extracción es el más simple, consiste en macerar la muestra y colocarla junto con el solvente en un embudo de separación, la mezcla se agita durante algún tiempo y posteriormente se separa la fase orgánica; por último, la muestra se concentra por eliminación del solvente. Los sistemas continuos de extracción y destilación son más eficientes, pero tienen el inconveniente de favorecer la formación de “artefactos”, debido a la alta temperatura empleada en su operación, por lo que se recurre al uso de vacío para materiales especialmente sensibles al calor.²² Otra técnica de extracción líquido-líquido es la extracción con fluidos supercríticos. Esta técnica utiliza dióxido de carbono líquido y la extracción se realiza a baja temperatura y alta presión (31°C, 80-400 bar); en estas condiciones, los fluidos supercríticos tienen una baja viscosidad y alta difusividad, lo que permite una rápida transferencia de masa; posteriormente, el dióxido de carbono se elimina por evaporación, al llevar la muestra a condiciones normales de presión atmosférica. La principal ventaja es la rapidez con la que se logra la extracción, así como la eliminación de la posible alteración por calor; sin embargo, el alto costo del equipo empleado limita el uso de esta técnica.^{22, 88}

El aislamiento de los compuestos volátiles de la fase de vapor del alimento, ya sea en un sistema estático o dinámico, tiene como principal ventaja, mantener la concentración relativa de los compuestos volátiles en una relación similar a la que se obtiene durante la inhalación, sin la necesidad de aplicar calor. En el sistema estático, la muestra se coloca en el interior de un recipiente herméticamente cerrado, a temperatura constante, con o sin agitación; los volátiles se acumulan en el espacio vacío por arriba de la muestra (espacio de cabeza) hasta que se establece un equilibrio, posteriormente, se extrae un volumen de aire, que se inyecta a un cromatógrafo de gases. En el sistema dinámico o de trampa y purga, se hace pasar una corriente de gas inerte (N₂, He o CO₂) que arrastra los volátiles a

una trampa tenax recubierta de un adsorbente, en donde éstos son atrapados; posteriormente, los compuestos se desorben térmicamente y se llevan a una trampa criogénica, donde pasan directamente a la columna del cromatógrafo de gases. Variaciones de esta técnica incluyen el uso de polímeros porosos como Porapak, *chromosorb* o carbón activado.^{22, 88}

Recientemente, la microextracción en fase sólida, en la cual se emplean fibras recubiertas con polímeros (como polidimetilsiloxano, divinilbenceno, carboxeno, poliacrilato, etcétera), ha cobrado un gran interés por la facilidad y eficiencia en la recuperación de compuestos del aroma y sabor, ya sea en muestras sólidas o líquidas. La microextracción se basa en procesos de adsorción/desorción, además es de fácil manejo, reproducible, económica y reduce problemas de contaminación y pérdida de muestra asociados con la extracción de compuestos volátiles tanto en la fase de vapor como en el seno de productos líquidos. La presencia de electrolitos puede modificar las condiciones de la extracción, al reducir la solubilidad de compuestos hidrofóbicos en la fase acuosa y aumentar su volatilidad, por lo que la adición de sales como cloruro de sodio puede mejorar la extracción de compuestos volátiles.^{22, 49, 88}

8.7.2 Identificación de compuestos del aroma y sabor

Dado el gran número de compuestos que intervienen en el aroma y el sabor, es necesario fraccionar o separar la muestra antes de proceder a la etapa de identificación y cuantificación, a fin de mejorar la resolución y eficiencia del análisis. Por ejemplo, las muestras pueden dividirse en fracciones polares, no polares o con polaridad intermedia; o bien, en fracciones ácidas, básicas o neutras, y posteriormente cada fracción se analiza por separado. Asimismo, es posible separar un grupo específico de compuestos o aumentar su volatilidad mediante derivatización. Por ejemplo, en la cuantificación de grupos carbonílicos, es común adicionar a la mezcla reacción 2,4-dinitrofenilhidrazina, para luego analizar los compuestos derivados.^{22, 88}

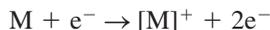
8.7.2.1 Cromatografía de líquidos y gases

La cromatografía es un método físico de separación, donde ésta se basa en la migración diferencial de los componentes de la muestra, que son acarreados por la fase móvil sobre o a través de una fase estacionaria dispuesta en una columna; la velocidad con la que cada componente migra, depende de la afinidad o adsorción del compuesto entre las fases móvil y estacionaria. Existen varios tipos de cromatografía, pero sólo la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) y la cromatografía de gases (GC) tienen aplicación en la química del sabor. La técnica de HPLC se destina principalmente al análisis de componentes no volátiles o termolábiles; sin embargo, debido al elevado costo de las interfases que permiten acoplar un sistema HPLC a un analizador de masas, esta técnica tiene un uso limitado en el análisis e identificación de los compuestos del aroma y sabor.^{22, 68}

La CG-MS es la técnica de mayor uso en el análisis de compuestos volátiles y no volátiles, debido a que posee un elevado poder de resolución y es extremadamente sensible, con un poder mínimo de detección de hasta una parte por trillón (ppt); además, posee una alta especificidad, ya que genera un espectro único para cada componente en la muestra y ofrece un manejo relativamente sencillo. En este sistema, la muestra se inyecta en una corriente de un gas inerte como nitrógeno o helio, que pasa a la columna recubierta por la fase estacionaria, donde los compuestos se separan según su afinidad con la fase estacionaria y luego son conducidos al detector. El detector mide la concentración de cada componente en la muestra y genera una señal eléctrica o un pico cuya altura es proporcional

a la concentración. Después, el registrador genera un cromatograma en donde se muestra el tiempo de retención (tiempo en el que tarda un compuesto en pasar por la columna) y la concentración relativa de cada compuesto separado. Los detectores que más se utilizan son los de conductividad térmica, ionización de flama (FID), captura de electrones, emisión atómica (AED), o un espectrómetro de masas (MS).^{3, 8, 22, 88}

El espectrómetro de masas es un sistema de baja presión (10^{-6} mbar), en donde las moléculas en fase gaseosa son ionizadas mediante el bombardeo de electrones:



El impacto electrónico (IE) produce iones moleculares $[M]^{+}$ y una serie de iones fragmento, que después son alineados y conducidos al espectrómetro de masas o analizador, el cual separa los iones según el radio masa/carga (m/z), generando así un espectro de masas único para cada molécula analizada. La abundancia de cada ion y el número de iones formados es específico de cada sustancia, por lo que es posible identificar un compuesto en particular al comparar el espectro de masas generado contra un estándar en una biblioteca de espectros de masa, previamente construida. Además de la ionización por IE, recientemente se han desarrollado otros métodos de ionización, los cuales permiten la transferencia de iones desde una fase acuosa o sólida, a una fase gaseosa sin la necesidad de aplicar un tratamiento térmico severo, por lo que el análisis por MS también puede utilizarse en el análisis de moléculas no volátiles. Estos métodos de ionización se basan en procesos de desorción, como la desorción asistida por láser (MALDI), o el bombardeo con partículas de alta energía (FAB), y procesos de nebulización como la electronebulización (ECI) o la termonebulización (TF); sin embargo, estas interfases tienen un elevado costo, por lo que su uso es aún restringido.⁶⁸ Si bien la CG-MS es una potente herramienta que ha hecho posible la separación e identificación de una gran cantidad de compuestos de aroma y sabor, ningún instrumento analítico es capaz de reproducir la percepción de aroma y sabor mediante el gusto y el olfato, por lo que la tecnología ha recurrido al uso de detectores biológicos, con lo que se presenta un nuevo horizonte en la investigación del aroma y sabor, no sólo en alimentos sino también en otras áreas como perfumería, farmacéutica, etcétera. En la cromatografía de gases acoplada a un olfatómetro (GC-O), cada compuesto separado en la columna del cromatógrafo es olfateado por uno o varios jueces entrenados, que definen cada compuesto en función de la nota aroma que perciben y la intensidad de la misma. La información es traducida por un analizador y se presenta gráficamente en un aromagrama. Este sistema permite relacionar la información química obtenida en el cromatógrafo de gases con la percepción biológica de cada uno de los compuestos en la muestra.^{22, 50} Es común observar grandes diferencias, tanto cualitativas como cuantitativas, entre los dos métodos de detección químico y biológico, debido a que cada compuesto tiene un umbral de detección específico; es decir, algunos compuestos tienen un aroma muy pobre, mientras que otros pueden generar un aroma muy intenso, aun en baja concentración. Por ejemplo, en el análisis por CG-O de tequilas blanco, añejo y reposado, se encontraron 68 aromas en tequila blanco, 79 en reposado y 64 en añejo, de los cuales 49 fueron comunes a los tres tipos de tequila; sólo tres compuestos tienen un alto impacto en el aroma del tequila blanco, seis del reposado y dos del añejo.⁵⁰

8.7.2.2 Infrarrojo

El IR consiste en irradiar un compuesto con radiación infrarroja (en el intervalo de longitud de onda de $4,000$ a 400 cm^{-1}), la cual es absorbida y provoca que los enlaces covalentes cambien de un nivel

energético vibracional a otro superior; este cambio genera un patrón de absorción o huella digital específico que depende de los grupos funcionales presentes en la molécula. Por lo que el IR se emplea para identificar grupos funcionales y dilucidar la estructura de una gran variedad de moléculas. Por ejemplo, los dialquil-éteres tienen una absorción única en la región de 1,070 a 1,150 cm^{-1} ; mientras que los grupos carboxilo (RCOOH) presentan dos absorciones en el espectro infrarrojo, una en la región de 1 700 a 1,725 cm^{-1} por la vibración del grupo carbonilo (C=O), y otra en la región entre 2 400 a 3,400 cm^{-1} , debida a la vibración del grupo hidroxilo (–OH).⁸

8.7.2.3 Resonancia magnética nuclear

La técnica de RMN registra la absorción electromagnética o desplazamiento químico (δ) generado por un núcleo, como resultado del cambio de espín desde un estado de baja energía a otro espín nuclear de mayor energía, por efecto de la exposición a un fuerte campo electromagnético. Esta técnica, brinda información sobre el número y tipo de átomos que conforman una molécula y se emplea para dilucidar la estructura de compuestos no conocidos, en combinación con CG-MS e IR.⁸

8.7.2.4 Análisis de enantiómeros

Como se mencionó anteriormente, muchas moléculas relacionadas con el aroma y el sabor son de naturaleza quiral, es decir, pueden estar presentes en una o varias formas isoméricas o en mezclas de ellas. Cuando una molécula es la imagen en el espejo de otra, ambas constituyen un par de enantiómeros. Los isómeros, que no se pueden superponer como una imagen en el espejo, se denominan moléculas quirales. En general, sólo una forma enantiomérica es capaz de generar un sabor o aroma específico, debido a que los receptores del gusto y del olfato son capaces de distinguir entre las diferentes formas enantiómeras. A diferencia de la biosíntesis, en la mayoría de las reacciones de síntesis orgánica de compuestos del aroma y sabor, se genera una mezcla de las diferentes formas enantiómeras, cuyo aroma difiere significativamente del producto natural. Una alternativa es usar materias primas que posean la quiralidad deseada y conservar ésta durante el proceso de síntesis. Sin embargo, no siempre es posible o rentable, por lo que se han desarrollado catalizadores quirales, como el rodio o rutenio, cuya acción catalítica es similar a la acción específica de las enzimas en los procesos biosintéticos, que permiten obtener excesos enantioméricos (ee) del isómero deseado.^{3, 17, 30}

Por ejemplo, los enantiómeros *D* y *L*-carvona poseen propiedades físicas idénticas, pero producen un aroma completamente diferente: la *D*-carvona genera una nota a eneldo, a diferencia de la *L*-carvona que tiene un aroma similar a menta. Así como la molécula de mentol, que tiene tres carbonos asimétricos con ocho posibles estereoisómeros o cuatro pares de enantiómeros (figura 8.28). Para identificar ambos isómeros, es necesario hacer una discriminación quiral, mediante el uso de detectores biológicos o por cromatografía. Existen varias técnicas de cromatografía de líquidos o gases que pueden hacer un análisis selectivo de enantiómeros, los cuales emplean una fase estacionaria también de naturaleza quiral, y así determinar el valor de cada componente, como parámetro de calidad en la síntesis de aromas idénticos a los naturales.³⁰

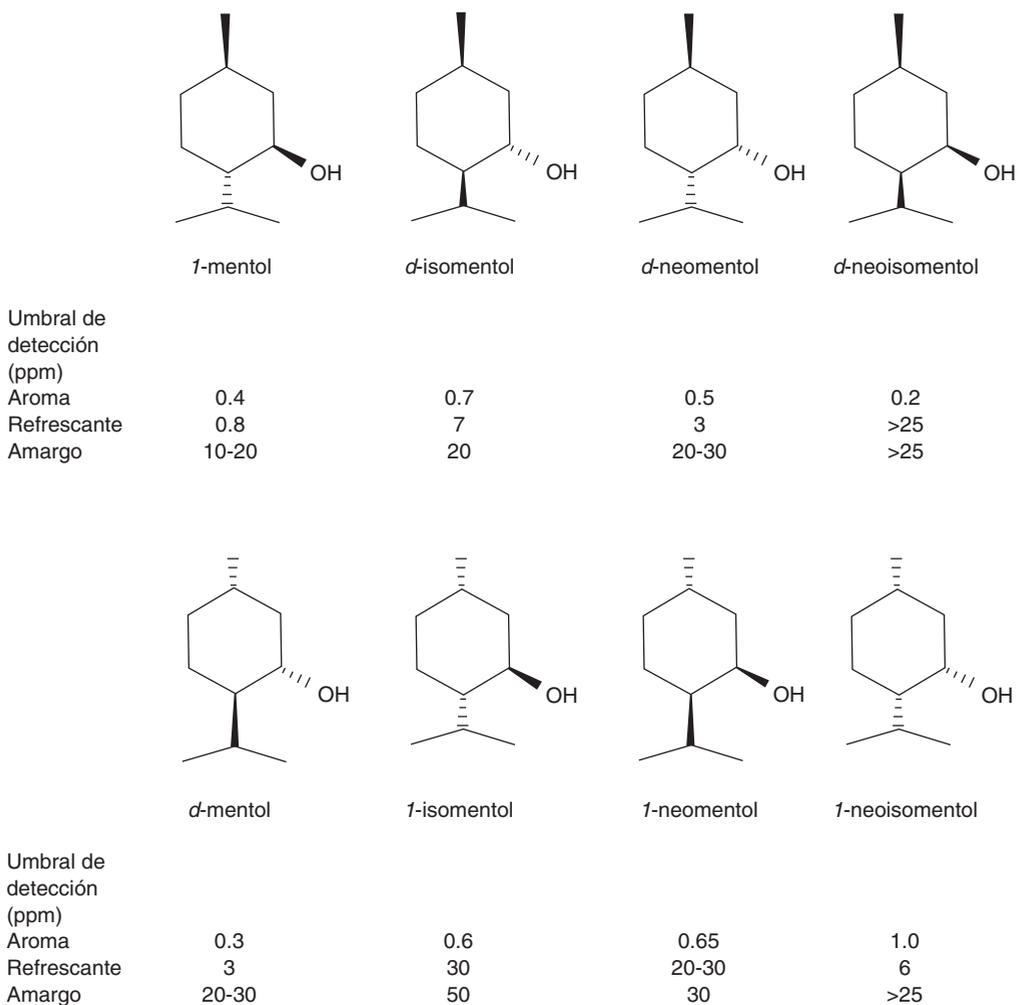


Figura 8.28 Umbral de detección para aroma, sensación refrescante y sabor amargo para los ocho estereoisómeros del mentol.^{17, 30}

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aharoni, A., Giri A.P., Verstappen W.A., Berteau C.M., Sevenier, R., Sun, Z., Jongsma, M.A., Schwab, W. y Bouwmeester, H.J. 2004. "Gain and loss of fruit flavor compounds produced by wild and cultivated strawberry species". *Plant Cell*, 16:3110.
2. Bandyopadhyay, C. y Gholap, A.S. 1973. "Relationship of aroma and flavour characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) to fatty acid composition", *J. Sci. Food Agric.*, 24:1497.
3. Belitz H.D y Grosch W. 1999. "Food Chemistry". 2ª Ed. Springer-Verlag, Alemania.
4. Belitz, H.D. Chen W-. Jugel, H., Stempf, H., Treleano, R. y Wieser, H. 1983. "QSAR of bitter tasting compounds", *Chem. Ind.*, 1:23.
5. Bliss, M.L. y Patt, H.K. 1979. "Effect of ethylene, mature and attachment to the parent plant on production of volatile compounds by muskmelons", *J. Amer. Soc. Hort.*, 104:273.
6. Blumenthal, M.M. 1997. "How packaging affects food flavor". *Food Technol.*, 51:71.
7. Bood K.G. y Zabetakis, I. 2002. "The biosynthesis of strawberry flavor (II): biosynthetic and molecular studies". *J. Food Sci.*, 67:2.
8. Brown W.H. 2002. "Introducción a la química orgánica". Compañía Editorial Continental. México.
9. Chen, G., Hackett, R., Walker D., Taylor A., Lin Z. y Grienson D. 2004. "Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenasa (TomloxC) involved in the generation of fatty acid-derived compounds". *Plant Physiol.*, 136:2641.
10. Contreras-Padilla M. y Yahia E. 1998. "Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chili peppers and relation with peroxidase activity". *J. Agric. Food Chem.*, 46:2075.
11. Dandekar, A.M., Defilippi T.G., Uratsu, S.L., Passey, A.J., Kader, A.A., Stow, J.R., Colgan, R.J. y James D.J. 2004. "Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit". *Transgenic Res.*, 13:373.
12. De Ross K.B. 1997. "How lipids influence food flavor". *Food Technol.*, 51:60.
13. Decourcelle, N., Lubbers S., Vallet N., Rondeau P. y Guichard E. 2004. "Effect of thickeners and sweeteners on the release of blended aroma compounds in fat-free stirred yoghurt during shear conditions". *Int. Dairy J.*, 14:783.
14. Defilippi B.G., Dandekar, A.M. y Kader A.A. 2005. "Relationship of ethylene biosynthesis to volatile production, related enzymes, and precursor availability in apple peel and flesh tissues". *J. Agric. Food Chem.* 53:3133.
15. Defilippi B.G., Kader A.A. y Dandekar, A.M 2005. "Apple aroma: alcohol acyltransferasa, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene", *Plant Sci.*, 168:1199.
16. Djordjevic J., Zatorre R.J. y Jones-Gotman M. 2004. "Odor-induced changes in taste perception". *Exp. Brain Res.*, 159:405.
17. Duxbury D. 2005. "Flavor analysis integral to product development", *Food Tech.*, 59:60.
18. Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M. y Mottram, D.S. 2002. "Effect of lipid composition on meat like model systems containing cyteine, ribose and polyunsaturated fatty acids". *J. Agric Food Chem.*, 50:1126.
19. Elmore, J.S., y Mottram, D.S. 2000. "Formation of alkyl-(2H)-thiapyrans and 2-alkylthiophenes in cooked beef and lamb". *J. Agric Food Chem.*, 48:2420.
20. Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M. y Wood, J.D. 1999. "Effects of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile aroma volatiles". *J. Agric. Food Chem.*, 47:1619.
21. Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M. y Wood, J.D. 2000. "The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb". *Meat Sci.*, 55:149.
22. Escalona Buendía, H.B., Villanueva Rodríguez, S.J., López Ramírez, J.E., González Herrera, R.M.C., Campo Barba, T.M., Cosío Ramírez, R. y Cantor Solórzano, E. 2004. "Calidad del tequila como producto terminado: normatividad, composición volátil y la imagen sensorial". En: *Ciencia y tecnología del tequila, avances y perspectivas*. Ed. CIATEJ, A.C., Guadalajara, Jalisco, México.

23. Farmer, L.J. 1999. "Poultry meat flavour". En *Poultry Meat Science*, Editado por R.I. Richardson y G.C. Mead. CAB International. Reino Unido.
24. Fischer, N. y Widder S. 1997. "How proteins influence food flavor". *Food Technol.*, 51:68.
25. Freeman, G.G. y Mossadeghi, N. 1972. "Influence of sulphate nutrition on flavor components of three cruciferous plants: Radish (*Raphanus sativus*), cabbage (*Bassica capitata*) and white mustards (*sinapsis alba*)". *J. Sci. Food Agric.*, 23:387.
26. Galliard, F. y Matthew, J.A. 1977. "Lipoxygenase-mediated cleavage of fatty acids to carbonyl fragments in tomato fruits". *Phytochem.*, 16:339.
27. George-Nascimento, C. y Cori, O. 1971. "Terpene biosynthesis from geranyl and neryl pyrophosphates by enzymes from orange flavedo". *Phytochem.*, 10:1083.
28. Godshall M.A., 1997. "How carbohydrates influence food flavor". *Food Technol.*, 51:63.
29. González Carnero J., de la Montaña Migueles J. y Míguez Bernández M. 2002. "Estudio de la percepción de sabores dulce y salado en diferentes grupos de la población". *Nutr. Hosp.*, 17:256.
30. Green, C., Pucarelli, F., Mankoo, A. y Manley, C. 2005. "Recreating flavors from nature". *Food Technol.*, 58:28.
31. Gschaedler Mathis, A.C., Ramírez Córdova, J.J., Díaz Montañón D.L. Herrera López, J.E., Arrizón Gaviño, J.P., Pinal Zuazo, L. y Arellano Plaza, M. 2004. "Fermentación". En: *Ciencia y tecnología del tequila, avances y perspectivas*. Ed. CIATEJ, A.C., Guadalajara, Jalisco, México.
32. Guillén Velasco, S., Ponce Alquicira, E., Farrés-González Saravia, A. y Guerrero Legarreta, I. 2004. "Histamine production by two enterobacteriaceae strains isolated from tuna (*Thunnus thynnus*) and Jack Mackerel (*Trachurus murphyi*)". *Int. J. of Food Prop.*, 7:91.
33. Gutiérrez Rojas, M. y Revah-Moiseev, S. 1999. "Aromas y sabores". En *Bioteología Alimentaria*. Ed. por García Garibay, M., Quintero Ramírez, R. y López Murguía Canales, A. Limusa, Mexico.
34. Halász, A., Bárat, A., Simon-Sarkadi, L. y Holzapfel, W. 1994. "Biogenic amines and their production by microorganisms in food". *Trends in Food Sci. and Technol.*, 5:42.
35. Hall, R.L. y Merwin, E.J. 1981. "The role of flavors". *Foods Technol.*, junio; 46.
36. Harrison, M., Hills, B.P., Bakker, J. y Clothier, T. 1997. "Mathematical models of flavor release from liquid emulsions". *J. Food Science.*, 62:653.
37. Hartwig P. y M.R. MacDaniel. 1995. "Flavor characteristics of lactic, malic, citric, and acetic acids at various pH levels". *J. Food Sci.*, 60:384.
38. Heath, H.B. y Reineccius, G. 1989. *Flavor Chemistry and Technology*, The Avi Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut.
39. <http://www.leefingwell.com>, mayo de 2005.
40. <http://www.nutraceuticalsworld.com/Nov042.htm>, mayo de 2005.
41. Jacobsen, C. 1999. "Effect of ascorbic acid on iron release from the emulsifier interface and on the oxidative flavor deterioration in fish oil enriched mayonnaise". *J. Agric Food Chem.*, 47:4917.
42. Johanningsmeier, S.D., Mcfeeters, R.E. y Drake, M. 2005. "A hypothesis for the chemical basis for perception of sour taste". *J. Food Sci.*, 70:R44.
43. Jousse, F., Jongen, T., Russel, S. y Bratt P., 2002. "Simplified kinetic of flavor formation by the Maillard Reaction". *J. Food Sci.*, 67:2534.
44. Keppler, J.G. 1977. "Twenty-five years of flavor research in a food industry". *J. Am. Oil Chem Soc.*, 54:474.
45. Kier, L.B. 1972. "A molecular theory of sweet taste". *J. Pharm. Sci.*, 61:1394.
46. Kristensen, L. y Purslow, P. 2001. "The effect of processing temperature and addition of monolargo —and divalent salts on the heme— nonheme-iron ratio in meat". *Food Chem.*, 73:433.
47. Lercker, G. y Rodríguez-Estrada, M.T. 2000. "Cholesterol oxidation: presence of 7-ketocholesterol in different food products". *J. Food Comp. Anal.*, 13:625-631.
48. Lewinson, E., Sitrit, Y., Bar, E., Azulay, Y., Meir, A., Zamir, D. y Tadmor, Y. 2005. "Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and water melon fruits, as revealed by comparative genetic analysis". *J. Agric. Food Chem.*, 53:3142.

49. Liu T.T. y Yang T.S. 2002. "Optimization of solid-phase microextraction analysis for studying change of headspace flavor compounds of banana during ripening". *J. Agric Food Chem.*, 50:653.
50. López M.G. 2001. "Una sinfonía de aromas". *Avance y perspectiva.*, 20:421.
51. Maarse. H. 1984. *Volatile Compounds in Food, Quantitative Data*, vol. 1-3, Division for Nutrition and Food Research, TNO, Zeist, Países Bajos.
52. Mahattanatawee, K., Rouseff, R., Valim M.F. y Naim M. 2005. "Identification and aroma impact of norisoprenoids in orange juice". *J. Agric Food Chem.*, 53:393.
53. Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S. y Margolskee, R.F. 2001. "Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac". *Nature Genetics*, 28:58.
54. Mei, J.B., Reineccius G.A., Knighton, W.B. y Grimsrud, E.P. 2004. "Influence of strawberry yogurt composition on aroma release". *J. Agric Food Chem.*, 52, 6267.
55. Mennella, J.A., Pepino, Y.M. y Reed, R.D. 2005. "Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences". *Pediatrics*, 115:e216.
56. Montmayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H. y Buck, L.B. 2001. "A candidate taste receptor gene near a sweet taste locus", *Nature Neuroscience*, 4:492.
57. Morales López, J. 1999. "Efecto bacteriostático de aceites esenciales de ajo y cebolla sobre los microorganismos presentes en carne". Tesis de maestría, UAM-I.
58. Mottram, D.S. 1998. "The chemistry of meat flavour". En: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. por F. Shahidi. Blackie Academic & Professional, Reino Unido.
59. Mottram, D.S. y Nobrega, C.C. 2002. "Formation of sulfur aroma compounds in reaction mixtures containing cysteine and three different forms of ribose". *J. Agric Food Chem.*, 50:4080.
60. Mottram, D.S. 1998. "Flavour formation in meat and meat products: a review". *Food Chem.*, 62:415.
61. Nielsen G.S., Larsen L.M., y Poll, L. 2004. "Impact of blanching on the formation of aroma compounds during long-term frozen storage of leek (*Allium ampeloprasum* var. *bulga*) slices". *J. Agric Food Sci.*, 52:4844.
62. Ohloff, G., Flament, I. y Pickenhagen, W. 1985. "Flavor chemistry", *Food Reviews International*, 1:99, Marcel Dekker, Nueva York.
63. Parliment, T.H. 1980. "The chemistry of aroma", *Chemtech.*, mayo: 284.
64. Philippe E., Seuvre A.M., Colas, B., Langendorff V., Schippa C., y Voilley, A. 2003. "Behavior of flavor compounds in model food systems: a thermodynamic study". *J. Agric Food Chem.*, 51:1393.
65. Pino, J.A., Mesa, J., Muñoz, Y., Marti, M.P. y Marbot, R. 2005. "Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars". *J. Agric Food Chem.*, 53:2213.
66. Ponce E. 2004. "Poultry: Canned Turkey Ham". En: *Food Processing- Principles and applications*. Ed. por J.S. Smith y H. Hui. Blackwell Publishing, Iowa, 417.
67. Ponce, E. 2004. "Flavor of Frozen Foods". En: *Handbook of Food Freezing*. Ed. por Y.H Hui, W.K Nip, P. M. Cornillon, K.D., Murrell, I. Guerrero y M.H. Lim. Marcel Dekker Inc. Nueva York, 83
68. Ponce, E. y Taylor, A.J. 2000. "Extraction and ESI-CID-MS-MS analysis of myoglobins from different meat species". *Food Chem.*, 69:81.
69. Pszczola D.E. 2004. "A changing perception of taste perception", *Food Technology.*, 58:56.
70. Reineccius, G.A. y Anandaraman, S. 1984. "Analysis of volatile flavors", en *Recent Advances in the Chromatographic Analysis of Organic Compounds in Foods*, Ed. J. Lawrence, Marcel Dekker, Nueva York.
71. Rhee, K.S., Cho, S.H., Kim, J.O., Kim, N.M. 1998. "Lipid classes, fatty acids, flavour and storage stability of washed sheep meat". *J. Food Sci.*, 63:168.
72. Rodríguez Palacios, F.J., Iturbe Chiñas, F.A. y Valle Vega, P. 1986. "Edulcorantes", *Tecnología de alimentos*, 21:12.
73. Salankhe, D.K. y Do, J.Y. 1976. "Biogenesis of aroma constituents of fruits and vegetables". *CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.*, 161.
74. Sanderson, G.W. y Graham, N.H. 1973. "The formation of black tea aroma", *J. Agric Food Chem.*, 21:576.

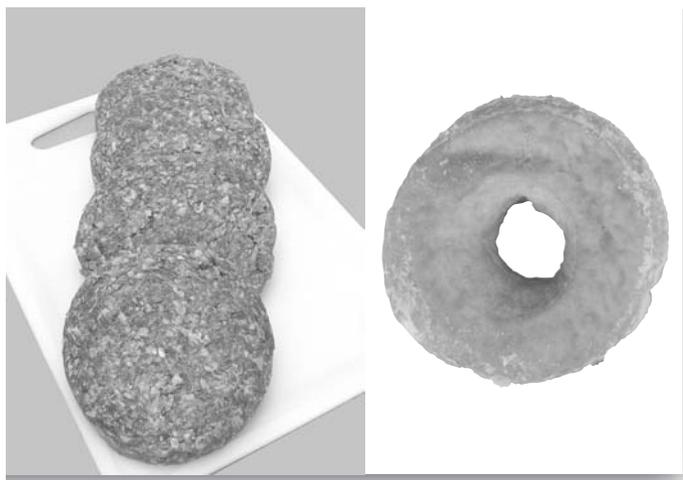
75. Schwimmer, S. y Austin, S.J. 1971. "Glutamyl transpeptidase of sprouted onion", *J. Food Sci.*, 36:807.
76. Shahidi, F. 1994. "Flavor of meat and meat products —an overview". En *Flavor of meat and meat products*. Editor F. Shahidi. Blackie Academic Professional, Chapman & Hall.
77. Shallenberger, R.S. y Birch, G.G. 1975. "Sugar Chemistry", The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
78. Shankaranarayana, M.L., Raghavan, B., Abraham, K.O. y Natarajan, C.P. 1982. "Sulfurcompounds in foods", en *Food Flavours. Parte A. Introduction*, Ed. por I.D. Morton y A.J. MacLeod, Developments in Food Science, Elsevier, Londres.
79. Sucas M.K. 2004. "Identifying and preventing off-flavors". *Food Technol.*, 58:36.
80. Taylor A.J. 2002. "Release and transport of flavors in vivo: physicochemical, physiological, and perceptual considerations". *CRFSFS*, 1:45.
81. Tookey, H., Van Etten, C.H. y Daxenbiihler, M.E. 1980. "Glucosinolates". En *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, Ed. por I.E. Liener, Academic Press, Nueva York.
82. Tressl, R. 1977. "Formation on flavor components in asparagus. 1. Biosynthesis of sulfur-containing acids in asparagus", *J. Arg. Food Chem.*, 25:455.
83. Tressl, R. y Drawert, F. 1973. "Biogenesis of banana volatiles", *J. Argic. Food Chem.*, 21:560.
84. Tressl, R., Holzer, M. y Apetz, M. 1975. "Biogenesis of volatiles in fruit and vegetables". En *Aroma Research*, Ed. por H. Maarse y P. J. Groenen. Proc. of Int. Symposium on Aroma Research, Wageningen, Países Bajos.
85. Volatile Compounds in Foods 8.1. 2005. Nutrition and Food Research Institute. TNOweb. <http://www.voeding.tno.nl/VCF/VCFNavigate.cfm>. Mayo de 2005.
86. Yamaguchi, T. 1981. "The umami test". En *Food Taste Chemistry*. Ed. por Boudreau. American Chemical Soc. Washington, D.C.
87. Yamanishi, T. 1981. "Tea, coffee, cocoa and other beverages", en *Flavor Research, Recent Advances*, Ed. por R. Terenishi, R.A. "Flath y H. Sigasawa, Marcel Dekker, Nueva York.
88. Yaylayan, V.A. 1999. Flavor Chemistry". En *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Ed. por F. Frederic Wiley. Nueva York, 834.
89. Yu, M.H. y Spencer, M. 1969. "Conversion of L-leucine to certain keto acids by a tomato enzyme preparation", *Phytochem.*, 8:1173.
90. Zozula S., Echeverri, F. y Trieu N. 2001. "The human olfactory receptor repertoire". *Genome Biol.*, 2,1.

9

Aditivos

- 9.1 Introducción
- 9.2 Aspectos legales
- 9.3 Conservadores
- 9.4 Emulsionantes
- 9.5 Polioles o polialcoholes
- 9.6 Potenciadores del sabor
- 9.7 Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH
- 9.8 Secuestradores o quelantes
- 9.9 Edulcorantes
- 9.10 Gasificantes para panificación
- 9.11 Acondicionadores de panificación
- 9.12 Antiaglomerantes
- 9.13 Antiespumantes
- 9.14 Colorantes
- 9.15 Clarificantes
- 9.16 Sustancias para masticar
- 9.17 Humectantes
- 9.18 Sustitutos de grasas
- 9.19 Nutrimientos
- 9.20 Saborizantes, saboreadores o aromatizantes
- 9.21 Otros aditivos

Referencias bibliográficas



9.1 INTRODUCCIÓN

Que un consumidor acepte un alimento depende de muchos factores, entre los que resaltan el color (como primer contacto), el aroma, el sabor, la textura, el costo, el valor nutritivo, la facilidad de preparación, la vida de anaquel y, en muchos casos, el sonido que produce al consumirse.⁴⁶ Cada componente del alimento influye en alguna medida en estas características; sin embargo, en ocasiones éstas necesitan reforzarse con el fin de obtener mejores resultados y generar productos más atractivos y diferenciados para el consumidor.

Un aditivo, ya sea natural o sintético, es una sustancia o mezcla de varias sustancias, que se adiciona intencionalmente al alimento durante las etapas de producción, envasado y conservación, para lograr ciertos beneficios.

Es claro que en esta definición no se incluyen materiales contaminantes indeseables, tales como plaguicidas, fumigantes, metales pesados y otros que pueden causar algún daño al hombre.

Existe controversia sobre su uso, sobre todo entre la gente que desconoce los aspectos legales y las ventajas que representa su adecuada aplicación. Los aditivos deben emplearse como una ayuda en la fabricación de los alimentos, pero nunca para enmascarar materias primas o productos de mala calidad; en este sentido, el profesionalismo del técnico es primordial para no engañar al consumidor mediante el abuso indiscriminado de estas sustancias.

Cada país tiene sus propias leyes al respecto, y algunos de ellos llevan a cabo estudios para determinar la inocuidad de cada aditivo.

La FAO (Food and Agriculture Organization) y WHO (World Health Organization; OMS, Organización Mundial de la Salud), emiten recomendaciones para el consumo de los aditivos mediante el *Codex Alimentarius*; estas dos organizaciones internacionales han establecido la ingesta diaria aceptable, IDA (*Acceptable Daily Intake*, ADI), y han clasificado a los aditivos en tres categorías, A, B y C, de acuerdo con su seguridad; los A son los más inocuos, mientras que los C tienen limitaciones para su empleo. La IDA es la cantidad de un compuesto que puede consumir un hombre de por vida, sin que represente riesgo para la salud, con respecto al peso corporal (por ejemplo, mg del compuesto/kg de peso).

Para determinarla se efectúan pruebas agudas, administrando sobredosis a los animales de laboratorio; o pruebas crónicas, en las que se proporcionan cantidades bajas durante largos periodos; con esto se determina su toxicidad (alteración temporal o permanente de las funciones normales), mutagenicidad (mutaciones en los tejidos), teratogenicidad (malformación en los tejidos embrionarios) y otros posibles daños. Las leyes sanitarias permiten usar los aditivos en concentraciones máximas que previamente se establecen, según los resultados de los análisis toxicológicos; dichos máximos son muchas veces menores que las dosis que causan afecciones a los animales.

Entre la lista de los varios miles de aditivos permitidos, existen algunos muy conocidos como la sacarosa, los ácidos acético y cítrico, el cloruro de sodio y muchos otros, que se emplean desde hace siglos para conservar los alimentos y mejorar sus propiedades sensoriales; además, estos compuestos también se encuentran en forma natural, por lo que a través de los años se ha comprobado la seguridad de su consumo. En este caso, la mayoría de los países no restringe su uso y la única limitante se relaciona con aspectos de aceptación por el consumidor.

Algunos aditivos, como los sulfitos, la tartracina y el glutamato monosódico son conocidos por provocar alergias a personas sensibles, por lo que es importante que el consumidor conozca de su presencia en los alimentos que adquiere.

El empleo de aditivos aumenta cada vez más en los países desarrollados, ya que demandan un mayor número de alimentos preparados y listos para servirse. Por el contrario, en los países en vías de desarrollo donde aún se consiguen fácilmente muchos productos frescos y hay tradición en la preparación hogareña, su uso es más reducido.

Los aditivos se aplican por muchas razones: para incrementar el valor nutritivo, como las vitaminas, aminoácidos y elementos químicos; para la preservación de los alimentos, como los conservadores, antioxidantes, agentes que reducen la actividad del agua, antiendurecedores y otros; y para mejorar las propiedades sensoriales, como los saborizantes, colores, edulcorantes, espesantes, espumantes, gelificantes y emulsionantes. Sin embargo, muchos de ellos cumplen más de una función al mismo tiempo: los polioles, que reducen la actividad del agua, también son edulcorantes y humectantes; los antioxidantes igualmente presentan cierta actividad antimicrobiana; los acidulantes abarcan una gama muy amplia de acciones; los espesantes, como gomas o proteínas, también estabilizan emulsiones de

aceite en agua; los diversos fosfatos comerciales (fosfatos, metafosfatos, hexametafosfatos, tripoli-fosfatos y pirofosfatos) desarrollan muchas funciones, tales como amortiguador de pH, emulsionante, antiaglomerante, secuestrador, dispersante, en sales de panificación, etcétera.^{19, 31}

En este capítulo se describen aquellos aditivos que no han sido revisados en otras secciones. Los antioxidantes se estudian en el capítulo 4; los espesantes, como los polisacáridos y las proteínas, en los capítulos 2 y 3; las enzimas en el capítulo 5; y las vitaminas y elementos químicos, en el capítulo 6.

9.2 ASPECTOS LEGALES

De acuerdo con la legislación mexicana, el “Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios”, expedido en 1999, define como aditivo “la sustancia que se adiciona directamente a los productos durante su elaboración para proporcionar o intensificar aroma, color o sabor, para mejorar su estabilidad o para su conservación”. Queda prohibido su uso para: *a)* ocultar defectos de calidad; *b)* encubrir alteraciones y adulteraciones en la materia prima o en el producto terminado; *c)* disimular materias primas no aptas para el consumo humano; *d)* ocultar técnicas y procesos defectuosos de elaboración, manipulación, almacenamiento y transporte; *e)* reemplazar ingredientes en los productos que induzcan a error o engaño sobre la verdadera composición de los mismos, y *f)* alterar los resultados analíticos de los productos en que se agreguen.⁵

Se establecen los siguientes grupos de aditivos según su función:⁵

1. *Acentuadores de sabor*: Sustancia o mezcla de sustancias destinadas a realzar los aromas o los sabores de los alimentos.
2. *Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH*: Sustancia que modifica o mantiene la acidez o alcalinidad de los productos.
3. *Acondicionadores de masa*: Sustancia que se utiliza en panificación para mejorar diversas cualidades de la masa.
4. *Antiaglomerantes*: Sustancia o mezcla de sustancias que se agrega a los productos o aditivos para evitar su cohesión.
5. *Antiespumantes*: Sustancia o mezcla de sustancias que, adicionada durante la elaboración de los productos, disminuye la formación de espuma.
6. *Antihumectantes*: Sustancia que disminuye las características higroscópicas de los productos.
7. *Antioxidantes*: Sustancia o mezcla de sustancias destinada a retardar o impedir la oxidación y enranciamiento de los productos.
8. *Antisalpicantes*: Sustancia o mezcla de sustancias que añadidas a las grasas emulsionadas con agua, evitan que al calentarlas se esparzan.
9. *Clarificantes*: Sustancia que elimina la turbidez en un líquido, dejándolo claro.
10. *Colorantes y pigmentos*: Sustancia que tiene la propiedad de impartir color al medio que lo contiene según la solubilidad que tenga en el medio, ya sea un medio hidrofílico o lipofílico o a otro material o mezcla, elaborado por un proceso de síntesis o similar, por extracción o por separación, obtenido de una fuente animal, vegetal o mineral y que posteriormente se ha sometido a pruebas fehacientes de seguridad que permiten su uso en alimentos y que, directamente o a través de su reacción con otras sustancias, es capaz de impartir el color que le caracteriza.

11. *Conservadores*: Sustancia o mezcla de sustancias que previene, retarda o detiene la fermentación, el enmohecimiento, la putrefacción, acidificación u otra alteración de los productos causados por algunos microorganismos y por algunas enzimas.
12. *Edulcorantes no nutritivos*: Sustancia natural o sintética, que puede sustituir parcial o totalmente el dulzor del azúcar.
13. *Emulsificantes, emulsivos, estabilizadores, espesantes y gelificantes*: Sustancia o mezcla de sustancias que mantiene homogéneos a los productos constituidos por dos o más fases inmiscibles, impidiendo su separación.
14. *Enturbiadores*: Sustancia o mezcla de sustancias que al agregarse a un líquido le resta claridad, o sirve para equilibrar la baja densidad de los aceites esenciales en un producto determinado.
15. *Enzimas*: Sustancia proteica producida por células vivas que catalizan reacciones específicas en diversos procesos de elaboración de productos.
16. *Espumantes*: Sustancia que adicionada a un líquido, modifica su tensión superficial y estabiliza las burbujas formadas, o favorece la formación de espuma.
17. *Gasificantes para panificación o polvos para hornear*: Sustancia o mezcla de sustancias que adicionadas durante el proceso de elaboración de productos de panadería favorece el desprendimiento de dióxido de carbono.
18. *Humectantes*: Sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir la pérdida de humedad de los productos.
19. *Leudantes*: Levadura de cerveza prensada, húmeda o deshidratada, obtenida por proliferación del *Saccharomyces cereviceae*, empleada en productos de panadería para favorecer la formación del dióxido de carbono.
20. *Oxidantes*: Sustancia o mezcla de sustancias que por proceso de oxidación condiciona o mantiene determinadas características en algunos ingredientes de los productos y que también puede emplearse como blanqueador.
21. *Otros.*”

En la legislación mexicana se consideran 402 aditivos y coadyuvantes, 51 colorantes, 54 enzimas, 386 saborizantes sintéticos artificiales y 2,177 saborizantes idénticos al natural; esto hace un total de más de tres mil compuestos usados como aditivos y que pueden emplearse en la manufactura de alimentos. Por mucho, los saborizantes son el grupo más numeroso.

9.3 CONSERVADORES

Es un grupo muy importante de aditivos cuya finalidad es prevenir el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. No cualquiera de ellos es adecuado para todos los alimentos, por lo que hay métodos para medir su efectividad,¹⁵ la cual depende de varios factores: *a) especificidad de acción*: algunos tienen un espectro muy amplio de acción, mientras que otros son específicamente efectivos contra un determinado tipo de microorganismo; *b) composición del alimento*: el pH, la fuerza iónica, la actividad del agua y la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos; *c) nivel inicial de la contaminación*: los productos altamente contaminados no pueden controlarse con la adición normal de conservadores, y *d) manejo y distribución del producto terminado*: la conservación no sólo debe recaer en los aditivos, sino que se requiere un manejo adecuado para evitar nuevas contaminaciones.³⁵

Los microorganismos también se controlan mediante la reducción del pH y de la actividad del agua, por lo que los acidulantes, las gomas, la sacarosa o el cloruro de sodio, además de ejercer una

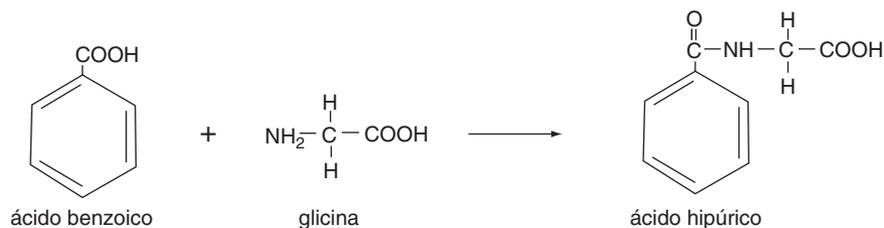
acción saborizante y de espesante, controlan el crecimiento microbiano. En la categoría de conservadores destacan los ácidos benzoico, sórbico, acético y propiónico y sus sales, los parabenos, los sulfitos, los nitritos y los nitratos, los antibióticos, el pirocarbonato de etilo y los epóxidos. Excepto estos últimos, que tienen un efecto bactericida (destruyen las bacterias), todos los demás actúan fundamentalmente como inhibidores (por ejemplo, los bacteriostáticos) del crecimiento microbiano.³⁹

9.3.1 Ácido benzoico y benzoatos

La sal sódica del ácido benzoico (ácido bencencarboxílico o ácido fenilfórmico) se utiliza ampliamente y es tal vez uno de los conservadores más comunes en la industria. En forma natural, el ácido benzoico se encuentra en la canela, el clavo, las ciruelas (0.05% de concentración) y otras frutas, y en algunas flores; al igual que sucede con otros aditivos de esta índole, la forma no disociada del ácido es la que presenta actividad antimicrobiana, por lo que el pH tiene un efecto decisivo en su efectividad. En el cuadro 9.1 se observa que a un pH < 4.0 existe una proporción alta sin disociar y esto hace que actúe óptimamente a valores de pH de 2.5-4.0. En los productos ácidos como jugos de frutas, bebidas carbonatadas, postres, alimentos fermentados, mermeladas y otros, controla el crecimiento de levaduras y bacterias, y en menor grado el de hongos.

CUADRO 9.1 Efecto del pH en la disociación de algunos conservadores (porcentaje de ácido sin disociar)			
pH	Sórbico	Benzoico	Propiónico
3	98	94	99
4	86	60	88
5	37	13	42
6	6	1.5	6.7
7	0.6	0.15	0.7
pKa	4.67	4.19	4.87

Debido a que la solubilidad del ácido es baja (3.4 g/L a 25°C), en su lugar se prefiere utilizar el benzoato de sodio (550 g/L a 25°C), que una vez en el alimento se convierte en la forma de ácido no disociada; los benzoatos también se emplean en mezclas con sorbatos para reforzar su función. Tanto el ácido benzoico como sus sales son no tóxicos para el hombre cuando se ingieren en las concentraciones que normalmente se permiten y se usan en los alimentos (0.05 a 0.1% en peso), ya que se eliminan en la orina como ácido hipúrico (benzoil-glicina), al reaccionar con la glicina en una reacción de destoxificación. Sólo cuando se consume de manera excesiva llega a provocar problemas de salud, que pueden producir convulsiones de tipo epiléptico.⁴⁵



9.3.2 Ácido sórbico y sorbatos

Este ácido ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCOOH}$) y sus sales de sodio y de potasio se usan en $< 0.3\%$ en peso para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras en los alimentos con un pH hasta de 6.5; su efectividad aumenta al reducir el pH, es decir, la forma sin disociar es la activa. Se emplean en quesos, encurtidos, jugos de frutas, pan, vino, pasteles, mermeladas y otros. No son tóxicos para el hombre ya que se metabolizan como cualquier otro ácido graso, por medio de reacciones de β -eliminación. Dado que la solubilidad del ácido en agua es baja (0.16 g/100 mL a 20°C), es preferible usar los sorbatos, ya que son mucho más solubles.

Ejercen su función al unirse a la superficie de las células microbianas, modificando la permeabilidad de la membrana y el metabolismo, aunque también se ha sugerido que su estructura de dieno interfiere con el sistema enzimático de las deshidrogenasas de los microorganismos. Existen otros ácidos grasos con insaturaciones en el carbono α , que ejercen acciones semejantes. El ácido sórbico está sujeto a reacciones de oxidación debido a sus dobles ligaduras, lo que produce radicales libres que atacan la membrana de la célula e inducen reacciones secundarias que inhiben el crecimiento microbiano.

Algunos microorganismos, como el *Penicillium roqueforti*, los utilizan de sustrato y producen hidrocarburos que tienen olor a gasolina, debido al 1,3-pentadieno, $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$, que se forma por la descarboxilación del ácido sórbico, como ocurre en los quesos cuya superficie ha sido tratada con el conservador.

El sorbato de potasio es la sal más usada para controlar hongos, aun cuando hay trabajos que muestran su efectividad contra *Salmonella*, *S. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *C. botulinum*.^{12, 38, 42} Por esta razón, los sorbatos se han sugerido como sustituto de los nitritos y los nitratos que se usan en la curación de los derivados cárnicos, como salchichas y jamones; de igual manera se emplean soluciones al 5% para rociar o sumergir piezas de distintos tipos de carne (p. ej., de pollo y de res), con lo que se prolonga su vida de anaquel; las tortillas de maíz también se protegen con estos conservadores. En algunas aplicaciones, su acción se mejora cuando se combina con otros ácidos, como el fórmico, el cítrico o el láctico.¹⁴

9.3.3 Ácido acético y acetatos

Este ácido (CH_3COOH) es el agente activo del vinagre, en donde se encuentra en una concentración de 4 a 5%; además de que contribuye al gusto y al aroma de los alimentos, se utiliza para controlar diferentes especies de levaduras y de bacterias, y en menor grado de hongos, en productos cárnicos que se almacenan por corto tiempo. Su efectividad se incrementa con la reducción del pH, ya que la molécula sin disociar es la activa; el ácido o el vinagre se utilizan ampliamente en mayonesas, aderezos, salsas, encurtidos, carnes, pescados y muchos otros.^{3, 14} No es tóxico en las concentraciones generalmente empleadas (muy variables, pero no mayor de 3%). Los acetatos de sodio, potasio y de calcio y el diacetato de sodio, $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot\text{CH}_3\text{COOH}\cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$, se emplean en diversos productos de la panificación en concentraciones hasta de 0.4%; su función es evitar el crecimiento de hongos y específicamente el desarrollo del *Bacillus mesentericus*, causante de la alteración glutinosa que da origen al pan correoso, sin afectar a las levaduras que llevan a cabo la fermentación panaria.

9.3.4 Parabenos

Son ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico con cadenas de metilo, etilo, propilo, butilo o heptilo, usados de 0.05 a 0.1% en peso para controlar hongos y levaduras y, en menor grado, de bacterias, especial-

mente Gram negativas (*Salmonella*, *E. coli*). Su actividad se incrementa al aumentar el tamaño de la cadena, pero paralelamente se reduce su solubilidad en agua, que para los derivados metílico, etílico, propílico, butílico y heptílico es de 2.5, 0.7, 0.4 y 0.15, 0.05 g/L a 25°C, respectivamente. Se mantienen sin disociar hasta en un pH de 9, por lo que se emplean en una gran diversidad de productos. No son tóxicos para el hombre, se eliminan en la orina como ácido hipúrico, después de haberse hidrolizado el enlace éster. Se emplean en cremas, pastas, jarabes, bebidas y otros productos con pH cercanos a la neutralidad.



- R = CH₃, metilparabeno
- R = CH₂-CH₃, etilparabeno
- R = CH₂-CH₂-CH₃, propilparabeno
- R = CH₂-CH₂-CH₂-CH₃, butilparabeno
- R = CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃, heptilparabeno

9.3.5 Ácido propiónico y propionatos

El ácido propiónico (CH₃CH₂COOH) es un líquido corrosivo, por lo que se prefieren sus sales, los propionatos. En forma natural se encuentra hasta en 1% en el queso suizo, impartiendo aroma. Es más efectivo a medida que el pH se reduce, y su efecto tóxico sobre los hongos se debe a que éstos no pueden utilizar ácidos de tres átomos de carbono.

Los propionatos de sodio y de calcio, con solubilidades de 1 g/mL y 0.33 g/mL, respectivamente, actúan hasta en un pH de 6 contra hongos en quesos y en frutas deshidratadas. En el caso de la panificación, específicamente evitan el *B. mesentericus* causante del pan correoso, tal como hacen los acetatos; se prefiere el derivado cálcico sobre el sódico (aunque tienen la misma actividad), ya que el primero contribuye al enriquecimiento del pan; sin embargo, no es recomendable cuando en la panificación se utilizan carbonatos y bicarbonatos, ya que el Ca interfiere con la producción de CO₂. La concentración usada (0.3% en peso) no causa problema alguno en el hombre, ya que los metaboliza como cualquier ácido graso.^{18, 44}

9.3.6 Sulfitos y dióxido de azufre

Con el nombre de sulfitos se agrupan compuestos muy hidrosolubles que en solución acuosa ácida liberan ácido sulfuroso (H₂SO₃) y los iones sulfito (SO₃⁻²) y bisulfito (HSO₃⁻); destacan los sulfitos de sodio y de potasio (Na₂SO₃ y K₂SO₃), los bisulfitos (NaHSO₃ y KHSO₃) y los metabisulfitos (Na₂S₂O₅ y K₂S₂O₅). El dióxido de azufre o anhídrido sulfuroso (SO₂), es un gas incoloro de fuerte olor que se genera por la combustión del azufre. La proporción de cada especie química que se produce está en función del pH, ya que a 4.5 se tiene una alta cantidad del bisulfito y, a medida que se reduce, se favorece la forma no disociada del ácido sulfuroso, considerado como el agente activo antimicrobiano.

Los sulfitos y el SO₂ cumplen muchas funciones: a) inhiben el oscurecimiento no enzimático de Maillard al bloquear y evitar que los carbonilos libres de los azúcares interactúen con los aminoácidos; además, ejercen una acción decolorante sobre las melanoidinas, pigmentos oscuros resultado

de estas transformaciones; *b*) inhiben el oscurecimiento enzimático, pues su poder reductor impide la síntesis de quinonas, además de que pueden tener una acción directa sobre la propia enzima; *c*) ejercen una acción antimicrobiana en hongos, levaduras y bacterias, ya que el H_2SO_3 penetra en la célula microbiana y provoca: *i*) reacción con el acetaldehído; *ii*) reacción con enzimas que contienen enlaces disulfuro y la reducción de éstos, y *iii*) interferencia del bisulfito con los mecanismos de respiración de los microorganismos en los que interviene el dinucleótido de nicotinamida.^{13, 22, 27}

Desde los antiguos romanos y egipcios se ha usado el SO_2 en la conservación del vino, ya que: *a*) blanquea y elimina los colores café indeseables; *b*) reduce y actúa como antioxidante al reaccionar con H_2O_2 y con los fenoles y aldehídos oxidados, transformándolos en compuestos menos activos, y *c*) tiene una función antimicrobiana contra levaduras indeseables y ciertas bacterias.²

Debido a que interaccionan con los azúcares reductores, una parte de los sulfitos añadidos queda retenida y no cumple su función antimicrobiana; por esta razón, es preciso considerar la concentración de hidratos de carbono de los alimentos al formular estos aditivos. Es decir, en un producto, los sulfitos están libres (que son los que actúan), o como reversible e irreversiblemente unidos.²⁶

En las concentraciones empleadas (200-300 ppm) no generan olores indeseables ni son tóxicos para la mayoría de los individuos; mediante la enzima sulfito oxidasa se metabolizan y se eliminan en la orina como sulfato sin ningún efecto dañino. Sin embargo, hay individuos, sobre todo aquellos que padecen de asma, que son sensibles a los sulfitos y sufren de broncoespasmos al consumirlos; aun las personas sanas, cuando los ingieren en exceso, pueden padecer constricciones bronquiales. Esta hipersensibilidad está directamente relacionada con los sulfitos libres y no con todos ellos.⁴ Esto ha ocasionado que algunos países exijan que se indique su presencia en la etiqueta de los productos para seguridad de los consumidores.

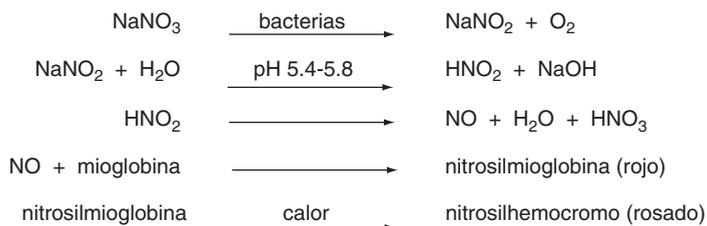
Los sulfitos destruyen la tiamina, interaccionan con las antocianinas y las llegan a transformar en productos incoloros, como sucede en los vinos.

Su análisis cuantitativo puede realizarse por diversos métodos, cada uno de los cuales tiene ventajas y desventajas;⁴⁷ un sistema de cromatografía iónica permite medir tanto el sulfito libre como el total.²⁶

9.3.7 Nitritos y nitratos

En la elaboración de embutidos cárnicos se emplean las sales de curación, constituidas por nitrito y nitrato de sodio o de potasio, cloruro de sodio, ácido ascórbico (o en su lugar ascorbato o eritorbato de sodio), fosfatos, azúcar y otros. Los nitritos y los nitratos actúan en dos sentidos: desarrollan el color característico de las carnes curadas e inhiben el *Clostridium botulinum*. Además, dadas sus propiedades antioxidantes, contribuyen a estabilizar el sabor.²⁰

Para la generación del color, el óxido de nitrógeno (NO) es el agente activo, y se produce de la siguiente manera:



Es decir, los microorganismos de la carne transforman los nitratos en nitritos y, junto con los añadidos, se convierten en NO por el pH que prevalece en la carne. A su vez, el NO reacciona con la mioglobina (rojo púrpura) y produce la nitrosilmioglobina (rojo brillante e inestable); cuando la carne se somete a un cocimiento a más de 60°C, este segundo se desnaturaliza y se convierte en el pigmento nitrosilhemocromo más estable y responsable del color rosado típico de las salchichas, los jamones y otros.

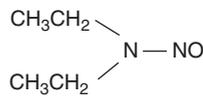
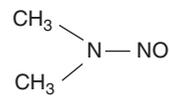
Sin embargo, el nitrosilhemocromo puede a su vez transformarse mediante reacciones de oxidación y generar coloraciones que van del verde al amarillo. Un exceso de sales de curación causa lo que se conoce como quemadura por nitritos, en cuyo caso el color es inadecuado, mientras que una carencia de nitritos no genera los pigmentos deseados.

Actúan contra el *C. botulinum*, microorganismo anaerobio muy peligroso por las neurotoxinas que sintetiza, de alto grado de mortalidad. Por su naturaleza de ácido débil, los nitritos son más efectivos a pH de 5.5; en caso de que el pH sea superior, la concentraciones empleadas en los cárnicos (200 ppm de nitritos y 500 ppm de nitratos) serán insuficientes; hay una sinergia cuando se mezcla con NaCl, y al igual que sucede con cualquier otro conservador, las temperaturas bajas favorecen su acción antimicrobiana. Los nitritos forman sustancias tóxicas para los microorganismos, al reaccionar con los grupos sulfhidrilo de las proteínas o con algunos monofenoles como la tirosina.

Como una tercera función, los nitritos conservan el sabor de los productos cárnicos debido a que presentan una ligera actividad antioxidante, con lo que evitan el deterioro oxidativo de las grasas insaturadas catalizado por el Fe de la mioglobina.

Las concentraciones empleadas no causan problemas de toxicidad en el hombre; sin embargo, un consumo excesivo produce cianosis en los niños debido a la metahemoglobina sintetizada en la sangre, que es el producto de la oxidación de la hemoglobina y que no tiene la capacidad de combinarse y transportar el oxígeno. Algunos vegetales, como las espinacas, contienen una gran cantidad de nitritos, lo que puede tener implicaciones en la salud; esta cantidad se incrementa cuando los vegetales se producen en suelos ricos en nitrógeno.

Por otra parte, en sistemas modelo, estos aditivos reaccionan con aminas secundarias (R_2NH) y terciarias (R_3N) y producen nitrosaminas, agentes considerados mutagénicos y cancerígenos. Su síntesis se efectúa con el N_2O_3 como compuesto nitrante a un pH óptimo de 3.5, como sucede con la *N*-nitrosodietilamina y la *N*-nitrosodimetilamina. Se generan incluso en condiciones de congelación, ya que en la fracción líquida no congelada se acumulan los nitritos y las aminas, favoreciendo su interacción.

*N*-nitrosodietilamina*N*-nitrosodimetilamina

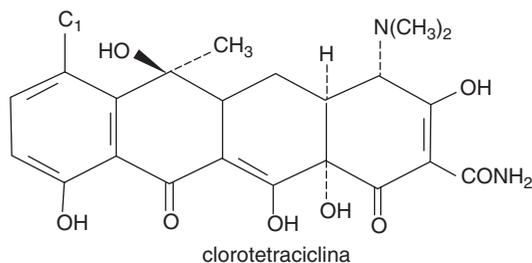
Sin embargo, la baja concentración de nitrosaminas que se encuentra en los embutidos comerciales y la ingesta normal de estos derivados cárnicos, hace que dichos agentes cancerígenos no representen un riesgo importante para el hombre.

9.3.8 Antibióticos

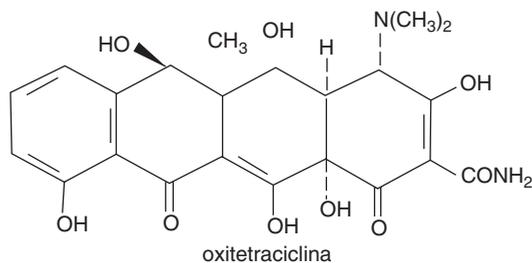
Los antibióticos se usan en medicina para controlar infecciones microbianas, aunque algunos de ellos se utilizan como conservadores, sobre todo en carnes, quesos y pescados; entre los más importantes están la nisina, la clorotetraciclina, la oxitetraciclina y la pimarcina o natamicina.

La nisina, proteína producida por *L. lactis* y *S. lactis*, actúa contra las bacterias Gram positivas, en especial *Clostridium spp.* Es estable en pH ácidos y algo termosensible; el organismo humano la degrada y no produce resistencia cruzada con otros antibióticos, por lo que no es tóxica para el hombre; se usa principalmente en vinos y quesos.^{9, 10}

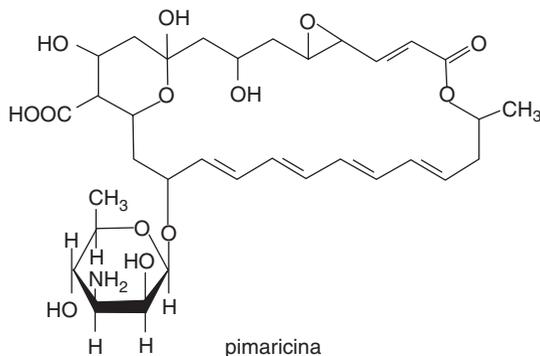
La clorotetraciclina es producida por el *Streptomyces aureofaciens*; actúa contra las bacterias Gram positivas y negativas, es sensible al calor, se usa hasta en 10 ppp en carne fresca, ya que en la cocción se destruye y el producto comestible no la contiene. Se puede emplear en combinación con sorbato de potasio para la conservación de filetes de pescado, pues en conjunto tienen un efecto mayor que en forma individual.



La oxitetraciclina o terramicina es un derivado del grupo perhidronaftaleno; se obtiene por fermentación controlada de *Streptomyces spp.*, de amplio espectro, actúa contra bacterias Gram positivas y negativas; se permite en carnes frescas, y la cocción la destruye.



La pimarcina o natamicina es producida por el *Streptomyces natalensis* y se usa en varios países como conservador contra hongos y levaduras hasta en 100 ppm en quesos y otros derivados fermentados, en donde no interfiere con la microflora deseada.

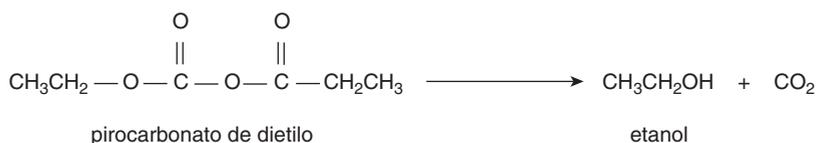


Los mecanismos de acción de los antibióticos son muy variados; entre ellos se incluye la inhibición de la síntesis de proteínas y la alteración de los sistemas enzimáticos y de permeabilidad celular.

9.3.9 Pirocarbonato de dietilo

Es un líquido viscoso, incoloro, que en contacto con el agua se descompone en etanol y anhídrido carbónico (agente activo) en un proceso que se favorece a medida que el pH se incrementa; no es muy soluble en agua, pero sí en disolventes orgánicos. En presencia de amoníaco o de aminas produce etil carbamato o uretano, $\text{NH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, cuyo efecto carcinógeno se comprobó en animales de laboratorio, razón por la cual algunos países prohíben este aditivo.²⁴

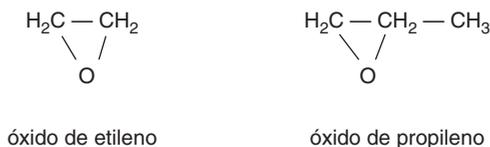
En concentraciones hasta de 300 ppm, se ha empleado como agente conservador en bebidas y vinos, ya que actúa principalmente sobre las levaduras; en pH menores de 4 mejora su acción dado que en estas condiciones se descompone más lentamente, y su efecto puede durar hasta 30 horas.



9.3.10 Epóxidos

Un epóxido es un compuesto que tiene un átomo de oxígeno como puente entre dos átomos de carbono contiguos; los más importantes, usados como conservadores, son los óxidos de etileno y de propileno, que a diferencia de los agentes antes descritos, que son inhibidores del crecimiento microbiano (bacteriostáticos), éstos son letales (bactericidas) para los microorganismos. Al tratamiento con epóxidos también se le llama “esterilización en frío”, debido a que puede lograrse una esterilización comercial del producto sin emplear temperaturas elevadas. Se usan en alimentos que no pueden calentarse, como son los de baja humedad o los deshidratados, las especias, los condimentos y otros.

Su acción es muy amplia y variada, ya que destruyen toda clase de microorganismos, incluso esporas y hasta virus; el proceso se efectúa en una cámara herméticamente cerrada en la que se inyecta el óxido en estado gaseoso y se deja a una determinada presión durante cierto tiempo. Al terminar el proceso, la cámara se evacua para eliminar el exceso de gas, lo que se puede mejorar mediante un ligero calentamiento.



El óxido de etileno es un gas incoloro, sus vapores son tóxicos y las mezclas con aire, explosivas; con cloruros produce clorhidrinas tóxicas, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, cuyo contenido residual en los alimentos

está regulado en algunos países. En concentración de 700 ppm, este gas destruye toda clase de microorganismos; es más efectivo que el de propileno y, por ser muy inflamable, comercialmente se expende mezclado con 90% de anhídrido carbónico.

Por su parte, el de propileno es un líquido incoloro, con un punto de ebullición de 35°C, que se aplica en estado gaseoso; por ser menos efectivo y penetrante que el anterior, su uso implica tiempos de contacto más largos y en ocasiones, tener que agitar el producto para favorecer su acción; la humedad le hace perder su actividad.

Es posible que su acción se deba a la capacidad de producir reacciones de alquilación con derivados hidroxietílicos del metabolismo celular. Estos gases destruyen diversas vitaminas, sobre todo la riboflavina, la niacina y la piridoxina.

9.3.11 Otros conservadores

Además de los agentes antes mencionados, que son los más empleados en la industria, existen muchos compuestos que igualmente restringen el crecimiento microbiano mediante diferentes mecanismos. Algunos de ellos se encuentran en forma natural en diversos productos, como aceites esenciales, plantas y especias.^{11, 16, 48}

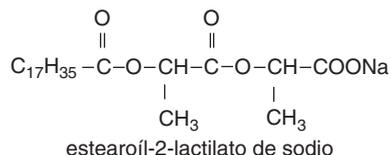
El anhídrido carbónico (CO₂) se ha usado en la conservación de derivados cárnicos, bebidas, leche y otros productos.³⁶ Algunos países emplean el peróxido de hidrógeno en leche, carne y pescado. Los ácidos orgánicos, cítrico, tartárico, fumárico, etcétera, tratados en la sección 9.7, influyen igualmente en el control microbiano. Los ésteres del glicerol, como el monolaurato de glicerilo, actúan en concentraciones elevadas y en productos altos en lípidos. Los ácidos grasos y varios antioxidantes fenólicos han mostrado igualmente tener un efecto inhibitorio, así como el eritorbato de sodio. Los extractos de las semillas de toronja y de otros cítricos también se emplean; tienen un espectro amplio de actividad debido a que alteran las membranas celulares.

9.4 EMULSIONANTES

También llamados emulsificantes, emulsivos o emulgentes, estabilizan las mezclas de líquidos inmiscibles, como las emulsiones que se explican en los capítulos 4 y 10, evitando la sinéresis o separación de fases. Las emulsiones pueden ser de aceite en agua, con la fase continua acuosa y las gotas de aceite dispersas (helados, mayonesas, aderezos, leche), o bien, de agua en aceite, que contienen las gotas de agua distribuidas en la fase continua del aceite (margarina o mantequilla).

Ya que actúan en la interfase de la emulsión, también se les conoce como surfactantes (*surfactant*, contracción de *surface active agent*).

Estos aditivos son tensoactivos que reducen la tensión superficial y hacen que las dos fases se estabilicen al lograr un contacto estrecho. Los valores de la tensión superficial del agua y del aceite a temperatura ambiente son de 72 y 34 dinas/cm, respectivamente, por lo que siempre existe un rechazo mutuo; sin embargo, la adición de 0.01% de estearoil-2-lactilato de sodio reduce la tensión del agua al mismo valor que la del aceite y de esta manera se logra que las dos fases se estabilicen. En estas condiciones se evita la tendencia de las partículas de grasa a interactuar con ellas mismas y a producir grandes agregados de baja densidad fácilmente separables que migran a la superficie.



En esta sección sólo se estudiarán los emulsionantes sintéticos, aun cuando existen muchos de origen natural; entre estos últimos se tiene los de carácter iónico (sales biliares, lecitina, proteínas y gomas) y los no iónicos (colesterol, saponinas y gomas).³³ De todos ellos, la lecitina es el agente que más se emplea; éste se obtiene de la refinación de aceites (capítulo 4).

En el cuadro 9.2 se muestran algunos de los emulsionantes sintéticos más empleados en la industria de alimentos. De todos ellos, los únicos que tienen carácter iónico son el estearoil-2-lactilato de sodio y las sales de ácidos grasos, como el oleato de sodio; todos los demás son no iónicos.

Los emulsionantes son agentes anfifílicos (del griego *amphi*, de ambos lados) constituidos por dos fracciones diferentes: una parte hidrófila que se solubiliza en agua, y otra hidrófoba o lipófila, que lo hace mejor en los lípidos. Su eficacia está ligada a su solubilidad en cada fase, y para ejercer una mejor acción debe ser más soluble en la fase continua; por ejemplo, una emulsión aceite en agua requiere un emulsionante más hidrosoluble. Sin embargo, esta regla se modifica por efecto de la temperatura; entonces, si un emulsionante se solubiliza fácilmente en agua fría, es probable que al aumentar la temperatura lo haga mejor en los lípidos.

El estearoil-2-lactilato de sodio y el oleato de sodio son muy reactivos y tienen el inconveniente de que interaccionan con diferentes iones y con moléculas cargadas de signo opuesto, lo que ocasiona la neutralización de su carga eléctrica y de sus propiedades emulsionantes. Esto no sucede con los derivados no iónicos, entre los que destacan los mono y diacilglicéridos (llamados comúnmente mono y diglicéridos); los derivados de los monoglicéridos; los ésteres del propilenglicol; los ésteres poliglicéridos de ácidos grasos; los ésteres del sorbitol; los derivados del ácido láctico; y los sacaroésteres y sacaroglicéridos.

CUADRO 9.2 Algunos emulsionantes empleados en la industria alimentaria

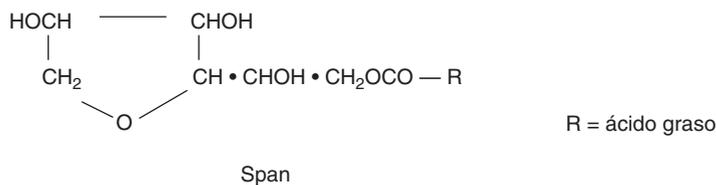
	BHL
Monoestearato de propilenglicol	2.4
Monoestearato de glicerilo	3.8
Monooleato de sorbitol	6.5
Monoestearato de sorbitol	4.6
Monoestearato de diglicerilo	5.5
Monopalmitato de lactoilo	8.1
Monolaurato de polioxietilen sorbitol	14.9
Monooleato de polioxietilen sorbitol	15.0
Oleato de sodio	18.2
Estearoil-2-lactilato de sodio	21.5

Los mono y diglicéridos son por mucho los agentes más empleados y se fabrican mediante la interesterificación descrita en el capítulo 4. A partir de los monoglicéridos destilados de alta pureza (> 90%) se obtienen derivados con ácidos orgánicos (ácidos grasos,²⁸ láctico, succínico, cítrico, acético y diacetiltartárico) y con epóxido de etileno. Así se producen los citroglicéridos usados como agentes antisalpicantes; los acetoglicéridos para estabilizar espumas; los diacetiltartratos (conocidos como “Datem”) para acondicionar la masa de panificación; etcétera.

Los ésteres del propilenglicol, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, son una mezcla de mono y diésteres con ácidos grasos, como el esteárico, proveniente de los aceites vegetales hidrogenados.

Los ésteres del poliglicerol se sintetizan polimerizando el glicerol (2, 3, 4 o más moléculas) y haciéndolo reaccionar después con un ácido graso, como el esteárico o palmítico. Estos compuestos tienen propiedades muy distintas (p. ej., son muy hidrófilos o muy lipófilos), de acuerdo con el grado de polimerización, con el ácido graso empleado y con las condiciones de reacción; por esta razón, su empleo es muy amplio en alimentos. El polirricinoleato de poliglicerol tiene usos muy específicos en la confitería.

El sorbitol es un poliol que se obtiene de la hidrogenación de la glucosa, y cuando se le hace reaccionar con ácidos grasos, se producen los ésteres correspondientes, como el monooleato, el monoestearato, el monolaurato y el monopalmitato de sorbitol, también llamados de sorbitán o de sorbitana. Comercialmente se conocen con el nombre de “Span”. A su vez, estos ésteres se hacen reaccionar y condensar con epóxido de etileno (p. ej., 20 moles por mol de sorbitol), para formar derivados polioxietilénicos que se venden bajo el nombre de “Tween” o de polisorbatos. Por ejemplo, el Tween 60 o polisorbato 60 es el monoestearato de polioxietileno sorbitol. Con todas estas variables para su fabricación, la gama de productos que se tiene es muy grande.



Los derivados más comunes del ácido láctico son los estearoíl-lactilatos de sodio (SSL) y de calcio. Para esto, el láctico se polimeriza (2-4 moléculas) y después se hace reaccionar con el ácido esteárico. Su uso es muy amplio en productos de la panificación.

Los ésteres de la sacarosa o sacaroésteres se obtienen mediante la reacción del disacárido con un ácido graso; sin embargo, su uso no está difundido.

La lista de emulsionantes comerciales es muy grande, al igual que los distintos requerimientos en cada alimento; su selección debe ser muy cuidadosa para obtener todos sus beneficios. No hay un método ideal para realizar dicha selección; la mejor manera es probarlo directamente en el alimento y observar su comportamiento. Su solubilidad en el producto es fundamental y para medirla se emplea el balance hidrófilo-lipófilo o BHL (*HLB*, *hydrophilic-lipophilic balance*); es un índice empírico con una escala de 1 a 40 que permite determinar la capacidad del aditivo para solubilizarse en agua o en aceite. Los que presentan un BHL de hasta 7 son más solubles en aceite y adecuados para emulsiones agua en aceite, mientras aquellos con valores mayores de 8 son más hidrosolubles y propicios para emulsiones aceite en agua.

Las mezclas de los distintos emulsionantes ofrecen una alternativa cuando no se tiene uno con el BHL deseado para un alimento en particular.²³

Estos aditivos se emplean en muchos productos emulsionados, tales como aderezos, cárnicos, salsas, lácteos, chocolates, postres, margarina, mantecas y otros más en los que es preciso estabilizar las fases lípida y acuosa. De manera particular, inhiben el endurecimiento de la miga del pan al interaccionar con la amilosa y evitar la retrogradación del almidón; mejoran las propiedades viscoelásticas del gluten de trigo en las masas fermentadas por levaduras e incrementan el volumen del pan; favorecen la aireación y el volumen de los pasteles; retrasan el florecimiento de graso del chocolate; aumentan la cremosidad de los helados; reducen la salpicadura de las grasas para freír; etcétera.

En ocasiones, los emulsionantes se emplean conjuntamente con hidrocoloides como gomas, pectinas, proteínas y derivados celulósicos que estabilizan las emulsiones de aceite en agua; estos polímeros incrementan la viscosidad de la fase acuosa continua y además forman películas alrededor de las gotas de aceite, mejorando la estabilidad de las emulsiones, como ocurre en el caso de los aderezos. Por ser hidrosolubles, las proteínas no funcionan en las emulsiones de agua en aceite; los aminoácidos hidrófobos (p. ej., leucina, fenilalanina y triptofano) e hidrófilos (p. ej., glicina, treonina y cisteína), se orientan en las dos fases inmiscibles, por lo que actúan como un emulsionante típico de las emulsiones de aceite en agua.

9.5 POLIOLES O POLIALCOHOLES

A diferencia de los azúcares de donde provienen, los polioles sólo contienen grupos hidroxilo como sustituyente en todos los átomos de carbono; son muy solubles en agua (más que sus respectivos azúcares), tienen un sabor dulce, producen soluciones de distintas viscosidades, de acuerdo con el tamaño de la molécula, aumentan el punto de ebullición y disminuyen el de congelación, etcétera. Se fabrican por hidrogenación de los azúcares correspondientes. Los que más se emplean son el propilenglicol, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, el glicerol, el manitol (de la manosa), el sorbitol (de la glucosa), $\text{HOCH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$ y el xilitol (de la xilosa); excepto el primero, los demás se encuentran en forma natural en diversas frutas y hortalizas.

Además de éstos, también existen otros polioles menos usados, tales como el maltitol, fabricado por la hidrogenación de la maltosa; el isomaltol, de la isomaltulosa (glucosa unida $\alpha(1,4)$ a una fructosa) proveniente de la sacarosa; el lactitol, de la lactosa; el jarabe de maíz hidrogenado; el jarabe de maltosa hidrogenado; el poliglicerol, y el eritritol o eritrol, $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$.

Su alta capacidad de hidratación los hace muy adecuados para la elaboración de alimentos de humedad intermedia (capítulo 1) pues reducen la actividad del agua y consecuentemente controlan el crecimiento microbiano. Otras propiedades son que, además de no cristalizar, evitan que esto suceda con otros azúcares. Por carecer de grupos reductores, aldehídos o cetonas, no intervienen en reacciones de oscurecimiento no enzimático tipo Maillard. Además, modifican la viscosidad y la textura, ayudan en la rehidratación de los productos secos y funcionan como humectantes al retener humedad.

Su poder edulcorante varía desde 30 hasta 100% del de la sacarosa, aunque presentan un resabio amargo cuando se consumen en concentraciones elevadas. Su absorción en el tracto gastrointestinal es más lenta que la de la glucosa, por lo que no aumentan de inmediato el azúcar de la sangre; sin embargo, el sorbitol, por ejemplo, una vez absorbido se convierte en fructosa y se metaboliza como tal. Debido a que el valor energético de los polioles es de 2.4 kcal/g o 10 kJ/g, inferior al de los azúcares de 4 kcal/g, se usan en alimentos bajos en calorías y para diabéticos y en gomas de mascar ya que no producen caries dental. En la figura 9.1 se muestra la solubilidad en agua de los distintos polioles.

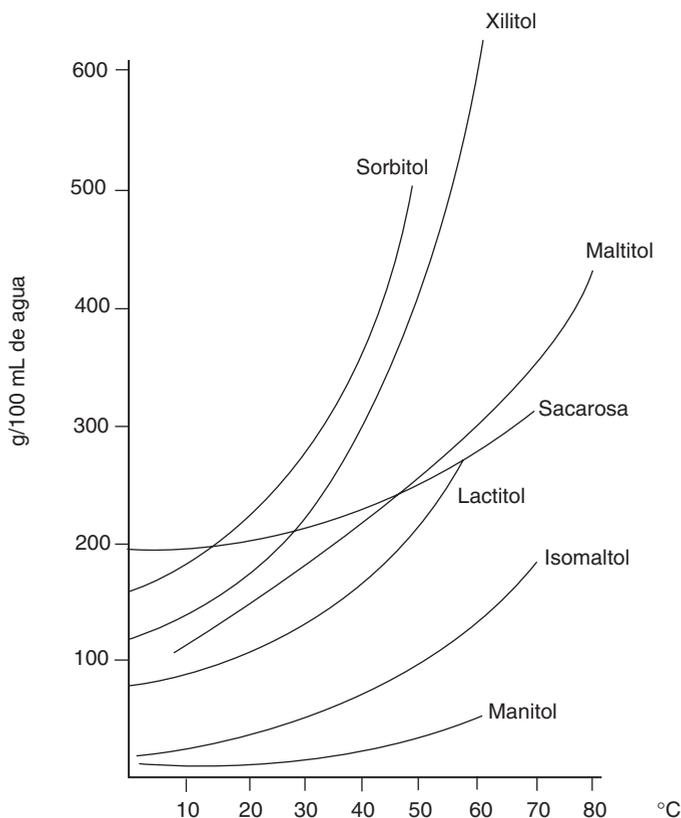


Figura 9.1 Solubilidad de varios polioles.

En el caso del xilitol se presenta un calor de disolución negativo, por lo que al disolverse en la boca produce la sensación de frescura;¹ este poliol se fabrica a partir de las hemicelulosas ricas en xilanos provenientes de maderas duras, como la del abedul y es igual de dulce que la sacarosa, sin resabios.

En relación con su toxicidad, sólo cuando se consumen de manera excesiva pueden ocasionar efectos laxantes y diuréticos.

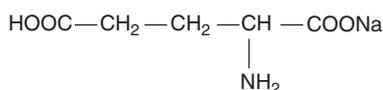
9.6 POTENCIADORES DEL SABOR

Estos compuestos, también llamados acentuadores, exaltadores o realzadores, intensifican y enriquecen el sabor deseado en un alimento y eliminan el indeseado, en concentraciones tan bajas que por sí solos no contribuyen al sabor global del producto. La percepción de las notas importantes se acen-

túa y prolonga, aumentando la palatabilidad de los alimentos. Entre los más conocidos están el glutamato monosódico, GMS, (MSG en inglés), los nucleótidos de la guanosina (guanilato sódico) y de la inosina (inosinato sódico), las proteínas vegetal y animal hidrolizadas, y los hidrolizados de levadura (por su contenido de 5'-ribonucleótidos) que intensifican los sabores salados, y el maltol y el etil maltol que hacen lo mismo en el caso de los sabores dulces. Sin embargo, existen otros menos empleados, algunos de los cuales están prohibidos en ciertos países, como es el caso de la isovalina, el aspartato sódico, los ácidos L-tricolómico y L-iboténico, el dioctil-sulfosuccinato sódico, la *N,N'*-di-*o*-toliletilendiamina y el ácido ciclámico; algunos de ellos realzan sabores muy específicos, como los de vainilla, café, etcétera.

Algunos autores consideran que además de los cuatro sabores básicos, dulce salado, amargo y ácido, existe el umami (del japonés, delicioso), que corresponde al sabor del GMS y los nucleótidos.

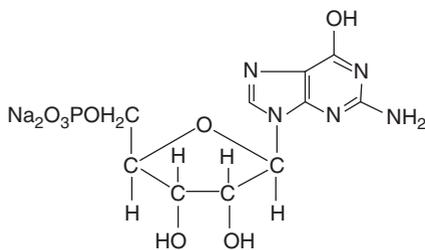
El GMS es un sólido insípido o con ligero sabor dulce-salado, muy soluble en agua y en soluciones ácidas, e insoluble en etanol; una disolución acuosa al 5% produce un pH de 6.7 a 7.2. Realza los sabores de carnes, sopas, aderezos, pescados, salsas, condimentos y muchos otros productos, en concentraciones muy variadas, hasta 2% como ocurre en ciertos condimentos. No se conoce su mecanismo de acción, pero existen algunas teorías al respecto; se considera que hay un sitio receptor específico en las células gustativas que favorece la salivación por lo que produce una mejor disolución de los componentes del alimento y una mayor percepción global.



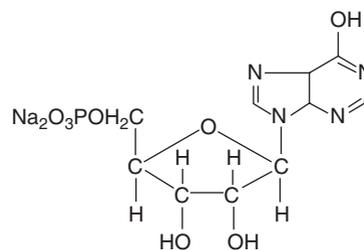
glutamato monosódico

No hay evidencia de que sea un compuesto tóxico, pero existen personas que presentan palpitaciones y dolores musculares y de cabeza después de un consumo excesivo, cuadro clínico conocido como síndrome del restaurante chino; éste se observa en gente que ingiere comida fuertemente condimentada con el GMS, como ocurre con la de origen chino o japonés.

Por su parte, los nucleótidos están integrados químicamente por una base nitrogenada, el azúcar ribosa de cinco átomos de carbono y el grupo fosfato. Tanto el guanilato como el inosinato son solubles en agua y se pueden obtener por una degradación química o enzimática de los ácidos nucleicos, o por diversos procesos de fermentación. Son agentes muy potentes, por lo que se emplean en una concentración de 10% del GMS. Solamente un consumo excesivo trae complicaciones en la salud, ya que durante su metabolismo se genera ácido úrico en las articulaciones, lo que da como resultado problemas de gota.



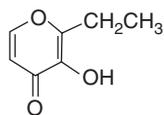
guanilato sódico



inosinato sódico

La estabilidad del GMS a las altas temperaturas es mayor que la de los nucleótidos, como ocurre en los alimentos enlatados sometidos a esterilización. La degradación térmica del guanilato y del inosinato se inicia con la hidrólisis del grupo fosfato y la formación de los nucleótidos, inosina y guanosina, para después eliminar la ribosa.³²

El maltol y su derivado, el etil-maltol, se usan para reducir la cantidad de sacarosa empleada en bebidas, ya que añadidos en pequeñas cantidades (<75 ppm) sustituyen hasta 15% del disacárido en la formulación; el maltol es menos soluble en agua (1g/80 mL) que el derivado etílico (1 g/55 mL), y este segundo, a su vez, es seis veces más potente que el primero. En una concentración de 50 ppm realzan los sabores típicos de los jugos de frutas y de diversos dulces.



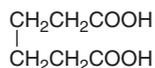
etil-maltol

9.7

ACIDULANTES, ALCALINIZANTES Y REGULADORES DE pH

Los acidulantes además de reducir el pH, cumplen un gran número de funciones: amortiguador de pH; conservador; saborizante; promotor de reacciones de curado en los cárnicos; secuestrador; modificador de la viscosidad; coagulante de la leche; inhibidor de las reacciones de oscurecimiento; hidrolizante de la sacarosa y del almidón; promotor de la gelificación de las pectinas; inhibidor de la cristalización de la sacarosa; y otras.¹⁷

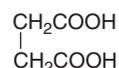
En esta categoría de aditivos se encuentran varios compuestos, entre los que destacan los ácidos orgánicos: acético, adípico, benzoico, cítrico, fumárico, láctico [$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$], málico, propiónico, sórbico, succínico y tartárico, muchos de los cuales son policarboxílicos. El fosfórico (H_3PO_4) es el ácido inorgánico más común y es empleado en las bebidas de cola; el clorhídrico (HCl) se utiliza para catalizar algunas reacciones de hidrólisis.



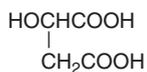
ácido adípico



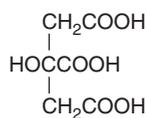
ácido fumárico



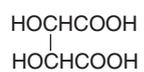
ácido succínico



ácido málico



ácido cítrico



ácido tartárico

Muchos de los ácidos se encuentran de manera natural en diversos vegetales como parte de su metabolismo y contribuyen a la acidez y al sabor típico. Por ejemplo, las manzanas, los plátanos, las peras, las papas y las zanahorias contienen una alta proporción de ácido málico, mientras que el tartárico se localiza en aguacates, uvas y toronjas y el ácido cítrico está presente prácticamente en todos los vegetales.

En relación con su empleo como aditivos, las actividades de los ácidos acético, benzoico, propiónico y sórbico ya fue discutida en este mismo capítulo en la sección de conservadores; otros, principalmente el cítrico, tienen propiedades de secuestrador y ayudan a la acción de los antioxidantes, como se describió en el capítulo 4.

La mayoría de ellos son solubles en agua con excepción del fumárico que prácticamente es insoluble (figura 9.2). Su selección está determinada por varios factores, como es la solubilidad, la compatibilidad con los otros constituyentes de los alimentos, el costo, el sabor, etcétera, y no todos ellos cumplen cada una de las funciones antes indicadas con los mismos resultados.

El ácido adípico tiene un poder acidificante semejante al del cítrico, se utiliza como amortiguador de pH en un intervalo de 2.5 a 3.5, y por no ser higroscópico, se prefiere al tartárico en los gasi-

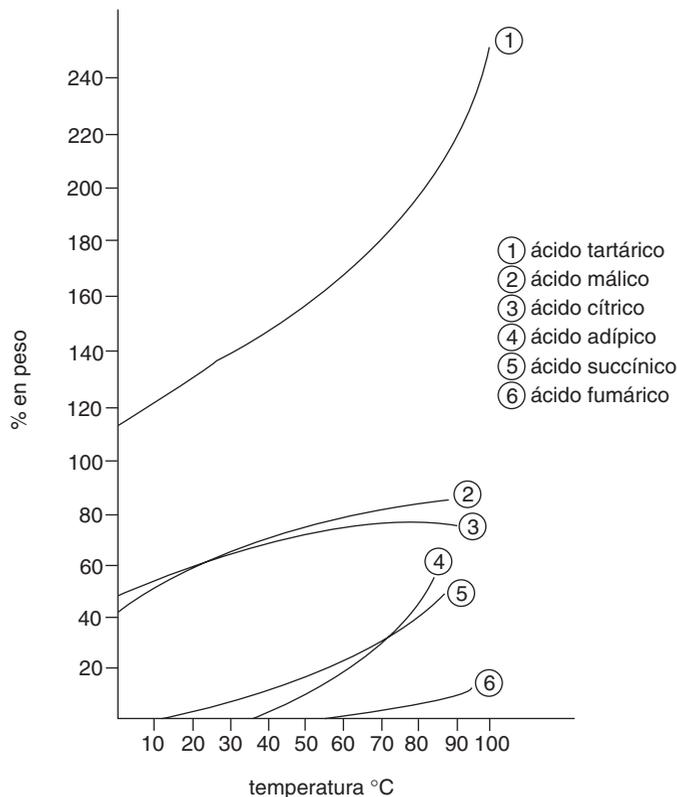


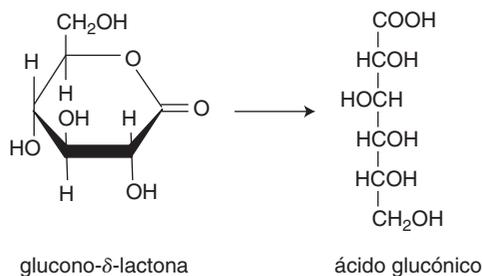
Figura 9.2 Solubilidad en agua de varios ácidos orgánicos.

ficantes para panificación. Por su parte, el cítrico se presenta en forma de cristales, es muy soluble en agua, se emplea como secuestrador, para acelerar el curado de los derivados cárnicos y también como saborizante. El málico es muy hidrosoluble (figura 9.2), y al igual que el succínico y el tartárico, se usa como secuestrador y saborizante.

Todos tienen un sabor ácido propio, aunque de diferente intensidad, y además provocan paralelamente otras percepciones sensoriales; el grado de acidez que desarrollan depende del sistema en que se encuentran y no es el mismo si se trata de una bebida gaseosa o de un jugo de frutas. Algunos tienen la característica de intensificar el sabor de otras sustancias, incluyendo los saborizantes sintéticos, como ocurre principalmente en las bebidas a base de frutas; en este caso, el ácido málico presenta la peculiaridad de retardar la velocidad de evaporación y de retener los compuestos volátiles, conservando así las propiedades sensoriales del producto.

Los ácidos no son propiamente antioxidantes, pero ejercen un efecto sinergista cuando se emplean con el BHA, BHT y TBHQ (capítulo 4); en este caso, su acción está en estrecha relación con su capacidad de secuestrar Cu y Fe, metales que inician la oxidación, y con el hecho de que afectan el sistema de oxidoreducción, favoreciendo el equilibrio redox hacia la forma reducida del antioxidante.

Además de los ácidos mencionados, existen varios compuestos que aunque no contienen en su molécula el grupo carboxílico, funcionan con las propiedades de los ácidos; entre éstos destacan los fosfatos y los tartratos ácidos así como la glucono- δ -lactona (usados en los gasificantes para panificación). Esta última tiene muchas aplicaciones ya que su descomposición genera lentamente ácido glucónico, por lo que también se utiliza en las sales de curación de los cárnicos al seleccionar la microflora, como secuestrador y en los lácteos fermentados. De manera semejante, la lactida, que es una dilactona cíclica sintetizada por deshidratación del ácido láctico, se descompone lentamente y produce ácido láctico en los alimentos con alto contenido de humedad.



Por su parte, los alcalinizantes tienen diversos usos, entre los que destacan el control del pH, la generación de CO_2 , el pelado alcalino de vegetales, la estabilización del color de las aceitunas, la obtención de proteínas de soya y los diferentes gasificantes para panificación. En México, su empleo más común es en la nixtamalización del maíz mediante la adición de 1-3% de cal (CaO) y cuya función es múltiple: favorece la cocción, gelatiniza el almidón, hace biodisponible la niacina y el triptófano, es fuente de calcio, etcétera. Las sales fundentes alcalinas para quesos, constituidas por citratos y fosfatos de sodio y de calcio, proporcionan textura, untuosidad y regulan el pH de estos derivados lácteos. Por su importancia, en esta categoría de aditivos destacan los bicarbonatos, hidróxidos, óxidos, carbonatos y fosfatos de sodio, de calcio y de magnesio.

Los reguladores de pH, también llamados *buffers* (del inglés) y *tampones* (del francés), son generalmente sistemas integrados por un ácido débil y su sal; por ejemplo, ácido cítrico-citrato de sodio

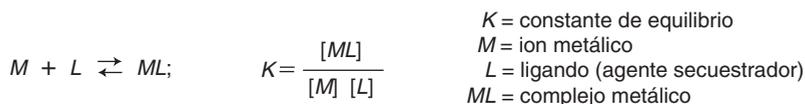
o de potasio y ácido acético-acetato de sodio o de potasio, además de fosfatos, gluconatos y otros. Su adición estabiliza el pH dentro de un intervalo deseado para que las proteínas, pigmentos y muchos otros compuestos permanezcan sin alteración alguna durante el procesamiento y almacenamiento.

9.8 SECUESTRADORES O QUELANTES

Un quelato es un compuesto de coordinación en el que un átomo, generalmente un metal, está unido mediante enlaces de coordinación a dos o más átomos de una o más moléculas llamadas quelantes, secuestradores o secuestrantes (anglicismo de *sequestrants*). Tienen la peculiaridad de que el metal que contienen no desarrolla funciones catalíticas como lo podría hacer si estuviera libre o no quelado.

Los quelatos son comunes en la naturaleza, destacando el del Mg de la clorofila, el del Fe de la porfirina en la mioglobina y en la hemoglobina, el del Co en la cobalamina o vitamina B₁₂, y los de varios metales como el Zn, Cu y Mg que funcionan como coenzimas de muchos sistemas enzimáticos.

La formación del complejo metal-secuestrador se efectúa cuando el ligando o secuestrador tiene el sitio estérico y la configuración electrónica adecuados para el metal, y el medio, pH, fuerza iónica, solubilidad, etcétera, favorece la integración del complejo.



La *K* es específica para cada secuestrador con respecto a los diferentes metales; cuanto mas grande, mayor será la cantidad del complejo que se produzca, y menor la concentración del metal que permanezca en disolución.²¹

Estos compuestos se usan en la industria con la finalidad de evitar la posible acción dañina de iones como Fe, Ca y Cu y de otros cationes divalentes. Entre los secuestradores más comunes están los ácidos cítrico, tartárico, málico, oxálico, succínico y fosfórico, los gluconatos, los hexametrafosfatos, los fosfatos, los tartratos, los tripolifosfatos y el etilendiamintetracetato de sodio (EDTA); estos compuestos tienen la peculiaridad de que su molécula contiene un par de electrones sin compartir proveniente de hidroxilos, carbonilos, carboxilos, sulfhidrilos, oxígeno, nitrógeno y otros grupos químicos, capaz de establecer complejos con los iones metálicos. Esta interacción se observa más detalladamente con el quelato que establece el EDTA, como se observa en la figura 9.3.

Estos aditivos se emplean mezclados con antioxidantes para proteger los aceites insaturados y otras sustancias con dobles ligaduras como la vitamina A y los carotenoides; no son propiamente antioxidantes, pero evitan la acción catalítica del Fe y Cu; la combinación antioxidante-secuestrador presenta un efecto sinérgico en el control de la oxidación que se revisa en el capítulo 4.

En el enlatado de vegetales ocurren modificaciones que reducen la calidad de los productos y que son inducidas por la presencia de Fe, Mg y Ca provenientes del agua empleada, del alimento o de la propia lata; estos elementos químicos se liberan en el escaldado y ocasionan cambios en el color al interaccionar con los pigmentos y en la textura al reaccionar con las pectinas. Estas transformaciones negativas se evitan añadiendo secuestradores como el EDTA o algún otro, antes de efectuar el escaldado.

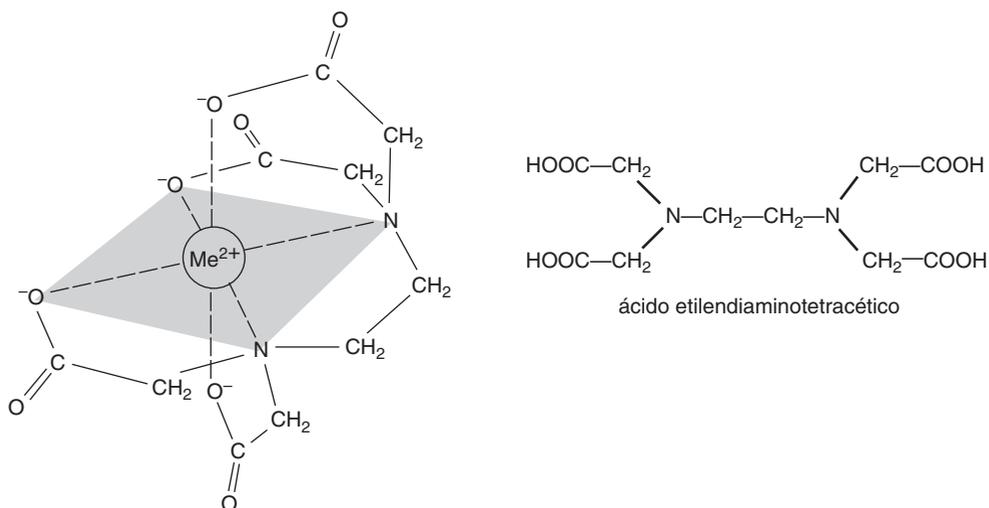


Figura 9.3 Quelato del EDTA.

Por otra parte, el oscurecimiento enzimático, como el de la papa, se controla con la adición de una mezcla de ácido cítrico y EDTA, o con pirofosfatos y EDTA; esto se debe a que las enzimas correspondientes requieren de Cu para su actividad, misma que queda nulificada con los secuestradores.

Muchos derivados marinos tienen concentraciones tan altas de Mg que forman cristales de apariencia indeseable durante el almacenamiento refrigerado; por esto se añaden mezclas de polifosfatos y EDTA para secuestrar el catión y evitar su cristalización como fosfato de amonio y magnesio.

Los ácidos fosfórico y cítrico que se emplean en las bebidas refrescantes también cumplen la función de secuestrar los metales que pueden provocar la oxidación de los terpenos responsables del aroma de estos productos.

El abuso en el empleo de los secuestradores, especialmente EDTA, puede traer problemas de biodisponibilidad de algunos elementos químicos indispensables, como el Fe, Zn y el Ca propios de los alimentos y que son fundamentales para el buen funcionamiento del organismo humano. Por este motivo, se deben de cumplir las regulaciones sobre las concentraciones permitidas para no reducir el valor nutritivo de los alimentos en donde se aplican.

9.9 EDULCORANTES

La sensación de dulzor que provocan ciertos alimentos se debe a un gran número de compuestos de estructuras químicas muy diferentes; una manera de clasificarlos es con base en su potencia y valor nutritivo:

1. *Edulcorantes nutritivos de poder edulcorante semejante a la sacarosa,*
 - a) mono y oligosacáridos: sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa, isoglucosa, miel de abeja, azúcar invertido, jarabe de maíz, etcétera.
 - b) polioles: sorbitol, xilitol, jarabe de glucosa hidrogenado, maltitol, manitol, etcétera.
2. *Edulcorantes de mayor poder edulcorante que la sacarosa,*
 - a) sintéticos: acesulfamo K, aspartamo, ciclamatos, sacarina, sacralosa, alitamo, dulcina.
 - b) de origen vegetal:
 - glucósidos: glicirricina, dihidrochalconas, esteviósido.
 - proteínas: taumatina, monelina y miraculina.

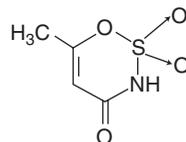
Esta lista no abarca todos los que se conocen ya que hay muchos otros que están en investigación y que tal vez en el futuro próximo sean lanzados al mercado. Los mono y oligosacáridos se revisan en el capítulo 2, mientras que los polioles se tratan en otra sección de este capítulo; en ésta sólo se describen aquellos edulcorantes con mayor poder que el de la sacarosa.

El poder edulcorante, es decir, la capacidad de una sustancia para causar dicha sensación, se mide subjetivamente tomando como base de comparación la sacarosa, a la que se le da un valor arbitrario de 1 o de 100. Es decir, si un compuesto tiene un poder de dos (uno para la sacarosa), indica que es 100% más dulce que el disacárido y se puede usar al 50% para lograr el mismo nivel de dulzor.

La sustitución de la sacarosa por los edulcorantes sintéticos no siempre es sencilla, ya que este azúcar desempeña, además, otras funciones en el alimento, como conservador y para conferir una textura y consistencia adecuadas; esto se observa en las mermeladas y en alimentos semejantes en los que el alto contenido de sacarosa reduce la actividad del agua a < 0.8 para evitar hongos y levaduras, y ayuda a que gelifiquen las pectinas de alto metoxilo.

Los edulcorantes sintéticos no son metabolizados y por consiguiente, no producen las calorías que generan los tradicionales hidratos de carbono; además, debido a que son mucho más dulces que la sacarosa, se usan en una cantidad muy inferior.

El *acesulfamo K* (también llamado acesulfame K) es el derivado potásico (K) de los ácidos acetacético ($\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOH}$, ACEsulfame) y sulfámico (NH_2SOOOH , aceSULFAME), tiene una estructura química que en algunos aspectos semeja a la de la sacarina y un poder edulcorante de 150 a 200 veces el de la sacarosa; es estable a temperaturas elevadas, muy hidrosoluble, mantiene sus propiedades sensoriales en un intervalo amplio de pH y, en general, no deja un resabio desagradable, excepto en altas concentraciones. Se emplea en bebidas refrescantes, lácteos, panificación, dulces y muchos otros. Tiene un efecto sinérgico con el aspartamo, la sacralosa y la fructosa.⁴³

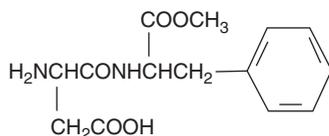


acesulfamo K

El *aspartamo* (también llamado aspartame) es el éster metílico del dipéptido L-aspartil-L-fenilalanina y, consecuentemente, se metaboliza como cualquier otro péptido, generando dos aminoácidos. Es estable a pH 3-5, perdiendo su poder fuera de este intervalo; las altas temperaturas lo destruyen por la hidrólisis del enlace éster metílico, por la ruptura de la unión peptídica, o por un reacomodo in-

tramolecular que da origen a la dicetopiperazina, agente que no es tóxico.^{25, 34} Además, por su carácter proteínico, cuando se calienta en presencia de azúcares reductores, está sujeto a reacciones de Maillard.⁴⁰

Es de 150 a 200 veces más dulce que la sacarosa y no tiene resabio amargo. Su empleo se restringe a productos ácidos (p. ej., bebidas) que no se someten a fuertes tratamientos térmicos, como las bebidas y jugos.

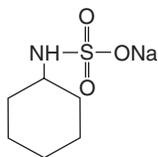


aspartamo

El consumo del aspartamo está restringido para las personas que son fenilcetonúricas o intolerantes a concentraciones elevadas de fenilalanina debido a la carencia de la 4-monooxigenasa, enzima relacionada con el metabolismo de este aminoácido en el hígado; la acumulación de la fenilalanina o de sus derivados en la sangre provoca una mielización deficiente del cerebro y, en consecuencia, un retraso mental. Sin embargo, la ocurrencia de esta enfermedad en la población es muy baja.

Los *ciclamatos* se producen por la sulfonación de la ciclohexilamina y son de los primeros edulcorantes sintéticos que se emplearon en la industria alimentaria. En la década de 1960 muchos países prohibieron su uso ya que su hidrólisis genera la ciclohexilamina, que se elimina en la orina, y a la cual se le han atribuido las alteraciones cromosómicas y carcinomas observados en las vejigas de animales de laboratorio. Sin embargo, trabajos más recientes han mostrado su inocuidad, por lo que algunos países los permiten en productos muy específicos.

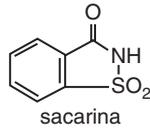
Los ciclamatos tienen un poder edulcorante hasta de 30 veces el de la sacarosa, con la ventaja



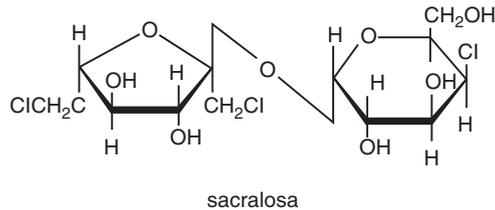
ciclamato de sodio

de que no deja el resabio amargo que produce la sacarina. Comercialmente existen las sales de sodio y de calcio; la segunda se presenta en forma de cristales solubles en agua (210 g/L) muy resistentes a las temperaturas elevadas.

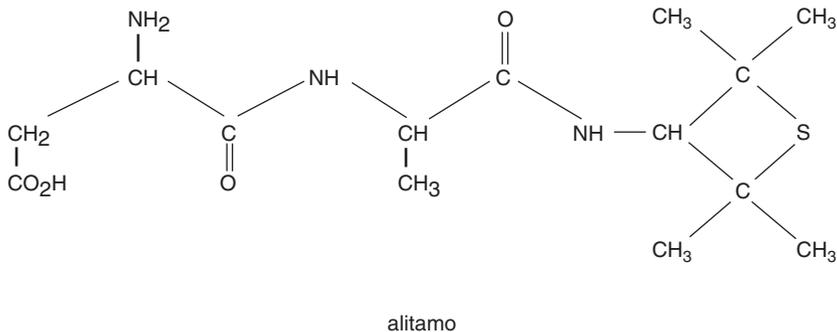
La *sacarina*, que es uno de los edulcorantes más empleados, se obtiene a partir de la *o*-toluen-sulfonamida o de los anhídridos ftálico y antranílico; tiene un dulzor de 300 a 400 veces el de la sacarosa, con el inconveniente de que provoca un resabio amargo metálico, sobre todo en altas concentraciones. Comercialmente se encuentra tanto en la forma sódica como en la cálcica, ambas muy solubles en agua (600 g/L), estables a pH 2-9 y a tratamientos térmicos moderados. A pesar de que el hombre la elimina en la orina, existe mucha controversia sobre su inocuidad; se considera que algunas de las impurezas de su síntesis son tóxicas, aun cuando esto depende de la materia prima de que se parta. Por esta razón, ciertos países tienen regulaciones estrictas para su consumo y exigen se declare su presencia en los alimentos, indicando su riesgo potencial.



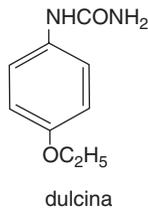
La *sacralosa* es un derivado clorado que se sintetiza a partir de la sacarosa y es 500-600 veces más dulce que el disacárido; es muy hidrosoluble (250 g/L), estable a pH 3-7 y resiste las altas temperaturas de la panificación. Su sabor dulce es muy semejante al de la sacarosa y sin resabio amargo. Su uso no está totalmente aceptado en todos los países y algunos establecen ciertas restricciones.



El *alitamo* (también llamado alitame) deriva de los aminoácidos D-alanina y ácido aspártico, adicionados de una amida. Comparado con el aspartamo, no contiene fenilalanina y tiene una mayor estabilidad; es muy soluble en agua, con un poder edulcorante de 2,000 veces el de la sacarosa. Su uso no está autorizado por todos los países, pero algunos lo permiten en ciertos alimentos.



Otros edulcorantes sintéticos, pero no aprobados por la legislación actual, incluyen a la dulcina, que corresponde a la *p*-etoxifenilurea; su hidrólisis genera *p*-aminofenol, agente tóxico para el hombre. Tiene un poder edulcorante de 250 veces el de la sacarosa, es soluble en agua caliente e insoluble en lípidos.



Entre las sustancias edulcorantes encontradas en la naturaleza destacan la glicirricina, la dihidrochalcona y el estevióside de características glucosídicas y que se revisan en el capítulo 2; también existen las proteínas taumatina, monelina y miraculina descritas en el capítulo 3. Su uso es muy distinto entre los países y cada uno tiene regulaciones al respecto.

La forma comercial de la *glicirricina* es como derivado amoniacal, se usa en productos donde su resabio de regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) no interfiere y tiene un poder edulcorante de hasta 100 veces el de la sacarosa. Es soluble en agua, medianamente estable a los tratamientos térmicos y precipita a $\text{pH} < 4.5$.

La *dihidrochalcona neohesperidina* se obtiene de las flavononas (ver flavonoides, capítulo 7) amargas de los cítricos, como la naringina contenida en la parte blanca de la pared de las naranjas; es hasta 2,000 veces más dulce que la sacarosa, inocua, inestable a pH ácidos, soluble en agua y en etanol, y muy adecuada para emplearse en productos secos.

El *estevióside* tiene 300 veces el poder edulcorante de la sacarosa, presenta un ligero resabio amargo, es más estable a $\text{pH} < 4$ y resiste tratamientos térmicos. Su núcleo de esteviol semeja las estructuras de las hormonas esteroides, por lo que se sospecha puede ser antiandrógeno.

Las *taumatinas I y II* son proteínas que se comercializan bajo el nombre de Talin, son más de 1,600 veces más dulces que la sacarosa, se desnaturalizan a $\text{pH} < 3.5$.

La *monelina* (o *monellina*) es una proteína inestable que se destruye fácilmente a pH ácidos, de buen sabor, tiene un poder edulcorante de 2,500 veces mayor que la sacarosa. Su uso está actualmente muy restringido.

La *miraculina* es una glucoproteína, que no presenta sabor propio y solamente se vuelve dulce a pH ácidos; en la actualidad no tiene un uso comercial.

9.10 GASIFICANTES PARA PANIFICACIÓN

Estos productos, también llamados polvos para hornear o leudantes químicos, son mezclas de distintos compuestos que tienen la propiedad de generar CO_2 al contacto con agua a una temperatura adecuada; se usan en la panificación cuando la fermentación no se efectúa con levaduras. El gas así generado, junto con el vapor de agua y el aire atrapado, ejerce una presión en el interior de la red tridimensional conformada por las proteínas del gluten, que hace que la masa se expanda y se esponje. En las burbujas formadas se inicia propiamente la expansión, que va en aumento a medida que los gases se calientan e incrementan su presión; para obtener la textura porosa propia del pan es muy importante que las burbujas sean muy abundantes, pequeñas y que estén distribuidas homogéneamente.

Los polvos para hornear están constituidos por el bicarbonato de sodio NaHCO_3 (aun cuando también se usa el carbonato de amonio) y un ácido o una sal ácida. El $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ genera amoniaco que llega a permanecer en el pan y sólo se utiliza en galletas o en masas con muy bajo contenido de humedad. El KHCO_3 se emplea en productos sin sodio, aun cuando deja un resabio amargo. Entre los ácidos o las sales ácidas más comunes, destacan el ácido tartárico, el tartrato ácido de potasio (bitartrato o cremor tartaro), el sulfato sódico-alumínico, el ortofosfato monocalcico, el pirofosfato ácido de sodio y la glucono- δ -lactona; esta última no es propiamente un ácido, pero su lenta descomposición genera ácido glucónico, que es el que actúa como agente activo. Cada uno de estos compuestos tiene una distinta solubilidad en agua, lo que provoca que tengan diferente velocidad (baja, media y rápida) para reaccionar y liberar el gas. Durante el amasado se genera una pequeña porción de CO_2 , y la gran mayoría lo hace en el horneado.

CUADRO 9.3 Formulaciones de gasificantes para panificación¹⁹

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Bicarbonato de sodio	28.0	28.0	30.0	30.0	30.0	27.0	30.0	30.0	30.0
Fosfato monocálcico monohidratado	35.0		8.7	12.0	5.0		5.0		5.0
Fosfato monocálcico anhidro		34.0							
Almidón de maíz	37.0	38.0	26.6	37.0	19.0	20.0	24.5	26.0	27.0
Sulfato sódico-alumínico			21.0	21.0	26.0				
Pirofosfato ácido de sodio							38.0	44.0	38.0
Sulfato de calcio			13.7						
Carbonato de calcio					20.0				
Cremor tártaro (tartrato ácido de potasio)						47.0			
Ácido tartárico						6.0			
Lactato de calcio							2.5		

En el cuadro 9.3 se muestran algunas formulaciones típicas de gasificantes para panificación; se observa que contienen una proporción alta de almidón que sólo sirve de base para la formulación. Cada ácido o sal ácida tiene una capacidad para neutralizar el bicarbonato, y esto se tiene que tomar en cuenta cuando se preparan estos productos. En el cuadro 9.4 se indican algunas de las sales ácidas, así como la velocidad con la que reaccionan con el bicarbonato y la cantidad necesaria para neutralizarlo.

CUADRO 9.4 Ácidos usados en los gasificantes para panificación³⁰

		Velocidad de reacción	Partes requeridas para neutralizar una de bicarbonato
Ortofosfato monocálcico	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Rápida	1.25
Tartrato ácido de potasio	$\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$	Media	2.25
Pirofosfato ácido de sodio	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Media	1.33
Fosfato ácido sódico-alumínico	$\text{NaH}_{14}\text{Al}_3(\text{PO}_4)_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Baja	1.00
Glucona delta lactona	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$	Baja	2.12
Ácido adípico	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$	Baja	0.87

Cada formulación comercial produce un determinado volumen de gas con diferente velocidad, de tal suerte que hay gasificantes para panificación para cada necesidad de la industria.

9.11

ACONDICIONADORES DE PANIFICACIÓN

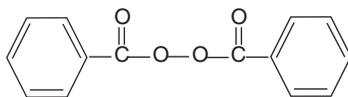
En esta categoría de aditivos, también llamados acondicionadores de masa, se incluyen varios compuestos que facilitan el proceso de panificación en sus distintas etapas. Por su importancia destacan

los mejoradores, los blanqueadores, los nutrimentos para las levaduras y los emulsionantes; estos últimos ya fueron revisados en su correspondiente sección en este mismo capítulo. Algunos agentes oxidantes cumplen tanto la función de mejorador como de blanqueador.⁴¹

Las proteínas del trigo desempeñan un papel muy importante en la fabricación del pan y sus derivados; estos polímeros son los que hacen que se establezca la estructura tridimensional mediante enlaces disulfuro (-S-S-), que es básica para que la masa esponje e incremente su volumen por las presiones del vapor y del aire, pero también por la presión del CO₂ proveniente de las levaduras o de los gasificantes para panificación. Sin embargo, no todos los trigos presentan las mismas propiedades físicas y químicas y, por consiguiente, pueden variar las características de la masa que producen.

Los mejoradores oxidan los sulfhidrilo (-SH) de la cisteína, y generan disulfuros, tanto inter como intramoleculares. Entre los más importantes están el persulfato de amonio (NH₄)₂S₂O₈; el bromato de potasio, KBrO₃; el yodato de potasio, KIO₃; el yodato de calcio, Ca(IO₃)₂; y la azodicarbonamida, NH₂-CO-N=N-CO-NH₂. Se emplean conforme a las legislaciones vigentes en una concentración que depende del tipo de trigo, pero que generalmente varía entre 10 y 150 ppm. El establecimiento de los disulfuros hace que la masa tenga mejores propiedades viscoelásticas y facilita el proceso de fabricación; sin embargo, una excesiva oxidación da origen a panes de mala calidad y de escaso volumen. Su acción se inicia ya sea cuando la harina se mezcla con todos los ingredientes o en la masa fermentada ya que su pH ácido favorece la actividad de los oxidantes.

Los blanqueadores se añaden a la harina para decolorarla y hacerla más blanca; al igual que los mejoradores, son oxidantes que mediante un mecanismo de hidroperóxidos destruyen los carotenoides insaturados responsables del color amarillo. Entre los más conocidos están el peróxido de benzoílo, el gas cloro, el dióxido de nitrógeno NO₂, el dióxido de cloro ClO₂ y el cloruro de nitrosilo NOCl. Excepto el primero que sólo actúa como blanqueador, los demás también funcionan como mejoradores. Generalmente se utilizan en una concentración que varía entre 10 y 70 ppm.



peróxido de benzoílo

En contacto con el agua, el peróxido de benzoílo se convierte en ácido benzoico y en oxígeno; este segundo es el agente activo oxidante que actúa en los pigmentos y los transforma en compuestos incoloros. En estado seco, es muy reactivo y puede explotar espontáneamente, por lo que sus formulaciones comerciales contienen almidones, sulfatos y carbonatos. Su acción es lenta, puede tomar más de 30 horas, tiempo que la harina necesita estar en reposo.

En presencia de agua, el dióxido de nitrógeno se convierte en ácido nitroso NHO₂ y en el oxígeno que cumple las funciones de oxidante como en el caso anterior.

La adición de harina de soya cruda (sin ningún calentamiento) con plena actividad de lipoxigenasa es práctica común para el blanqueo de las harinas de trigo ya que la enzima oxida los pigmentos (capítulo 13).

Por último, existen muchas sales que se utilizan como nutrimentos para acelerar el crecimiento y reproducción de las levaduras y así llevar a cabo la fermentación en menos tiempo; entre las más importantes se encuentran diversas sales de calcio y de amonio, tales como cloruros, sulfatos y fosfatos.

9.12 ANTIAGLOMERANTES

Este grupo de aditivos tiene la función de evitar la adherencia o la aglomeración de las partículas de un producto en polvo, y así ayudar a que éstas fluyan fácilmente; por esta razón, a los antiaglomerantes también se les conoce como antiapelmazantes, auxiliares de flujo y lubricantes.

Existe un gran número de alimentos deshidratados: huevo, azúcar, sal, harinas, vegetales, quesos, sopas y muchos otros, así como varias especias molidas y diversos aditivos, como sales de curación, saborizantes y colorantes, que si no se manejan en forma adecuada, tienden a crear aglomerados mediante la unión de muchas partículas pequeñas. Dicha aglomeración se puede presentar por someter el polvo a una alta presión (p. ej., cuando se apilan las bolsas en que se encuentra); por la liberación de un líquido propio, como grasa o agua, que sirve de agente ligante; por atracciones electrostáticas como consecuencia de frotamientos; por reacciones químicas entre los constituyentes; y por la adsorción de la humedad del aire. Estos dos últimos mecanismos son los más importantes y comunes, y por esta razón, los polvos higroscópicos deben conservarse en empaques y embalajes adecuados, así como en lugares con una baja humedad atmosférica.

Cuando los alimentos secos se humedecen, se provoca una disolución de las sales y de los azúcares superficiales alrededor de las partículas, facilitando su aglomeración; posteriormente, si llega a existir un aumento de temperatura o este producto apelmazado se almacena en una atmósfera de baja humedad, se induce la deshidratación y las sales y los azúcares se solidifican, y crean una unión más rígida entre las partículas aglomeradas. Además de que la apariencia y la fluidez de los alimentos en estas condiciones son malas, se presentan problemas para su manejo y envasado ya que cambia su densidad aparente.

Por lo anterior, es importante utilizar los antiaglomerantes para evitar el apelmazamiento de los productos en polvo; en esta categoría destacan el dióxido de silicio, SiO_2 , y todos sus derivados; el silicato de aluminio, Al_2SiO_5 ; el silicoaluminato de sodio, $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_8$; los estearatos de calcio, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}]_2\text{Ca}$ y de magnesio; los almidones; el fosfato tricálcico, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; y la celulosa microcristalina. También se usa el ferrocianuro de potasio, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, principalmente para la sal de mesa.

Los estearatos de calcio y de magnesio lubrican los polvos y reducen la fricción entre partículas, haciendo que éstas fluyan más fácilmente. El ferrocianuro de potasio actúa muy específicamente alterando la cristalografía del cloruro de sodio; si la sal se hidrata y después se seca, el tipo de cristal que se produce es tan frágil que se rompe de inmediato y no se crean aglomerados rígidos.

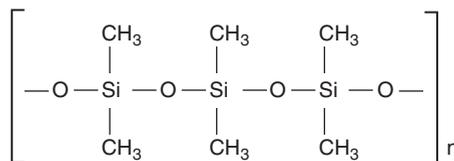
Los antiaglomerantes tienen una densidad aparente de 0.05-0.60 g/cm^3 , un área específica de 60-400 m^2/g y un tamaño de partícula de 3-100 μ ; esto hace que absorban líquidos sin aglomerarse en una relación de 2-3 veces su peso; generalmente se emplean en una concentración de hasta 2%, que es suficiente para cubrir la superficie de los sólidos que se desea proteger.

9.13 ANTIESPUMANTES

Son aditivos que se añaden a los líquidos para evitar que éstos formen espumas durante su agitación, como ocurre con diversos jugos de frutas en donde la presencia de éstas causa problemas en la línea de llenado. Los antiespumantes actúan produciendo un aumento de la tensión superficial, lo que hace

que las espumas sean inestables y difíciles de crearse; entre los compuestos más conocidos están el dimetil-polisiloxano, los ácidos grasos láurico, oleico, esteárico y palmítico, los estearatos de aluminio y de amonio y la oxiestearina; esta última es un sólido graso constituido por una mezcla de glicéridos con ácidos grasos parcialmente oxidados, insoluble en agua pero soluble en disolventes orgánicos.

El dimetil-polisiloxano, polímero cuyo monómero es el dimetil-siloxano, $(\text{CH}_3)_2\text{SiO}$, pertenece a las siliconas; es un líquido insoluble en agua, se usa en una concentración hasta de 100 ppm y debido a su estructura lineal y a su capacidad de repeler el agua, disminuye la resistencia de las burbujas y retarda la formación de nueva espuma durante varias horas.



9.14 COLORANTES

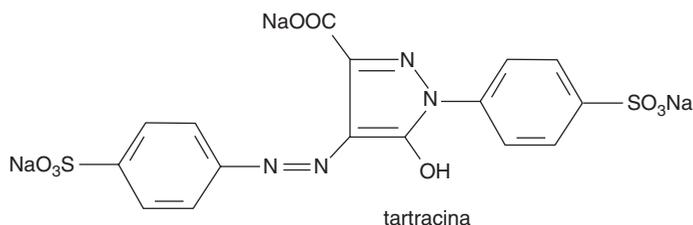
El color de los alimentos es muy importante para el consumidor, ya que, siendo el primer contacto que tiene con ellos, es determinante para la aceptación o el rechazo de los mismos. De acuerdo con las regulaciones de México, existen 51 colorantes, naturales y sintéticos, que están permitidos para uso en alimentos. Los pigmentos naturales que se usan como colorantes se revisan en el capítulo 7, e incluye varios grupos de carotenoides, xantofilas y antocianinas, además de betalainas, clorofilas, azafrán y ácido carmínico; muchos de ellos se aplican en los alimentos en forma de jugos de frutas, oleoresinas, aceites y extractos. Dentro de esta categoría de colorantes naturales está el caramelo, el cual estudiamos en el capítulo de hidratos de carbono, empleado ampliamente (desde amarillo ligero hasta negro), la harina de algodón tostada y parcialmente desengrasada, la riboflavina y otros. El bióxido de titanio (TiO_2) proveniente del mineral “rutilo”, se usa para impartir un color blanco.

Además de estos compuestos, existe un gran número de colorantes sintéticos que se pueden emplear, aun cuando sólo algunos son aceptados como aditivos en la legislación mexicana.

Los colorantes sintéticos son principalmente derivados azoicos (tartracina, azorrubina, rojo allura, etcétera), pero también quinoles, derivados del trifenilmetano y otros. La ingesta diaria aceptable para los distintos colorantes varía desde 1 hasta 13 mg/kg.

En el cuadro 9.5 se muestran algunos de los principales colorantes sintéticos que se emplean en la actualidad, indicando su equivalencia con las clasificaciones del Color Index (CI, Society of Dyers and Colourists, de Inglaterra), de la FD&C (Food and Drug Administration, FDA, de Estados Unidos) y de la Comunidad Económica Europea (E). Cabe resaltar que a partir de estos colorantes primarios se pueden elaborar muchos otros, llamados secundarios, mediante las mezclas adecuadas para lograr el color deseado.

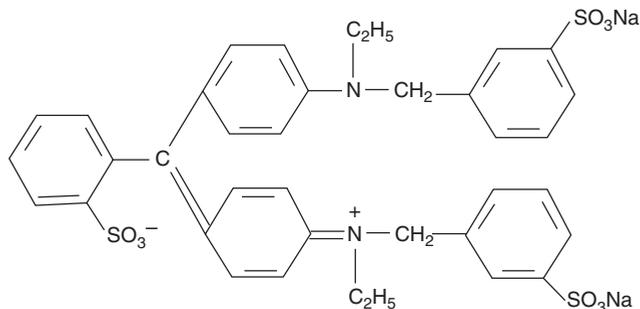
La tartracina (tartrazina) o amarillo No. 5, es un polvo brillante amarillo-naranja, inodoro, higroscópico, estable en ácidos, soluble en agua (20 g/100 mL) y poco en etanol; sus soluciones se vuelven rojas en condiciones alcalinas. En soluciones concentradas puede ser corrosivo para los metales. Algunas personas son muy susceptibles y pueden presentar reacciones alérgicas con el consumo de este colorante.



CUADRO 9.5 Principales colorantes sintéticos usados en México

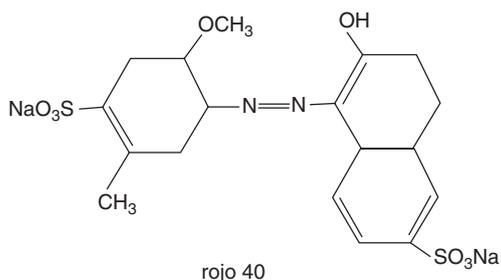
Colorante	Otro nombre	Color index	F.D.A	C.E.E.
Tartracina	Amarillo 5	19140	FD&C Yellow 5	E 102
Amarillo Sunset	Amarillo 6 Amarillo Ocaso	15985	FD&C Yellow 6	E 110
Rojo Punzo 4R	Rojo 6 Rojo Cochinilla	16255	-----	E 124
Rojo 40	Rojo Allura	16035	FD&C Red 40	---
Carmoisina	Azorrubina Rojo 5	14720	-----	E 122
Eritrosina	Rojo 14 Rojo 3	45430	FD&C Red 3	E 127
Azul Brillante FCF	Azul 1	42090	FD&C Blue 1	E 133
Azul Indigotina	Azul 2 Índigo Carmín	73015	FD&C Blue 2	E 132

El azul 1 o azul brillante, es un derivado del ácido trifenilmetano; polvo púrpura-café, con brillo metálico, higroscópico y estable en ácidos y a la luz; de máxima absorción a 630 nm, inestable con agentes reductores y anhídrido sulfuroso, muy soluble en agua (20 g/100 mL) y etanol, insoluble en grasas.

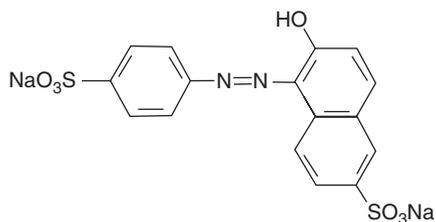


azul 1

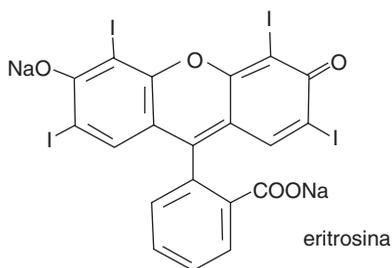
El rojo 40 es un polvo oscuro, estable a pH ácidos, soluble en agua (22 g/100 mL) y en etanol al 50%.



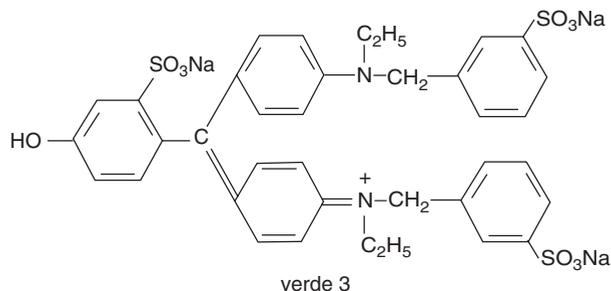
El amarillo 6 es la sal disódica del ácido 1-sulfofenilazo-2-naftol-6-sulfónico; polvo naranja, inodoro, higroscópico, máxima absorción 480 nm, soluble en agua (19 g/100 mL), estable en ácidos, sensible a los agentes reductores.



La eritrosina o rojo 3 o 14, es la sal sódica o potásica de la tetrayodofluoresceína; polvo rojo-café, máxima absorción a 524 nm, inestable en presencia de ácidos, luz y cobre, pero resiste las altas temperaturas; insoluble en grasas, pero soluble en agua (9 g/100 mL) y poco en etanol.



El verde 3 es un polvo verde oscuro o gránulos con lustre metálico, máxima absorción a 628 nm, estable en ácidos y soluble en agua (20 g/100 mL).



La solubilidad en agua de los colorantes es muy distinta y en ocasiones se requiere emplearlos como lacas, que son dispersiones del colorante en un sólido a base de derivados del aluminio de partícula muy pequeña; con esto se asegura su distribución en el alimento, proporcionando un color homogéneo y estable. También se emplean otros disolventes, principalmente algunos polioles, como glicerina o propilenglicol. Comercialmente, los colorantes se encuentran como líquidos, polvos, granulados, lacas y pastas.

9.15 CLARIFICANTES

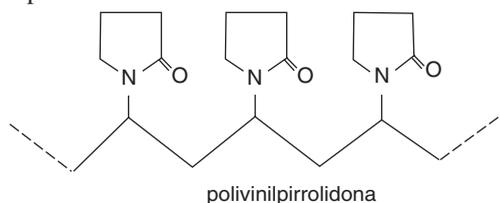
En la elaboración de productos líquidos, como cervezas, vinos y jugos de frutas y en la obtención de sacarosa, se llega a presentar una turbiedad que causa un aspecto desagradable y que debe eliminarse; esta situación es provocada principalmente por diversos sólidos poliméricos coloidales en suspensión, tales como proteínas, pectinas y polifenoles (taninos y antocianinas) que no se pueden eliminar por los métodos tradicionales de filtración. Por esta razón, los agentes clarificantes desempeñan un papel muy importante, destacando las enzimas pécticas y proteolíticas, las proteínas (p. ej., gelatina), el ácido tánico, la bentonita, la polivinilpirrolidona y las gomas.

Las pectinasas degradan las pectinas coloidales de los jugos de uva y de manzana y con esto llevan a cabo la clarificación; por otra parte, las enzimas proteolíticas de origen microbiano se emplean para eliminar las proteínas de la cerveza (capítulo 5).

Los otros agentes clarificantes actúan de manera distinta ya que dan lugar a complejos clarificante-coloide inestables que precipitan, como ocurre entre las proteínas y los taninos que se unen por puentes de hidrógeno; por esta razón, cuando la turbiedad proviene de polifenoles o de taninos, se utiliza una proteína (p. ej., gelatina) como clarificante; por lo contrario, cuando la turbiedad es causada por una proteína, se pueden emplear los taninos como agentes clarificantes, aun cuando ésta no es una práctica común.

La bentonita es una arcilla que forma suspensiones coloidales tixotrópicas, siendo su principal componente la montmorillonita o silicato de aluminio hidratado; está constituida por pequeñas partículas con una gran área específica por gramo que en su exterior llevan una carga eléctrica negativa y que, consecuentemente, pueden interactuar electrostáticamente con los grupos positivos de las proteínas; esta asociación provoca la formación de una macromolécula sin carga que precipita por carecer de mecanismos de estabilidad. Cuando la bentonita elimina proteínas, también lo hace paralelamente con los taninos, ya que éstos, a su vez, son arrastrados por los polipéptidos.

Por su parte, la polivinilpirrolidona es un homopolímero hidrófobo sintético derivado del polivinilo, de pm hasta 700,000, fabricado por la condensación de la vinilpirrolidona en presencia de agua y de amoníaco a altas temperaturas. Tiene una función semejante de acomplejante y precipitante de las proteínas y de los taninos; su uso es común en las industrias de la cerveza y del vino y también en la del azúcar, como paso previo a la cristalización del disacárido.



9.16 SUSTANCIAS PARA MASTICAR

Existen diversas sustancias que son la base de las gomas de mascar y que pueden ser de origen vegetal o sintético. Entre las primeras destacan las gomas provenientes de las familias *Sapotacea*, *Moraceae*, *Apocinaceae* y *Euphorbiciaes*; el chicle es el exudado seco de la corteza del árbol del chicozapote, compuesto por hidrocarburos y de xilanas altamente sustituidas con cadenas laterales de oligosacáridos. Por su parte, las diversas bases sintéticas son elastómeros que se producen por diferentes rutas a partir de algunos derivados del petróleo; por ejemplo, por polimerización del etileno, por hidrogenación de terpenos o por condensación del butadieno-estireno. Este último, conocido como SBR, es muy común aun cuando únicamente los de bajo contenido de sólidos se emplean para esta aplicación.

9.17 HUMECTANTES

Por definición, son compuestos destinados a prevenir la pérdida de humedad en los alimentos al retener el agua, destacando los polioles y distintos polímeros, como gomas, dextrinas y gelatinas. En el caso particular del pan, diversos emulsionantes interactúan con la amilosa provocando que no se lleve a cabo la retrogradación del almidón (capítulo 2) y la consecuente pérdida de agua; los mono y diglicéridos y algunos de sus derivados, al igual que el estearoil-2-lactilato de sodio son empleados con esta finalidad.

9.18 SUSTITUTOS DE GRASAS

Como se revisó en el capítulo 4, las grasas desempeñan diversas funciones en el organismo humano y algunos de sus constituyentes se consideran indispensables; el abuso en su consumo causa muchos problemas, sobre todo los relacionados con el sobre peso, como las enfermedades del corazón. Por esta razón, en el mercado existen diversos productos que pueden emplearse como sustitutos de las grasas y que en los últimos años han tenido gran demanda en algunos sectores de la población. Sin embargo, al sustituir una grasa es necesario considerar que ésta tiene una gran influencia en el alimento, ya que es parte integral de la textura, viscosidad, lubricación, etcétera, características de cada producto.²⁹

Los principales sustitutos de grasas están formulados a base de proteínas, de almidones, de gomas (hemicelulosa, celulosa, carragenina, pectinas, polidextrosa y otras), de mezclas de hidratos de carbono con proteínas y de triacilglicéridos modificados. Las proteínas y los hidratos de carbono metabolizables usados en estos aditivos generan 4 kcal/g (16.4 kJ/g) en lugar de 9 kcal/g (37.5 kJ/g) de las grasas.

El producto comercial llamado Simplese se fabrica mediante la formación de microesferas tan pequeñas que la lengua las percibe como un fluido en lugar de partículas individuales, que no se agregan y crean la sensación de cremosidad; para obtenerlo se parte de proteínas solubles de los concentrados del suero de la leche, de la clara de huevo o de la leche descremada, los cuales se someten a esfuerzos mecánicos para lograr el tamaño de partícula requerido. La gelatina es otra proteína que

cumple con algunos requisitos para un sustituto de grasa debido a su capacidad de formación de geles. En el comercio hay muchos otros productos basados en proteínas de diversos orígenes. Debido a su carácter proteínico, estos agentes se pueden desnaturalizar por las altas temperaturas, provocando que su uso se limite a ciertas aplicaciones.

Existen muchos sustitutos que están basados en hidratos de carbono, como las maltodextrinas de la papa o de la tapioca que forman un gel termo-reversible en una concentración de 15% o más, de textura cremosa y suave semejante a las grasas; el N-Oil es una marca comercial de estos productos. Los almidones modificados ricos en amilosa resisten altas temperaturas, ácidos y esfuerzos mecánicos, por lo que tienen muchas aplicaciones. La polidextrosa es un polímero condensado al azar de moléculas de glucosa con sorbitol y ácido cítrico, siendo Litesse una marca comercial muy conocida; debido a su estructura, no es totalmente metabolizable, produce solo 1 kcal/g y su gran estabilidad y versatilidad le permite tener muchas aplicaciones. La inulina, polímero lineal de fructosas unidas $\beta(2-1)$, encontrada en diversos vegetales, también se emplea con este fin, al igual que la oligofructosa, proveniente de una hidrólisis parcial de la primera y con una polimerización inferior a 10 moléculas. También existen derivados de las pectinas fabricados a partir de la cáscara de los cítricos y que forman geles en presencia de agua.⁷ Hay otros, aún no autorizados, basados en almidones enzimáticamente modificados. La celulosa microcristalina se aísla de la madera y del algodón, se ha usado desde hace tiempo como estabilizante y emulsionante y sus geles son tersos. También se ha propuesto la hemi-celulosa y la carboximetilcelulosa y sus derivados enzimáticamente modificados.

Otro grupo de sustitutos de grasas son los triacilglicéridos de cadena media que se fabrican con ácidos grasos de 2 a 12 átomos de carbono (acético, propiónico, butírico y otros) junto con ácidos grasos de cadena larga (palmítico, esteárico, behénico, etcétera); producen 10% menos de calorías que las grasas comunes debido a que, por peso, las cadenas cortas generan menos calorías que las largas. Son líquidos a temperatura ambiente, de baja viscosidad, muy estables a la oxidación y funcionan prácticamente igual que las grasas naturales. Existen diversos productos comerciales, tales como Caprenin y Salatrim.³⁷

Se han desarrollado muchos otros sustitutos de grasas que están aún en revisión por las autoridades sanitarias y que no han sido aprobados para consumo humano.

9.19 NUTRIMENTOS

La adición de nutrimentos a los alimentos se efectúa por las siguientes razones: *reconstitución*, para alcanzar el contenido original del alimento antes de su procesamiento; *estandarización*, para compensar la variación natural de nutrimentos; *enriquecimiento*, para incrementar la cantidad que normalmente está presente en un producto; y *fortificación*, para tener nutrimentos que generalmente no están presentes.⁸

Los más empleados son vitaminas, aminoácidos, proteínas, ácidos grasos y elementos químicos, y para que tengan efecto se añaden cuando: el consumo del nutrimento es bajo en la dieta de un número significativo de personas; el alimento base se consume en cantidades importantes para que contribuya en la población; la adición no provoca un desequilibrio de nutrimentos; el compuesto añadido es estable, inocuo y fisiológicamente disponible.

En el capítulo 6 se revisan las distintas vitaminas y varios de los elementos químicos que tradicionalmente se adicionan a los alimentos; igualmente se indican las formas comerciales y su estabilidad,

así como los problemas en que se incurre por un consumo excesivo de algunos de ellos. Entre los aminoácidos más comunes que se emplean están el clorhidrato de lisina y la metionina; hay que considerar que la lisina interviene fácilmente en reacciones de oscurecimiento no enzimático con azúcares reductores, por lo cual se puede destruir en alimentos sometidos a altas temperaturas. La metionina es inestable en presencia de ácido ascórbico y de riboflavina.

En la década de 1980 se inició el desarrollo de los llamados nutraceuticos o alimentos y bebidas funcionales; posteriormente aparecieron los prebióticos, probióticos y simbióticos. En general, son “alimentos y bebidas que apoyan o proveen beneficios a la salud, más allá de la nutrición básica”. Se considera que contribuyen a evitar problemas de osteoporosis, de cáncer, del corazón, del sistema inmunológico y de otras enfermedades. Este mercado ha crecido mucho en los últimos años y está basado en la adición de una gama amplia de sustancias a los alimentos y en el consumo de otros que contienen agentes activos. Se emplean sustancias como taurina, carnitina, isoflavonas, polifenoles, fibras solubles, bacterias probióticas, inulina, licopeno, cloruro de colina, ácidos grasos ω 3 y 6, proteína de soya, elementos químicos y otros. En muchos casos, su función benéfica ha sido demostrada solamente cuando se consume una cierta cantidad en un periodo determinado; en otros, esto no ha sido científicamente demostrado, por lo que es importante confirmar la veracidad de la información comercial; además, la concentración usada del agente activo puede ser tan pequeña que no ejerza efecto alguno con el consumo normal del producto.

9.20 SABORIZANTES, SABOREADORES O AROMATIZANTES

Debido a la enorme gama de saborizantes que existen, es prácticamente imposible en este texto referirse a todos los agentes, naturales y sintéticos, que se emplean para darle sabor a los alimentos. En el capítulo 8 se describen los mecanismos de percepción y los tipos de sabores que se conocen.

En esta categoría de aditivos pueden entrar sustancias muy conocidas, algunas de las cuales ya se trataron en este capítulo, como los potenciadores del sabor, los edulcorantes y los acidulantes; también existen los salinizantes (NaCl y KCl), los picantes (capsaicina) y los amargantes (quinina). El número de compuestos conocidos y registrados en asociaciones como la FEMA (Flavor and Extracts Manufacturers Association) es de varios miles e incluye los de origen vegetal, animal, provenientes de reacciones químicas controladas (p. ej., de Maillard) y los obtenidos por procesos biotecnológicos. La mayoría de ellos son aldehídos, cetonas, ácidos, hidrocarburos, ésteres, alcoholes, pirazinas y derivados azufrados.

Por definición, saboreador, saborizante o aromatizante es “la sustancia o mezcla de sustancias de origen natural, las idénticas a las naturales y las sintéticas artificiales, con o sin diluyentes, agregados o no de otros aditivos que se utilizan para proporcionar o intensificar el sabor o aroma de los productos”.⁶

En la legislación mexicana se aceptan 2,177 sustancias sintéticas idénticas a las naturales obtenidas por síntesis química y que son iguales a las ya identificadas como responsables de ciertos sabores. Con respecto a las sintéticas artificiales (386 compuestos aceptados), no se tiene referencia de que existan en la naturaleza como tal, pero confieren sabores y aromas muy específicos.

Para formular los sabores se acude a las 2,563 sustancias de los dos grupos antes mencionados de saborizantes permitidos, pero también a: *concentrados*, productos que contienen sustancias aromáticas artificiales, adicionadas o no de sustancias aromáticas naturales, jugos de frutas y aditivos;

aceites esenciales, líquidos oleosos volátiles obtenidos de las plantas (semillas, flores, raíces, hojas y frutos) por algún método físico de extracción; *oleorresinas*, producidas por extracción de las mismas partes de las plantas con disolventes orgánicos que posteriormente se eliminan por destilación; *esencias*, fabricadas al diluir los aceites esenciales en etanol o propilenglicol; *extractos*, provenientes de los vegetales por maceración, percolación, destilación y otros métodos para extraer los agentes saborizantes y aromatizantes activos.

Comercialmente, los saborizantes se encuentran como líquidos en muy diversos disolventes y en emulsiones, en polvos, como pastas, encapsulados en almidón y otros polímeros y también como gránulos. Para aplicarlos se debe tomar en cuenta su estabilidad ya que algunos de sus constituyentes son moléculas insaturadas, como los terpenos, que se oxidan; pueden interactuar con el material de empaque, con los propios constituyentes de los alimentos (reacción de Maillard) y también se llegan a destruir por las altas temperaturas de los procesos de fabricación.

9.21 OTROS ADITIVOS

Además de todos los aditivos antes mencionados, en el comercio existen otros compuestos que cumplen diversas funciones.

Los abrillantadores para confitería y chocolatería son emulsiones elaboradas con gomas (p. ej., arábica) y ceras, que le dan brillo y protegen estos productos de las altas humedades.

Los llamados encapsulantes son polímeros, como el almidón o gomas, que se emplean para encapsular enturbiantes, vitaminas, sabores, etcétera, mediante la elaboración de una emulsión que posteriormente se seca por aspersión.

Como su nombre lo indica, los aereantes son compuestos que, al reducir la tensión superficial, provocan la formación de espumas estables; en esta categoría se incluyen varias proteínas (leche, trigo, soya) adicionadas de mono y diglicéridos y de algunas gomas.

Los aglutinantes son polisacáridos que cumplen funciones de espesante y de estabilizante.

Los antisalpicantes, como la lecitina y los citroglicéridos, se añaden a las grasas emulsionadas (margarinas), para evitar que se esparzan al momento de calentarlas.

El alto contenido de ácidos acético y láctico de los aderezos y salsas provoca sabores fuertes que pueden ocultarse con los enmascaradores de notas ácidas; son productos provenientes de las levaduras y reducen el fuerte sabor ácido.

Además se tienen los enturbiantes (aceite vegetal bromado), los formadores de película, los li-gantes, los texturizantes, los endurecedores, los gasificantes para refrescos, que cumplen una función de conservador, los hidrolizantes y muchos otros aditivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abril, J.R., Stull, J. W., Taylor, R.R., Angus, R.C. y Daniel, T.C. 1982. "Characteristics of frozen desserts sweetened with xylitol and fructose", *J. Food Sci.*, 47:472.
2. Amerine, M.A., Kunkee, R.E., Ough, C.S., Singleton, V.L., y Webb, A.D. 1980. "Chemistry of fermentation and composition of wines", en *The Technology of Wine Making*, (4a ed.), The Avi Publishing Co., Westport, CT.

3. Anderson, M.E. y Marshall, R.T. 1989. "Interaction of concentration and temperature of acetic acid solution on reduction of various species of microorganisms of beef surfaces", *J. Food Protection*, 52(5):312-315.
4. Anónimo. 1984. "Hypersensitive reaction may be to free, not total sulfite levels", *Food Chemical News*, nov. pág. 191.
5. Anónimo. 1999. "Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios", *Diario Oficial de la Federación*, 9 de agosto, México, D.F.
6. Anónimo. 1999. "Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios", *Diario Oficial de la Federación*, 15 de diciembre, México, D.F.
7. Artz, W.E. y Hansen, S.L. 1994. "Other fat substitutes", en *Carbohydrate Polyesters as Fat Substitutes*, Ed. C.C. Akoh y B.G. Swanson, Marcel Dekker, Nueva York, págs. 197-236.
8. Augustin, J. y Scarbrough, F.E. 1990. "Nutritional Additives", en *Food Additives*, Ed. L. Branen, P.M. Davidson y Salminen, S., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, págs. 33-81.
9. Bell, R.G. y DeLacy, K.M. 1987. "The efficacy of nisin, sorbic acid and monolaurine as preservatives in pasteurized cured meat products", *Food Microbiol.*, 4:277-283.
10. Benkerroum, N. y Sandine, W.E. 1988. "Inhibitory action of nisin against *Listeria monocytogenes*. *J. Dairy Sci.*, 71:3237-3245.
11. Beuchat, L.R. y Golden, D.A. 1989. "Antimicrobials occurring naturally in foods", *Food Technol.* Enero, págs. 134-142.
12. Blocher, J.C. Busta, F.F. y Sofos, J.N. 1982. "Influence of potassium sorbate and pH on ten strains of type A and B *Clostridium botulinum*", *J. Food Sci.*, 47:2028.
13. Chichester, D.F. y Tanner, F.W. 1972. "Antimicrobial food additives", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland.
14. Cioletti, L.J., Gilliland, S.E., y Henrickson R.L. 1982. "Acetic acid, formic acid and potassium sorbate as preservatives for short term storage of bovine hides", *J. Food Sci.*, 47:1793.
15. Davidson, P.M. y Parish, M.E. 1989. "Methods for testing the efficacy of food antimicrobials", *Food Technol.*, enero, págs. 148-155.
16. Deans, S.G. y Ritchie, G. 1987. "Antibacterial properties of plant essential oils", *Int. J. Food Microbiol.*, 5:165-180.
17. Deshapande, S.S., Salunkhe, D.K. y Deshapande, U.S. 1993. "Food Acidulants", en *Food Additives Toxicology*, Ed. J.A. Maga y T.T. Anthony, Marcel Dekker, Nueva York, págs. 13-14.
18. El-Shenawy, M.A. y Marth, E.H. 1989. "Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence of sodium propionate", *Int. J. Food Microbiol.*, 8:85-94.
19. Ellinger, R.H. 1972. "Phosphates in food processing", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E., Furia, CRC Press, Cleveland.
20. Froehlich, D.A., Gullett, E.A. y Osborne, W.R. 1983. "Effect of nitrite and salt on the color, flavor and overall acceptability of ham", *J. Food Sci.*, 48:152.
21. Furia, T.E. 1972. "Sequestrants in food", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia CRC Press, Cleveland.
22. Goddard, S.J. y B.L. Wedzicha. 1992. "Kinetics of the reaction of sorbic acid with sulphite species", *Food Additives Contam.*, 9:485-492.
23. Griffin, W.C. y Lynch, M.J. 1972 "Surface active agents", en *Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland.
24. Haddon, W.F., Mancini, M.L., McLaren, M., Effio, A., Harden, L.A., Degre, R.L. y Bradford, J.L. 1994. "Occurrence of ethyl carbamate (urethane) in U.S. and Canadian breads", *Cereal Chem.*, 71:297-315.
25. Ishii, H. y Koshimizu, T., 1981. "Toxicity of aspartame and its diketopiperazine for Wistar rats by dietary administration for 104 weeks", *Toxicology*, 21:91.
26. Kim, H.J., y Kim Y.K. 1986. "Analysis of free and total sulfites in food by ion chromatography with electrochemical detection", *J. Food Sci.*, 51:1360.

27. King, A.D., Ponting, J.D., Sanshuck, D.W., Jackson, R. y Mihara, K. 1981. "Factors affecting death of yeast by sulfur dioxide", *J. Food Protection*, 44:92.
28. Kumar, T.N., Sastry, Y.S.R. y Lakshiminarayama, G. 1989. "Preparation and surfactant properties of diglycerol esters of fatty acids", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66:153-157.
29. Lucca, P.A. y Tepper, B.J. 1994. "Fat replacers and the functionality of fat in foods", *Trends Food Sci. Technol.*, 5:12-19.
30. Manley, D.J.R. 1983. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*, Ellis Horwood Ltd. Publishers, Chichester.
31. Marcy, J.A., Kraft, A.A., Hotchkiss, D.K., Molins, R.A., Olson, D.G., Walker, H.W. y Merkenich, K. 1988. "Effects of selected commercial phosphate products on the natural bacterial flora of a cooked meat system", *J. Food Sci.*, 53:391-393.
32. Nguyen T.T., y Sporns, P. 1985. "Decomposition of flavor enhancers, monosodium glutamate, inosine-5'-monophosphate and guanosine-5'-monophosphate during canning", *J. Food Sci.*, 50:812.
33. Parra, J.L., Guinea, J., Manresa, M.A., Robert, M., Mercade, M.E., Comelles, F. y Bosch, M.P. 1989. "Chemical characterization and physicochemical behavior of biosurfactants", *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66:141-145.
34. Prudel, M. Davidek, J., y Kminek, M. 1986. "Kinetics of decomposition of aspartame hydrochloride (Usal) in aqueous solutions", *J. Food Sci.*, 51:1393.
35. Robach, M.C. 1980. "Use of preservatives to control microorganisms in foods", *Food Technol.*, 34(10):81.
36. Roberts, R.F. y Torrey, G.S. 1988. "Inhibition of psychotropic bacterial growth in refrigerated milk by addition of carbon dioxide", *J. Dairy Sci.*, 71:52-60.
37. Smith, R.E., Finley, J.W. y Leveille, G.A. 1994. "Overview of Salatrim, a family of low-calorie fats", *J. Agric. Food Chem.*, 42:432-434.
38. Sofos, J.N. 1986. "Antimicrobial activity and functionality of reduced sodium chloride and potassium sorbate in uncured poultry products", *J. Food Sci.*, 51:16.
39. Sofos, J.N. 1993. "Antimicrobial agents", en *Food Additives Toxicology*, Ed. J.A. Maga y T.T. Anthony, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, págs. 501-529.
40. Stamp, J.A. y Labuza, T.P. 1983. "Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures", *J. Food Sci.*, 48:543.
41. Stauffer, C.E. 1983. "Dough conditioners", *Cereal Foods World*, 28:729-730.
42. To, E.C. y Robach, M.C. 1980. "Potassium sorbate dip as a method of extending shelf life and inhibiting the growth of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* on fresh, whole broilers", *Poultry Sci.*, 59:726.
43. Tornout, P.V., Pelgroms, J. y Van der Meeren. 1985. "Sweetness evaluation of mixtures of fructose with saccharin, aspartame or acesulfame K", *J. Food Sci.*, 50:469.
44. Tsai, W.Y.J., Shao, K.P.P., y Bullerman L.B. 1984. "Effects of sorbate and propionate on growth and aflatoxin production of sublethally injured *Aspergillus parasiticus*", *J. Food Sci.*, 49:86.
45. Valle Vega, P. 1986. *Toxicología de alimentos*. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Mundial de la Salud, Metepec, México.
46. Vickers, Z.M. 1983. "Pleasantness of food sounds", *J. Food Sci.*, 48:783.
47. Wedzicha, B.L. 1984. *Chemistry of Sulphur Dioxide in Foods*. Elsevier Applied Science Publishers, Nueva York.
48. Zaika, L.L. 1988, "Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination", *J. Food Safety*, 9:97-118.

10

Estado de dispersión

- 10.1 Introducción
- 10.2 Clasificación de los coloides
- 10.3 Estabilidad de los coloides
- 10.4 Soles
- 10.5 Geles
- 10.6 Espumas
- 10.7 Emulsiones
- Referencias bibliográficas



10.1 INTRODUCCIÓN

La estructura de los alimentos está definida por el acomodo a niveles micro y macroscópicos de sus diversos constituyentes. Su grado de organización y estabilidad depende del nivel de cohesión entre sus componentes, así como de las fuerzas físicas y químicas que intervienen. A pesar de la complejidad estructural y la heterogeneidad de los alimentos, casi todos pueden clasificarse en dos grandes categorías: 1) tejidos celulares intactos, y 2) dispersiones, también llamadas coloides.

En el primer caso, las células, animales o vegetales, están unidas entre sí por medio de membranas y/o agentes ligantes. Por ejemplo, un músculo tiene como unidad estructural a la célula muscular o fibra muscular individual. Esta célula está constituida por grupos de fibrillas proteicas paralelas, formadas por miosina y actina. Cada fibrilla está rodeada por tejido conjuntivo que forma una capa denominada endomisio y, a su vez,

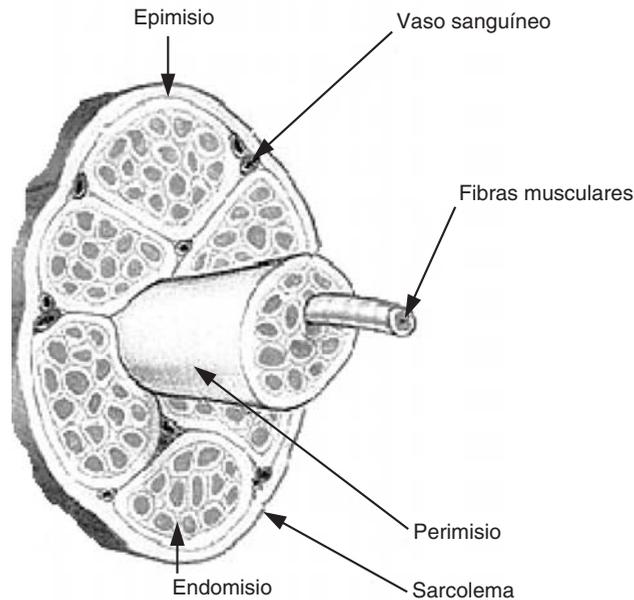


Figura 10.1 Diagrama del corte transversal de una fibra muscular.

cada grupo de fibrillas está rodeado por otra capa de tejido conjuntivo (perimisio). Todos los grupos de fibrillas están unidos por otra capa de tejido conjuntivo llamado epimisio y, por último, la célula tiene una membrana externa (sarcolema) que da la forma y estructura de la fibra muscular (figura 10.1).

Una dispersión o coloide es un sistema de multifases no homogéneas en equilibrio. Específicamente un coloide consta de una o más fases dispersas o discontinuas, llamadas *micelas*, contenidas en una fase continua. No llegan a formar una solución verdadera en la que se tenga una sola fase homogénea. Las propiedades de una dispersión o coloide son diferentes a las que presentan los componentes de cada fase por separado o en una solución verdadera. Un criterio importante para definir un sistema coloidal es el tamaño de las partículas de la fase dispersa o micelas. Se considera que las partículas coloidales están en un rango de tamaño de 10^{-9} m (1 nm) hasta 10^{-6} m ($1 \mu\text{m}$ o μ). Las soluciones verdaderas tienen partículas con un tamaño menor a 1 nm. Las dispersiones gruesas (partículas separables por sedimentación o filtración ordinaria) tienen un tamaño de partícula mayor a 100 nm ($0.1 \mu\text{m}$). La amplitud del rango del tamaño de partículas que forman coloides se debe al medio o fase continua en la que se encuentran dispersas. Sin embargo, este tamaño es lo suficientemente pequeño para evitar que los coloides sean separados en sus fases componentes por medio de filtración o por precipitación debida a la acción gravitatoria. Otra característica importante de los coloides es que las partículas no se difunden a través de membranas semipermeables y, en consecuencia, no presentan presión osmótica o bien, es de un valor muy bajo. Por el contrario, las soluciones verdaderas se difunden a través de dichas membranas, por lo que sí se registra presión osmótica.

Todos los coloides poseen una carga eléctrica que puede ser positiva o negativa. La carga de las micelas en un coloide es del mismo signo y por lo tanto tienden a repelerse unas a otras, lo que evita su agregación y facilita que se mantengan en suspensión y distribuidas de una manera casi uniforme

en la fase dispersante o continua. La unión de las partículas de la fase dispersa se denomina *coalescencia*.

Es importante indicar que incluso los tejidos celulares intactos pueden alterarse durante su procesamiento, por adición de otras sustancias y/o por medio de agentes físicos para pasar al estado disperso y formar coloides.

10.2 CLASIFICACIÓN DE LOS COLOIDES

Los coloides se clasifican de dos maneras: (1) Con base en la afinidad entre las partículas de las fases que integran al coloide, y (2) por el estado físico de los componentes de la dispersión coloidal.

La primera clasificación considera la afinidad de las superficies de las partículas de la fase dispersa con las partículas de la fase dispersante. Todos los coloides se caracterizan por presentar al menos dos fases que interactúan según sus propiedades superficiales, por ejemplo, adsorción y efectos de doble capa eléctrica, las cuales definen las propiedades físicas del sistema coloidal como un todo. La química de superficies es una parte importante del estudio de los coloides y sus propiedades.¹

Con respecto a la afinidad de las fases, los coloides se denominan *liofílicos* (que tienen afinidad por el líquido dispersante) y *liofóbicos* (que repelen al líquido dispersante). Si la fase continua o líquido dispersante es agua, se utilizan los términos *hidrofílico* e *hidrofóbico*. La característica común de ambos coloides es que las micelas se mantienen en suspensión por interacciones electrostáticas con las partículas de la fase dispersante.

En general, los coloides liofílicos están constituidos por moléculas grandes que contienen, como parte de su estructura química, grupos funcionales que pueden formar enlaces electrostáticos con las moléculas de la fase dispersante. Por ejemplo, las proteínas hidrosolubles pueden formar coloides en agua debido a la formación de puentes de hidrógeno, como ilustra la figura 10.2. El puente de hidrógeno permite a la molécula de la fase dispersa solvatare, es decir, rodearse de las partículas de la fase dispersante y, a la vez, permite que la molécula permanezca en dispersión sin precipitarse, ya que no puede agruparse con otras moléculas.

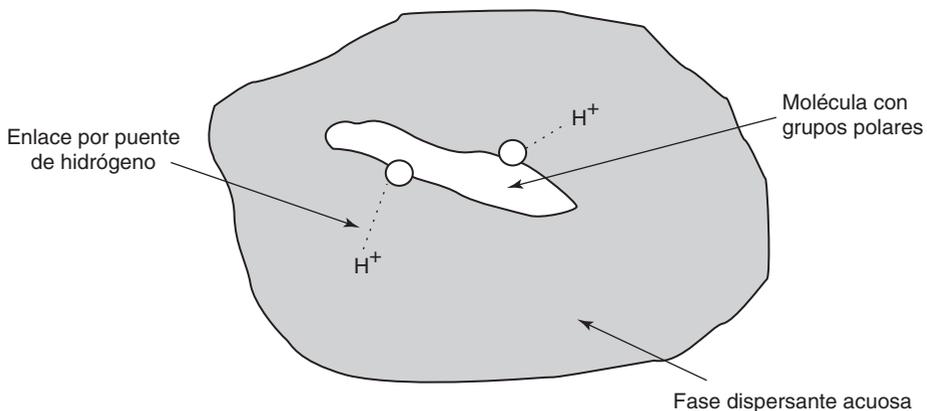


Figura 10.2 Ilustración de interacciones electrostáticas en un coloide liofílico.

En los coloides liofóbicos las interacciones electrostáticas entre las partículas de las fases dispersa y dispersante se deben a atracciones entre cargas opuestas que mantienen la estabilidad de la dispersión. La fase dispersa se rodea en su superficie externa de una capa de carga opuesta a la de la fase dispersante (figura 10.3). La teoría de Helmholtz-Gouy de la doble capa² explica la relación de cargas opuestas entre las fases dispersa y dispersante. De acuerdo con esta teoría, la capa interna de la micela o partícula dispersa se cubre con una capa de cargas eléctricas iguales, que es posible gracias a que en la parte externa de la misma micela se alinea un número idéntico de cargas pero de signo opuesto. Por lo tanto, la carga neta que rodea a una micela es cero (figura 10.4). En la micela, la capa de cargas o iones que se adhiere a su pared se encuentra inmóvil, mientras que en la fase dispersante las cargas presentes, tanto las alineadas como las difusas en su cercanía, se mueven en función directa de la distancia a la pared de la micela, es decir, a mayor distancia mayor movilidad. La caída de potencial que se observa desde la superficie de la micela hasta la fase dispersa a través de las capas cargadas, ha recibido el nombre de potencial épsilon (ϵ). El potencial entre la capa de cargas inmóviles de la micela y las capas móviles de carga de la fase dispersante recibe el nombre de potencial electrocinético o potencial zeta (ζ). Este potencial zeta es de primordial importancia para definir varias de las propiedades de los coloides y, en particular, su estabilidad. Cuando el potencial ζ disminuye por la adición de electrólitos al coloide ocurre un colapso de la doble capa de cargas, lo que permite que las partículas de la fase dispersa se agreguen y formen partículas inestables que precipitan. Cada coloide liofóbico tiene un potencial ζ particular, que es función, entre otros factores, de la valencia, concentración y tamaño de los iones (cargas) de cada fase.

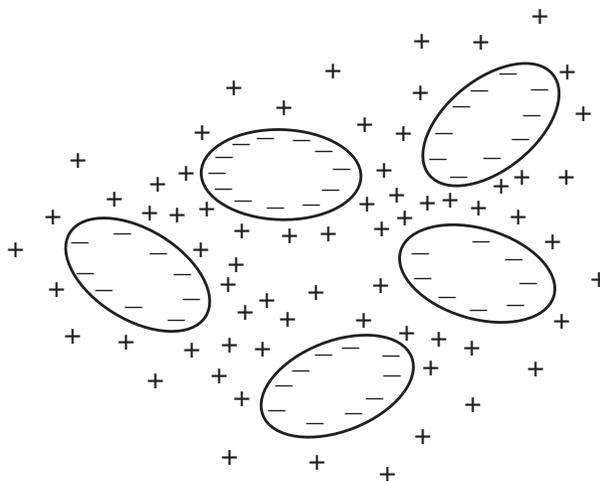


Figura 10.3 Interacciones electrostáticas en un coloide liofóbico.

La segunda clasificación de los coloides se basa en las características físicas de cada una de las fases. Para sistemas de dos fases no miscibles, los coloides se han clasificado en ocho categorías, como muestra el cuadro 10.1; también se presentan algunos ejemplos de alimentos coloidales. Cabe aclarar que en algunos casos, dada la heterogeneidad natural de los alimentos, los ejemplos mostrados no son coloides estrictos, ya que pueden contener más de dos fases y/o tipos de partículas con ta-

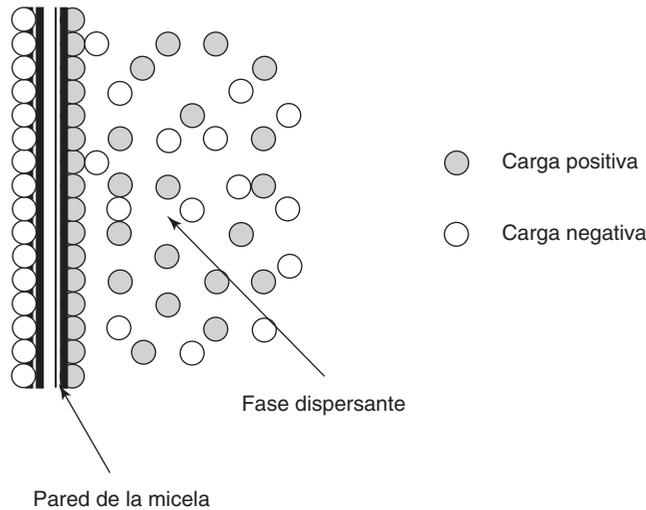


Figura 10.4 Representación esquemática de la doble capa.

maños mayores o menores a los coloidales (ejemplo la leche), pero para su análisis es útil considerar a estos alimentos como coloides simples.³

Los siete primeros tipos de coloides son importantes en la industria de alimentos y cubren una amplia gama de productos. Sin embargo, por su interés químico sobresalen las espumas sólidas, los soles y las emulsiones, por lo que se enfatizarán en este capítulo.

Además, un sistema de interés en la química de alimentos son los geles. Un gel es un cuerpo semisólido con diferentes grados de elasticidad y firmeza, que consiste en una malla tridimensional de partículas o macromoléculas interconectadas que atrapan e inmovilizan en su interior la fase conti-

CUADRO 10.1 Clasificación de sistemas coloidales de dos fases

<i>Fase dispersa</i>	<i>Fase dispersante</i>	<i>Nombre</i>	<i>Ejemplos</i>
Sólido	Sólido	Sol sólido	Dulces y caramelos
Líquido	Sólido	Emulsión sólida	Mantequilla, margarina, chocolate (el agua es la fase dispersa)
Gas	Sólido	Espuma sólida	Algodón de azúcar, helados, miga de pan
Sólido	Líquido	Sol	Suero de leche, soluciones de proteínas, leche descremada
Líquido	Líquido	Emulsión	Leche, aderezo para ensalada, mayonesa, crema
Gas	Líquido	Espuma	Crema batida, espuma de cerveza, merengues
Sólido	Gas	Aerosol sólido	Humo para saborizado de alimentos, leche en polvo secada por atomización
Líquido	Gas	Aerosol líquido	Nieblas

na, generalmente agua. La estructura tramada de los geles forma muchos puntos de contacto entre las partículas, por lo que la rigidez del gel es función del número y de la fuerza de unión interpartículas que se presenta. Posteriormente se presentarán más características de los geles.

10.3 ESTABILIDAD DE LOS COLOIDES

Con el propósito de comprender mejor la aplicación de los coloides en la industria de alimentos, es esencial entender los mecanismos y factores básicos que definen su estabilidad.

La estabilidad de un sistema cualquiera se define en términos termodinámicos. Se establece que si un sistema se mantiene a temperatura constante, éste tenderá a cambiar espontáneamente en la dirección que permita disminuir su energía libre de Gibbs.⁴ Las dispersiones coloidales presentan un estado de mayor energía libre que sus fases integrantes por separado; de ahí que su tendencia termodinámica sea moverse espontáneamente hacia un estado de menor energía, lo que ocasiona la coalescencia de la fase dispersa y rompe el estado coloidal. Sin embargo, esto no ocurre debido a que se presentan barreras energéticas que mantienen la interacción de las fases dispersa y dispersante sin alteración significativa. La presencia de tales barreras convierte al coloide en un sistema *metaestable* y puede permanecer así por largos periodos. Por otro lado, si se crean las condiciones apropiadas que permitan disminuir la barrera energética a un valor suficientemente pequeño, entonces el coloide se vuelve inestable y sus fases se separan con facilidad. Por lo anterior, es de vital importancia para la preparación y mantenimiento de los coloides, comprender los factores que permiten crear barreras energéticas contra la tendencia termodinámica natural, y así prevenir el rompimiento del estado coloidal. Estas barreras pueden ser de naturaleza eléctrica y/o mecánica, según el sistema coloidal de que se trate.

Los fenómenos superficiales que se presentan en la frontera de las fases dispersa y dispersante son importantes, ya que determinan la estabilidad de un coloide. En general, se denomina *superficie* al borde entre una fase líquida y una fase de gas, mientras que el término *interfase* se emplea para las otras posibles combinaciones de fases mostradas en el cuadro 10.1. Tanto en una superficie como en una interfase, un coloide tiende a disminuir el número de moléculas presentes y, como consecuencia, el área superficial o interfase se reduce al mínimo. Las fuerzas que causan esta reducción en área se denominan tensión superficial o tensión interfacial, respectivamente. Estas fuerzas ocasionan que las moléculas del borde tiendan a pasar al interior, con lo cual la superficie tenderá a contraerse. Esto explica por qué las gotas de líquidos y las burbujas de gas tienden a tomar una forma esférica.⁵ Las atracciones intermoleculares responsables de las tensiones superficiales e interfaciales involucran enlaces de hidrógeno y fuerzas atractivas de Van der Waals. Cuando la fase dispersante es de tipo polar, como es el caso del agua, ambas fuerzas son importantes, mientras que con materiales no polares, como en el caso de lípidos, sólo las fuerzas de Van der Waals se presentan.

Cuando dos materiales no miscibles entre sí son puestos en contacto, sólo será posible formar un coloide si se logra disminuir la tensión superficial entre ambos. Éste es el principio que permite la formación de numerosas emulsiones alimenticias en las que participan el agua y el aceite. La formación de una emulsión coloidal estable entre agua y aceite se logra si la tensión superficial se disminuye por debajo de las 10 dina/cm. Esto último no siempre es posible de manera natural al mezclar las dos fases, y es necesario adicionar un tercer agente externo, llamado emulsificante, que por sus propiedades químico-estructurales permite, junto con otra serie de mecanismos que se presentarán

posteriormente, disminuir la tensión interfacial y estabilizar la emulsión resultante. Por ejemplo, al mezclar agua pura y aceite de oliva a 25°C la tensión interfacial entre ambos es de 17.6 dina/cm (sus valores como sustancias puras son 72 dina/cm y 33 dina/cm, respectivamente) y sólo mediante la adición de un emulsificante específico se logra preparar una emulsión estable con una tensión interfacial de menos de 10 dina/cm.⁶

Además, en el caso de los coloides liofóbicos, la barrera energética que favorece la estabilidad usualmente se origina por la repulsión eléctrica que presentan las partículas de carga idéntica que evita su agregación. La energía potencial de repulsión depende de la magnitud de la carga, de su distribución y de la atmósfera iónica que rodea a las partículas. Para coloides liofílicos, la barrera energética estabilizante además de depender del factor eléctrico de las partículas, es función de un factor mecánico debido a su hidratación o solvatación, característica propia de este tipo de coloides.⁷ En general, al aumentar la hidratación de las partículas, aumenta la estabilidad de un coloide liofílico. Debido a la combinación de los factores eléctricos y mecánicos, los coloides liofílicos son más estables que los liofóbicos. Si se adiciona una pequeña cantidad de un coloide liofílico a un liofóbico, este último se vuelve mucho más estable. Un coloide empleado de esta manera recibe el nombre de coloide protector.

10.4 SOLES

Un sistema coloidal muy común en los alimentos es el formado por una fase dispersa sólida en una fase dispersante líquida, al que se denomina sol (cuadro 10.1). En general, las partículas de la fase dispersa están constituidas por grandes macromoléculas tales como proteínas, polisacáridos y lípidos. En la industria de alimentos son mucho más comunes los soles de tipo liofílico, como por ejemplo dispersiones simples de gomas, proteínas o pectinas, o bien dispersiones más complejas formadas por una fase dispersa de agregados o grupos de moléculas (micelas) dentro de una fase dispersante, como en el caso de la leche descremada o la yema de huevo. Los soles de tipo liofóbico son raros en la industria de alimentos.

La preparación de soles alimenticios puede realizarse de dos maneras diferentes. Ya sea que se requiera aumentar el tamaño de partícula de la fase dispersante o, por el contrario, disminuir su tamaño. El aumento se logra por medio de agregación de las moléculas de una manera controlada para garantizar que se obtenga el tamaño, forma y distribución de partículas requeridos para ser suspendidas en la fase dispersante y formar un sol estable. Precipitación isoeléctrica, cristalización y desnaturalización térmica de proteínas son ejemplos de procesos de agregación. Cuando las partículas son grandes, una disminución en tamaño que asegure su dispersión, puede lograrse por varios métodos. Al proceso de reducción se le conoce genéricamente como peptización. La peptización puede lograrse por: 1) adición de agentes tales como ácidos, bases, enzimas o sales. Por ejemplo, la albúmina de huevo coagulada puede ser tratada con pepsina ácida para que una fracción de la clara forme un sol coloidal; 2) métodos eléctricos que alteran la distribución y número de cargas; 3) aplicación de calor; 4) remover agentes floculantes para separar complejos macromoleculares a partículas de menor peso molecular; o 5) empleo de medios mecánicos tales como molienda, trituración y/o picado, como por ejemplo la preparación de soles cárnicos al solubilizar las proteínas en disoluciones salinas por medios mecánicos, como un paso previo para obtener productos gelificados en algunos tipos de embutidos.

Una característica relevante de los soles es su capacidad para pasar al estado de gel, un sistema muy común en los alimentos. En algunos casos, los soles pueden pasar al estado de gel por simple

enfriamiento o por mantenerse sin alteración por un periodo corto de tiempo. Por ejemplo, una dispersión proteica de gelatina al 2% (sol) puede pasar al estado sólido (gel) en 30 minutos a 15°C. En otros casos, el mecanismo de gelificación requiere de otros agentes externos más complejos, como se describirá posteriormente para los geles.

El uso de soles en la industria de alimentos es muy diverso. Se emplean de manera importante como agentes espesantes que contribuyen a la viscosidad de los alimentos en estado líquido, como por ejemplo los soles de almidón, pectina, gomas y proteínas utilizados en aderezos para ensalada, sopas, bebidas, etcétera. Estos mismos soles al gelificar actúan como agentes estructurales en los alimentos sólidos, ya que añaden firmeza y elasticidad al producto final, como en el caso de embutidos, rellenos para pastelillos, jaleas, huevo cocido, etcétera.

10.4.1 Propiedades reológicas de los soles

La reología es la ciencia que estudia el flujo y la deformación de los materiales bajo la acción de una fuerza. En el caso de los soles y otros coloides fluidos, al aplicar una fuerza se obtiene un flujo o deformación por unidad de tiempo. La resistencia del sol al flujo se define como viscosidad. La unidad de viscosidad absoluta es el poise, que es la fuerza tangencial requerida para mantener una velocidad de 1 cm/s de un fluido colocado entre dos planos paralelos con un área de 1 cm² y separados por una distancia de 1 cm. Así, 1 poise es igual a 1 g/cm·s; en sistemas poco viscosos, tales como el agua, se emplea el centipoise (cp). La fuerza tangencial por unidad de área se define como esfuerzo cortante (τ). Al aplicar un esfuerzo cortante a un fluido, se presentará una distribución de velocidades que disminuye su valor conforme se aleja del plano de aplicación del esfuerzo. El cambio de velocidad en función de la distancia de aplicación del esfuerzo cortante se define como la tasa o velocidad de corte (dv/dy). Si para un fluido la relación entre esfuerzo y tasa de corte es directamente proporcional, se tiene un comportamiento ideal conocido como “newtoniano”, es decir, obedecen la Ley de Newton de la viscosidad, que se expresa como:

$$\tau = \eta \left(\frac{dv}{dy} \right)$$

donde:

τ = Esfuerzo cortante (N/m² o Pa)

η = Coeficiente de viscosidad (Pa·s)

$\left(\frac{dv}{dy} \right)$ = Tasa o velocidad de corte (1/s)

A temperatura constante, un fluido newtoniano presenta el mismo valor de coeficiente de viscosidad (o simplemente viscosidad), independientemente del nivel de esfuerzo o tasa de corte que se le aplique. Sin embargo, muy pocos fluidos alimenticios presentan un comportamiento newtoniano. Soles hidrofílicos muy diluidos (como la leche descremada) o con moléculas iguales de bajo peso molecular (miel de abeja pura), se acercan al comportamiento newtoniano.

La mayoría de los soles alimenticios presentan desviaciones marcadas del comportamiento ideal y, por lo tanto, su viscosidad cambia al aplicar diversos valores de esfuerzo y/o tasa de corte, y presentan un comportamiento no-lineal entre estos dos parámetros, como ilustra la figura 10.5

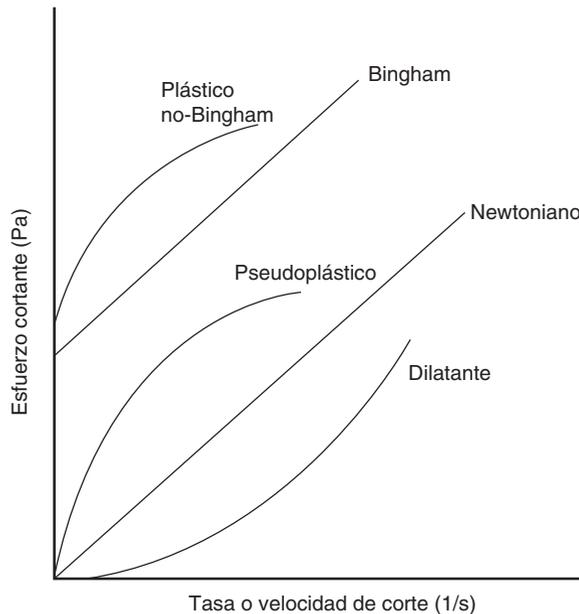


Figura 10.5 Comportamiento reológico de los fluidos.

Los fluidos no-newtonianos han sido denominados “pseudoplásticos”, “dilatantes” y “plásticos”. Estos últimos se subdividen en Bingham o lineales y no-Bingham o exponenciales. Los soles pseudoplásticos y dilatantes muestran flujo al aplicar cualquier valor de esfuerzo cortante, mientras que los fluidos plásticos requieren un valor inicial finito de esfuerzo (esfuerzo de umbral o cesión, τ_0) antes de que presenten flujo. En los soles pseudoplásticos y plásticos no-Bingham se presenta una disminución de la viscosidad conforme aumenta la tasa de corte; en los dilatantes, la viscosidad aumenta al aumentar la tasa de corte; y los plásticos de Bingham presentan una viscosidad constante una vez que se logra el flujo.

El comportamiento pseudoplástico es el más común en los soles alimenticios. Ejemplos de estos soles son dispersiones de gomas, pastas proteicas diluidas, dispersiones de pectinas, suero de leche y aderezos para ensalada. Los soles hidrofílicos concentrados, tales como salsa *catsup*, purés de frutas, pastas proteicas concentradas, masa de gluten y masa de maíz, presentan un flujo plástico no-Bingham. El comportamiento dilatante, aunque no muy común, se ha observado en dispersiones de almidón en agua. El flujo plástico Bingham no es común en soles alimenticios. La desviación de la idealidad de estos fluidos se atribuye a 1) la naturaleza de la superficie de las partículas, 2) tamaño, forma y distribución de las partículas, 3) peso molecular de las partículas, y 4) volumen de la fase dispersante.

Existen varias ecuaciones y modelos propuestos para analizar a los fluidos no-newtonianos.⁸ El modelo más aceptado y utilizado es el modelo de la Ley de la Potencia cuya ecuación es:

$$\tau = \kappa \left(\frac{dv}{dy} \right)^n$$

donde:

τ = Esfuerzo cortante (N/m² o Pa)

κ = Coeficiente de consistencia (Pa-s)ⁿ

$\left(\frac{dv}{dy}\right)$ = Tasa o velocidad de corte (1/s)

n = Índice de flujo (adimensional)

Esta ecuación se aplica en forma logarítmica y necesita al menos dos mediciones experimentales en las que se apliquen diferentes tasas de corte y/o esfuerzos cortantes, y por medio de una regresión lineal se obtiene de la pendiente el índice de flujo, y del intercepto al origen se obtiene el coeficiente de consistencia. Este último parámetro es una representación de la viscosidad del fluido y su valor es válido sólo en el rango de las tasas de corte aplicadas y no puede ser extrapolado fuera de estos valores. El índice de flujo (n) es una representación del comportamiento del sol de acuerdo con su valor, como se indica a continuación:

$n < 1$, flujo pseudoplástico o plástico no-Bingham cuando hay τ_0 .

$n = 1$ flujo newtoniano o plástico Bingham cuando hay τ_0 .

$n > 1$ flujo dilatante.

La viscosidad de soles se obtiene experimentalmente aplicando un valor constante ya sea de esfuerzo o tasa de corte y midiendo el valor del parámetro no constante. Uno de los instrumentos más utilizados a nivel mundial es el viscosímetro de Brookfield. Este instrumento funciona al hacer girar a una velocidad definida (tasa de corte constante) un disco intercambiable, disponible con diversas geometrías, sumergido en el fluido de estudio, y la fuerza tangencial se registra por medio de un resorte que se deforma en función de la resistencia al flujo. El fluido que rodea al disco tendrá la mayor velocidad de giro y ésta disminuirá hasta un valor mínimo (que puede ser cero) en los bordes del recipiente que contiene el fluido. La tasa de corte se define en función de la distancia radial a partir del disco, como (dv/dr). Si el fluido es newtoniano, sólo se requiere una medición a cualquier velocidad de giro y con cualquier geometría de disco que proporcione una lectura adecuada. Sin embargo, si el fluido no es newtoniano, el aparato proporcionará una viscosidad puntual o aparente, que sólo es reproducible bajo condiciones idénticas, pero no representa la viscosidad absoluta del fluido. Un error muy común es medir la viscosidad puntual o aparente de soles alimenticios no-newtonianos y considerar este valor como si fuera constante sobre cualquier rango de esfuerzos o tasas de corte.

10.5 GELES

Aunque los geles no son estrictamente dispersiones coloidales, tienen mucha importancia en la industria de alimentos por sus características, y se estudian en este capítulo por ser comúnmente el resultado de la solidificación de un sol. Un gel, como se describió anteriormente, es una matriz o red de macromoléculas interconectadas que atrapan e inmovilizan a la fase líquida en sus espacios. Los geles presentan varios grados de rigidez y elasticidad, y muestran estructuras semisólidas y sólidas.

El mecanismo de conversión de sol a gel no está del todo claro, por lo que se han propuesto numerosas teorías y modelos. Lo importante es que el gel resultante presenta un estado sólido o semisólido al inmovilizar la fase dispersante del sol inicial. Las cantidades relativas de fase dispersa y dispersante en un sol que dan origen a un gel varían ampliamente. Por lo general, la fase dispersante (líquido) está en mayor concentración y aún así, cuando se obtiene el gel, se inmoviliza y la estructura final tiene cierto grado de rigidez y elasticidad. Por ejemplo, los geles de agar-agar son estructuras sólidas y elásticas con un contenido de agua que puede ser de hasta 99.9%.⁶

Algunos geles pueden ser fundidos, es decir, retornados a una dispersión tipo sol, gracias a la adición o eliminación de energía térmica, y se les ha designado como *termorreversibles*. Por lo general en estos geles los enlaces que mantienen la estructura tridimensional son de tipo puente de hidrógeno y de Van der Waals. La gelatina o los geles de agar son ejemplos de geles termorreversibles que pueden pasar del estado sólido al líquido mediante un calentamiento. Cuando se presentan enlaces covalentes e interacciones hidrofóbicas en las moléculas estructurales, como en el caso de proteínas y algunos polisacáridos, el gel es *termoirreversible*. Ejemplos de geles termoirreversibles son la clara de huevo cocida y embutidos cárnicos.

Un sol puede transformarse en gel por medio de mecanismos físicos y químicos. Los agentes físicos pueden ser energía térmica y altas presiones, mientras que los agentes químicos que se pueden adicionar para inducir la gelificación son: 1) iones, como el calcio para gelificación de gomas; 2) ácidos orgánicos e inorgánicos, para la elaboración de carne reestructurada; 3) enzimas, como la transglutaminasa bacteriana, utilizada en productos a base de surimi; 4) urea, poco utilizada a nivel industrial, pero que puede producir geles transparentes de clara de huevo o albúmina bovina.⁹

Aunque la mayoría de los geles absorbe agua, algunos de ellos liberan parte de su fase líquida, sin importar la presión de vapor que se ejerza sobre ellos. A este fenómeno se le denomina *sinéresis*. El líquido liberado en la sinéresis es generalmente un sol diluido. Un ejemplo muy común es la desecación de la gelatina mantenida en refrigeración y la acumulación de líquido en su superficie. Lo mismo se observa al aumentar la temperatura; por ejemplo, al calentar carne, ésta libera una parte de su fase líquida. La sinéresis en geles se ve influida por varios factores: 1) es afectada por el pH del sistema y alcanza su máximo cuando se presenta el punto isoeléctrico, por ejemplo, en la fabricación de jaleas de frutas la gelificación y firmeza adecuada depende en gran medida de que se logre un pH entre 3.2 y 3.5, un pH más bajo causará una estructura muy rígida y se presentará sinéresis; 2) la temperatura a la que se mantiene el gel puede acelerar la sinéresis; la temperatura puede ser baja o alta, de acuerdo con el tipo de gel y su tendencia a la sinéresis, por ejemplo, al refrigerar la manteca ésta muestra sinéresis por medio de gotas de líquido depositadas en su superficie; 3) la presión ejercida sobre un gel contribuye a su sinéresis; 4) la naturaleza de la fase dispersa tiene un efecto sobre la sinéresis, por ejemplo, al disminuir la concentración de almidón en un gel aumenta su sinéresis; lo opuesto ocurre en los geles formados con ácido silícico como fase dispersa.

Lo opuesto a la sinéresis es la *imbibición*. Muchas sustancias sólidas, ya sea de origen proteico (gelatina, albúmina) o de polisacáridos (pectina, almidones solubles), al ponerse en contacto con agua comienzan a absorberla aumentando su volumen, es decir, presentan imbibición. La tasa de imbibición generalmente disminuye con el tiempo de contacto entre un gel y el agua. El pH y la temperatura son los principales factores que afectan la imbibición de un gel. Por ejemplo, geles proteicos se imbiben con mayor facilidad en condiciones ligeramente ácidas. Geles de gelatina o de agar, al ponerse en contacto con agua a temperaturas mayores de 35°C, presentarán tal grado de imbibición que después de un incremento significativo en su volumen pasarán a la termorreversibilidad y mostrarán licuefacción.

10.6 ESPUMAS

Las espumas son dispersiones coloidales de un gas o mezcla de gases suspendidos en una fase dispersante formada por un líquido viscoso o un semisólido. En la mayoría de las espumas alimenticias el gas es aire. El líquido rodea a las burbujas de aire y las separa una de otra. Esta barrera o pared líquida recibe el nombre de *lamela*. Existe una gran área superficial en las burbujas de una espuma, lo que aumenta su energía libre de Gibbs. Si la espuma es estable, debe existir una disminución de la tensión superficial entre la lamela y el aire que la rodea. El diámetro de las burbujas de espuma varía en tamaño desde $1\ \mu\text{m}$ hasta varios cm. Las espumas tienden a ser inestables por razones termodinámicas, es decir, pasar a un estado de menor energía libre de Gibbs. Para lograr estabilidad en las espumas, es necesario que el tamaño de las lamelas esté en el rango de 0.2 a $1\ \mu\text{m}$; cuando ésta es menor de $0.05\ \mu\text{m}$, el sistema se vuelve muy inestable debido a que existe una difusión de gas a través de las paredes de las burbujas, lo que ocasiona su ruptura. Las lamelas además deben de presentar una rigidez y elasticidad adecuada para no fracturarse al colisionar entre sí. En la figura 10.6 se muestra esquemáticamente la estructura de una espuma.

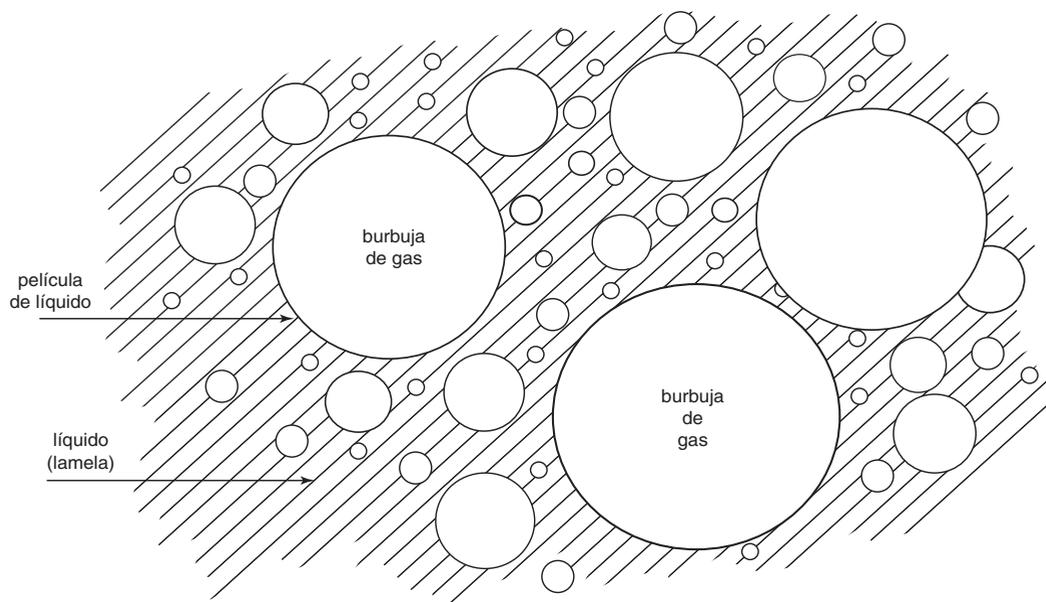


Figura 10.6 Esquema de la estructura de una espuma.

Según el tamaño de las burbujas y del espesor de la lamela, una espuma tendrá casi la consistencia de la fase dispersante o será tan ligera como la fase gaseosa dispersa. Las burbujas reflejan la luz, lo que le da una apariencia opaca a la espuma. Espumas alimenticias comunes son la crema batida, merengues, malvaviscos, miga de pan, pasteles, espuma de cerveza y el helado. Este último es un coloi- de con una estructura bastante compleja. Se puede describir al helado como una espuma parcialmente congelada con un contenido de aire del 40 al 50% en volumen. La fase dispersante de la espuma es agua que contiene sólidos disueltos y micelas coloidales, y además contiene glóbulos de grasa en for-

ma de emulsión. El tamaño de los glóbulos de grasa en la emulsión son tan pequeños que se ha estimado que su tamaño va de 0.04 a 3 mm, mientras que los cristales de hielo tienen un tamaño promedio de 34 mm y los glóbulos de aire un tamaño promedio de 60 mm. Un gramo de helado puede contener alrededor de ocho millones de glóbulos de aire y la misma cantidad de cristales de hielo, mientras que los glóbulos de grasa pueden alcanzar valores de billones con un promedio de 1.5×10^{12} glóbulos/g helado.¹⁰

Otra forma de dar estabilidad a las burbujas de una espuma es adicionando un agente estabilizante o tensoactivo. Su principal función es disminuir la tensión superficial entre el aire y la lamela.⁷ Las proteínas son buenos estabilizantes de espumas. Al adicionarse a una espuma se concentran en la interfase. La formación de espumas con proteínas implica un proceso de desnaturalización controlado, ya que la molécula debe desdoblarse para que oriente sus aminoácidos hidrófobos hacia el interior de la burbuja y los hidrófilos hacia el exterior, en contacto con la fase acuosa. La preparación de malva-viscosos requiere la adición de gelatina como una proteína tensoactiva para mantener la estabilidad. El pH se mantiene cercano a 5, donde la gelatina es menos soluble, ya que su punto isoeléctrico está entre 4.4 y 5.6. En otros productos como la cerveza, existen tensoactivos naturales como parte de sus ingredientes, específicamente en el lúpulo, sin embargo, la estabilidad de esta espuma es afectada por el pH. Esto explica por qué al añadir limón a una cerveza desaparece rápidamente la espuma, que de otra forma permanecería por un rato.

En algunos casos, un calentamiento drástico de las proteínas reduce su capacidad de espumado debido a una excesiva desnaturalización. No obstante, en el caso de la albúmina del huevo, un calentamiento gradual hasta alcanzar una temperatura elevada puede estabilizar la espuma, ya que entonces la proteína coagula en forma de película, con lo que se establece una lamela más resistente, casi sólida. Esto se aplica en la fabricación de algunos productos, tales como *soufflés*, merengues, betunes, o cubiertas para pastel, así como en ciertos dulces, especialmente el *nougat* o turrón; en todos estos alimentos, a la clara de huevo batida y espumada se le añade lentamente un chorro delgado de disolución de azúcar a una temperatura de aproximadamente 120°C. Una vez fría, la espuma resultante es sólida y resistente; el alimento es algo chicloso, pero al mismo tiempo muy terso, ya que la alta viscosidad que prevalece y las pequeñas burbujas de aire que quedan atrapadas impiden el crecimiento de cristales de azúcar. En el caso de los panes y los pasteles, las temperaturas altas también provocan la desnaturalización de proteínas, con lo cual se producen muchas celdillas de burbujas de aire con una lamela sólida. La estabilidad de las espumas mejora si se aumenta la viscosidad del sistema con pequeñas cantidades de gomas y de proteínas; también se emplean el glicerol y sus derivados, así como varios alcoholes y azúcares que imparten además un determinado sabor a estos productos.

Es importante indicar que para la formación de la espuma primero debe adicionarse el agente espumante o estabilizante a la fase líquida o semisólida, antes de dispersarle el aire. El agente estabilizante debe adsorberse en la superficie del líquido para disminuir la tensión superficial y para permitir la formación de una lamela resistente que separa las burbujas de aire. El aire puede incorporarse de dos formas diferentes, por dispersión o por condensación. En el primer caso, el aire es inyectado directamente en el líquido, por medio de boquillas o bien por batido vigoroso del medio líquido que contiene el agente estabilizante con aspas o propelas adecuadas. En el método de condensación se utiliza aire presurizado que se disuelve en el líquido a espumar. Cuando la presión es liberada, el aire se expande y forma la espuma, parte del aire escapa. La crema batida vertida de recipientes en aerosol se forma por este método.¹¹

En ocasiones, la formación de una espuma puede no ser deseable durante el procesamiento de productos alimenticios, como por ejemplo en fermentaciones o concentración de jugos de fruta. En

este caso, la destrucción de espumas puede lograrse si se reduce la viscosidad, se aplica un tratamiento térmico o se adiciona un agente antiespumante. Aceites de silicona insolubles en agua son comúnmente utilizados en la industria de alimentos como agentes antiespumantes a niveles de 10 a 100 ppm. El objetivo es destruir la lamela y permitir la liberación del aire.

10.7 EMULSIONES

Una emulsión es una dispersión coloidal de un líquido dentro de otro, en el cual es normalmente inmiscible. La fase dispersa se obtiene al romper uno de los líquidos por medios mecánicos en pequeñas gotas, entre 0.1 y 10 μm , que se distribuyen en la fase continua o dispersante. Sin embargo, esta emulsión es termodinámicamente inestable y al dejarla reposar por algún tiempo, las gotas se agregan pasando primero por el estado conocido como floculación para luego producir la coalescencia y, por último, la separación de dos fases inmiscibles y diferenciables. La floculación es la unión de las gotas pequeñas de fase dispersa con sus bordes distintivos, y la coalescencia es la formación de una gota mayor sin los bordes de las gotas individuales que han floculado. La figura 10.7 muestra esquemáticamente el proceso de floculación, coalescencia y separación de fases, y la figura 10.8 muestra fotografías de una emulsión y su “rompimiento” o separación en dos fases inmiscibles. La estabilidad de una emulsión sólo se logra si se incorpora una tercera sustancia que actúa en la interfase de los líquidos y que se denomina emulsionante. Por lo tanto, toda emulsión estable debe estar formada por tres sustancias, dos líquidos inmiscibles entre sí y un agente emulsionante apropiado que se adiciona a una de las fases antes de la formación de la emulsión. Por lo general, los emulsionantes son sustancias cuyas moléculas contienen una parte no polar y otra polar, por lo que es posible que se disuelvan tanto en agua o en disoluciones acuosas como disolventes orgánicos y aceites. De acuerdo con el predominio de una de las partes de la molécula sobre la otra, el emulsionante tendrá un carácter lipófilo o lipófilo, y por consiguiente, presentará una mayor afinidad por el agua o por los aceites; esta característica se conoce como balance hidrófilo-lipófilo, o BHL (HLB, en inglés), y es una propiedad importante que debe tomarse en cuenta al seleccionar un emulsionante.

En las emulsiones siempre hay dos fases presentes, una la forma el aceite, que se simbolizará con A, y la otra el agua, que se simbolizará con H. Estas dos fases, al dispersarse una en la otra, dan lugar a la formación de 2 tipos de emulsiones: 1) las de aceite en agua (A/H) que consisten en pe-

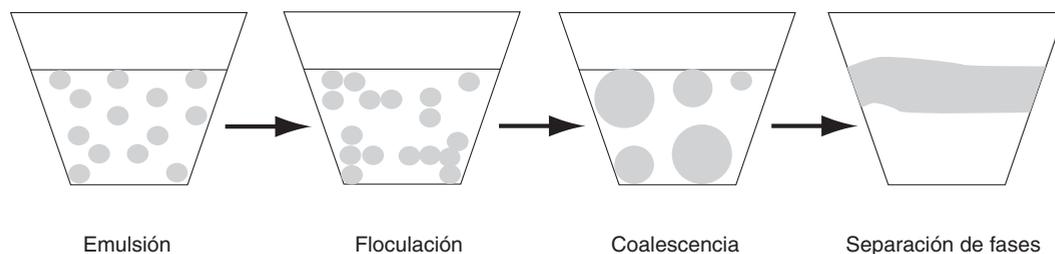


Figura 10.7 Esquema de los procesos de floculación, coalescencia y separación en dos fases de una emulsión.

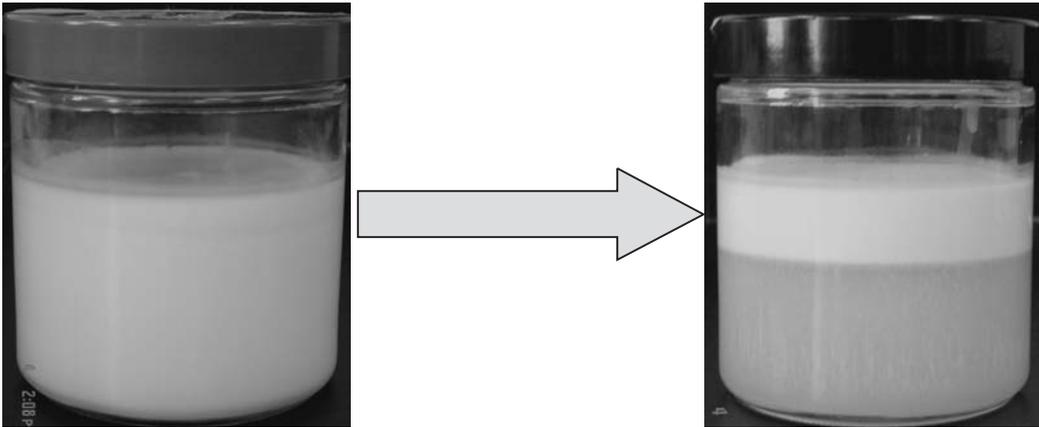


Figura 10.8 Emulsión no estabilizada que se separa en sus fases componentes después de un tiempo.

queñas gotas de aceite como fase dispersa contenidas en el agua como fase continua o dispersante; y 2) las de agua en aceite (H/A) donde las gotas pequeñas de la fase dispersa son de agua y la fase continua es aceite. En la industria de alimentos son más comunes las emulsiones de tipo A/H. Ejemplos de emulsiones de tipo A/H son la mayonesa, aderezos para ensalada, leche, crema, base para helados y sustitutos de crema para café; mientras que ejemplos de emulsiones H/A son más escasos y los alimentos más representativos son la mantequilla y la margarina. Se ha observado que los agentes emulsionantes naturalmente solubles en aceite, tales como oleato de calcio y colesterol, favorecen emulsiones tipo H/A, mientras que sustancias naturalmente solubles en agua, tales como proteínas, dextrinas y lecitina favorecen las emulsiones de tipo A/H.

Para entender las características de una emulsión, primero debe establecerse el tipo al que pertenece, H/A o A/H. Para identificar el tipo de emulsión, existen varios métodos:

- *Método de conductividad.* Al sumergir dos electrodos en una emulsión, la corriente eléctrica circula fácilmente por las de tipo de A/H, y con dificultad en las de H/A.
- *Método del colorante.* Se basa en la habilidad de un colorante para disolverse en la fase dispersante. Una pequeña cantidad de colorante ya sea hidrosoluble o liposoluble, se mezcla con la emulsión y se realiza una evaluación microscópica para ver la uniformidad de la coloración. Si el colorante es hidrosoluble, se obtendrá una coloración uniforme en emulsiones de tipo A/H y, si por el contrario, se observan partículas del colorante sin disolver, entonces se trata de una emulsión de tipo H/A. Lo contrario puede observarse con colorantes liposolubles.
- *Método de la dilución.* Al añadir unas gotas de agua a la emulsión se puede observar si ésta se mezcla con facilidad, lo que indicaría que se trata de una emulsión tipo A/H, ya que el agua no es soluble en una emulsión de tipo H/A. De manera análoga, si se agregan gotas de aceite a la emulsión, éstas se disuelven si se trata de una H/A y son inmiscibles en emulsiones A/H.
- *Método de la fluorescencia.* Se basa en que los aceites tienen la particularidad de fluorescer con irradiaciones del ultravioleta; las emulsiones H/A presentan un campo uniforme, mientras que las de A/H no lo desarrollan.
- *Método sensorial.* En general, una emulsión A/H tiene una textura cremosa, y las emulsiones H/A son grasosas al tacto.

En los alimentos, las emulsiones no sólo están formadas por las dos fases, sino que contienen partículas sólidas y burbujas de gas, como en el caso de los helados. Asimismo, el estado físico de las emulsiones va del líquido al sólido, pasando por el semisólido. Muchas de las partículas presentes en las emulsiones alimenticias pueden favorecer la estabilidad o por el contrario ser una causa potencial de coalescencia o cambios de estado físico. Por ejemplo, los iones calcio (Ca^{+2}), comunes en emulsiones lácteas, así como muchas proteínas, pueden interactuar con las moléculas adsorbidas en la película superficial de las gotas de la emulsión y causar inestabilidad como floculación (rompimiento de la emulsión) o gelación (cambio de estado físico). La temperatura alta favorece estos procesos de desestabilización, por ejemplo, las proteínas tienden a desnaturalizarse causando una floculación y/o gelación de la emulsión original.

El modo de preparación de una emulsión es determinante tanto en su tipo como en su estabilidad. El agente emulsionante debe adicionarse al líquido que formará la fase dispersante, y posteriormente debe adicionarse el líquido que formará la fase dispersa, aplicando agitación mecánica para formar las pequeñas gotas de esta última. Por lo general, se ha observado que si la fase dispersante se adiciona gradualmente, en lugar de toda a la vez, el tiempo requerido para formar la emulsión será menor. También se ha reportado que existe, en general, una relación directa entre el tiempo requerido para la formación de una emulsión y la cantidad de fase dispersa a añadir. Entre más pequeños sean los glóbulos de la fase dispersa, mayor será la estabilidad de la emulsión formada.¹²

La agitación mecánica puede ser proporcionada por diversos dispositivos. Los instrumentos más utilizados son las batidoras o mezcladores, molinos coloidales, homogeneizadores a presión y aparatos ultrasónicos.¹⁰ Las batidoras presentan una baja eficiencia, y producen glóbulos de la fase dispersa con diámetros del orden de los 10 μm . Ultra-batidoras con mayor velocidad de corte pueden producir glóbulos con diámetros de 5 μm ; en este caso, la turbulencia ayuda a obtener partículas más pequeñas. Los molinos coloidales constan de un espacio muy pequeño entre una superficie estacionaria estriada y un rotor que gira a alta velocidad. La dispersión a emulsificar es sometida a grandes fuerzas de cizallamiento y turbulencia que produce glóbulos de diámetro del orden de los 2 μm . La velocidad de giro puede variar de 3,000 a 15,000 rpm; son más efectivos para emulsiones de alta viscosidad (mayores a 1,000 cp). Hay que tener precaución con el incremento de temperatura que puede ocurrir debido a la alta fricción presente entre la emulsión y el aparato, así como la posible introducción de aire y espumado de la emulsión. Un homogeneizador de válvula es un dispositivo en el que se logra la emulsificación al pasar ambos líquidos a través de una válvula de resorte y a una presión elevada (del orden de los 700 kg/cm^2). La apertura de la válvula es en decenas de μm . A la salida de la válvula hay una gran caída de presión, lo que resulta en la formación de glóbulos finos con diámetros aproximados de 1 μm y una distribución uniforme de tamaños. Uno de los usos más extensivos de los homogeneizadores se da en la industria láctea, para la estabilización de la leche pasteurizada. Los sonificadores emplean ondas sonoras de alta frecuencia que producen una fuerte cavitación en la dispersión y por consecuencia su fragmentación en pequeños glóbulos; el tamaño de los glóbulos no es uniforme y existe un amplio rango de tamaños, además consumen gran cantidad de energía, por lo que su uso es todavía limitado.

En algunos casos lo que se desea durante la elaboración de productos alimenticios es la destrucción de una emulsión (desemulsificación), como sería el caso del desnatado, destrucción e inversión de la leche para obtener mantequilla.⁵ Romper una emulsión alimenticia, es decir separarla en sus fases inmiscibles, varía desde muy fácil hasta imposible. La agitación mecánica, así como ayuda a la formación de emulsiones, también puede utilizarse para su rompimiento.¹³ Por ejemplo, la mayonesa a veces se separa cuando se manipula de manera brusca y agitada. Los métodos mecánicos para

romper emulsiones incluyen centrifugación, destilación y filtración. Otro método utiliza el principio de acción antagonista de los agentes emulsionantes; la adición de agentes que estabilizan emulsiones H/A tienden a destruir las emulsiones A/H y viceversa. Debido a la presencia de cargas en los sistemas coloidales, la aplicación de un campo eléctrico intenso puede romper una emulsión. Por ejemplo, la electroforesis se utiliza para separar emulsiones de tipo A/H.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hiemenz, P.C. y Rajagopalpan, R. 1997. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*. 3ª. ed. Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
2. Goodwin, J.W. y Goodwin, J.W. 2004. *Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers: An Introduction*. John Wiley and Sons, Inc. Nueva York.
3. Cheftel, J.C., Cheftel, H., y Besancon, P. 1980. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Volumen II. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
4. Holmberg, K., Shah, D.O. y Schwger, M.J. 2002. *Handbook of Applied and Colloid Surface Chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. Nueva York.
5. Dickinson, E. y Vliet, T.V. 2003. *Food Colloids, Biopolymers and Materials*. The Royal Society of Chemistry. Londres, Inglaterra.
6. Graham, H.D. 1977. *Food Colloids*. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
7. Damodaran, S. 2005. "Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*". 70(3):54-66.
8. Steffe, J.F. 1992. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press. East Lansing, MI. EUA.
9. Totosaus, A., Montejano, J.G., Sálazar, J.A. y Guerrero, I. 2002. "A review of physical and chemical protein-gel induction". *International Journal of Food Science and Technology*. 37:589-601.
10. Friberg, S.E. y Larsson, K. 1997. *Food Emulsion*. 3ª ed. Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
11. Dickinson, E. 1988. *Food Emulsions and Foams*. The Royal Society of Chemistry. Londres, Inglaterra.
12. Dickinson, E. y Miller, R. 2001. *Food Colloids: Fundamentals of Formulation*. The Royal Society of Chemistry. Londres, Inglaterra.
13. Sjöblom, J. 2001. *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*. Marcel Dekker, Inc. Nueva York.



Tóxicos presentes en los alimentos

- 11.1 Introducción
- 11.2 Leguminosas
- 11.3 Cereales
- 11.4 Inhibidores de amilasas
- 11.5 Bebidas estimulantes
- 11.6 Péptidos, proteínas y aminoácidos tóxicos
- 11.7 Gossipol
- 11.8 Capsaicina
- 11.9 Solanina y chaconina
- 11.10 Sustancias promotoras de bocio
- 11.11 Toxinas en mariscos y peces
- 11.12 Antivitaminas
- 11.13 Tóxicos presentes en la miel de abeja
- 11.14 Compuestos tóxicos generados por proceso
- 11.15 Racemización de aminoácidos y formación de isopéptidos
- 11.16 Formación de aminas biógenas
- 11.17 Fumigantes y disolventes
- 11.18 Comentarios

Referencias bibliográficas



11.1

INTRODUCCIÓN

La toxicología de alimentos es el área del conocimiento científico que evalúa la presencia de factores tóxicos y antinutricionales en los alimentos, ya sea en forma natural, por adición, por contaminación o por generación durante su procesamiento.

A los “alimentos tradicionales o convencionales” se les ha conferido el valor de seguros o relativamente inocuos. En realidad un alimento es químicamente complejo, por ejemplo, basta mencionar que a la papa, que es un alimento convencional de amplio consumo en el mundo, hasta el momento se le han identificado más de 150 compuestos químicos, entre los que están solanina, chaconina y el ácido oxálico, sin reconocida acción nutritiva, pero sí con una franca acción farmacológica.¹⁴

Con respecto al origen o presencia de los tóxicos en alimentos, se pueden considerar cuatro fuentes principales: naturales, intencionales

(como los aditivos), accidentales (como los contaminantes) y las generadas por proceso, sin que esta clasificación asigne específicamente un tóxico a una categoría; ya que éstos pueden pertenecer a más de una, o bien asociarse al área farmacológica, como sería el caso de la teobromina. La clasificación de tóxicos se complica, ya que variaciones menores en su estructura los puede hacer o no peligrosos. Sin embargo, aunque a un tóxico se le asocie con un grupo de alimentos, no es posible tomar esto en cuenta para su clasificación, ya que, por ejemplo, los glucósidos cianogénicos pueden encontrarse en leguminosas, tubérculos, cereales, etcétera. El origen del tóxico podría servir para clasificarlo, pero aun así resulta confuso, por ejemplo en el caso de las aflatoxinas, que son de origen natural, pero resultan contaminantes en varios alimentos.^{64, 74, 75}

Los compuestos añadidos en forma intencional son ajenos al alimento; estos aditivos se agregan en cantidades conocidas para lograr un fin particular. Estos compuestos no son totalmente inocuos, y algunos investigadores los consideran tóxicos, lo que ha generado una gran controversia, ya que pruebas toxicológicas han demostrado que son inocuos para la mayoría de los consumidores, en los niveles de uso sugerido.²⁰ Sin embargo, la duda permanece cuando se presentan malestares en personas hipersensibles. En contraparte, si no se usan aditivos, sería muy difícil acceder a una gran variedad y cantidad de alimentos en las áreas urbanas, donde el mayor porcentaje de la población se ha concentrado en los últimos años y demanda alimentos para su subsistencia. Además, muchos de estos productos representan una mejora en el procesamiento, o bien una protección a las características de los alimentos, como son los antioxidantes.

En general, los tóxicos accidentales representan el mayor riesgo para la salud, ya que a diferencia de los naturales o intencionales, no se conoce la cantidad ni la fecha en que se ingirieron, y mucho menos la frecuencia con que se ingirieron, o el tipo de alimento asociado con el tóxico; tampoco se puede determinar inmediatamente cómo llegó al alimento. Es decir, en términos de una emergencia, existe un mayor riesgo para la salud cuando se desconoce el compuesto asociado con los malestares que se presentan.

Cuando se presenta un problema de cáncer asociado con los alimentos, por lo general se asegura que estos han sido procesados, o bien que contienen cantidades excesivas de aditivos. Aunque esto puede ser cierto, existen sustancias naturales que pueden ser mutagénicas o carcinogénicas: por ejemplo, el safrol, que se encuentra en la raíz del sazafrán, es un carcinógeno, al igual que las hidrazinas presentes en hongos comestibles. Por otro lado, el hongo comúnmente consumido *Agaricus bisporus* contiene agaritina, β -N-(γ -L-glutamil)-4-hidroximetilfenilhidrazina, compuesto que recientemente se presupone como un potente mutágeno. La agaritina disminuye durante la congelación del hongo hasta en un 68% o durante el enlatado hasta un 87%.⁶³ Los apios, higos, perejil, chirivías, contienen furocumarinas que al ser activadas por la luz, forman carcinógenos. Otro de los compuestos de interés son las quinonas que están ampliamente distribuidas en la naturaleza (riubarbo), ya que pueden actuar como electrofilos o aceptando electrones para formar semiquinonas, que a su vez reaccionan directamente con ADN, o bien favorecen la formación de superóxidos, lo que repercute en la lipoperoxidación de grasas con la consecuente generación de mutágenos.²

11.2 LEGUMINOSAS

Las leguminosas contienen una amplia variedad de factores tóxicos, por lo que pueden considerarse como plantas de cierto riesgo cuando se consumen sin haber sido sometidas a procesos de cocción

para eliminar factores tóxicos o antinutricionales. Entre los principales tóxicos asociados a estas plantas están: los glucósidos cianogenados, promotores de flatulencia, inhibidores de proteasas, fito-hemoaglutininas, saponinas, en casos más particulares puede presentarse divicina e isouramilo (favismo), mimosina, canavanina, etcétera.⁶⁵

11.2.1 Glucósidos cianogénicos

El cianuro en cantidad de trazas está ampliamente distribuido en las plantas en forma de glucósido. Sin embargo, hay plantas que pueden acumularlo, como sucede en la almendra amarga (*Prunus amygdalus*); el cianuro se encuentra contenido en la molécula de amigdalina, un ejemplo de su síntesis aparece en la figura 11.1.

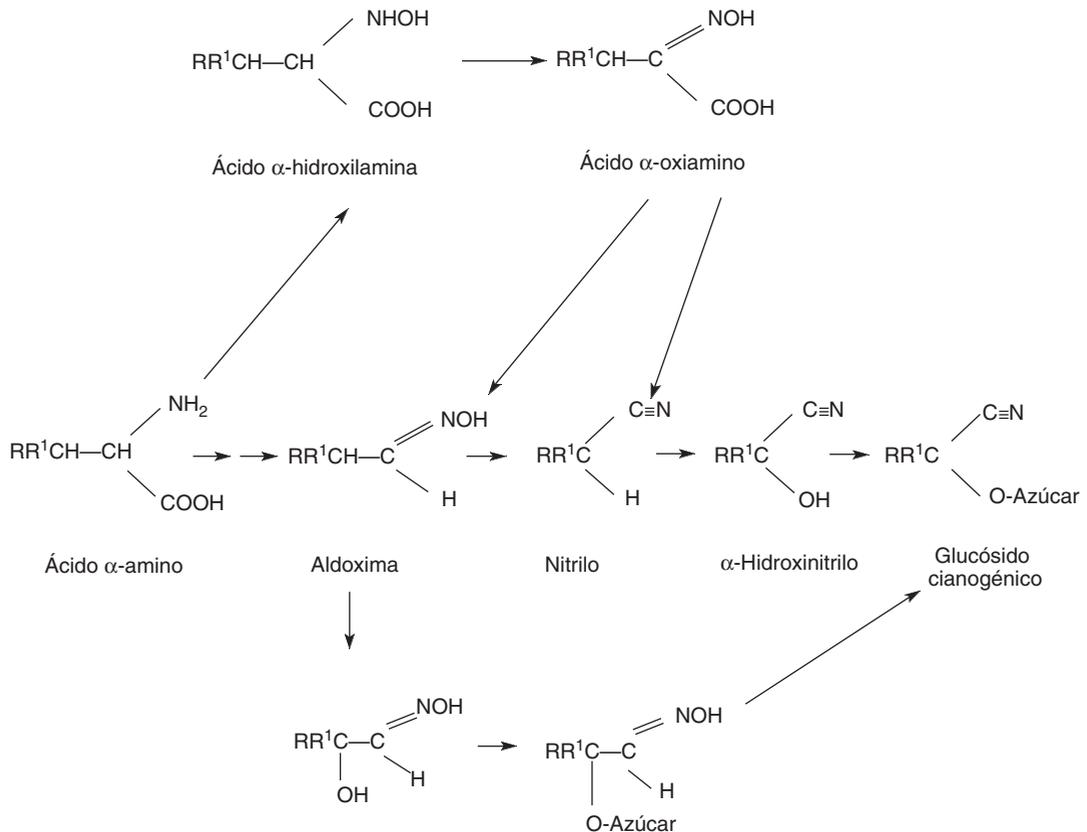


Figura 11.1 Síntesis de glucósidos cianogénicos.

En la naturaleza se estima que existen más de 100 especies que contienen glucósidos cianogénicos y no están exclusivamente asociados con leguminosas. Cuando el material biológico se macera o se daña, puede liberarse cianuro por una acción enzimática, que generalmente se debe a la β -glucosidasa (cuadro 11.1).³⁶

CUADRO 11.1 Contenido de HCN en algunas plantas

Vegetal	HCN (mg/100g)
Frijol (<i>Phaseolus lunatus</i>)	14,4-167,0
Casos especiales	210,0-312,0
Sorgo (café)	250,0
Yuca (<i>Manihot utilissima</i>)	113,0
Linaza	53,0
Judías (<i>Phaseolus sp.</i>)	2,0
Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	2,3

El glucósido no es tóxico por sí mismo, pero el CN^- generado por la hidrólisis enzimática sí lo es, ya que actúa a nivel de citocromo oxidasa; es decir que es un potente inhibidor de la cadena respiratoria. La DL_{50} del HCN, administrada oralmente, es 0,5 – 3,5 mg/kg. Otras semillas de fruta que contienen CN^- son: almendras, duraznos, cerezas, ciruelas, manzanas, etcétera.³⁵ Otras plantas también poseen glucósidos cianogénicos, como bambú, sorgo, soya y yuca (figura 11.2).

11.2.2 Promotores de flatulencia

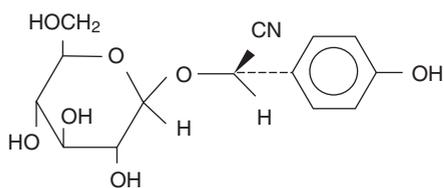
Se presentan al consumir alimentos que contienen oligosacáridos y otros compuestos no biotransformables. Con respecto a los carbohidratos, el ser humano no posee actividad enzimática de α -galactosidasa y β -fructosidasa; es decir, el ser humano no tiene la capacidad de aprovechar los siguientes azúcares, ya que no son metabolizables: rafinosa (0- α -D-galactopiranos-(1-6)-0- α -D-glucopiranosil-(1-2)- β -D-fructofuranosa); estaquirosa (0- α -D-galactopiranos-(1-6)-0- α -D-rafinosa), verbascosa (0- α -D-galactopiranos-(1-6)-0- α -D-estaquirosa) (capítulo 2).

Estos oligosacáridos pasan al intestino delgado, en donde microorganismos de la flora intestinal producen gases como: CO_2 , H_2 y CH_4 , lo que entre otros factores ocasiona este malestar. Incluso en algunos casos se presentan náuseas con cólicos dolorosos.⁵⁴

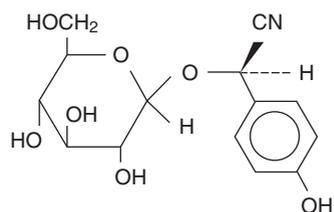
La intolerancia a la lactosa es otro problema que ocasiona malestares gastrointestinales, sólo que éste se produce debido a la falta de la actividad de β -galactosidasa, que es la enzima que se encarga de la hidrólisis de la lactosa presente en la leche. Existe un índice muy alto de intolerancia a la lactosa entre la población de raza negra; se calcula que aproximadamente el 70% de esta población pueden ser intolerante. Existen algunos reportes de que la sacarosa tampoco puede ser metabolizada, por lo que termina fermentándose de una manera similar a los casos anteriores.

11.2.3 Inhibidores de proteasas como la tripsina

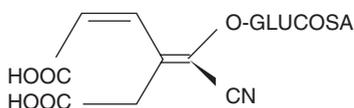
Los inhibidores de proteasas son muy frecuentes en la alimentación humana, inhiben los sistemas enzimáticos de sus depredadores (microorganismos o insectos). Gran parte de los alimentos de origen



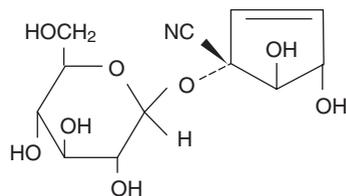
(S)-durrina



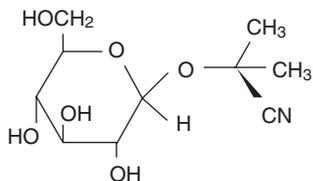
(R)-taxifilina



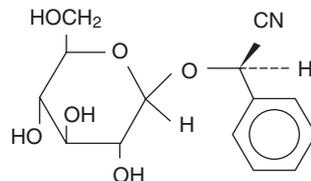
trigloquinina



ginocardina



linamarina



(R)-prunasina

Figura 11.2 Estructuras de algunos glucósidos cianogénicos.

vegetal, presentan inhibidores de proteasas; sin embargo, cabe destacar la amplia presencia de los inhibidores de tripsina en alimentos de origen vegetal, en donde la mayor proporción se manifiesta en semillas. Los inhibidores de tripsina pueden coexistir en la misma planta con otros inhibidores proteolíticos, como se puede observar en el cuadro 11.2.^{58, 79}

Cabe mencionar que los inhibidores de proteasas más estudiados son los que actúan sobre la tripsina, ya que es una enzima digestiva de gran importancia en la digestión de los monogástricos como el hombre. Estas proteínas han sido aisladas de diferentes plantas o animales.³³ Entre las más importantes están las de la soya, del frijol, la papa y del ovomucoide de los huevos de aves.

CUADRO 11.2 Origen de inhibidores de proteasas y tipo de proteasa inhibida.

Nombre científico	Nombre común	Parte de la planta	Enzima inhibida
<i>Araquis hypogea</i>	Cacahuete, maní	nuez o semilla	T, Q, PL
<i>Avena sativa</i>	Avena	endospermo	T
<i>Beta vulgaris</i>	Remolacha roja	tubérculo	T
<i>Brassica rapa</i>	Colza o nabo	semilla	T
<i>Cicer arietinum</i>	Garbanzo	semilla	T
<i>Glicine max</i>	Soya	semilla	T, Q, E, PL
<i>Oryza sativa</i>	Arroz	semilla	T, S
<i>Phaseolus coccineus</i>	Frijol francés, ayocote	semilla	T, Q
<i>Phaseolus lunatus</i>	Frijol de lima	semilla	T, Q
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Frijol común	semilla	T, Q, E
<i>Pisum sativum</i>	Chícharo, guisante	semilla	T, PL
<i>Solanum tuberosum</i>	Papa	tubérculo	T, Q, E, PL
<i>Vicia faba</i>	Haba	semilla	T, Q, PL
<i>Zea mays</i>	Maíz	semilla	T

T = tripsina, Q = quimotripsina, E = elastasa, PL = Plasmina

11.2.4 Fitoheماغlutininas

Las hemoaglutininas se caracterizan por su propiedad de aglutinar los eritrocitos de la sangre humana o de otros animales. Estas proteínas tienen especificidad por carbohidratos complejos, como los que forman parte de la estructura de las membranas celulares. De hecho, debido a la especificidad de ciertas hemoaglutininas hacia determinados eritrocitos, Boyd y Shapleigh las denominaron lectinas (del latín *legere* = elegir), que utilizan algunos autores como sinónimo de este tipo de compuestos.^{37, 38}

11.2.5 Saponinas

Son glucósidos amargos que pueden causar hemólisis en eritrocitos. Son extremadamente tóxicos para animales de “sangre fría” (anfibios y peces) por su propiedad de bajar la tensión superficial. En sí, estas sustancias tienen tres propiedades distintivas que son: sabor amargo; potentes surfactantes y producen hemólisis sobre los eritrocitos.⁶ Se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal: soya, alfalfa, té, remolacha, espinacas, espárragos, avena y garbanzo; también se encuentran presentes en el veneno de las serpientes y en el de las estrellas marinas (figura 11.3).

11.2.6 Favismo

En algunos casos un alto consumo de habas (*Vicia faba*) puede causar anemia hemolítica, también conocida como favismo. Este problema se presenta en Sardina, Italia, Sicilia, Cerdeña, Grecia, Irak, etcétera. El favismo se origina por la ingestión de habas, principalmente frescas o por su harina, o por la inhalación de su polen y ocasiona: dolor de cabeza, fiebre de alrededor de 39°C, trastornos gastrointestinales, anemia hemolítica severa, hemoglobinuria, hematuria (sangre en orina) masiva,

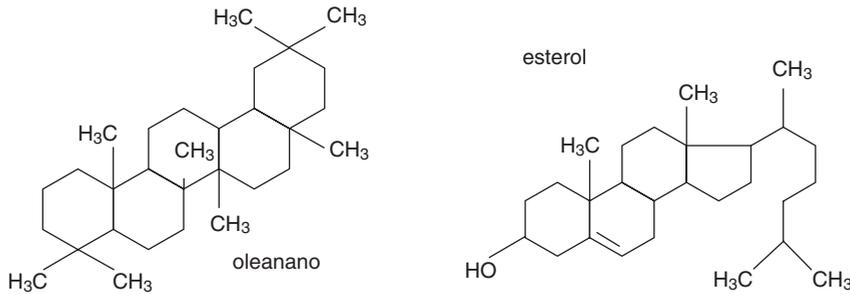


Figura 11.3 Estructura básica de saponinas esteroidales (oleanano) y de triterpenoides (esterol).

seguida de anuria (supresión de la secreción urinaria). En el favismo aparece también metahemoglobina que puede considerarse como hemoglobina desnaturalizada por oxidación de los grupos SH (Lindner, 1978). Las personas susceptibles al favismo, tienen una deficiencia de la glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G6PD) en sus eritrocitos.

11.3 CEREALES

Entre los tóxicos asociados con los cereales se encuentran principalmente las micotoxinas producidas por hongos, principalmente: *Claviceps*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium*. También existe el riesgo de que algunos granos contengan concentraciones elevadas de ácido fítico, o bien, que presenten inhibidores de amilasas.

11.3.1 Toxinas producidas por hongos (micotoxinas)

Son compuestos derivados del metabolismo de hongos verdaderos (*Eumicetos*), conocidos como micotoxinas, y al trastorno ocasionado o enfermedad se le conoce como micotoxicosis. Diversas clases de hongos son capaces de proliferar en los alimentos, y producen metabolitos sumamente tóxicos para el hombre y animales que consumen estos alimentos contaminados. La presencia de toxinas en granos, requiere que éstos sean invadidos por el hongo contaminante bajo las condiciones adecuadas de humedad (actividad acuosa de 0.6) y de temperaturas de 0 a 30°C. Por lo general, se les relaciona con dosis bajas y prolongadas, ocasionando una toxicidad crónica. Debido a la gran variedad que presentan las micotoxinas, tanto en su estructura como sus efectos tóxicos, sólo se describen algunas de las más importantes según la especie que las produce: toxinas de *Claviceps*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, entre otros.⁵

11.3.1.1 Toxinas de *Claviceps*

Desde la Edad Media se conoce el problema del “cornezuelo de centeno”, también denominado como “ergotismo”, cuyo responsable es el hongo *Claviceps purpurea*, que es un parásito del centeno.

Entre los alcaloides del ergot se encuentran: ergotamina, ergocristina, ergocriptina, ergometrina, et-
cétera. La ingesta de centeno contaminado con estos alcaloides, puede causar gangrena por efectos
de vaso constricción. Según la dosis ingerida, se presenta un estado de alucinación semejante a la que
padecía San Antonio (figura 11.4).³⁶

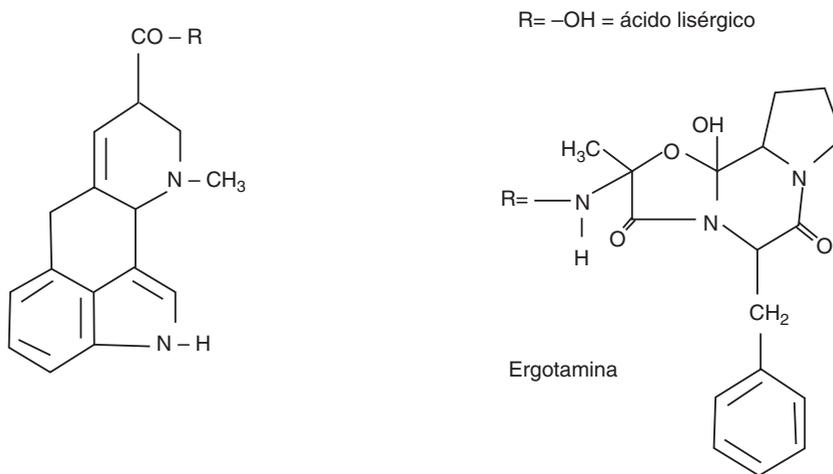


Figura 11.4 Alcaloides de ergotina producidos por *Claviceps purpurea*.

11.3.1.2 Toxinas de *Aspergillus*

Entre las toxinas producidas por el *Aspergillus* se encuentran la aflatoxina y la ocratoxina, aunque se sabe que existen mucho más toxinas producidas por este hongo.

La palabra aflatoxina se utiliza para designar a una serie de compuestos fluorescentes del tipo de las furanocumarinas, donde la aflatoxina B₁ es el prototipo. El principal riesgo es su hepatotoxicidad al formar hepatomas. Las aflatoxinas son metabolitos producidos por *Aspergillus flavus* o especies afines como el *Aspergillus parasiticus* (figura 11.5).⁶⁶

El problema de aflatoxinas puede presentarse en cualquier parte del mundo, ya que el *Aspergillus flavus* crece a temperaturas de 25°C, con una humedad relativa del 70%, y los diferentes alimentos en los que puede desarrollarse son maíz, cacao, sorgo, trigo, avena, centeno, algodón, cacahuete, et-
cétera.^{34, 44}

Las aflatoxinas más comunes son la B₁, B₂, G₁ y G₂, las cuales pueden separarse por cromatografía en placa fina e identificárseles por su R_f, con respecto a un patrón. La aflatoxina B₁ es uno de los hepatocarcinógenos más potentes, sólo basta ingerir 15 µg/kg diariamente para ocasionar cáncer, y es excretada como aflatoxina M₁ en leche u orina. Otra forma de transformación de la B₁ es como aflatoxina P₁, la cual se elimina como glucurónido. Otro metabolito, es el aflatoxicol el cual se encuentra en el hígado de pollos que se han alimentado con granos contaminados. No debe olvidarse

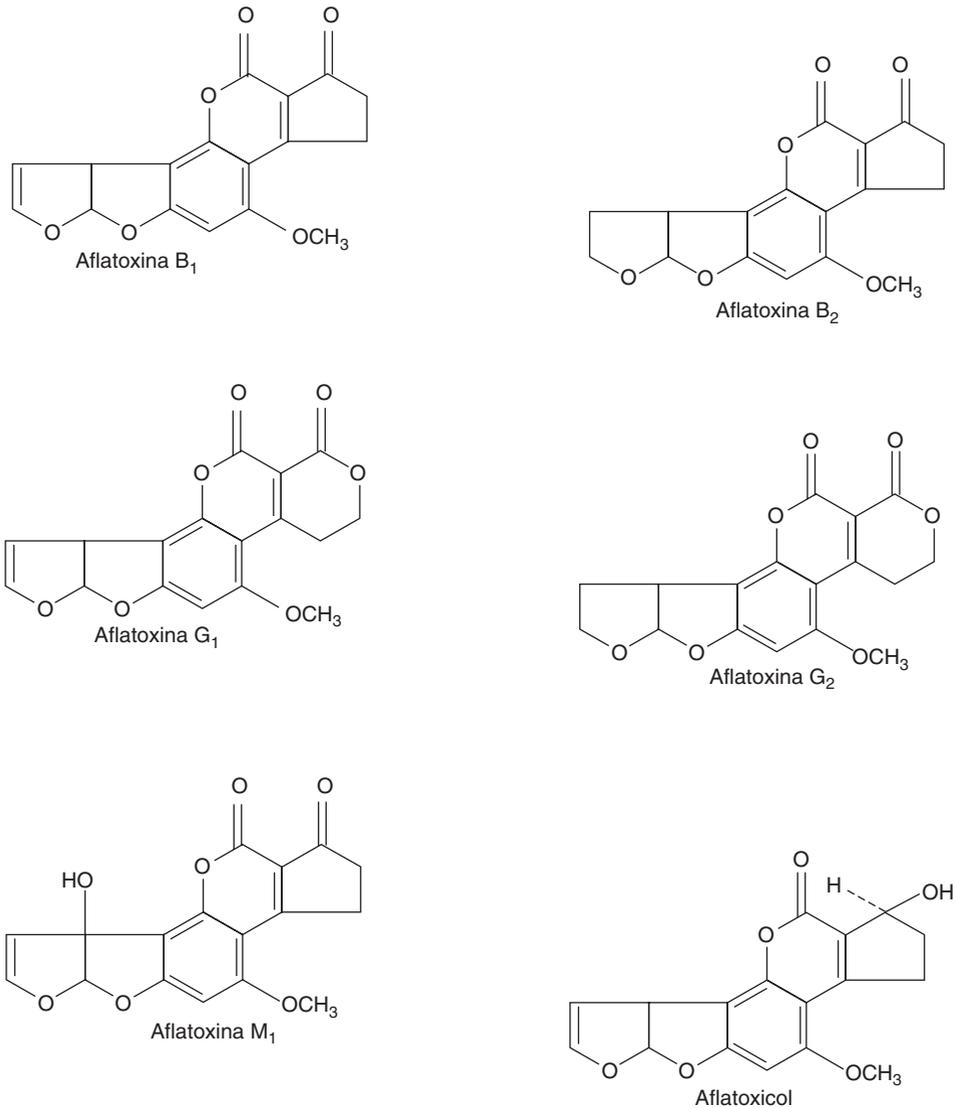


Figura 11.5 Aflatoxinas.

que el precursor de la aflatoxina B₁, es la esterigmatocistina, quien también tiene potencial toxicológico, y desafortunadamente no es de fácil detección (figura 11.6).⁶⁷

Otra toxina asociada con el género del *Aspergillus*, es la ocratoxina (*Aspergillus ochraceus*; vale resaltar que otro productor del mismo tipo de toxina es el *Penicillium viridicatum*). Estos hongos pueden infestar al maíz, cacahuate, arroz, soya, etcétera (figura 11.7).³²

En general, se puede asumir que los principales órganos afectados son el hígado (degradación hepática), el riñón (necrosis renal) y el intestino delgado (enteritis).

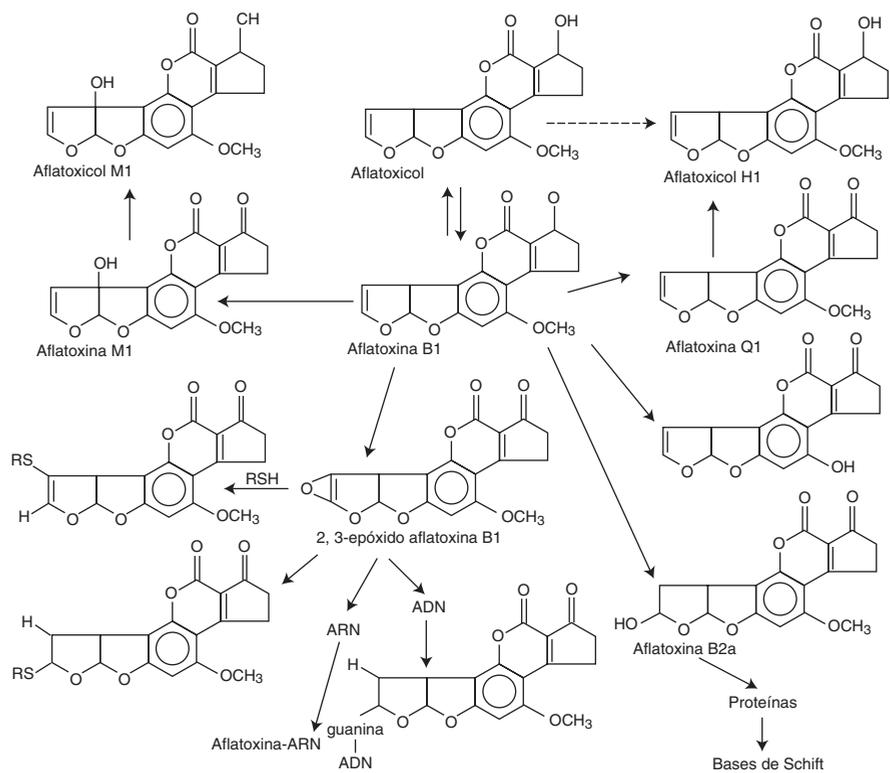


Figura 11.6 Biotransformación de la aflatoxina B₁; nivel de acción con ácidos nucleicos.

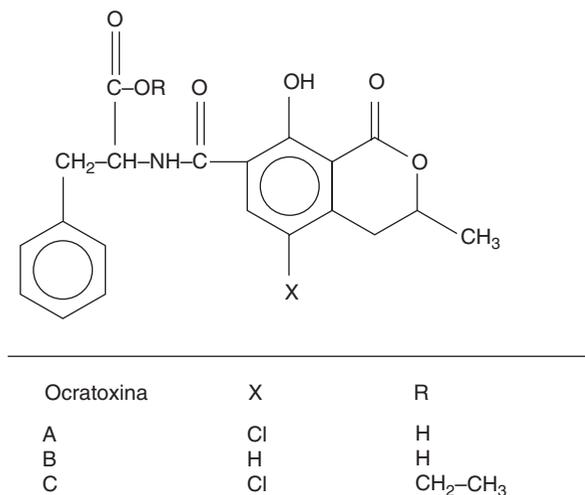


Figura 11.7 Ocratoxina.

11.3.1.3 Toxinas de *Penicillium*

El *Penicillium* puede producir varias micotoxinas como la rubratoxina, la patulina, el ácido penicílico y la citrinina. La rubratoxina es producida por *Penicillium rubrum*, al igual que el *P. purpurogenum*. Entre sus efectos están hemorragias internas, necrosis en hígado y hemorragias en riñón. Aparentemente su ingesta no está asociada con cáncer, pero sí a mutagénesis y teratogénesis en ratas. Se le encuentra como contaminante en maíz y en otros granos. Esta micotoxina está muy relacionada en la intoxicación del ganado vacuno y cerdos, por consumo de maíz enmohecido o sus productos⁴⁷ (figura 11.8).

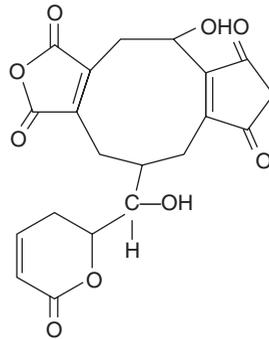


Figura 11.8 Rubratoxina B.

La patulina se conocía como clavacina, claviformina o expansina. Ésta puede producirla no sólo el *Penicillium* (donde el principal es el *P. expansum*), sino también por *Aspergillus*, como el *Aspergillus clavatus* y *A. giganteus*.¹⁰ Causa irritación local en los ojos y daños patológicos en varias vísceras. Además es una neurotoxina con efectos cancerígenos. Se le asocia con la putrefacción de manzanas, uvas, plátanos y duraznos (figura 11.9).

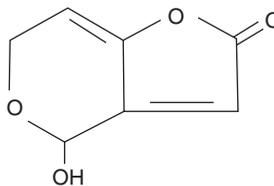
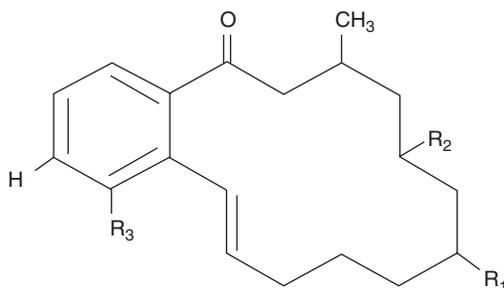


Figura 11.9 Patulina.

Otras toxinas del *Penicillium* son el ácido penicílico que también es cancerígeno y provoca convulsiones, coma y muerte. Se le ha detectado en maíz, panes, pastas, manzanas y peras. La citrinina es una nefrotoxina con propiedades antibióticas, pero es tóxica para usarse como tal, y la islanditoxina que es un péptido clorado cancerígeno.²²

11.3.1.4 Toxinas de Fusarium

Entre las toxinas producidas por el *Fusarium* (*F. roseum* o *F. graminearum*), está la zearalenona, su efectos más importante es la vulvovaginitis de porcino, y son éstos los animales más afectados por ingerir maíz contaminado; en las hembras ocasiona un constante “celo”, así como una constante leucorrea, el útero se vuelve adematoso y tortuoso y, finalmente, los ovarios se atrofian. La intoxicación en los machos jóvenes aparece como un proceso de “feminización”, ya que los testículos se atrofian y hay un crecimiento de las mamas. En las hembras no se ha observado como una causa de abortos, pero sí de infertilidad; las crías intoxicadas estarán por abajo del tamaño y el peso normal. La toxina presenta una fluorescencia azul verdosa a la luz ultravioleta (figura 11.10).^{9, 47}



Zearalenona y derivados	R ₁	R ₂	R ₃
Zearalenona	=O	H	H
8' -hidroxizearalenona	=O	OH	H
5' -formilzearalelona	=O	H	CHO
6', 8' -dihidroxizearalenona	OH	OH	H
Zearalenol	OH	H	H

Figura 11.10 Zearalenona y derivados.

El *Fusarium* puede producir tricótesenos, entre los más importantes están: deoxinivalenol (*F. roseum*); toxinas T-2 (*F. tricinctum*, *F. solani*, *F. avenaceum*, *F. scirpi*, *F. sporotrichioides*); diacetoxiscirpenol (*F. equiseti*, *F. tricinctum*, *F. solani*, *F. avenaceum*), y nivalenol (*F. nivale*, *F. episphaeria*, *F. nivum*) (Kinoshita y Shikata, 1964). Los efectos tóxicos de los tricotecenos están asociados históricamente al consumo de mijo en Rusia, donde se le dio el nombre de “aleukia tóxica alimentaria” (ATA). Los

síntomas iniciales son: irritación (sensación quemante) en la boca, esófago y estómago, que resultan en vómitos, diarrea y dolor abdominal. Posteriormente se observa una disminución de leucocitos y linfocitos, por lo que se complica y deriva en hemorragias en el pecho, brazos, cara e intestinos, desarrollándose áreas necrosadas en la garganta, y por último se presenta la recuperación o muerte del individuo. Por otro lado, los tricotecenos pueden causar dermatitis, a excepción del deoxinivalenol, así como degeneración de la médula ósea (figura 11.11).^{18, 48}

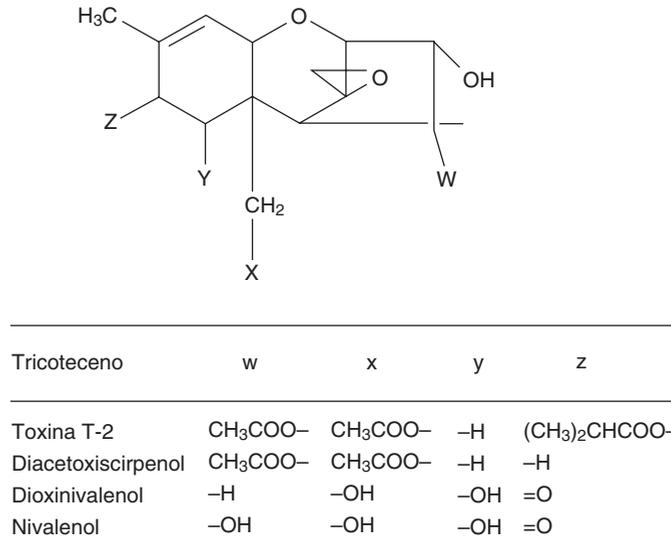


Figura 11.11 Tricotecenos.

Otra toxina del género *Fusarium* es la vomitoxina, la cual ocasiona que los cerdos rehúsen ingerir alimentos contaminados con este compuesto. Químicamente es la 3,7,15 trihidroxi-12,13-epóxi tricotec 9-en-8-ene. Esta toxina se ha detectado en arroz contaminado con *F. graminearum*.⁷⁶

11.3.2 Ácido fítico

El ácido fítico se encuentra naturalmente en diferentes alimentos, principalmente en cereales, soya, zanahoria, etcétera, como un complejo de fitato-mineral-proteína, incluso se ha sugerido que también pueden formar complejos con los carbohidratos. Este compuesto decrece la unión de gastroferrina, por lo que disminuye la absorción del calcio, magnesio, fósforo, zinc y molibdeno en el intestino. Se ha demostrado que el pan integral puede llegar a contener ácido fítico cuando no se usan levaduras para su elaboración, ya que estos organismos poseen fitasas que se encargan de hidrolizar a los grupos fosfato (figura 11.12).²³

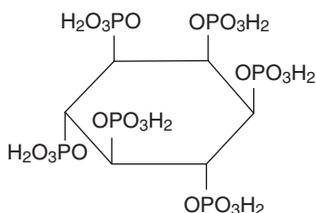


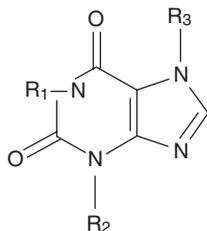
Figura 11.12 Mioinositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato o ácido fíttico.

11.4 INHIBIDORES DE AMILASAS

Son un tipo de proteínas que se encuentran en el endospermo del trigo, arroz, mijo o cebada. Son sensibles al calor y pueden afectar las α -amilasas salivales, pancreáticas, así como las bacterianas. El efecto de inhibición se destruye por la acción de enzimas proteolíticas del tracto digestivo. En realidad, los inhibidores de amilasas han recibido poca atención, también se ha reportado su presencia en otros alimentos, como frijol, lenteja, garbanzo, papa y mango, entre otros.

11.5 BEBIDAS ESTIMULANTES

El café, té y chocolate poseen compuestos estimulantes del sistema nervioso central, los cuales pertenecen a las xantinas: cafeína, teofilina y teobromina, con una estructura química muy semejante entre sí, por lo que se consideran relativamente no tóxicos (figura 11.13).



Xantina	R ₁	R ₂	R ₃
Cafeína	+	+	+
Teobromina		+	+
Teofilina	+	+	
Paraxantina	+		+

Figura 11.13 Xantinas estimulantes.

Es probable que el uso y consumo de cafeína date de la Era Paleolítica, ya que está ampliamente distribuida en diferentes plantas, entre las que se encuentran varias de Sudamérica como la guaraná, cola, yoco y mate. Aparentemente la planta de café fue cultivada en Etiopía (Abisinia) y el fruto se ingería como tal, después se le fermentó y finalmente se procesó como una bebida caliente, llamada *gahwah* o *kahveh* en turco, la cual después se transformó en café en español y francés y *kaffee* en alemán.⁵⁴ El consumo excesivo de cafeína ocasiona un estado de ansiedad, con efectos cardiovasculares, diuresis y un aumento en la secreción gástrica. Según la legislación de Estados Unidos de América,⁵⁴ no está considerada como un aditivo en bebidas carbonatadas, ya que se parte generalmente de un extracto de las semillas de la planta de cola.

El té proviene de las hojas de *Camellia sinensis*. En una taza de té pueden encontrarse hasta 60 mg de cafeína, además de otros compuestos en menores cantidades relacionadas a las xantinas, como la teobromina. La teofilina es químicamente la 1,3-dimetilxantina, y su presentación es un polvo blanco amargo. Es un relajante del músculo liso y posee propiedades diuréticas.

Químicamente es la 3,7-dimetilxantina, y se encuentra como un polvo blanco y amargo. Se utiliza como diurético y relajante del músculo liso, prácticamente no es estimulante del Sistema Nervioso Central.¹¹

11.6 PÉPTIDOS, PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS TÓXICOS

A diferentes estructuras de tipo proteico, peptídico o de aminoácido en alimentos se les ha asociado con efectos toxicológicos. En muchos casos, su modo de acción varía considerablemente, ya que pueden ser inhibidores de la actividad enzimática, o bien, interfieren con el funcionamiento normal del sistema nervioso o digestivo, sin descartar otro tipo de alteraciones, como la acumulación de selenio en aminoácidos, en donde se sustituye al azufre en cistina, glutatión, metionina, etcétera. En animales causa malformación en los “cascos” (pezuñas) y huesos. Este metal se acumula en plantas silvestres como *Astragalus sp* y *Lecythis ollaria*.

Entre los aminoácidos tóxicos se encuentran aquellos que no forman parte de la estructura primaria de las proteínas, pero pueden actuar como antimetabolitos o tóxicos en su forma libre. Algunos autores han clasificado los aminoácidos no proteínicos desde el punto de vista estructural, en dos grupos: aquellos que tienen una estructura muy similar con los proteínicos denominados “análogos”, como es el caso de la canavanina, mimosina, entre otros; y el otro grupo que tiene una estructura muy diferente, conocidos como “aminoácidos raros”, como es la latirina o la hipoglicina.

11.6.1 Amatoxina y falotoxina

Proviene de hongos del género *Amanita*, los cuales se confunden fácilmente con hongos silvestres comestibles, por lo que existen varios reportes de intoxicaciones por la ingestión de estas especies. Las toxinas que contienen son péptidos cíclicos. La amatoxina (α -amanitina) es un octapéptido, presenta uniones sulfóxido con una isoleucina hidroxilada; mientras que la falotoxina (faloidina) es un heptapéptido con una unión tioéster entre una cisteína y un triptofano, además presenta una leucina hidroxilada.⁴⁵ Las amatoxinas actúan lentamente, no importa cuan elevada sea su dosis. Su acción es bloquear la transcripción de las ARN polimerasa I y II en eucariotes; es decir, bloquea toda síntesis

proteica en células. Es posible que las amatoxinas se acomoden en un sitio simétrico en la polimerasa o bien en el complejo ADN-ARN-polimerasa (figura 11.14).

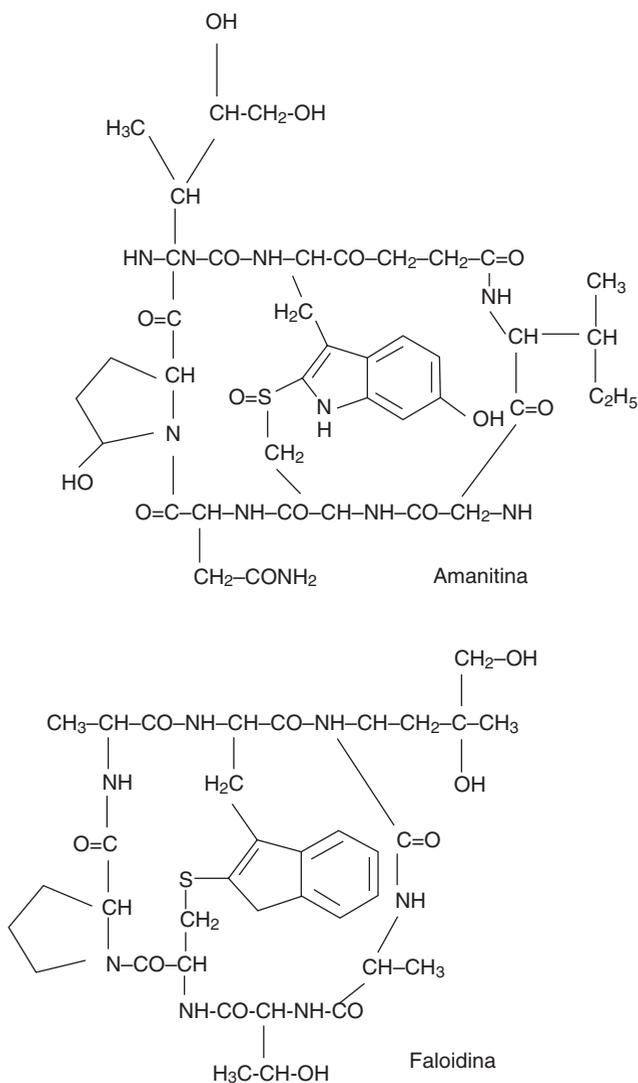


Figura 11.14 Amanitina y faloidina.

11.6.2 Islanditoxina

Esta toxina proviene del *Penicillium islandicum*, el cual se asocia con el arroz mohoso.⁵² La islanditoxina es responsable de hepatocarcinomas. La DL_{50} por vía intravenosa en rata es de $338 \mu\text{g}/\text{kg}$. Es una molécula cíclica que contiene cloro el cual, si se elimina, pierde su toxicidad.³⁶ Esta micotoxi-

na es un agente hepatotóxico, ya que puede causar una muerte rápida por una fuerte hemorragia y daños severos del hígado; también se ha observado que causa daños al páncreas (figura 11.15).

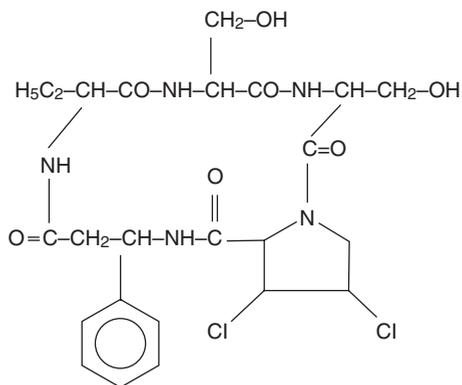


Figura 11.15 Islanditoxina.

11.6.3 Toxina botulínica

Es de origen proteico, posee dos cadenas denominadas subunidad H y subunidad L, unidas por grupos disulfuro con un PM aproximado de 150,000; son suficientes de 2 a 10 μg para producir efectos letales. La toxina bloquea la neurotransmisión, debido a que impide la secreción de acetilcolina pre-sinápticamente. La muerte resulta por la parálisis de los músculos de la respiración.³⁶ Los primeros síntomas aparecen entre las 8 y las 72 horas: vómitos y náuseas, visión doble, dificultad para deglutir o para hablar y asfixia.¹⁷ El botulismo es un problema conocido desde hace más de 1,000 años al que se relaciona con el nombre (del latín *botulus*) que significa embutidos.

11.6.4 Toxinas de *Stafilococcus* sp.

Estas toxinas son altamente resistentes al calor durante la cocción. En monos, su efecto emético (vómito) se presenta cuando se ingiere vía oral en concentraciones de 5 μg . Los síntomas son: dolor de cabeza, náuseas, dolores estomacales y fiebre. La recuperación completa se presenta entre 24 y 72 horas.⁵²

11.6.5 Selenoaminoácidos

En Estados Unidos, Irlanda, Australia, Israel y países de Centro y Sudamérica se encuentran suelos con un alto contenido de selenio. Plantas que crecen en este tipo de suelos almacenan selenio en forma de análogos de aminoácidos azufrados, como la L-selenometionina o L-selenocisteína, los cuales pueden ser incorporados a proteínas, llegando a tener una concentración hasta de 15,000 mg/kg. Entre los síntomas de intoxicación por selenoaminoácido (“enfermedad alcalina”) están la dermatitis, fatiga, mareo, pérdida de cabello y uñas (o pezuña en el caso de los bovinos) y problemas gastrointestinales (figura 11.16).

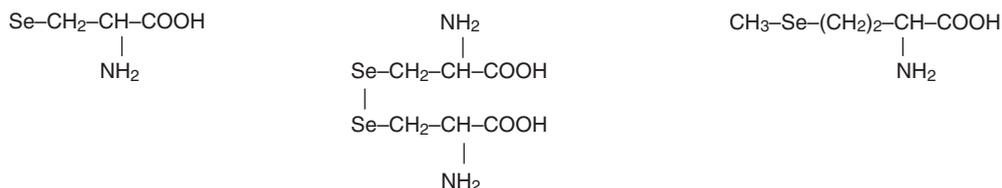


Figura 11.16 Selenocisteína, selenocistina y selenometionina.

11.6.6 Canavanina

Es un análogo de la arginina, se encuentra en las plantas del género *Papilionoides*, y es un antimetabolito de arginina. Se le ha encontrado en la *Canavalia ensiformis*, planta que crece en la península de Yucatán, México, así como en Centro y Sudamérica. La canalina es el producto tóxico que proviene de la acción de la arginasa. La canalina aparentemente puede unirse al piridoxal fosfato, por lo que interfiere con las enzimas que requieren de este cofactor. La canavanina se considera un aminoácido tóxico, debido a que funciona como antagonista de la arginina, y al parecer se encuentra ampliamente distribuida en semillas de leguminosas, en concentraciones que pueden llegar al 10% en base seca.³

11.6.7 Mimosina

A este aminoácido se le ha detectado en la *Leucaena glauca* (guaje), la cual crece en América Central y Sudamérica, y también en otras especies de *Leucaena* (Lucas, *et al.*, 1988). Presenta efectos tóxicos por el aminoácido leucenina o mimosina que constituye el 5% de su proteína. La sintomatología se caracteriza por pérdida de cabello, anorexia, crecimiento retardado, parálisis de las extremidades y cataratas (figura 11.17).

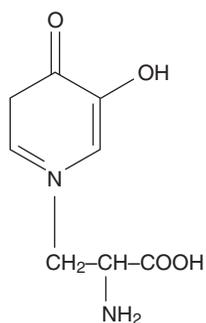


Figura 11.17 Mimosina.

11.7 GOSIPOL

A este compuesto se le encuentra en la semilla de algodón, el cual podría quedar como contaminante en la pasta de algodón al momento de realizar la extracción del aceite. La planta sirve como alimento de ganado, y no presenta efectos tóxicos en ruminantes cuando hay una masticación prolongada. Los síntomas de intoxicación por gosipol son pérdida de apetito, pérdida de peso, decoloración del cabello, disminución del número de eritrocitos, cambios degenerativos en hígado y bazo, hemorragias en hígado, intestino delgado y estómago. También inhibe a la glutatión *S*-transferasa, la cual facilita la biotransformación de algunos tóxicos. La eliminación del gosipol puede hacerse por medio de tratamiento térmico, uniéndolo a proteínas o por extracción.²⁴ Además, se ha sugerido que es un potencial anticonceptivo para hombres, debido a que inhibe competitivamente la deshidrogenasa láctica, la cual juega un papel importante en la producción de espermatozoides (figura 11.18).

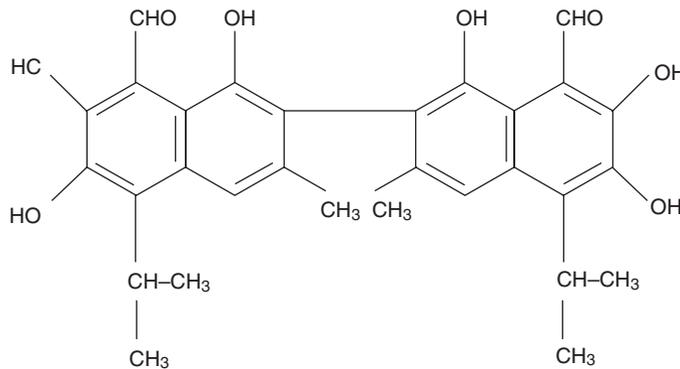


Figura 11.18 Gosipol.

11.8 CAPSAICINA

A este compuesto se le asocia con la sensación pungente de los chiles, que se presenta a niveles del 0.14 al 0.22%. Se encuentra principalmente en el pericarpio, sin embargo, se cree que en las semillas se acumula por difusión (cuadro 11.3). Entre sus efectos fisiológicos se encuentran alteraciones de temperatura, transpiración (lo cual crea una sensación de frescura alrededor) y salivación. Es irritante a la piel y membranas. Internamente causa gastritis (úlceras), cirrosis, vómitos, diarreas y micciones dolorosas (figura 11.19).⁴¹

11.9 SOLANINA Y CHACONINA

Las papas inmaduras presentan glicoalcaloides (solanina y chaconina) en el rango de 1-13 mg/100g, y son inhibidores de la colinesterasa. Estos compuestos se presentan en la piel y brotes de estos tubérculos. La solanina se acumula al retardarse la maduración, así como al almacenarse en frío y con

luz.¹⁴ Los síntomas producidos son malestares gastrointestinales, desórdenes neurológicos, estado semicomatoso y daño hemolítico del tracto intestinal. En casos graves se presentan edemas cerebrales, coma, calambres y muerte (figura 11.20).

CUADRO 11.3 Nivel de pungencia de algunos chiles (*Capsicum sp.*)

Tipo de chile	Origen	Nivel relativo de pungencia	Porcentaje de concentración de capsaicina
Santaka	Japón	80,400	0.55-0.65
Piquín	México	40,000	0.26
Hantaka	Japón	50,000	0.33
Mombasa	África	120,000	0.8-0.85 (hasta 1.1)
Uganda	África	127,000	0.85
Louisiana (sport pepper)	EUA	—	—
Tabasco	México	—	—
Ancho	México	—	—
Habanero	México	—	—
Nigeriano	Nigeria	—	0.6
Paprika húngara	Hungría	—	0.00-0.3
Pimentón rojo	México/EUA	—	0.25-0.45
Etiopie	Etiopía	—	0.35
Turco	Turquía	—	0.083
India	India	—	1.05-1.59 (0.6-1.86)

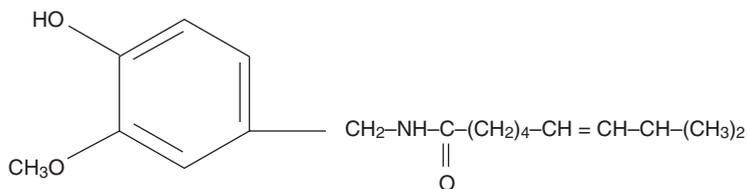


Figura 11.19 Capsaicina.

11.10 SUSTANCIAS PROMOTORAS DE BOCIO

Aunque hay varias sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal que pueden manifestar un efecto bociogénico, por lo general, se asocia con la presencia de ciertos tioglucósidos en plantas de la familia *crucifera* y, en el caso de los miembros presentes en los alimentos, se restringe al género *Brassica*.¹² Su acción se debe a que inhiben la disponibilidad del I₂ para la glándula tiroides, causando hipertrofia de esta glándula. Además, este tipo de tioglucósidos son los responsables de la natu-

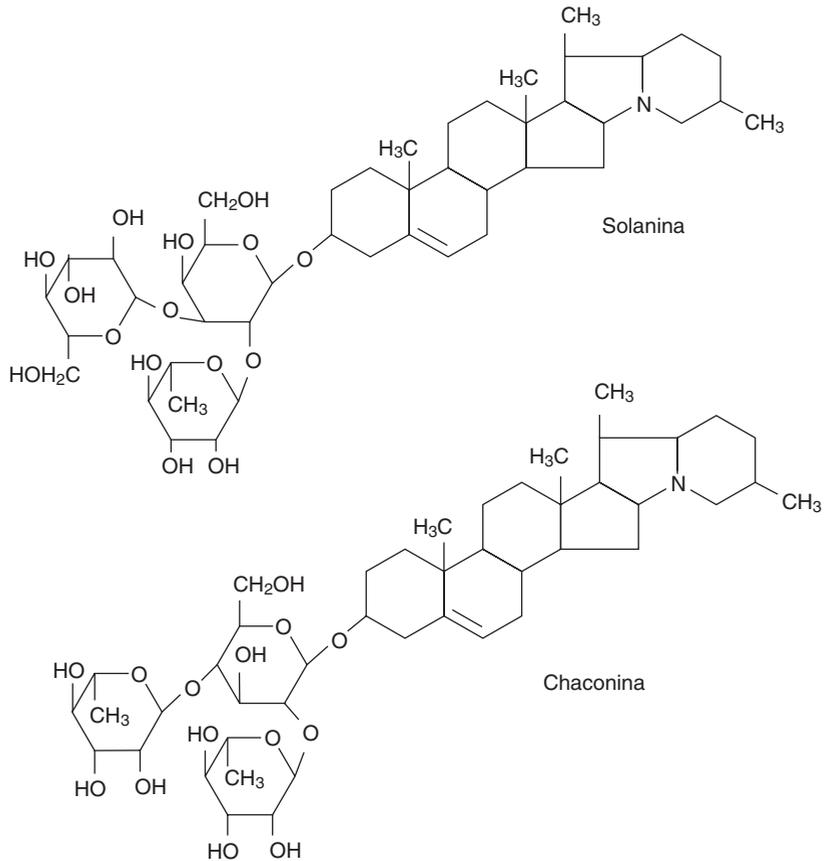


Figura 11.20 Solanina y chaconina.

raleza picante o pungente característica de cada especie vegetal que los contiene. Estos compuestos se encuentran en plantas crucíferas y especialmente en sus semillas (mostaza, col, berza, nabo, coles, de bruselas, rutabagas, etcétera); la fórmula general del glucosinolato se ilustra en la figura 11.21.

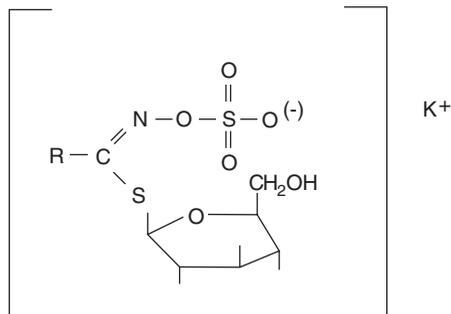


Figura 11.21 Estructura general de un glucosinolato.

La actividad antitiroidea de algunos alimentos se descubrió a raíz de las observaciones accidentales sobre el peso de la tiroides en conejos sometidos a un régimen rico en hojas de col; así, el primer tioglucósido que se aisló fue la “sinigrina”. Desde el punto de vista químico, estos compuestos son glucósidos, pero tienen la particularidad de que la unión a la parte aglucón es a través de un átomo de azufre, por lo que generalmente el azúcar es la β -D-tioglucoosa. Este tipo de compuestos con actividad antitiroidea, pueden presentarse en algunos alimentos de origen vegetal y, como mencionamos en un principio, son particulares del género *Brassica*; sin embargo, otra característica de estos compuestos, es que en la planta que los contiene, pueden encontrarse varios tipos a la vez, o sea que no hay un determinado glucosinolato que se asocie a cada especie.²⁷

11.11 TOXINAS EN MARISCOS Y PECES

Algunas de las intoxicaciones de origen marino son causadas por ingerir pescados y mariscos que se han alimentado con dinoflagelados o algas productoras de toxinas. Con la tendencia actual de consumir productos marinos, podrían producirse intoxicaciones leves o de mayores consecuencias. Entre los mariscos que se alimentan con algas se encuentran mejillones, almejas, ostiones y los peces “ciguatera”.^{13, 61} Esta intoxicación se debe al consumo de pescados que se alimentaron de algas como *Schizothrix calcicola*. Se considera como un problema esporádico, y se presenta en el Caribe y zonas tórridas. Se ha detectado en guachinango, barracuda y tiburón. Cuando se consumen pescados contaminados, podrían presentarse los siguientes síntomas: cosquilleo en labios, lengua y garganta con un adormecimiento posterior. Otros síntomas son náusea, vómito, sabor metálico, boca seca, dolor abdominal, escalofríos y debilidad muscular.

11.11.1 Saxitoxina

Varios mariscos no producen toxinas, pero sí son capaces de almacenarlas al ingerir dinoflagelados tóxicos como *Gonyaulax catenella*, y si el ser humano a su vez los ingiere, puede presentar los siguientes síntomas: adormecimiento de labios, lengua, yemas de los dedos, piernas, brazos y cuello, falta de coordinación muscular, problemas respiratorios y muerte por paro respiratorio (2-12 horas). El efecto tóxico es por el bloqueo del flujo de sodio a los nervios o células musculares, lo cual inhibe la propagación de los impulsos nerviosos. No se conoce antídoto para la intoxicación; las toxinas son estables al calor; ya que, por ejemplo, almejas procesadas a 116°C pueden retener un 50% de la toxina (figura 11.22).

En grandes cantidades (20,000 células/mL), estos dinoflagelados pueden impartir una coloración rojiza al mar, ocasionando lo que se conoce como “marea roja”.

Es necesario hacer un muestreo de las fuentes de moluscos en los meses de mayo a octubre, en el hemisferio norte, ya que es la época probable de reproducción de los dinoflagelados. Cabe comentar que los síntomas son muy similares a la acción de la tetradoxina.

11.11.2 Tetradoxina

Esta molécula está asociada con el consumo de pez globo (*fugu*) que pertenece a la familia *Tetraodontidae*. En el Oriente (Japón), este pez acumula la toxina en ovarios, hígado, intestino, piel y hueva.⁵⁶

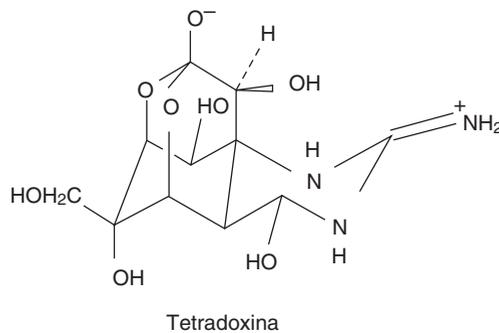
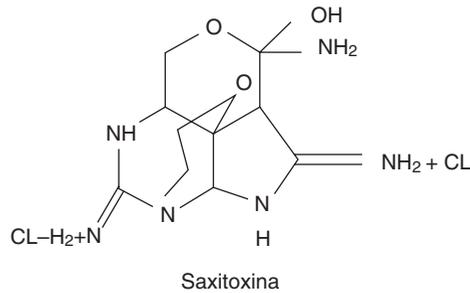


Figura 11.22 Saxitoxina y tetradoxina.

El consumo de este pez se considera como una delicadeza para el paladar. Sin embargo, su intoxicación hace que se presenten los siguientes síntomas: cosquilleo en dedos y labios, náusea, vómito, diarrea, dolor epigástrico, pérdida de reflejos de la pupila, parálisis progresiva, problemas respiratorios y muerte. Su acción es similar a la saxitoxina, ya que bloquea la acción fisiológica de los iones sodio, e inhibe los impulsos nerviosos.

11.12 ANTIVITAMINAS

La definición de antivitaminas se presta a confusión, ya que es necesario considerar las siguientes características:

- Estructura química similar a la de la vitamina asociada.
- Similitud entre los efectos producidos por la deficiencia de la vitamina y por la antivitamina.
- Compite por sus efectos.

Sin embargo, en estas condiciones, a la avidina, antitiamina y antagonistas de la vitamina D no se les podría considerar como antivitaminas, ya que no cumplen con uno o más de los puntos antes señalados. Con base en esto, se trata de definir a las antivitaminas como una clase especial de compuestos,

dentro de los diferentes antimetabolitos, que disminuyen o anulan el efecto de una vitamina de una manera específica.

Entre los primeros descubrimientos de antivitaminas están los relacionados con la mala absorción de calcio, es decir la antivitamina D o ácido fítico. En el caso de la avidina (un tipo de proteína), presente en la clara de huevo cruda, se demostró que era dañino ingerir este tipo de alimento sin cocción; sin embargo, el efecto, que se conoce desde 1916, no se relacionaba con la biotina, la cual fue descubierta posteriormente. El efecto de la avidina es formar un derivado insoluble con la biotina.¹⁴

Otro ejemplo relacionado con las antivitaminas es la parálisis de Chastek, asociada con un antagonista de la tiamina. Esto se determinó por primera vez en zorros plateados, a los que se alimentó con vísceras de carpas o de truchas crudas; 12 horas después, presentaron anorexia y muerte.

Se ha reportado que algunos compuestos de tipo antitiamina se encuentran en pez espada, arenque, cangrejo, almejas, etcétera. La actividad asociada como antitiamina, se relaciona con la enzima tiaminasa, responsable de la ruptura de la tiamina a nivel del metileno. La tiaminasa I cataliza un intercambio en la molécula de la vitamina, donde el tiazol es reemplazado por una base (p. ej., amina). La tiaminasa II produce la hidrólisis de la molécula. Ambas enzimas se destruyen a 60°C. Esto indica, que un alto consumo de pescado o mariscos crudos deben considerarse como un posible factor de antitiamina. Esta vitamina (B₁, tiamina) se requiere para el metabolismo de carbohidratos, su deficiencia causa anorexia, fatiga, debilidad muscular y beriberi.

Hay otras fuentes de antitiamina, como los helechos, arroz y cerezas. Este factor es termolabile. Cabe resaltar que las moléculas responsables tienen una estructura fenólica y no enzimática, como el ácido cafeico (ácido 3,4 dehidroxicinámico).

11.13 TÓXICOS PRESENTES EN LA MIEL DE ABEJA

Desde la antigüedad se conocen varios casos en donde la miel de abeja se señala como la responsable de intoxicaciones por la contaminación de néctares o polen tóxicos. Entre las plantas tóxicas asociadas con mieles contaminadas están principalmente las fricareas, como *Rhododendron*, *Azalea*, *Andrómeda* y *Kalmia* (figura 11.23).⁸⁰

Es conveniente resaltar que la posibilidad de que una miel esté contaminada por este tipo de compuestos es bastante remota, ya que estas sustancias son también tóxicas para las abejas, razón por la cual estos insectos tratan de evitar la recolecta de polen y néctar de dichas plantas.

La esculina puede ser otro tóxico presente en la miel, la cual se encuentra en el néctar y polen de la planta *Aesculus sn*. La tutina y la hienanquina se han aislado del árbol de tute (*Coriaria arbores*). La tutina, a dosis de 1 mg, en humanos causa náuseas, vómitos, e incapacidad de trabajar por 24 horas. Esta cantidad puede estar contenida en 25 g de miel. Otros síntomas de la tutina son: delirios, mareos, dolores abdominales, cefalea, excitación, estupor, coma, convulsiones y pérdida de la memoria. Pueden existir otras plantas que contaminen la miel de abeja, como la *Datura stramonium* (toloache), *Hyoscyamus niger* y *Gelsemium sempervivans* (falso jasmín o jasmín amarillo). Este último presenta galsemina, la cual ocasiona mareos, relajamiento, náuseas y convulsiones. La asarona es otro compuesto que se emplea para dar aroma al vermouth. Está presente en el aceite de cálamo y se le asocia con depresión, aumento de líquidos en el abdomen, problemas cardíacos y hepáticos. También se le ha asociado con tumores en ratas. En algunos países está prohibido su uso, como en Estados Unidos (figura 11.24).

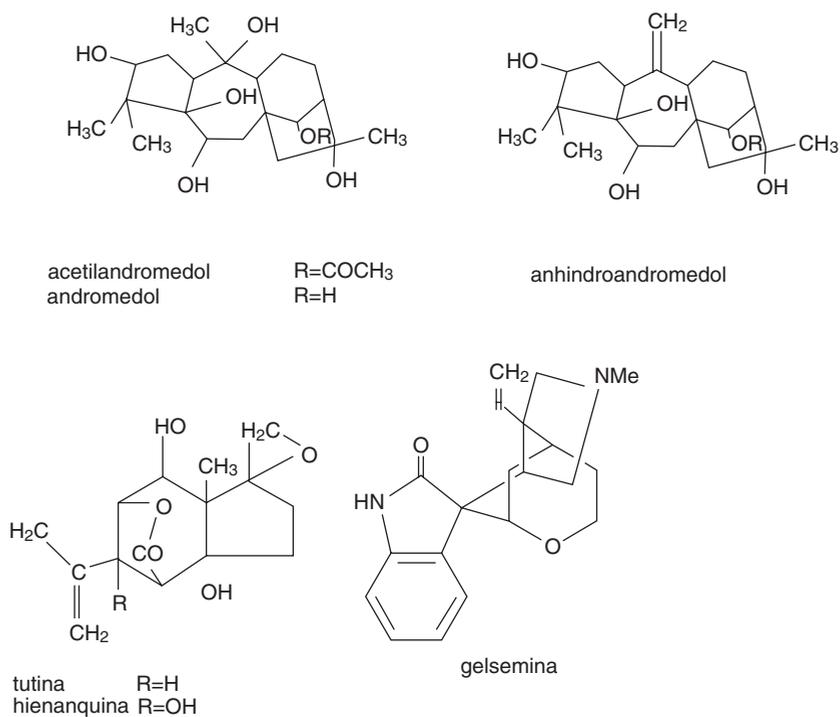


Figura 11.23 Tóxicos presentes en la miel de abeja.

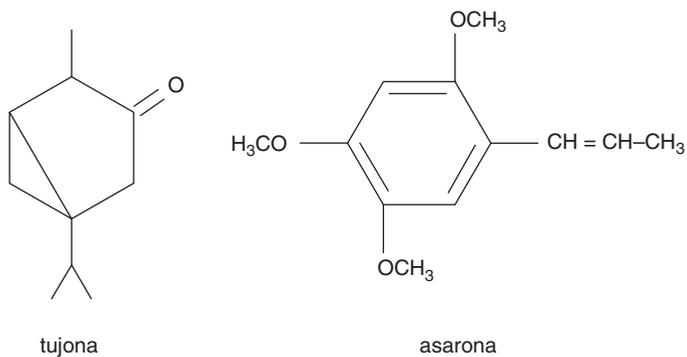


Figura 11.24 Tujona y asarona.

11.14 COMPUESTOS TÓXICOS GENERADOS POR PROCESO

Los compuestos que se generan por un proceso son parte intrínseca de la transformación de los alimentos; es posible tener una idea de su presencia, pero no siempre se les cuantifica o se prevé su repercusión, sin embargo, en muchos casos se puede controlar su formación o fijar tolerancias que garanticen la salud del consumidor.

Entre los carcinógenos secundarios más importantes están: uretano, aflatoxinas, hidrazinas, isotiocianato de alilo, alcaloides de la pirrolizidina, alquenil bencenos, taninos, psoralenos, carbamato de etilo, etanol, sustancias en el café, diacetilo, etilén clorhidrinas, 1,4 dioxano, nitrosaminas, reacciones de Maillard, termodegradación de proteínas, carbohidratos y lípidos.

El uretano es un compuesto ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CO-NH}_2$) que por lo general se encuentra en los alimentos cuando se usa el pirocarbonato de dietilo como conservador, puesto que la degradación del segundo genera el uretano.

Las hidracinas son una familia de compuestos, como la N-metil-N-formilhidrazina, la giromitrina, la metil-hidrazina, la agaritina y el ácido para-hidrazinbenzoico, todos encontrados en diversos hongos comestibles (*Gyromitra esculenta*, *Agaricus bisporus* y *Cortinellus shiitake*); muchos de ellos han demostrado su capacidad mutagénica y carcinogénica en distintos animales de laboratorio; atacan principalmente el estómago y los pulmones con diferentes velocidades. La concentración en que se encuentra varía, pero va desde 1 mg (10 mg/kg) hasta 300 mg (3,000 mg/kg), por 100 g de material comestible.

Los isotiocianatos, principalmente el de alilo ($\text{CH}_2=\text{CH-CH}_2\text{-N=C=S}$) son responsables del aroma característico de un gran número de productos vegetales, tales como rábano, mostaza, brócoli, col y otros. El isotiocianato de alilo proviene de la hidrólisis enzimática de los tioglucósidos sinigrina y sinalbina, que son atacados por una beta-galactosidasa cuando el tejido del fruto es cortado, mordido, etcétera. En pruebas de laboratorio se ha demostrado que el consumo excesivo del isotiocianato de alilo causa cáncer en las ratas; por otro lado, este compuesto forma parte del aroma y sabor de la cebolla y el ajo.

Desde hace tiempo se sabe que algunos derivados de la pirrolizidina tienen la capacidad de ser mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, y que se encuentran en un gran número de plantas, principalmente en las que se emplean para hacer infusiones. A pesar de que no son realmente modificadas, se les incluye en esta parte, ya que se realiza un proceso de concentración. Entre las pirrolizidinas más comunes están la petasitenina, la senquirquina y la simfitina que, cuando se administran en forma pura a las ratas, provocan tumores en el hígado.

El carbamato de etilo o uretano ($\text{NH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) se encuentra en muchos alimentos fermentados, como en los derivados lácteos, la cerveza, el vino y el pan; su administración en las ratas les provoca tumores.

El café es una de las bebidas más populares en todo el mundo; según el método de preparación, se extraen diferentes compuestos, tales como cafeína, diacetilo, glioxal, metil-glioxal, ácido clorogénico y otros. Estas sustancias han demostrado ser mutagénicas. También contiene pequeñas cantidades de benzopireno, cuya mutagenicidad y carcinogenicidad ya ha sido comprobada; los taninos también están presentes.

11.14.1 Compuestos producidos por altas temperaturas

Durante la industrialización y preparación de la mayoría de los alimentos, comúnmente se emplean distintos tratamientos térmicos tales como la pasteurización, la esterilización, el cocimiento, el hor-

neado, el freído, etcétera. Cada uno de ellos se efectúa en distintas condiciones de temperatura, lo cual favorece diversos cambios químicos. De igual manera, debido a la complejidad de las características y composición de los alimentos (pH, actividad acuosa, potencial de oxidación-reducción, disponibilidad de reactantes, etcétera), durante su calentamiento se generan muchas sustancias orgánicas cíclicas, tales como pirazinas, pirimidinas, furanos y derivados del antraceno. Muchas de estas reacciones son las responsables del aroma y del sabor de los alimentos, pero otras están asociadas con la producción del cáncer; en efecto, algunas son las mismas que se generan al fumar y a las cuales se les ha atribuido el efecto dañino del cigarro.

11.14.1.1 Reacción de Maillard

Éstas son un grupo de transformaciones que dan origen a los colores y algunos sabores típicos de muchos alimentos (p. ej., pan, huevo, leche), cuando se someten a un tratamiento térmico; de acuerdo con la intensidad, la coloración varía desde amarillo ligero hasta un café intenso. En relación con su posible toxicidad existe mucha controversia, ya que los estudios se han realizado en sistemas modelo rígidos y simples, como es el caso de la reacción entre la glicina y el almidón, en donde algunos de sus derivados presentan una marcada mutagenicidad ante la prueba de Ames. En el laboratorio se han efectuado análisis con mezclas de ramnosa/amoniaco, maltol/amoniaco, cisteamina/glucosa, entre otras, pero los resultados no se pueden extrapolar fácilmente a un alimento con una composición completamente distinta.

Entre los diferentes métodos de conservación de alimentos se encuentra el procesamiento térmico, el cual en forma general, tiene una repercusión benéfica, ya que destruye compuestos tóxicos como las hemaglutininas, inhibidores de enzimas, o bien favorece la digestión. En contraparte se presentan reacciones que pueden ser indeseables en algunos casos, como la de Maillard o ennegrecimiento no enzimático, que se lleva a cabo entre los grupos reductores de azúcares y los grupos amino libres de las proteínas o aminoácidos, que dan lugar a una serie de compuestos complejos que a su vez se polimerizan, formando una serie de pigmentos oscuros conocidos como las melanoidinas.^{8, 16}

Mientras se lleva a cabo la reacción de Maillard, se observa que también disminuye la digestibilidad de las proteínas, así como la cantidad de lisina disponible,⁵⁷ lo que sugiere la formación de compuestos tóxicos o antinutricionales o simplemente pérdida de nutrimentos.⁶⁹ Cuando se realizan dietas con una concentración elevada de compuestos de tipo Maillard, se observan diarreas agudas, problemas intestinales (cecum inflamado), una elevada excreción de aminoácidos y un decremento considerable en la actividad enzimática de lactasa, sacarasa y maltasa. También se ha asociado el daño en hígado con compuestos de tipo Maillard, ya que está relacionado con el aumento de actividad de fosfatasa alcalina y de la transferasa de oxalato-glutamato. Incluso se ha demostrado que este tipo de pigmentos son mutagénicos en la prueba de Ames. En esta prueba, se utiliza una cepa mutada de *Salmonella*, que depende de la histidina para su crecimiento, la cual se revierte a su estado "natural" de independencia de la histidina, después de haber sido expuesta a materiales que provienen de la reacción de Maillard, es decir que son capaces de inducir mutaciones.^{68, 70, 71}

Es necesario reconocer que en la reacción de Maillard se llevan a cabo otros cambios favorables como el color-olor-sabor característico de los panes, o bien de algunas aves rostizadas.^{8, 28} En cualquier caso se observa principalmente la síntesis de pirazinas y de imidazol. Las primeras son fundamentales para el aroma de los alimentos tratados térmicamente (p. ej., los rostizados), pero algunas de ellas han presentado propiedades mutagénicas; por su parte, los imidazoles no son tan importantes para el aroma, aunque presentan cierta mutagenicidad.^{59, 71}

11.14.1.2 Degradación de aminoácidos y proteínas

La degradación pirolítica del triptofano ha dado origen a compuestos mutagénicos potentes, tales como el 3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido-(4,3b)-indol y el 3-amino-1-metil-5H-pirido-(4,3b)-indol, mientras que la fenilalanina puede producir el 2-amino-5-fenilpiridina y el ácido glutámico sintetiza 2-amino dipirido (1,2a: 3',2'd) imidazol y 2 amino 6 metil dipirido (1,2a: 3',2'd) imidazol. Otros derivados de la lisina o de la ornitina también se han identificado como mutagénicos, pero no tan potentes como los anteriores. Por su parte, los pirolizados de las proteínas de soya también han demostrado tener esta actividad.

11.14.1.3 Termodegradación de lípidos

Un gran número de sustancias se sintetizan cuando los aceites se someten a temperaturas elevadas, como ocurre cuando se fríen o asan alimentos; se asume que al momento en que la grasa cae directamente en las brasas o está expuesta a temperaturas mayores de 200°C, se forman estos compuestos. Muchos de ellos se han relacionado directamente con el cáncer en el colon y en la próstata de las personas que consumen excesivas cantidades de grasas muy calentadas.⁷⁸

Algunos de los hidrocarburos policíclicos aromáticos presentes en alimentos son: benzantraceno, benzofluorantreno, benzoperileno, benzopireno, criseno, metil criseno, coroneno, dibenzantraceno, dibenzocriseno (antrantreno), fluorantreno, perileno, fenantreno, pireno, metil pireno y trifenileno. Todos ellos se asocian con productos ahumados de res, quesos, aves, almejas, ostiones, jamón, salmón y salchichas.

Las grasas son susceptibles de sufrir cambios durante su calentamiento, principalmente las polinsaturadas, que son fácilmente oxidadas durante la elaboración de frituras como papas a la francesa, "carnitas", chicharrón, etcétera. Un consumo elevado de grasas termoxidadas resulta en una hepatomegalia acompañada de pérdida de apetito, retraso en el crecimiento, diarrea, daño histológico de riñón, hígado, e incluso la muerte;^{1, 81} así como cuentas bajas en el hematocrito, un contenido menor en hemoglobina y una disminución en la capacidad total de unión del hierro con la hemoglobina. Paralelamente a una deficiencia en hierro, se forma el malondialdehído, que al reaccionar con aminofofolípidos y proteínas de las membranas causa rigidez en los eritrocitos, mientras que en células normales, el malondialdehído induce a la síntesis de enzimas que metabolizan radicales libres como la catalasa, glutatión peroxidasa y superoxidodismutasa.^{77, 83}

Por otro lado, los individuos que consumen dietas elevadas en grasas son considerablemente más susceptibles a desarrollar cáncer en el pecho, colon y próstata.¹⁵ En general se asume que países consumidores de grasas tienen una incidencia mayor de cáncer mamario que aquéllos en los que no se abusa de este producto.⁴⁶ Entre los compuestos generados por la termodegradación de grasas se encuentran los aromáticos policíclicos derivados del antraceno (figura 11.25).

Según Fabián,¹⁹ el contenido de hidrocarburo aromático cancerígeno puede variar de 20 a 100 µg/kg en grasas comestibles (aceites, margarinas y mantequilla), por ejemplo el 3,4 benzopireno fue detectado de 3 a 18 µg/kg. Castro Roa *et al.*,⁷ estudió el efecto del sobrecalentamiento de grasa en presencia de nitritos usados para la elaboración de frituras de la epidermis del cerdo (chicharrón), y encontró nitrosopirrolidina en la grasa (manteca) sobrecalentada que varió de 8.3 a 2.5 ng/µL después de 10 minutos de calentamiento respectivo; aislados de estos compuestos de grasa y nitrosamina, fueron sometidos a la prueba de Ames, sin que se detectara un efecto de mutagénesis con *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 y TA1535.

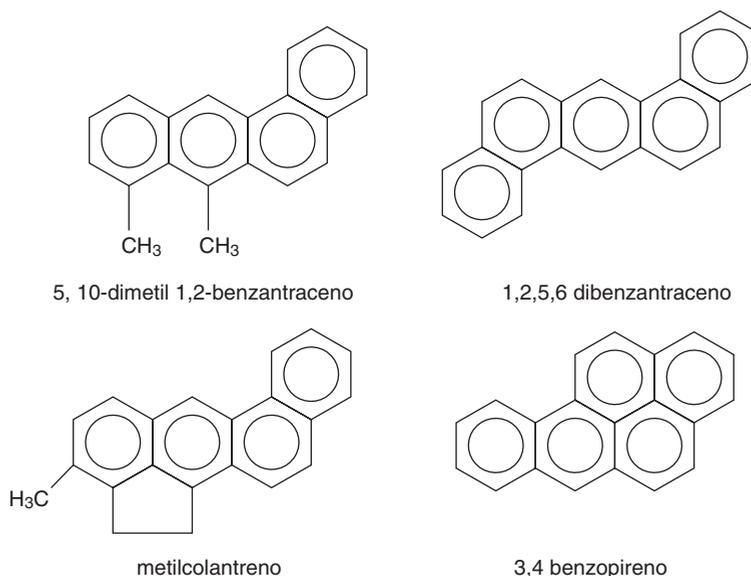


Figura 11.25 Aromáticos policíclicos.

11.14.1.4 Nitrosaminas

Muchos de estos compuestos son cancerígenos y se originan de la reacción del óxido nitroso (NO) con las aminas secundarias y terciarias, durante el curado de los productos cárnicos embutidos. Por esta razón, hace algunos años se sugirió la prohibición de nitritos y nitratos para este fin, sin tener en cuenta que los nitratos se encuentran naturalmente en una alta concentración (hasta 200 mg/100 g de producto comestible) en espinacas, rábanos, betabel, ruibarbo, col, apio, etcétera; cabe indicar que esta cantidad se incrementa cuando los suelos se fertilizan con nitratos. El nitrato de estos alimentos se convierte en nitrito por las microfloras bucal e intestinal, y es de esta manera que reacciona con las aminas para formar más de 300 nitrosaminas; aproximadamente, el 90% de éstas han mostrado ser cancerígenas. Considerando la dieta promedio de una persona y la cantidad máxima de nitratos permitidos en los alimentos, se puede encontrar que la mayor fuente de nitritos son los productos vegetales ya mencionados. A las nitrosaminas (N-nitrosodimetilamina y N-nitrosodietilamina) se les adjudica un poder carcinogénico muy potente, principalmente en el estómago y en el esófago. Sin embargo, todavía existe mucha controversia sobre el verdadero efecto que tienen en el individuo, puesto que las cantidades que se consumen son muy bajas y, por lo general, son identificadas hasta en un nivel de concentración de 10 microgramos por kilogramo de producto.

Entre las nitrosaminas más comunes en alimentos y bebidas como leche descremada, malta, proteína de soya, tocino, chicharrón, salchichas, quesos, hamburguesas, cerveza y whisky están: N-nitroso dimetil amina, N-nitroso etil metil amina, N-nitroso dietil amina, N-nitroso metil propil amina, N-nitroso dipropil amina, N-nitroso etil propil amina, N-nitroso etil butil amina, N-nitroso propil butil amina, N-nitroso metil amil amina, N-nitroso dibutil amina, N-nitroso piperidina, N-nitroso pirrolidina, N-nitroso morfolina y N-nitroso diamil amina.

La formación de estos compuestos es uno de los ejemplos clásicos de tóxicos generados durante el proceso de alimentos, como el caso de carnes curadas y fritas, de algunos embutidos y tocino.^{25, 29, 49, 55} Las nitrosaminas formadas a partir de aminoácidos y nitrito, causan cáncer en los tractos digestivos, urinario y respiratorio, así como en el hígado y en el sistema reproductor.^{60, 82} En el caso de infantes de cuatro meses de edad, este problema se agudiza debido a que la flora presente es capaz de reducir nitratos a nitritos. Sin embargo, debemos recordar que el empleo de nitratos y nitritos en productos cárnicos, es con la finalidad de prever un riesgo mayor, que es la presencia de *Clostridium botulinum*.

Para evitar una alta concentración de nitrosaminas en alimentos, se emplean compuestos reductores como alfa tocoferol y palmitato de ascorbilo, ya que estos compiten con las aminas secundarias por las especies susceptibles a nitrosación.

Recientemente²⁵ se han detectado nitrosaminas en cerveza (5 µg/kg) y whisky (2 µg/kg), debido a que para procesar estos productos se utiliza un secado directo de la malta, de esta manera se forman óxidos de nitrógeno capaces de reaccionar con aminas secundarias. Otros procesos que también utilizan un secado directo son para preparar productos como la leche descremada en polvo con un contenido aproximado de 0.6 µg/kg de nitrosaminas y las proteínas de soya utilizadas como ingredientes en diferentes formulaciones (proteína texturizada, harinas, tofu, sopas, etcétera), los cuales contienen nitrosaminas desde valores no detectables hasta 0.6 µg/kg. Incluso se han detectado nitrosaminas en los chupones, debido al proceso de vulcanización. Por las razones anteriores se ha sugerido que el límite máximo de uso de nitritos se reduzca a 120 mg/kg, y sea acompañado por ascorbato o isoascorbato (550 mg/kg) (figura 11.26).

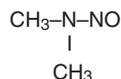


Figura 11.26 Dimetil nitrosamina.

11.14.1.5 Acrilamida

Es un potencial carcinogénico; sus sinónimos son monómero de acrilamida o propenamida. La acrilamida se forma durante la cocción de alimentos ricos en carbohidratos a altas temperaturas, con poco contenido proteico; sin embargo, se puede formar a partir de asparagina y glucosa. Se le ha identificado como un compuesto potencialmente cancerígeno. Se identificó que podía formar cáncer en animales de laboratorio. En 2002 se identificó y asoció con los alimentos en Suecia, es una molécula sencilla (figura 11.27).

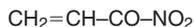


Figura 11.27 Acrilamida.

Se han realizado diferentes estudios para valorar la concentración estimada de acrilamida en alimentos, entre los que destacan cereales para desayuno con 7.3 mg por porción de 55 g, café percolado 3.2 mg por porción de 240 g, papas a la francesa 48.8 mg por porción de 70 g. La lista de los productos donde se ha detectado es realmente grande, entre los cuales se pueden citar: productos de panificación, tortillas, nueces tostadas, sopas instantáneas, vegetales deshidratados, chocolates, etcétera.³¹

Como se aprecia, la generación de tóxicos durante el procesamiento de alimentos hace necesario que se reconsideren los conceptos de inocuidad y se establezcan límites de seguridad para aquellos que representen un riesgo para la salud, o bien, que se tengan condiciones adecuadas de procesamiento que minimicen su formación, para que el consumidor cuente con alimentos no solamente apetecibles, sino libres de tóxicos.

11.14.1.6 Ácidos grasos *trans*

En la actualidad, los ácidos grasos *trans* han sido cuestionados porque favorecen el aumento de lipoproteínas de baja densidad y por consiguiente de colesterol en sangre, lo que aumenta el riesgo de enfermedades coronarias, por esto la Organización Mundial de la Salud ha recomendado la reducción de este tipo de ácidos grasos *trans*^{30, 38} (figuras 11.28 a 11.30).

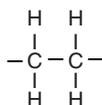


Figura 11.28 Representación de un ácido graso saturado.



Figura 11.29 Representación de un ácido graso insaturado.

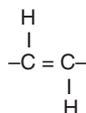


Figura 11.30 Representación de un ácido graso *trans*.

Normalmente los aceites y grasas se encuentran en la forma *cis*; la mayoría de los ácidos grasos se forman mediante el proceso de hidrogenación de aceites insaturados; sin embargo, cuando los rumiantes ingieren grasas insaturadas, éstas pueden ser parcialmente hidrogenadas por bacterias del rumen, de tal manera que las grasas de la leche, res, carnero, contienen los isómeros *cis* y *trans*. En rumiantes, el principal componente *trans* es el ácido transvaccénico (18:1 t 11), mientras que en las grasas procesadas es el eláidico (18:1 t 9). También se ha encontrado algo de ácidos grasos *trans* en la manteca de cerdo, probablemente por el tipo de alimentación (capítulo 4).

La principal fuente de la forma *trans* en alimentos es por el proceso de hidrogenación para la formación de margarinas o aceites parcialmente hidrogenados; otra fuente en la formación de grasas *trans* son las temperaturas altas. En los alimentos, particularmente las grasas hidrogenadas (parcial

o totalmente) se emplean ampliamente por su estabilidad a la oxidación y por poder controlar su punto de fusión. Entre los alimentos que emplean este tipo de grasas están las papas fritas, caldos, galletas, sopas, panes, pasteles, aderezos, etcétera.⁷³

11.15 RACEMIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS Y FORMACIÓN DE ISOPÉPTIDOS

Tanto la racemización y la formación de isopéptidos como lisinoalanina (LAL), lantionina y ornitioalanina (figura 11.31) se llevan a cabo durante varios procesos alcalinos aplicados a los alimentos, como lo sería la nixtamalización del maíz para la elaboración de tortillas, o bien al tratar de mejorar las propiedades funcionales de las proteínas del suero de queso, otros procesos alcalinos se les encuentran en la manufactura de algunos tipos de chocolates^{21, 43, 51, 57} (figura 11.31).

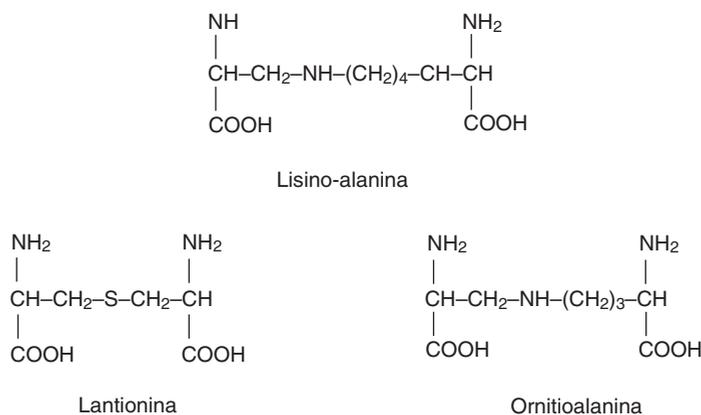


Figura 11.31 Lisino-alanina, lantionina y ornitioalanina.

La racemización de L-aminoácidos en condiciones alcalinas severas, se favorece por la formación de una molécula intermedia plana del tipo carbanión,⁴³ para que finalmente se desvíe el equilibrio de la forma biodisponible (L-amino ácido) hacia la forma no biodisponible (D-amino ácido).

Los residuos racémicos de aminoácidos retrasan la actividad de las proteasas; es decir, actúan como inhibidores de tripsina, quimotripsina y pepsina. Se ha sugerido que algunos D-aminoácidos pueden causar daños histopatológicos en el hígado de ratas.⁵⁷

Entre los isopéptidos, la lisinoalanina ha sido la más estudiada, probablemente por la nefrocitomegalia (crecimiento anormal de las células del riñón a nivel del túbulo proximal), además de que también interfiere con la digestibilidad de proteínas.⁵¹

Bender⁴ reporta valores de 350 microgramos de lisinoalanina por gramo de clara de huevo frita (10 min), o para algunas muestras comerciales de claras de huevo puede ser hasta de 1.8 $\mu\text{g/g}$. En aislados de soya se encuentra desde 0 hasta 370 $\mu\text{g/g}$. Con base en estos valores, se piensa que en la

formación de lisinoalanina no necesariamente tiene que existir un medio alcalino, sino que puede ser suficiente un tratamiento térmico.

11.16 FORMACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS

Las aminas biógenas generalmente se forman por la descarboxilación enzimática de aminoácidos. Entre los más importantes está la histamina (figura 11.32), la cual se detecta en vinos, quesos, embutidos, pescados y muchos otros alimentos. La histamina ejerce su acción en el aparato cardiovascular, músculo liso y glándulas endócrinas. La intoxicación por histamina da lugar a náuseas, vómito, diarrea, dolores abdominales, caída de la presión arterial, vasodilatación, rubicundez y cefalea, aumento de la temperatura, dolor de cabeza, palpitaciones, comezón, cosquilleo, sonrojado, hipotensión, urticaria, edema, inflamaciones, todo lo anterior ocasiona el cuadro de “choque histamínico”. La histamina puede causar manifestaciones respiratorias como disnea asmática por broncoespasmos.^{42, 72}

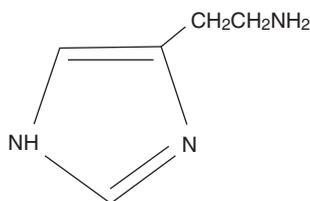


Figura 11.32 Histamina.

La tiramina es un aminoácido vaso-activo se encuentra en quesos, vinos y pescados (arenque), así como en otros alimentos como cerveza y frutas como plátano, aguacate, naranja, ciruela, nueces, etcétera.⁴² Tiene un efecto de neurotransmisor y se le ha asociado con problemas de migraña por alimentos.⁵³ La migraña de origen alimentario puede desencadenar náuseas o vómitos. La tiramina se forma por la descarboxilación de la tirosina (aminoácido presente en muchas proteínas).

La serotonina es un potente neurotransmisor y vasoconstrictor formado a partir de triptofano que se ha encontrado en plátanos. Otras aminas que se han identificado en varios alimentos son: dopamina, dimetilamina, etilamina, trimetilamina, propilamina, butilamina, putrescina, cadaverina, etcétera. Muchas de estas aminas se han asociado a la pudrición de alimentos o bien pueden formar parte de su aroma y sabor. En condiciones muy especiales y obviamente controladas, muchos de estos compuestos forman parte del proceso de añejado.⁴²

11.17 FUMIGANTES Y DISOLVENTES

El óxido de etileno se emplea en los casos en que la esterilización con vapor o con calor no es conveniente, ya que se destruirían las propiedades sensoriales del producto, como sucede con las es-

pecias. El óxido de etileno reacciona con cloruros inorgánicos para dar etilen-clorhidrina ($\text{Cl-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), la cual es relativamente tóxica. Los etoxilatos como el polisorbato se preparan por la polimerización del óxido de etileno; también se produce algo de dioxano, que es considerado un potencial carcinógeno.

11.18 COMENTARIOS

La cantidad de tóxicos asociados con los alimentos, así como con factores antinutricionales, la pérdida de nutrimentos o la generación de compuestos indeseables es amplia y a veces impredecible. También se reconoce que las técnicas analíticas han reducido sus límites de detección, por lo que pueden detectarse valores que hace unos años se consideraban “no detectables”, y también se han bajado los límites de aceptación de contaminantes. Por lo que grupos de investigadores, cuestionan los alimentos tradicionales, como fuentes de contaminación, incluso en aquellos casos en que se habla de productos naturistas, ya que esto no significa que pudiesen estar libres de compuestos de trazas indeseables. Sin embargo, esto no debe ser una razón de alarma, ya que la concentración normal de estos compuestos es, en términos prácticos, inocua y, debe ser controlada por la normatividad de cada país.

No se debe interpretar que la actividad diaria de alimentarse puede ocasionar un cierto riesgo; lo que debe hacerse es equilibrar la dieta con diferentes fuentes y variedad de productos, sin que se abuse de un alimento. Para eso debemos analizar y tener presente la frase de Paracelso (1493-1541):

**“La dosis por sí sola determina el
envenenamiento”**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andia, A.M.G. y Stret J. 1975. “Dietary induction of hepatic microsomal enzymes by thermally oxidize fats”. *J. Agric. Food Chem.* 23(2):173.
2. Ames, B.N. 1983. “Dietary carcinogens and anticarcinogens”. *Science* 221(4617):1256.
3. Bell, E. A. 1976. “Uncommon amino acids in plants”. *Febs letters* 64, 29-35.
4. Bender, A.E. 1978. *Food Processing and Nutrition*. Academic Press, Nueva York. p. 70-73.
5. Betina, B. 1984. “Mycotoxins. Development in”. *Food. Sci.* 8. Elsevier. Nueva York.
6. Birk, Y. y Peri, I. 1980. “Saponins”. En: *Toxic constituents of foodstuffs*. Liener, I. (Ed.) Academic Press, Inc. 2ª ed., pp. 161-182, Nueva York.
7. Castro-Roa, R.; Valle Vega, P. Cortinas de Nava, C., Espinoza de Aguirre, J. 1989. “Estudio sobre la actividad mutagénica en chicharrón, la grasa utilizada para su fritura”. *Technol aliment.* 24(1):14-18 México.
8. Chichester, C.O. y Lee, T.C. 1981. *Effects on food processing in the formation and destruction of toxic constituents of food*. Cap. 5. IFT. Basic Symposium Imparted Toxicology on Food Processing. Ayres, J.C. y Kirscham Eds. AVI Westport, Connecticut. p. 35-36.
9. Christensen, C.M. y Kaufmann, C. 1969. *Grain storage. The role of fungi in quality loss*. University of Minnesota Press.. p. 70.
10. Ciegler, A.; Vesonder, R.F. y Jackson, C.K. 1977. “Production and biological activity of patulin and citrinin from *Penicillium expansum*”. *Applied Environm. Microbiol.* 33(4):1004.
11. Claus, E.P., Tyler, V.E. y Brady, L.R. 1973. *Pharmacognosy*. Lea and Febiger. Londres.

12. Clossais-Besnard, N. y Larher, F. 1991. "Physiological role of glucosinolates in *Brassica napus*. Concentration and distribution pattern of glucosinolates among plant organs during a complete life cycle". *J. Sci. Food Agric.* 56, 25-38.
13. Colwell, R.R. 1983. "Biotechnology in the Marine Science". *Science* 222(4619):19.
14. Committee on Food Protection. 1976. *Toxicants occurring naturally in foods*. National Academy of Sciences, Washington, D.C
15. Correa, P. 1981. "Neutral fats and cancer". *Cancer Res.* 41:3695.
16. Dutton, T.R. y Orcutt, M.W. 1984. "Chemical changes in proteins produced thermal processing". *J. Chem. Educ.* 61(4):303.
17. Eklund, M.W. 1982. "Significance of *Clostridium botulinum* in fishery products preserved short of sterilization". *Food Technol.* 36(12):107.
18. Eppley, R.M. 1979. "Trichotheceenes and their analysis". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56(9):824.
19. Fabián, B. "Carcinogens in edible fats and oils. IV margarines, vegetable shortening and butters". *Arch. Hyg. Bacteriol.* 152(3) 231.
20. Fernícola A.G.G.; N. y Jauge, P. 1985. *Nociones básicas de toxicología*. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. OPS/OMS. México.
21. Friedman, M. y Masters, P.M. 1982. "Kinetics of recognition of amino acids residues in casein". *J. Food Sci.* 47,760.
22. Garza, H.C.; Swanson, B.G. y Branen, A.L. 1977. "Toxicological studies on patulin in monkeys". *J. Food Sci.* 42(5):1229.
23. Griffins, D.W. y Thomas, T.A. 1981. "Phytate and total phosphorus content of field beans (*Vicia faba* L.)". *J. Sci. Food Agric.* 32:187.
24. Hanny, B. 1980. "Gossypol flavoid and condensed tannin content of cream yellow anthers of live cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars". *J. Agric. Food Chem.* 28(3):504.
25. Havery, D.C. y Fazio, T. 1985. "Human exposure to nitrosamines from foods". *Food Technol.* 39(1):80.
26. Health Canada's Surveillance of Acrylamide in Food http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/cs-ipc/fr-fr/e_acrylamide_surveillance.html
27. Heaney, R. y Fenwick, G. 1988. "Glucosinolates". En: *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer, H.V. (Ed.) Verlag Chemic., vol. VI, pp. 208-219, Florida.
28. Hosney, R.C. 1984. "Chemical changes in carbohydrates produced by thermal processing". *J. Chem. Educ.* 61(4):308.
29. Hotchkess, J.H.; Vecchio, A. 1985. "Nitrosamines in fried bacon fat and its use as cooking oil". *Food Technol.* 39(1):67.
30. Hulshof, K F A M 1999 "Intake of fatty acids in Western Europe with emphasis on trans fatty acids: the TRANSFAIR study". *Eur. J. Clin. Nutr.* 53, 143-1, 57.
31. JIFSAN 2004 Acrylamide in Food Workshop The Updated Exposure Assessment for Acrylamide, 13 de abril, 2004 <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydino/sld002.htm> Statement from Health Canada about acrylamide in food http://www.hc-sc.gc.ca/english/media/releases/2005/stmt_acrylamide1.html crylamide - What you can do to reduce exposure http://www.hc-sc.gc.ca/english/media/releases/2005/stmt_acrylamide2.html (http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/cs-ipc/chha-edpcs/e_acrylamide_and_food.html).
32. Josefsson, B.G.E. y Moller, T.E. 1980. "Heat stability of ochratoxin A in pig products". *J. Sci. Food Agr.* 31:1313.
33. Kunitz, M. 1974. "Crystalline soybean trypsin inhibitor II general properties". *J. Gen. Physiol.* 30:291-310.
34. Lenovich, L.M. 1981. "Effect of caffeine on aflatoxin production in cocoa beans". *J. Food Sci.* 46(3):655.
35. Liener, I.E. 1969. *Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press, Nueva York.
36. Lindner, E. 1978. *Toxicología de los alimentos*. Acribia Zaragoza, España.
37. Lis, H. y Sharon, N. 1986. "Biological properties of lectins". En: *The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine*. Liener, I., Sharon, N. y Goldstein, I. (Eds.). Academic Press, Inc., pp. 265- 291, Nueva York.

38. List, G.R. 2004. "Decreasing trans and saturated fatty acid content in food oils". *Food Tech.* 58 (1) 2004, p. 31
39. Litten, W. 1975. The most poisonous mushroom. *Scientific American* 232(3):90.
40. Lucas, B., Guerrero, A., 1988. Sigales, L., and Sotelo, A. True protein content and non-protein amino acids present in legume seeds. *Nutr. Rept. Int.* 37 (3) 545-553.
41. Maga, J.A. 1975. "Capsicum". *CRC Critical Reviews in Food Science*, p. 177. Cleveland, Ohio.
42. Maga, J.A. 1978. "Amines in Food". *CRC. In Food Science and Nutrition* 10(3):373.
43. Masters, P.M. y Friedman, M. 1979. "Racemization of amino acids in alkali treated food proteins". *Agric. Food Chem* 27(3):507.
44. Mertz, D. Lee, D.; Zuber, M. y Lillehoj, E. 1980. "Uptake and metabolism of aflatoxins by *Zea mays*". *J. Agric. Food Chem.* 28(5):963.
45. Metzler, D.E. 1977. *Biochemistry of the living cells*. Academic Press, Nueva York.
46. Millerd, A.J. 1985. "Processing induced mutagens in muscle foods". *Food Technol.* 39(2):75.
47. Mirochoa, C.J.; Pathre, S.V. y Christensen, C.M. 1980. Mycotoxins. En: *The biosynthesis of mycotoxins*. P. Sleyen (Ed.). Cap. 5. Acad. Press, Nueva York.
48. Pathre, S.V. y Mirocha, C.J. 1979. "Trichothecenes: natural occurrence and potential hazard". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56(9):820.
49. Pensabene, J.W. y Fiddler, W. 1983. "Factor affecting the nitrosothiazolidine content of bacon". *J. Food Sci.* 48(5):1452.
50. Rackis, A. 1974. Biological and physiological factors in soybeans. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 51:16A.
51. Renner, R. y Jelen, P. 1980. "Nutritional evaluation of alkali solubilized heated whey protein". *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* 13(1):10.
52. Rieman, H. 1969. *Food Borne Infections and Intoxications*. Academic Press, Nueva York.
53. Rivas, G., García Moreno, C., Gómez Cano, M.A. y Marine Font, A. 1978. "Tiramina en alimentos". *Rev. Alimentaria*. Marzo No. 90.
54. Roberts, H.R. y Barone, J.J. 1983. "Caffeine: History and use". *Food Technol.*, 37(9):32.
55. Royers, R.R. 1974. "A review of the nitrosamine problem in cured meat. July/August". *Food Product Development*, 40.
56. Russell, F. 1986. "Toxic effects of animal toxins". En: *Casarett and Doull' Toxicology (the basic science of poisons)*. Klaasen, C., Amdur, M. y Doull, J. (Eds.). Macmillan Publishing Co., pp. 706-756, Nueva York.
57. Satterlee, L.D. y Chang, K.C. 1981. "Processing effects essential aminoacids". *Food Product Development*. Noviembre, 50.
58. Savelkoul, F., Van der Pool, A. y Tamminga, S. 1992. "The presence and inactivation of trypsin-inhibitors, tannins, lectins, and amylase-inhibitors in legume seeds during germination. A review". *Plant Foods Hum. Nutr.* 42, 71-85.
59. Shibamoto, T. 1982. "Occurrence of mutagenic products in growing model systems". *Food Technol.* 36(3):59.
60. Shirley, R.L. 1975. "Nutritional and physiological effects of nitrates, nitrites and nitrosamines". *Bioscience* 25(12):789.
61. Shoptaugh, N.H., Carter, P.W., Foxoil, T.L., Sasner, J.J. y Kawa Miyoshi. 1981. "Use of fluorometry for the determination of *Gonyaulax tamerensis* var *excavata* toxins in New England shellfish". *J. Agric. Food Chem.* 29(1):198.
62. Sotelo, A., Lucas, B., Blanc, F. and giral, F. 1986. Chemical composition of seeds *Gliricidia sepium*. *Nutr. Rept. Int.* 34 (3), 315-322.
63. Speroni, J.J.; Sastry, S.K. y Beelman, R.B. 1985. "Thermal degradation kinetics of agaritine in model systems and agaritine retention in canned mushrooms". *J. Food Sci.*, 50(5):1306.
64. Stahr, H.M.; Ross, P.F. y Obioha, W. 1981. "Some mycotoxin levels in farm stored corn". *J. Agric. Food Chem.*, 29(1):207.

65. Stanislaus, J., Smolenski, A., Kinghorns, D. y Baladrin, M. 1981. "Toxic constituents of legume forage plants". *Economic Botany* 35(3):321-355.
66. Stoloff, L. 1979. "The three eras of fungal toxin research". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56:784.
67. Stubblefield, R.D. 1979. "The rapid determination of aflatoxins M₁ in dairy products". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56(9):800.
68. Sugimura, T. y Nagao. 1979. "Mutagenic factors in cooked foods". *CRC. Critical Reviews in Toxicology*. p. 189-209.
69. Tanaka, M.; Kimiagar, M.; Lee, T.C. y Chichester, C.O. 1977. *Effect of Maillard reaction on the nutritional and Biochemical and chemical consequences of protein crosslinking*. Plenum Pub. Co., Nueva York.
70. Tannenbaum, S.R., Fatt, D., Young, V.R., Land, P.D. y Bruce, W.R. 1978. "Nitrate and nitrite formed by endogenous synthesis in the human intestine". *Science* 200, 1487-89.
71. Taylor, S.L. 1982. "Mutagenesis vs. carcinogenesis". *Food Technol.* 36(3):65.
72. Taylor, S.L. 1985. "Food allergies". *Food Technol.* 39(2):98.
73. US Food and Drug Administration 2003. Guidance for Industry: "Food Labeling: Trans Fatty Acids in Nutrition Labeling, Nutrient Content Claims, and Health Claims" <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/transgui.html>.
74. Valle-Vega, P. 1982. *Toxicidad bioquímica en alimentos*. Cuadernos de Postgrado 4. Facultad de Química, División de Estudios de Postgrado. Departamento de Alimentos, UNAM, México, D.F.
75. Valle-Vega, P. 1985. *El lado tóxico de los alimentos*. Inf. Científica y Tecnológica 7(100):5.
76. Vesander, R.F., Ciegler, A., Jenn, A.H., Rohwedder, W.K. y Weisleder, D. 1976. "Coidentity of the refusal and emetic principle from *Fusarium* infested corn". *Appl. Environ. Microbiology* 31(2)280.
77. Vidaurri-Gonzales, A. Valle Vega, P. y Nieto Villalobos, Z. 1988. "Resumen. Aspectos físicos, químicos y toxicológicos de la grasa de cerdo sobrecalentada". *Rev. Soc. Quim. de Méx.* 35(5)154.
78. Walter, L.C. y Serbia, G.W. 1991. "Safety aspects of frying fats and oils". *Food. Technol.* 45(2)84.
79. Whitaker, J.R. y Feeney R. E. 1973. "Enzyme inhibitors in food". En: *Toxicants occurring naturally in food*. Committee on Food Protection (Ed.) National Academy of Sciences, pp. 276-298, Washington, D.C.
80. White, W.K. 1983. "Toxic Honeys". En: *The toxicants occurring naturally in foods*. Committee on Food Protection. National Academy of Science. Washington, D.C. p. 495.
81. Wogan, G.N. 1979. Antinutritional and Toxic Substances: Naturally Occurring and Accidental Contaminants. En: Tannenbaum S.R. (Ed.) *Nutritional and Safety Aspects of Food Processing*. Marcel Dekker Inc., Nueva York. 265-294.
82. Wolff, I.A. y Wasserman, A.E. 1972. "Nitrates, nitrites and nitrosamines". *Science* 177(4043):15.
83. Younathan, M.T. y Mc. Williams, D.C. 1985. "Hematological status of rats fed oxidized beef lipids". *J. Food Sci.* 50(5).

12

Leche

- 12.1 Introducción
 - 12.2 Composición de la leche
 - 12.3 Propiedades físicas de la leche
 - 12.4 Estado de dispersión de la leche
 - 12.5 Productos lácteos
- Referencias bibliográficas



12.1 INTRODUCCIÓN

Debido a su alto valor nutritivo, ya que sus componentes se encuentran en la forma y en las proporciones adecuadas, las leches, en general, representan el alimento más balanceado y apropiado para las crías. Además de proporcionar prácticamente todos los nutrientes necesarios, también contienen diferentes sustancias que actúan como parte fundamental de los sistemas inmunológico y de protección de un recién nacido. Por ejemplo, la leche de la mujer contiene el factor bifidus (N-acetil-D-glucosamina) que propicia el crecimiento del *Lactobacillus bifidus* en el intestino del bebé, donde produce grandes cantidades de ácido láctico a partir de la lactosa, con el consecuente aumento de la acidez; en estas condiciones de pH, se inhibe el desarrollo de microorganismos patógenos que pueden afectar seriamente al infante; este bacilo desaparece al cabo de algunos meses y es reemplazado por el *L. acidophilus*. De la misma

manera, las leches de otros mamíferos (vaca, camella, oveja, cabra, etcétera) contienen compuestos exclusivos para cada especie que son utilizados biológicamente de manera única por sus respectivas crías.

En este capítulo sólo se estudiará la leche de vaca (*Bos taurus*) por su enorme importancia en la dieta y por sus múltiples aplicaciones industriales. De acuerdo con el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de la Secretaría de Salud de México, la leche es “la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie, excluido el calostro”.

12.2 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Inmediatamente después del parto, la vaca empieza con las secreciones mamarias; durante los primeros dos o tres días produce el calostro, que es un líquido con un alto contenido de sólidos, de fuerte olor y sabor amargo, abundante en inmunoglobulinas y con una composición promedio de 79% agua, 10% proteínas, 7% grasa, 3% lactosa y 1% cenizas; está destinado fundamentalmente a fortalecer el sistema de protección del becerro y sólo a éste le sirve; por su gran proporción de inmunoglobulinas, es sumamente sensible a la desnaturalización térmica.

Pasado este período, el animal sintetiza propiamente la leche durante toda la lactancia que varía de 180 a 300 días (depende de muchos factores), con una producción media diaria muy fluctuante que va desde 3 litros (vacas que pastorean, sin atención médica) hasta 25 litros (vacas estabuladas en buenas condiciones de salud y de alimentación). La leche se sintetiza fundamentalmente en la glándula mamaria, pero una parte de sus constituyentes también proviene del suero de la sangre.²⁰ Su composición química es muy completa y compleja, lo que refleja su gran importancia en la alimentación de las crías.

Por su parte, la alimentación de las vacas, siendo rumiantes, consta de forrajes a base de celulosa y de otros polisacáridos no metabolizables por los monogástricos (incluyendo el hombre), añadidos de urea y de otros desperdicios del campo; con esta dieta tan limitada, los animales producen uno de los alimentos más completos que se conoce. En general, la leche está constituida por agua, grasas, proteínas, azúcares, vitaminas y minerales, además de otras sustancias que están presentes en menor concentración y que en conjunto forman un sistema fisicoquímico estable de más de 450 compuestos; esto se debe a que todos sus ingredientes se encuentran en equilibrio, estableciendo diversos estados de dispersión que se analizarán más adelante. Los sólidos totales (grasa y sólidos no grasos) representan del 11 al 15% de su composición y varían de acuerdo con muchos factores, tales como raza y edad de la vaca, tipo y frecuencia de la alimentación, estado de lactación, temperatura ambiente, enfermedades, época del año, hora del día de la ordeña, etcétera. En el cuadro 12.1 se muestra, de manera indicativa, la composición promedio de leches provenientes de diversas razas de vacas.

Se observa que de todos los componentes, la grasa presenta la mayor variación (3.4-5.1%), ya que las proteínas (3.1-3.7%), la lactosa (4.4-4.7%) y las cenizas (0.71-0.75%) permanecen en un intervalo más cerrado. Existe una relación directa entre las concentraciones de algunos constituyentes y el contenido de grasa, de tal forma que se han desarrollado ecuaciones que las correlacionan.²⁸ La proteína se encuentra generalmente por encima del 3% de los sólidos totales y es un componente fundamental en la nutrición y el buen desarrollo de las crías.

CUADRO 12.1 Composición química de la leche de diferentes razas de vacas (%)

Raza	Agua	Grasa	Proteínas	Lactosa	Cenizas
Holstein	88.1	3.4	3.1	4.6	0.71
Ayshire	87.3	3.9	3.4	4.4	0.73
Suiza café	87.3	3.9	3.3	4.6	0.72
Guernsey	86.3	4.5	3.6	4.7	0.75
Jersey	85.6	5.1	3.7	4.7	0.74

La leche es isotónica con la sangre ya que ambas presentan la misma molalidad y, consecuentemente, la misma presión osmótica. Esta característica se debe, en el caso de la sangre, a la concentración de los iones sodio y cloro, y en el de la leche a la lactosa y a las sales disueltas, como cloruros de sodio y de potasio; por esta razón, a medida que aumenta el contenido del disacárido, generalmente disminuye el de cloruros. La lactosa permanece casi constante por su función de regulador de la presión osmótica en la glándula mamaria.

A manera de comparación, cabe indicar algunas diferencias que existen entre las composiciones promedio de las leches de vaca y la humana (cuadro 12.2). La primera contiene más caseínas y menos proteínas del suero que la segunda, situación que se invierte con la lactosa y la grasa.

CUADRO 12.2 Composición de las leches de vaca y humana (%)

	Vaca	Humana
Sólidos totales	12.65	12.7
Proteínas	3.25	1.5
caseínas	2.78	0.6
del suero	0.47	0.9
α -lactalbúmina	0.063	0.235
β -lactoglobulina	0.251	—
inmunoglobulinas	0.051	0.152
seroalbúmina	0.040	0.083
lactoferrinas	0.038	0.235
lisozima	—	0.083
otras	0.027	0.108
Grasa	3.76	4.10
Hidratos de carbono	4.84	6.90
lactosa	4.70	6.71
Sales	0.80	0.20

12.2.1 Lípidos

Esta fracción está representada por un gran número de sustancias solubles en disolventes orgánicos, aun cuando el 96 a 98% corresponde al grupo de los triacilglicéridos.¹⁸ Por esta razón, sus propiedades físicas y químicas son un reflejo de los ácidos grasos que contiene. Los otros lípidos que se encuentran en menor concentración desempeñan funciones importantes; los lípidos que destacan son los diacilglicéridos, monoacilglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos libres, esteroides y sus ésteres y algunos hidrocarburos (cuadro 12.3).

CUADRO 12.3 Lípidos de la leche de vaca

	Porcentaje del total de lípidos	Concentración (g/L)
Triacilglicéridos	96-98	31.0
Diacilglicéridos	2.10	0.72
Monoacilglicéridos	0.08	0.03
Fosfolípidos	1.10	0.35
Ácidos grasos libres	0.20	0.08
Colesterol	0.45	0.15
Hidrocarburos	rastros	rastros
Ésteres de esteroides	rastros	rastros

Los triacilglicéridos se encuentran como pequeñas partículas llamadas glóbulos que en la leche cruda tienen un tamaño de 2-8 μm con una membrana constituida por diversos lípidos, proteínas y algunas sales. Presentan una enorme diversidad de ácidos grasos, ya que mientras en la mayoría de los aceites usados en los alimentos (soya, cártamo, manteca de cerdo, etcétera) sólo se encuentran 8-10 de ellos, en la grasa láctea se han identificado más de 400, lo que la hace la fracción lipídica más compleja conocida hasta ahora. Contienen ácidos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, de cadenas corta, mediana y larga, con un número non de átomos de carbono, hidroxilados, ramificados, cíclicos, isómeros geométricos *trans* y posicionales *iso*, etcétera; sin embargo, cerca de 96% del total lo forman un grupo de 14 ácidos, resaltando el mirístico, palmítico y oleico (cuadro 12.4). Esta gama tan amplia de ácidos se debe a la dieta, a la muy intensa actividad de la microflora del rumen y a la síntesis celular; si en la dieta se incluyen productos con un alto contenido de insaturados protegidos por una proteína, la leche también los contendrá; los de menos de diez átomos de carbono son sintetizados por la microflora del rumen en una fermentación anaeróbica a partir de polisacáridos como la celulosa.

La relación de saturados a insaturados y los ácidos de cadena corta determinan el estado físico de la grasa, al igual que su susceptibilidad a las reacciones químicas que afectan el sabor de la leche y de los productos lácteos; su sensibilidad a la oxidación aumenta directamente con el contenido de insaturados.

Por la gran diversidad de ácidos grasos que contiene se puede deducir que si su distribución fuera al azar, el número de posibles combinaciones en los triacilglicéridos sería de varios millones; en general, lo que sucede es que hay un cierto orden en la localización de los ácidos en la molécula de glicerol: el butírico, caproico y caprílico se ubican preferentemente en la posición 3, mientras que el linolénico en la 2 y el esteárico en la 1.¹¹ Esta distribución determina las propiedades físicas de la grasa láctea, como su punto de fusión de 37°C y su patrón de cristalización.

La peculiaridad de la grasa de la leche, también llamada grasa butírica, es su elevado contenido de ácidos grasos de cadena corta, en especial de ácido butírico que prácticamente sólo se encuentra en este alimento (cuadro 4.5). Debido a que ésta es muy cotizada para la fabricación de la mantequilla, en ocasiones, por centrifugación, se extrae parcialmente de la leche cruda y se sustituye con grasa de coco o con algún aceite parcialmente hidrogenado; la adulteración puede ser identificada, ya que la relación de concentraciones de los ácidos butírico y caprílico es única para la leche y su determinación se efectúa por cromatografía de gases.

CUADRO 12.4 Ácidos grasos más comunes en la grasa de la leche de vaca

Ácidos grasos	% en peso
Saturados	
Butírico 4:0	3.6
Caproico 6:0	2.5
Caprílico 8:0	1.5
Cáprico 10:0	3.6
Láurico 12:0	4.8
Mirístico 14:0	12.4
Pentadecanoico 15:0	1.4
Palmítico 16:0	35.7
Esteárico 18:0	9.1
Monoinsaturados	
Miristoleico 14:1	1.3
Palmitoleico 16:1	2.5
Oleico 18:1	15.2
Poliinsaturados	
Linoleico 18:2	2.1
Linolénico 18:3	0.7
Ramificados, hidroxilados y otros	3.6

La cantidad de ácidos grasos libres que contiene es muy reducida, pero se puede incrementar en caso de que se presente actividad lipolítica causada por las propias lipasas o por las provenientes de microorganismos contaminantes. Hay que recordar que la liberación de los ácidos grasos de cadena corta (butírico, caproico, caprílico y cáprico) es la responsable de la rancidez hidrolítica, ya revisada en el capítulo de lípidos.

12.2.1.1 Fosfolípidos

Representan aproximadamente el 1% del total de los lípidos de la leche, el cual corresponde a una concentración promedio de 0.35 g/l y está constituido principalmente por lecitina (34%), cefalina (28%) y esfingomielina (30%), además de fosfatidilinositol y fosfatidilserina (ver fórmulas en capítulo 4). En general, sus ácidos grasos presentan una cadena mayor a 14C y son constantes, ya que no varían tanto como los de los triacilglicéridos; los saturados más importantes son el palmítico y el esteárico, y los insaturados, el oleico y el linoleico. A pesar de su baja concentración, los fosfolípidos desempeñan un papel muy relevante pues cumplen varias funciones biológicas y, además, afectan la estabilidad de la leche; actúan como emulsionantes naturales de los glóbulos de grasa y los estabilizan, y por ser ricos en ácidos insaturados, se oxidan fácilmente. Cuando la leche no se homogeneiza, la oxidación se inicia precisamente en los fosfolípidos de la membrana del glóbulo.

12.2.1.2 Otros lípidos

La grasa láctea además contiene pequeñas cantidades de otros lípidos como el colesterol (150 mg/l) y, en menor grado, el lanosterol; también se ha encontrado el dihidrolanosterol y el β -sitosterol (es-

terol fundamentalmente del reino vegetal). Se ha identificado a más de 30 hidrocarburos, entre ellos carotenoides y escualeno, al igual que cetoácidos, cerebrósidos, gangliósidos, plasmalógenos y otros. Debido a que el colesterol se localiza en la membrana, su concentración se relaciona con el contenido de grasa.

12.2.2 Lactosa

La lactosa sólo se encuentra en las leches, representando su principal hidrato de carbono y considerado por algunos autores como el único; sin embargo, también se ha identificado a pequeñas cantidades de glucosa (6 mg/100 ml), galactosa (2 mg/100 ml), sacarosa, cerebrósidos y aminoazúcares derivados de la hexosamina. A pesar de que estos últimos están en concentraciones muy bajas, llegan a ejercer una influencia en la estabilidad de la leche, sobre todo cuando se somete a tratamientos térmicos intensos.

La lactosa se sintetiza en la glándula mamaria por un sistema enzimático en el que interviene la α -lactalbúmina para después segregarse en la leche, sólo tiene aproximadamente el 15% del poder edulcorante de la sacarosa y contribuye, junto con las sales, al sabor global de este alimento. Ésta se forma por la condensación de una molécula de galactosa y otra de glucosa (4- O - β -D-galactopiranosil-D-glucopiranos) mediante un enlace glucosídico β (1,4); al ser un azúcar reductor interviene en las reacciones de Maillard y de caramelización descritas en el capítulo 2. Existe en dos formas isoméricas, α y β , que se diferencian por sus propiedades físicas, tales como poder rotatorio, temperatura de fusión, solubilidad, etcétera. En teoría, ambas pueden presentarse hidratadas o anhidras; sin embargo, las más estables son la α -monohidratada (cristal duro de > 0.02 mm) y la β -anhidra (pequeñas agujas de < 0.01 mm). Cabe indicar que sus soluciones tienden al equilibrio entre ambas formas, pero generalmente siempre hay más β que α , ya que la primera es más hidrosoluble, aun cuando esto depende de la temperatura. Comercialmente, la lactosa cristalina se encuentra como α -hidratada, pero se convierte en β al disolverse en agua, ya que presenta mutarrotación; a 25°C existe un equilibrio de 38% α y 62% β . Es el menos soluble de los disacáridos, con 5 g y 45 g/100 ml de agua, para las formas α y β , respectivamente.

De su cristalografía depende la estabilidad de muchos productos lácteos, sobre todo los que contienen una proporción alta del disacárido. En la leche fluida, se encuentra en una concentración de 4.7%, lo que está lejos de ser una solución saturada; sin embargo, en las leches evaporadas y concentradas, que contienen el doble de lactosa (9-10% por eliminación de agua) o en las condensadas azucaradas, se tienen sistemas muy cercanos a su saturación.

Cuando la leche evaporada se almacena a bajas temperaturas, se provoca la cristalización de la α -hidratada y se presenta una textura “arenosa” desagradable, ya que los cristales se perciben como pequeños granos de arena. Por su parte, la leche condensada azucarada contiene una alta proporción de sacarosa (de 40 a 45%) que influye para que la lactosa cristalice más rápido, pero con la forma indeseable; para evitar esto, previamente se induce su cristalización controlada mediante la adición de lactosa de tamaño muy fino (que pase malla 200) en una cantidad de 250 g por cada 1,000 kg de leche; también se utiliza leche descremada deshidratada como “semilla”, pero se requiere doble cantidad. En estas condiciones, la leche produce cristales de tamaño muy pequeño que le confieren una textura más tersa.

En los helados también se llega a presentar el mismo problema, ya que las bajas temperaturas favorecen la formación de la α -hidratada; por esto se añade carboximetilcelulosa o algún otro polisacárido como carragenina, que inhiben el proceso de cristalización y la consecuente “arenosidad”. La

lactosa está inicialmente en un estado vítreo, pero los ciclos de congelamiento/descongelamiento provocan que cristalice inadecuadamente.

Cuando no se permite que el disacárido cristalice, se produce la lactosa amorfa (mezcla de α y β), como ocurre en el secado por aspersión del suero de la leche; la eliminación rápida del agua da origen a este tipo de azúcar que es muy higroscópico y que, aun en ambientes con baja humedad, absorbe agua para formar la α -hidratada. Incluso, la lactosa se llega a pegar en las paredes del secador, situación que trae consigo inconvenientes en la operación, que repercuten en la calidad del producto final. Para evitar esto, previo al secado se puede inducir la cristalización en tanques, con refrigeración y agitación constantes durante algunas horas y ayudada mediante la adición de cristales del propio disacárido.

Por otra parte, hay ciertos sectores de la población (sobre todo los de raza negra) que, por su contenido de lactosa, no toleran la leche; esto se debe a que la mucosa del intestino delgado no sintetiza la β -galactosidasa o lactasa, necesaria para la hidrólisis del disacárido en el tracto gastrointestinal. De manera general se puede considerar que la actividad de esta enzima se incrementa en los primeros meses de la lactancia, y después va disminuyendo paulatinamente, de tal forma que del 70 al 80% de los adultos carece prácticamente de ella.²³ En su ausencia, la lactosa llega hasta el colon, donde es fermentada por la flora intestinal, produciendo hidrógeno, dióxido de carbono y ácido láctico que irritan este órgano; además de que se absorbe agua en el intestino para equilibrar la presión osmótica. Todo esto trae como resultado diarrea, flatulencias y calambres abdominales.

Para aliviar esta situación, existen en el mercado derivados lácteos deslactosados, y también se dispone de una lactasa de origen microbiano (*Aspergillus niger*, *A. oryzae* y *Kluyveromyces lactis*) que se añade a la leche unos minutos antes de ingerirla. La concentración de lactosa en los quesos se reduce considerablemente, ya que es usada por los microorganismos fermentativos para la producción de ácido láctico.

12.2.3 Proteínas

La leche es un buen alimento debido a la alta calidad de sus proteínas, y para estudiar éstas últimas han sido divididas en dos grandes grupos, de acuerdo con su estado de dispersión: las caseínas, que representan 80% del total, y las proteínas del suero o seroproteínas, con el 20% restante. Cabe indicar que la relación de caseína/proteína de suero en la leche de vaca es aproximadamente 5.9, mientras que en la leche humana es 0.66 (cuadro 12.2); esta situación se debe considerar al desarrollar leches que imiten a la de la mujer para la alimentación infantil.

Cuando su determinación se hace por el método de Kjeldahl, también se incluye un 5% de nitrógeno no proteínico, proveniente de compuestos como aminoácidos, amoníaco, adenina, guanina, ácidos orótico, hipúrico y úrico, urea, creatina, creatinina y otros.

Por su gran importancia nutricional y comercial, las propiedades físicas y químicas de ambos grupos de proteínas se han estudiado con detalle.^{5, 26, 41, 42}

Debido a que las caseínas y las proteínas del suero están estabilizadas por diferentes mecanismos en el seno de la leche, es sencillo separarlas mediante la manipulación de parámetros como pH, temperatura y fuerza iónica, y con el uso de sustancias, como la urea. Un método para fraccionarlas consiste en la precipitación de las caseínas a pH 4.6 (que corresponde a su punto isoeléctrico), donde quedan como sobrenadante las proteínas del suero, que a su vez se recuperan por una precipitación térmica y con el uso de sales (figura 12.1). Cada uno de estos grupos se separa en sus respectivos constituyentes mediante diversas técnicas de precipitación selectiva y de electroforesis, de tal manera que se obtienen todas las fracciones que se indican en el cuadro 12.5.

En la figura 12.1, se explican los aspectos más relevantes de las caseínas y de las proteínas del suero.

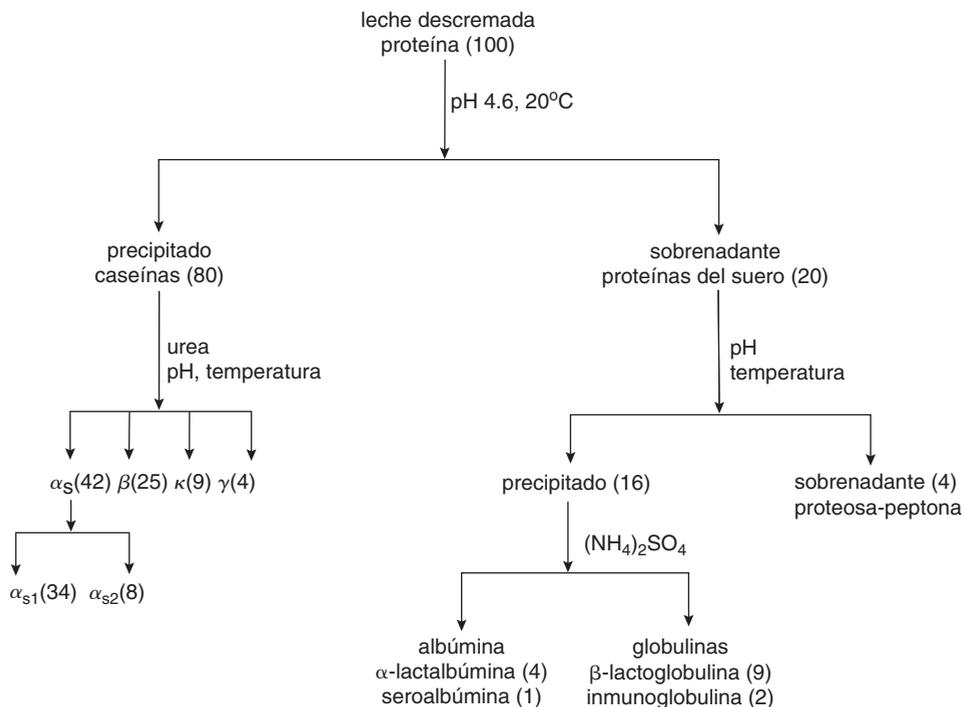


Figura 12.1 Fraccionamiento de las proteínas de la leche; los números entre paréntesis representan el porcentaje del total de proteínas.

CUADRO 12.5 Distribución de las proteínas de la leche

	Total de proteínas (%)	Peso molecular	Número de aminoácidos	Punto isoeléctrico
Caseínas	80			
α _{s1}	34	23,612	199	4.1
α _{s2}	8	25,228	207	
β	25	23,980	209	4.5
κ	9	19,005	169	4.1
γ	4			5.8
Proteínas del suero	20			
β-lactoglobulina	9	18,263	162	5.3
α-lactalbúmina	4	14,174	123	5.1
proteosa peptona	4	4,000-200,000		
inmunoglobulinas	2	150,000-1 × 10 ⁶		4.5-8-3
seroalbúmina	1	69,000		4.7

12.2.3.1 Caseínas

Las caseínas (del latín *caseus*, queso) son por definición las fosfoglucoproteínas que precipitan de la leche descremada a pH 4.6 y 20°C, es decir, son proteínas que contienen tanto residuos de hidratos de carbono como de fosfatos; estos últimos generalmente esterifican a los hidroxilos de las serinas. Su estabilidad en el seno de la leche se debe a su fuerte carga eléctrica negativa, que cuando se neutraliza en el punto isoeléctrico, las hace inestables. Su contenido de nitrógeno es aproximadamente de 15.6%, excepto en el caso de la fracción κ que es de 14.3%, ya que contiene una mayor cantidad de hidratos de carbono.⁴⁰

Prácticamente todas las moléculas de caseína están asociadas entre sí integrando las miscelas, pero existe una pequeña cantidad que se encuentra en solución. Como se observa en la figura 12.1, existen cuatro fracciones principales que se diferencian por su movilidad electroforética: α_s , β , κ y γ . A su vez, la α_s esta constituida por cuatro componentes (los dos primeros son los principales) α_{s1} , α_{s2} , α_{s3} y α_{s4} , y la γ por γ_1 , γ_2 , y γ_3 . La mayoría tiene variantes genéticas en algunas razas de vacas que se designan con las letras A, B, C, y D; cabe mencionar que una variante genética es una proteína que cambia su estructura primaria en sólo unos cuantos aminoácidos.⁴⁷

Las caseínas tienen varias propiedades comunes:

1. Un alto contenido de ácidos glutámico y aspártico (cuadro 12.6), cuyos carboxilos se encuentran ionizados al pH 6.7 de la leche; esto hace que siempre se mantenga una carga negativa que las estabiliza gracias a la repulsión que se genera entre ellas.
2. El aminoácido prolina, también abundante, está distribuido homogéneamente a lo largo de la estructura primaria de las caseínas y provoca, por impedimentos estéricos, que no se formen hélices como estructura secundaria. A excepción de la caseína κ que presenta una pequeña porción de hélice, las otras carecen prácticamente de ella y tienen una conformación al azar, razón por la cual algunos autores consideran que las caseínas son “proteínas desnaturalizadas de origen” y que por lo tanto, resisten los tratamientos térmicos severos sin sufrir modificaciones de desnaturalización.
3. Debido a que contienen más aminoácidos hidrófobos que hidrófilos, presentan dentro de su estructura primaria zonas con propiedades francamente apolares.
4. Las caseínas α , β y γ son muy sensibles a la alta concentración de los iones calcio propios de la leche; éstas precipitarían si no se contara con la caseína κ , que cumple una función protectora y estabilizadora.
5. Contienen regiones cargadas que les permite unirse electrostáticamente.
6. Presentan regiones fosforiladas que facilitan sus interacciones con calcio.

Todas las caseínas tienen secciones con una hidrofobicidad alta que proviene de los aminoácidos aromáticos y alifáticos, además de una carga neta negativa de los ácidos aspártico y glutámico; estos dos factores son los que determinan su estabilidad y, al mismo tiempo, su solubilidad.¹³

En la figura 12.2 se muestra la distribución de la hidrofobicidad de la caseína α_{s1} , y algunas características de cada una de sus zonas; una peculiaridad es que no contiene cistina o cisteína (cuadro 12.6).

La caseína β (figura 12.3) tiene una estructura muy semejante a la α_{s1} y, debido a su mayor contenido de prolinas, presenta un alto grado de hidrofobicidad, y su solubilidad depende mucho de la

CUADRO 12.6 Composición de aminoácidos de las proteínas de la leche

Aminoácidos	Caseínas				Proteínas del suero				
	α_{s1}	β	κ	γ	β -Lg	α -Lac	Albúmina	Inmuno-globulinas	Proteínas totales
Ácido aspártico	7.3	4.3	7.3	3.9	10.2	17.1	9.4	8.1	7.4
Treonina	2.1	4.0	8.0	3.9	4.5	5.0	4.9	8.9	4.7
Serina	6.0	5.8	6.0	4.7	3.4	4.3	3.5	9.5	6.0
Ác. glutámico	21.3	21.1	18.3	20.1	17.9	11.9	14.4	10.7	23.9
Prolina	7.0	13.8	10.2	15.6	4.3	1.4	4.1	8.4	11.3
Glicina	2.2	1.2	0.6	1.1	1.0	2.4	1.4	4.0	2.0
Alanina	2.7	1.5	5.2	1.7	5.5	1.5	5.0	3.8	3.5
Cisteína	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	5.5	2.7	1.8
Cistina (1/2)	0.0	0.0	1.1	0.0	2.3	5.8	0.0	0.0	0.0
Valina	4.6	7.8	5.7	8.2	5.5	4.2	5.0	8.1	7.0
Metionina	2.8	3.3	1.4	3.8	2.9	0.9	0.7	0.8	2.5
Isoleucina	5.3	4.7	7.1	3.9	6.3	6.4	2.2	2.6	6.5
Leucina	8.1	10.4	4.8	10.5	13.8	10.4	10.6	8.3	10.0
Tirosina	7.0	2.7	7.7	3.2	3.6	4.6	4.6	6.0	5.2
Fenilalanina	5.0	5.5	3.1	6.4	3.3	4.2	5.9	3.5	4.9
Triptofano	1.6	0.8	1.0	1.0	2.1	5.3	0.5	2.4	1.4
Lisina	7.6	5.9	6.1	6.2	10.7	10.9	11.2	6.0	7.9
Histidina	2.9	3.4	2.2	4.0	1.5	2.9	3.3	1.8	2.7
Arginina	4.0	2.6	4.1	1.5	2.6	1.1	5.3	3.7	3.7



Zona	Carga neta	Hidrofobicidad	Comentarios
1-40	+3	1,340	Abundante en aminoácidos hidrófobos y básicos.
41-80	-22.5	641	} Contiene 8 fosfoserinas y 11 carboxilos; zona muy sensible a los iones Ca^{++} e H^+ .
81-120	0	1,310	
121-160	-1	1,264	} Zona abundante en aminoácidos hidrófobos; considerada como zona de unión hidrófoba entre caseínas.
161-199	-2.5	1,164	

Figura 12.2 Representación esquemática de la estructura y características de la caseína- α_{s1} .

temperatura, por lo que sus interacciones son hidrófobas; de hecho, contrariamente a lo que ocurre con la mayoría de las proteínas, esta caseína es más soluble en frío que en caliente y se disocia de las miscelas a bajas temperaturas en un proceso reversible. La sección comprendida entre los aminoácidos 1 y 43 es muy sensible a los iones calcio y a los protones, ya que ahí se encuentran localizados

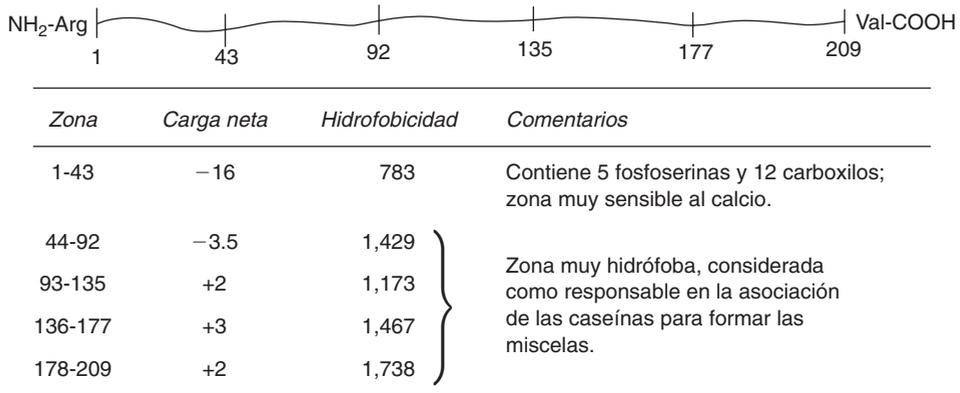
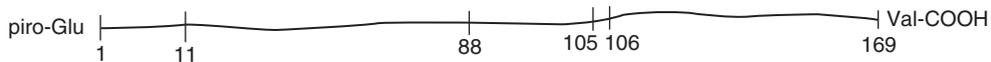


Figura 12.3 Representación esquemática de la estructura y las características de la caseína- β .

sus grupos carboxilo y las fosfoserinas. No contiene cistina y su alta proporción de prolina la hace tener una estructura aleatoria, resistente a la desnaturalización térmica.³²

Por su parte, la caseína κ es soluble en presencia del calcio natural de la leche, desempeña un papel estabilizador muy importante ya que previene la precipitación de las caseínas α y β por la acción de este ion divalente. En la figura 12.4 se observa que tiene una sección muy hidrófoba (1-105) y otra hidrófila (106-169), por lo que su mecanismo de acción es semejante al de los agentes emulsionantes que interaccionan en dos fases inmiscibles. Forma trímeros de un peso molecular de 60,000 y polímeros de hasta 600,000; contiene un trisacárido unido a la treonina 133 que se relaciona con la estabilización de las miscelas y que contribuye a la carga negativa terminal. Otra característica es que, por tener un sólo residuo de fosfoserina, no es capaz de ligar tanto calcio como lo hacen las fracciones α y β , lo que la hace ser insensible a este ion. La acción hidrolítica de la enzima renina sobre el enlace 105-106 provoca que pierda su capacidad estabilizadora y, por tanto, que las otras caseínas precipiten por el calcio; así es como se inicia el proceso de fabricación de quesos.²²

La γ es en realidad una mezcla de tres fracciones que derivan de la hidrólisis parcial de la zona más hidrófila de la caseína β por la acción de las proteasas naturales de la leche, como la plasmina, enzima proveniente de la sangre. Se encuentran en el suero de la leche y su concentración depende de la intensidad de la actividad proteolítica presente; cuando ésta se efectúa por el carbono terminal de la



- Los aminoácidos 11 y 88 son cisteínas muy reactivas.
- La zona 1-105 es hidrófoba y presenta algo de estructuras de hélice- α y de conformación β .
- Contiene una fosfoserina, por lo que no se ve tan afectada por el calcio, como ocurre con las otras caseínas.
- El enlace 105-106 (fenilalanina-metionina) es hidrolizada por la renina y produce la *para*-caseína- κ (zona 1-105) y el macropéptido (106-169).
- La *para*-caseína- κ es hidrófoba y precipita en agua.
- El macropéptido es muy hidrófilo por contener una fosfoserina, diez carboxilos ionizados y un trisacárido (galactosa, galactosamina y ácido siálico).

Figura 12.4 Representación esquemática de la estructura y principales características de la caseína- κ .

caseína β se forman las caseínas γ , mientras que por el N terminal, se producen las proteosomas peptonas. Algunos sabores astringentes de la leche se han relacionado con la presencia de la caseína γ .

Otros autores además consideran a la caseína λ , que aparentemente proviene también de una hidrólisis de las caseínas α_{s1} o β .

1.2.3.2 Proteínas del suero

A diferencia de las caseínas, las proteínas del suero son compactas, globulares, con un peso molecular que varía entre 14,000 y 1,000,000 de daltones, y son solubles en un intervalo de pH muy amplio (incluso a pH ácidos, siempre y cuando no se hayan desnaturalizado por el calor). En estado natural no se asocian con las caseínas, pero en las leches tratadas térmicamente y homogeneizadas, hay una fracción que sí lo hace.

Las proteínas constan por lo menos de ocho fracciones diferentes, entre las cuales destacan la β -lactoglobulina, la α -lactalbúmina, las inmunoglobulinas, la albúmina bovina y las proteosomas peptonas. En general son muy sensibles a las temperaturas altas y en menor grado al pH ácido (situación contraria a lo que sucede con las caseínas), debido a que están muy hidratadas y no tienen tanta carga eléctrica externa; son las primeras proteínas de la leche en desnaturalizarse y su calentamiento libera grupos sulfhidrilo que reducen el potencial de oxidación-reducción, lo que llega a inhibir parcialmente las reacciones de oxidación. Contienen la mayoría de los aminoácidos y presentan un mejor balance de éstos que las propias caseínas, por lo que su valor nutritivo es superior (cuadro 12.6).

La β -lactoglobulina es insoluble en agua destilada, soluble en soluciones diluidas de sales, se desnaturaliza y precipita a menos de 73°C por la acción de soluciones al 50% de sulfatos de magnesio o de amonio; es la fracción proteínica que se ha estudiado con más detalle ya que ejerce una influencia decisiva en la estabilidad térmica de los productos lácteos. Suma aproximadamente 45% del total de las proteínas del suero y existe como dímero (pm 36,520) unido no covalentemente, en el pH normal de la leche; los cambios de pH provocan que se convierta en dos monómeros mediante una reacción reversible. Al igual que con otras proteínas globulares, sus aminoácidos hidrófilos y los ionizables se encuentran distribuidos de manera homogénea provocando que los apolares (tirosina, triptófano, leucina, fenilalanina, etcétera), establezcan una alta hidrofobicidad en el centro de la molécula; esta característica hace que se hidrate fuertemente en el exterior y que no se puedan unir entre ellas en forma hidrófoba. Sus grupos disulfuro le imparten características de estructura terciaria, y el sulfhidrilo libre la hace muy reactiva; de hecho, es la fuente más importante de $-SH$ de la leche.

La β -lactoglobulina no se encuentra en la leche materna y se considera como responsable de algunas reacciones alérgicas que se observan en infantes alimentados con leche de vaca.⁴⁶ Por esta razón, existen productos comerciales que imitan la leche humana con base en el suero de la leche, al que se le ha eliminado esta fracción proteínica mediante una precipitación selectiva con polifosfatos o por filtración en gel, para después mezclarla con caseína, aceite de soya, minerales, vitaminas, lisozima y otros ingredientes.^{2, 19, 36}

La α -lactalbúmina es, por orden de importancia, la segunda proteína del suero, y tiene actividad biológica, ya que es parte constitutiva del sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. De hecho, las leches de algunos animales que no presentan esta proteína tampoco contienen lactosa. No tiene grupos sulfhidrilo libres, pero sí cuatro disulfuros provenientes de cistinas, lo que la hace tener 2.5 veces más azufre que las caseínas. Entre sus características se cuentan su bajo peso molecular (cuadro 12.5), su alto contenido de triptófano (cuadro 12.6) y una secuencia de aminoácidos bastante parecida a la lisozima del huevo, por lo que algunos genetistas consideran que las aves y los bovinos

tuvieron un tronco común hace muchos siglos.⁴ Tiene una estructura globular compacta con cuatro disulfuros y se desnaturaliza a 63°C, pero vuelve a su estado natural con el enfriamiento.

Por su parte, las inmunoglobulinas suman el 10% de todas las proteínas del suero, provienen de la sangre del animal, constan de moléculas de glucoproteínas con un alto contenido de grupos azufrados y con una actividad biológica de anticuerpo. La cría (humano o becerro) obtiene cierta inmunidad a través del calostro que consume por su alto contenido de inmunoglobulinas (hasta 100 g/litro). Se designan como IgM, IgA, IgG₁ e IgG₂; la primera es un pentámero y la IgA es un dímero de la IgG. Son componentes importantes de la membrana del glóbulo de grasa y promotoras del cremado, además de que contribuyen a las propiedades antibacterianas naturales de la leche.

Las proteosa peptonas están compuestas por un grupo heterogéneo de fosfoglicoproteínas provenientes de la hidrólisis de la caseína β por la acción de la plasmina. La albúmina bovina es la misma que la del suero sanguíneo, sirve de transporte de ácidos grasos, contiene un alto número de cistinas (17 por mol) y un grupo sulfhidrilo libre, y es fácilmente desnaturizable incluso a bajas temperaturas.

12.2.4 Enzimas

Las enzimas se encuentran en baja concentración, están distribuidas en la leche tanto unidas a las miscelas de caseínas o a la membrana del glóbulo de grasa, como en forma libre en el suero, y se sintetizan en la glándula mamaria, aunque algunas de ellas provienen de contaminaciones microbianas. Se han identificado más de 20, entre las cuales destacan las indicadas en el cuadro 12.7, pero existen muchas más, tales como la aldosa, que rompe a la hexosa-1,6-difosfato; las α y β -amilasas, que hidrolizan el almidón; la sulfhidriloxidasa, que oxida los grupos sulfhidrilo de la cisteína; la colinesterasa, que hidroliza la colina; la nucleotidasa, que actúa sobre los nucleótidos; la ribonucleasa, la fosfodiesterasa, la diaforasa, la lisozima, etcétera.⁹

CUADRO 12.7 Enzimas más importantes de la leche

<i>Enzima</i>	<i>Localización en la leche</i>	<i>Características</i>
Lipasa	90% en las miscelas y 10% en el suero.	Responsable de reacciones de rancidez, sobrevive a la pasteurización y puede reactivarse en productos esterilizados; pH óptimo 8.6.
Proteasas	Asociadas con las miscelas.	Resistencia al calor, actividad de endopeptidasa; pH óptimo 8.8.
Fosfatasa alcalina	80% en la membrana del glóbulo de grasa y el resto en la fase acuosa.	Usada como índice de pasteurización, puede haber reactivación en productos tratados a altas temperaturas.
Catalasa	Asociada con la membrana del glóbulo de grasa, con las miscelas y con el suero.	Aumenta por los leucocitos y se usa como prueba de mastitis; pH óptimo 7.0.
Lactoperoxidasa	Suero.	La más resistente al calor, usada para detectar tratamientos térmicos muy fuertes; pH óptimo 6.8.
Xantina oxidasa	Asociada con la membrana del glóbulo de grasa.	Degrada el flavin-adenin-dinucleótido en flavin-mononucleótido y riboflavina; tal vez ésta sea la razón del alto contenido de riboflavina en la leche.

La presencia de algunas de ellas se emplea como índice de calidad en la industria: la fosfatasa alcalina, con pH óptimo de 8.0, se usa para determinar la eficiencia de la pasteurización de la leche, mientras que la catalasa se utiliza para medir la mastitis en las vacas. Por otra parte, la acción de las lipasas tiene implicaciones importantes ya que son responsables de la rancidez hidrolítica al liberar ácidos grasos de cadena corta (capítulo 4); las proteasas, con una actividad semejante a la renina, ocasionan que la leche evaporada se coagule, ya que son termorresistentes y soportan el tratamiento de la esterilización, además de que se reactivan en el almacenamiento.

12.2.5 Vitaminas

La leche fresca, recién ordeñada, contiene la mayoría de las vitaminas, aun cuando algunas de ellas están en concentraciones muy bajas, insuficientes para satisfacer las necesidades diarias del hombre (cuadro 6.1); los diversos tratamientos a los que se le somete inducen fuertes pérdidas de las más termosensibles, principalmente las hidrosolubles (cuadro 12.8). Los mecanismos por los cuales se destruyen las vitaminas ya fueron revisados en el capítulo 6.

Las vitaminas liposolubles A, D, E y K se encuentran interaccionando con los glóbulos de grasa, principalmente en la membrana; la primera se presenta en mucho mayor proporción que las otras tres. Su contenido en la leche depende de la dieta de la vaca.

Por su parte, en el suero se localizan las hidrosolubles, tales como riboflavina, B₆, B₁₂, C, biotina, niacina, tiamina, folatos y ácido pantoténico; sus concentraciones no dependen tanto de la dieta de la vaca y permanecen más o menos constantes. A pesar de que la niacina se encuentra en baja concentración, la leche es una buena fuente de esta vitamina por su alto contenido de triptófano, precursor de ésta en el cuerpo humano. La microflora intestinal de la vaca sintetiza varias vitaminas del grupo B y la K, y una alta proporción se absorbe a través de la pared intestinal y luego se incorpora a la leche. Cabe indicar que la leche es un buen alimento que se presta para ser enriquecido con vitamina D, práctica que es común en muchos países nórdicos que cuentan con pocos días soleados al año.

CUADRO 12.8 Composición vitamínica de la leche por 100 g^{1, 33}

	<i>Cruda</i>	<i>Pasteurizada^b</i>	<i>UHT^c</i>	<i>Concentrada^a</i>	<i>En polvo</i>
Vitamina A, RE ^d	35	35	35	88	270
Vitamina D, UI	3	3	3	5	18
Vitamina E, µg	80	80	80	200	700
Tiamina, µg	45	40	40	67	310
Riboflavina, µg	150	150	150	375	1,150
Ácido Pantoténico, µg	350	350	350	875	2,700
Niacina, µg	85	85	85	215	600
Biotina, µg	1.5	1.5	1.5	3.4	10
Vitamina B ₆ , µg	40	36	36	80	265
Vitamina B ₁₂ , µg	0.30	0.25	0.24	0.10	1.6
Vitamina C, µg	2,000	1,700	1,700	2,000	13,000

^a Nivel de concentración × 2.5.

^b 72°C/15 segundos.

^c 130-140°C, menos de un segundo.

^d Equivalente de retinol: 1 µg retinol o 6 µg de β-caroteno.

La vitamina C y la riboflavina son fotosensibles, y las altas temperaturas las dañan tanto a ellas como a la tiamina, mientras que el oxígeno afecta al ácido fólico. La vitamina A, y en menor grado la B₆, son sensibles a la luz fluorescente. Los daños ocasionados por los efectos de la luz se han minimizado al reemplazar el vidrio por empaques de cartón. En la leche descremada se añaden vitaminas A, D y E, ya que se pierden al quitar la grasa. Las hidrosolubles se van con el suero en la fabricación de quesos.

12.2.6 Sales y nutrimentos inorgánicos

La leche contiene varias sales, de las que destacan los citratos, cloruros, bicarbonatos y fosfatos de calcio, magnesio, sodio y potasio, los cuales se encuentran en solución o formando parte del sistema coloidal de las caseínas.¹⁵ Aproximadamente el 50% del fósforo total está esterificado a las fosfoserinas de las caseínas, y la mayoría de los elementos químicos están presentes en forma iónica en el suero, aunque parte del calcio se asocia con las proteínas.

A pesar de que el alto contenido de calcio de la leche (120 mg/100g, aproximadamente) es superior a la concentración de saturación de una solución acuosa, está estabilizado, ya que el 70% se encuentra en forma coloidal, unido a las caseínas mediante el fosfato correspondiente y el resto se localiza solubilizado en el suero. En forma aislada, cada una de las caseínas, excepto la κ , precipitan con esta concentración de calcio. El equilibrio existente entre el coloidal y el soluble depende del pH y de la temperatura; en condiciones ácidas hay un desplazamiento hacia el soluble que incrementa la inestabilidad de las proteínas sensibles a este ion divalente, mientras que a temperaturas elevadas se favorece la formación del coloidal. El magnesio hace que el fosfato de calcio no forme estructuras más estables, como la hidroxiapatita, que termodinámicamente debería producirse; sin embargo, ésta se sintetiza cuando la leche se somete a tratamientos térmicos fuertes (ultrapasteurización o esterilización). Las sales desempeñan un papel muy importante en la estabilidad térmica de todos los productos lácteos, de tal manera que si se añade calcio y/o magnesio, el sistema proteínico se desestabiliza; el efecto contrario lo producen los citratos y los fosfatos, principio que se usa para ajustar el “balance de sales” en la leche evaporada (sección 12.5.4).

La relación de concentraciones de Ca:P es la adecuada para que exista una buena absorción y aprovechamiento de ambos elementos en el organismo humano (sección 6.6.1).

En la leche se encuentran también otros elementos como el aluminio, boro, bromo, cobre, yodo, hierro, magnesio, manganeso, cromo, níquel, cinc y rastros de arsénico, cobalto y plomo.

Dado que las vacas que padecen mastitis segregan leches con un alto contenido de cloruros su concentración se ha utilizado como un índice para medir la sanidad de los animales.

12.3

PROPIEDADES FÍSICAS DE LA LECHE

La leche, al igual que todos sus derivados, presenta propiedades particulares que son reflejo de su composición y de las interacciones entre sus constituyentes. Las características físicas, como peso específico, tensión superficial, calor específico, temperatura de congelamiento, etcétera, se toman en cuenta para diseñar procesos como pasteurización, esterilización, homogeneización y transporte a los que se somete la leche; dado que estas propiedades son semejantes entre los productos lácteos, se han establecido modelos matemáticos para su estudio y predicción.³

El color blanco se debe fundamentalmente a una completa dispersión del espectro visible provocada por los glóbulos de grasa, pero también por las miscelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal. Mientras más pequeñas son estas partículas mayor es el área de dispersión de la luz, y en consecuencia, el producto se ve más blanco; por el contrario, cuando las partículas sólidas se asocian y forman agregados, como en la crema, se reduce la dispersión, lo que causa una tonalidad ligeramente azul. La homogeneización rompe los glóbulos grandes y produce un gran número de glóbulos pequeños que provocan la blancura de la leche, tan apreciada por el consumidor. Cabe indicar que los carotenoides y la riboflavina tienen algo de influencia sobre el color, ya que los primeros le confieren tonalidades amarillas, y verdes la segunda.

A pesar de contener de un 12 a un 14% de sólidos, la leche se comporta prácticamente como un fluido newtoniano (por ejemplo, el agua), ya que tiene una viscosidad de 2 centipoises. Tanto las miscelas como los glóbulos de grasa son los principales responsables de la viscosidad de los productos lácteos, por lo que la leche descremada y el suero son fluidos con 1.2 a 1.5 centipoises, semejante aún más al agua, quien tiene un centipoise.

El peso específico de la leche depende de los diversos sólidos que contiene, de tal forma que existen ecuaciones que relacionan este parámetro con los sólidos no grasos y la grasa.

La reducción del punto de congelación (pc) de la leche por efecto de los solutos de bajo peso molecular (lactosa y las sales), se revisó en el capítulo 1; en general, el pc va de -0.52 a -0.57°C , valor de referencia en los análisis crioscópicos para identificar adulteración de la leche con agua. Al comparar el pc de la muestra con el pc de referencia se puede cuantificar la cantidad de agua añadida. Los mismos sólidos disueltos hacen que el punto de ebullición sea ligeramente superior al del agua pura a la misma presión; por ejemplo, la leche tiene un pe de 100.17°C , a 760 mm de Hg, la leche evaporada de 100.44°C y la condensada azucarada de 103.22°C . Hay que recordar que un mol de una sustancia disuelta en 1,000 gramos de agua reduce la temperatura de congelamiento en 1.86°C y a su vez incrementa la de ebullición en 0.5°C (sección 1.5).

La acidez titulable normal se debe a la presencia de los grupos ionizables de las proteínas, como son los carboxilos de los ácidos aspártico y glutámico. El pH es de 6.5 a 6.7 y cualquier cambio en este valor indica una alteración del producto: por ejemplo, los pH menores se deben a una acidificación microbiana y los mayores a una posible infección de la vaca, como la mastitis.

12.4 ESTADO DE DISPERSIÓN DE LA LECHE

La leche es un sistema biológico muy complejo en el que se presentan tres estados físicos de dispersión de sus múltiples constituyentes: *a*) la lactosa, así como las sales, los cationes, los aniones y las vitaminas hidrosolubles, existen como una verdadera solución; *b*) las proteínas, las caseínas y las del suero, forman dispersiones coloidales, y *c*) las sustancias liposolubles se encuentran como emulsión. Aunque cada uno de estos sistemas tiene una densidad diferente (1.05, 1.114 y 0.94 g/ml, respectivamente), están en equilibrio debido a mecanismos particulares de estabilidad; los distintos tratamientos a los que se somete la leche y sus derivados pueden alterar dichos sistemas y consecuentemente provocar la inestabilidad de los productos.

12.4.1 Fase miscelar

Las caseínas interaccionan entre sí formando una dispersión coloidal que consiste en partículas esféricas llamadas miscelas con un diámetro que varía de 60 a 450 nm y un promedio de 130 nm. Su peso molecular es de muchos millones de daltones, con una densidad de 1.114 g/ml, están constituidas aproximadamente por un 92% de proteínas y un 8% de fosfato de calcio, y se encuentran en varios cientos de millones por mililitro.

A pesar de que existe mucha literatura científica sobre la posible estructura de las miscelas, no hay un consenso sobre el tema; sin embargo, un modelo propuesto considera que éstas se encuentran a su vez constituidas por submiscelas, también esféricas, de diámetro de 10 a 20 nm. En la figura 12.5 se muestra esquemáticamente este modelo, en el que se observa que dichas subunidades se enlazan

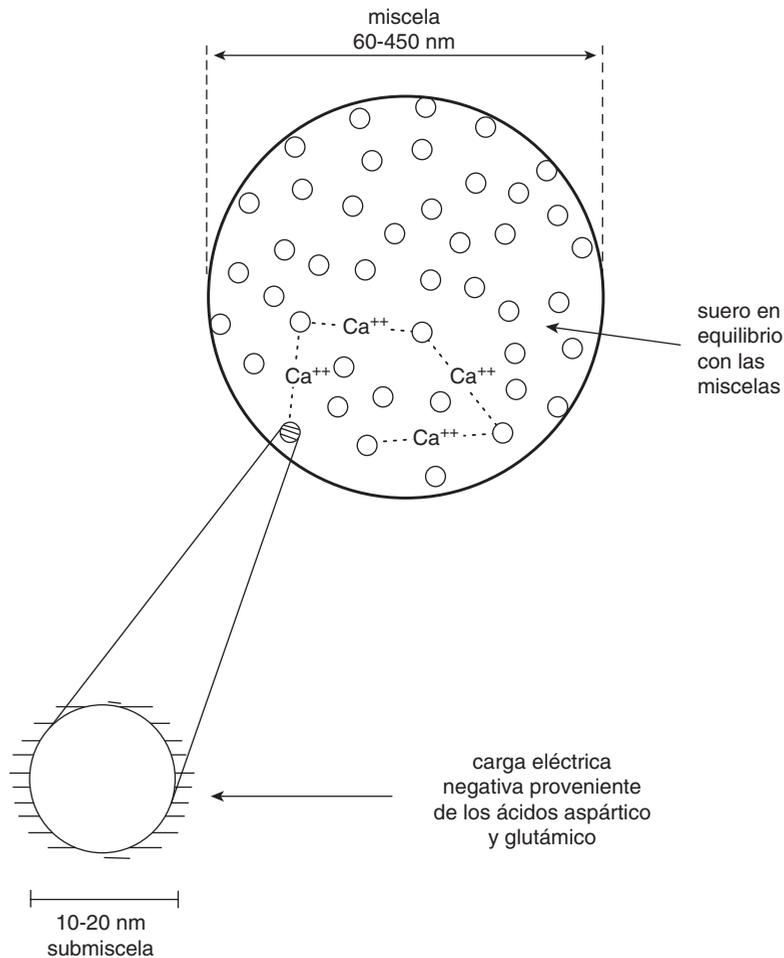


Figura 12.5 Estructura de la miscela de caseínas y sus correspondientes subunidades.

entre sí mediante iones calcio, con un mecanismo no muy bien establecido, pero del que existen algunas teorías; se sugiere que el fosfato de calcio se une a los grupos NH_3^+ de la lisina, que el calcio interacciona directamente con los carboxilos ionizados y que las zonas fosforiladas de las caseínas favorecen el enlace iónico. Por esta razón, los agentes secuestradores del calcio o los procesos de diálisis, provocan la disociación reversible de la miscela en las correspondientes submiscelas.

A su vez, dichas submiscelas están constituidas por la interacción de las caseínas α , β , k y γ que se encuentran en una proporción variable, pero que en promedio es de alrededor del 53, 31, 11 y 5%, respectivamente; hay que resaltar la función estabilizadora de la caseína k contra la precipitación por calcio de las otras fracciones proteínicas. Se ha observado que hay más k en las miscelas pequeñas, que en las grandes. Existen diversos modelos fisicoquímicos para explicar la forma en que las distintas caseínas interactúan para establecer las submiscelas, como los de Rose, Garnier y Ribadeau, Morr, Schmidt, Slattery, Waugh y Noble y otros.^{10, 24, 34, 35, 38, 45} Sin embargo, aunque ninguno de ellos es totalmente aceptado, todos concuerdan en que las uniones hidrófobas entre las moléculas de proteína son básicas para la estabilidad de las subunidades.⁴³

La miscela actúa como una esponja, se encuentra sumamente hidratada con aproximadamente 3.8 g de agua por gramo de proteína, y su estructura porosa le permite un intercambio continuo entre sus constituyentes y los del suero (caseína soluble, lactosa, sales, etcétera), que depende de la temperatura y del pH. A $< 10^\circ\text{C}$ la caseína β se disocia de las miscelas y pasa a formar parte del suero en un proceso reversible al incrementar la temperatura, lo que se refleja en la relación caseína miscelar/caseína total de 78% a 5°C y de 97% a 25°C ; de igual manera, al reducir el pH a 5 se induce una transferencia de la caseína miscelar al suero y una disolución del fosfato de calcio coloidal. Estas modificaciones por efecto de la temperatura y del pH provocan la reducción del tamaño de la miscela, la pérdida de su capacidad de hidratación y el aumento de sensibilidad a los distintos procesos térmicos a los que se somete la leche.

Los ácidos glutámico y aspártico de las caseínas están orientados hacia el exterior y al pH de la leche le confieren una carga negativa a la submiscela y en consecuencia, a la miscela, que provoca fuerzas de repulsión entre ellas y evita su tendencia a la agregación. Cuando el pH se ajusta a 4.6, ocurre una protonación de los carboxilos libres, la consecuente eliminación de la carga negativa y la interacción y precipitación de las proteínas.

Además de las caseínas, las miscelas contienen otras proteínas, principalmente algunas enzimas como la lipasa y la proteasa; la primera actúa más fácilmente sobre el glóbulo de grasa después de la homogeneización de la leche, ya que este proceso induce la asociación no covalente entre las miscelas y dichos glóbulos.

Por su parte, las proteínas del suero se localizan en forma de solución coloidal y están estabilizadas básicamente por su alto grado de hidratación; al contrario de lo que sucede con las caseínas, a éstas les afecta más las altas temperaturas y la presencia de sales deshidratantes. Las temperaturas elevadas ocasionan su desnaturalización, lo que a su vez favorece la interacción entre ellas con la consiguiente formación de precipitados o coágulos.

12.4.2 Fase lipídica

Esta fase desempeña un papel muy importante en la estabilidad de los productos lácteos y, debido a su estructura y composición, es el origen de muchas de las modificaciones físicas, químicas y enzimáticas de deterioro que más comúnmente se presentan. Está integrada por glóbulos de grasa con densidad de 0.94 g/ml y que contienen prácticamente sólo triacilglicéridos; su estabilidad en el seno

del suero (densidad = 1.05 g/ml) se debe a su membrana lipoproteínica con estructura típicamente biológica que actúa como un emulsionante del tipo aceite en agua. El número de glóbulos de grasa varía de $1.5\text{-}3 \times 10^9$ por mililitro y el tamaño puede ser de 2 hasta $12 \mu\text{m}$, con un promedio de $4 \mu\text{m}$. Cabe indicar que estas dimensiones se reducen después de la homogeneización. En términos generales, los glóbulos son de 20 a 40 veces más grandes que las miscelas de caseínas.

La membrana está constituida por un 20% de fosfolípidos, tri, di y monoacilglicéridos, inmunoglobulinas, enzimas, colesterol, carotenoides y otros lípidos en menor proporción; contiene un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados y la mayoría del cobre, factores que aceleran las reacciones de oxidación; sus inmunoglobulinas propician el fenómeno de cremado, ya que las fracciones IgM e IgA, al unirse entre ellas a baja temperatura (5°C), forman grandes agregados proteínicos que hacen que los glóbulos de grasa se asocien. De acuerdo con la ley de Stoke, la aglomeración de los glóbulos de grasa y la formación de crema en la superficie de la leche fría, cruda y sin homogeneizar, debería tomar unas 50 horas; sin embargo, el cremado ocurre en una hora debido a la acción asociativa de las inmunoglobulinas.

Cuando la leche se trata térmicamente, como en la pasteurización, se desnaturalizan las inmunoglobulinas y se inhibe el cremado. Los esfuerzos mecánicos, como la homogeneización, inducen la ruptura de la membrana del glóbulo, la reducción del diámetro de éste y la difusión de las inmunoglobulinas hacia el suero; esto también reduce la tendencia de la leche al cremado. Actualmente este problema no es grave, ya que la gran mayoría de las leches se homogeneizan y pasteurizan poco tiempo después de su recolección.

Además de estos constituyentes, a la membrana también se le asocian varias enzimas, principalmente la fosfatasa alcalina, la catalasa, la fosfodiesterasa, la xantina oxidasa y la sulfhidril oxidasa.

12.5 PRODUCTOS LÁCTEOS

A partir de la leche fresca se elaboran distintos derivados; algunos de ellos, como los quesos, se conocen desde hace muchos siglos y su preparación se practica desde entonces como un método de conservación, mientras que otros se han desarrollado en las últimas décadas gracias a los avances tecnológicos.^{31, 44} En el mercado se encuentra una gama enorme de productos lácteos: leche entera, descremada, deslactosada y descremada/deslactosada, en versiones pasteurizada y ultrapasteurizada; leche en polvo entera o descremada; condensada; evaporada; mantequilla; queso; suero de la leche; crema; leche fermentada, como yogurt, búlgara, kéfir; dulce/natilla como la cajeta; caseínas (ácida, láctica, renina); caseinatos para uso comestible e industrial; lactosa; sólidos de mantequilla; ingredientes lácteos enzimáticamente modificados; y más.

Por contener un gran número de nutrimentos y por ser un alimento tan completo, con un pH casi neutro y alta actividad del agua, la leche está sujeta a contaminaciones microbiológicas que la hacen un producto altamente perecedero. Los distintos derivados que de ella se obtienen representan una forma más estable, con una vida de anaquel mucho mayor que la materia prima de origen.

12.5.1 Leches pasteurizada, ultrapasteurizada y esterilizada

Uno de los métodos más comunes de conservación de los alimentos es mediante un calentamiento que destruye los microorganismos y las enzimas dañinas. Existen diferentes tratamientos, que varían

en la temperatura y el tiempo de proceso, que se emplean de acuerdo con los requerimientos del consumidor y de la industria. Antes del calentamiento, la leche cruda se somete a una centrifugación para eliminar partículas extrañas como células de las glándulas mamarias, leucocitos y otros posibles contaminantes; además, se somete a una estandarización del contenido de grasa mediante centrifugación. La crema recuperada por este método se utiliza en la fabricación de la mantequilla.

12.5.1.1 Tratamiento térmico

El proceso de pasteurización original se desarrolló para destruir al *Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis, y consistía en calentar la leche a 61.5°C por 30 minutos; sin embargo, en estas condiciones sobrevive la *Coxiella burnetii*, que es el patógeno más termorresistente que crece en la leche. Por esta razón, la temperatura se incrementó a 63°C por el mismo tiempo. Actualmente, se lleva a cabo en sistemas continuos de intercambiadores de calor de placas o de tubos, en los que la leche se somete a 71.8°C durante 15 segundos de tratamiento efectivo (figura 12.6). La pasteurización está calculada en la reducción de 12 ciclos logarítmicos de la cuenta microbiana de la *C. burnetii*.

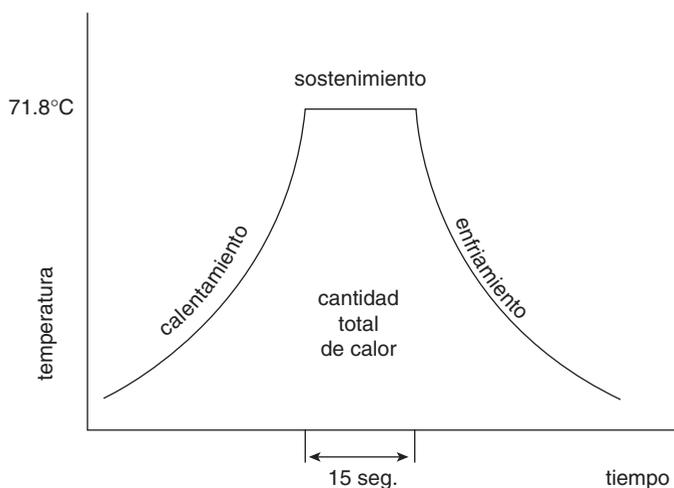


Figura 12.6 Pasteurización de la leche.

Paralelamente a la destrucción de este patógeno también se eliminan microorganismos más termosensibles, como los coliformes, y se inactiva la fosfatasa alcalina, pero no así las esporas o la peroxidasa, ni las bacterias termorresistentes, como las lácticas (figura 12.7); es decir, la leche pasteurizada todavía tiene una determinada cuenta microbiana, principalmente de bacterias lácticas (no patógenas pero sí fermentativas), y requiere de refrigeración, ya que su vida de anaquel es tan solo de algunos días.

La eficiencia de la pasteurización se valida indirectamente al medir la actividad residual de la fosfatasa alcalina, ya que su inactivación indica que el tratamiento térmico fue efectivo; sin embargo, hay que tomar ciertas precauciones ya que se puede presentar su reactivación durante el almacenamiento y causar desconcierto en la interpretación de los resultados. El fenómeno de la reactivación también se presenta con otras enzimas, principalmente proteasas.

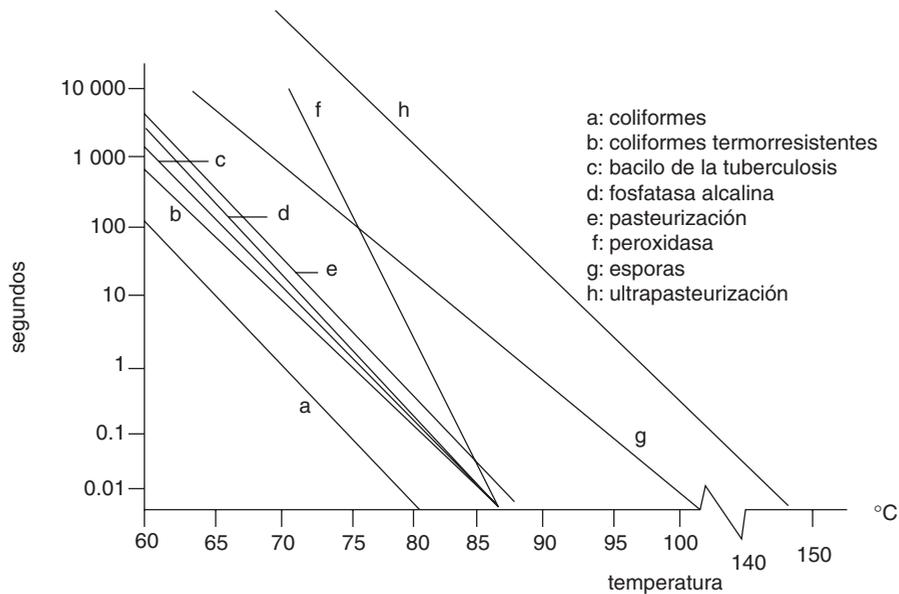


Figura 12.7 Pasteurización y ultrapasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos y enzimas.

La ultrapasteurización es un tratamiento más intenso, 145-155°C/1-5 seg, que destruye prácticamente todos los microorganismos y las enzimas más termorresistentes mediante dos métodos comerciales: el indirecto, que usa intercambiadores de calor, y el directo (también llamado uperización), por inyección directa de vapor culinario a la leche y su posterior eliminación en un tanque a presión reducida. El producto obtenido puede almacenarse sin refrigeración por periodos hasta de varios meses, siempre y cuando no se abra el envase.

Por su parte, la esterilización es el tratamiento más drástico, ya que se lleva a cabo a 121°C durante varios minutos (depende del producto); a diferencia de los anteriores, el envase utilizado es el bote de hojalata, como en las leches evaporada y condensada.

A medida que se incrementa la intensidad del calentamiento, se favorecen varias de las transformaciones que más adelante se explicarán. Cabe indicar que la estabilidad térmica de la leche depende de muchos factores, como son la presencia de microorganismos y de enzimas proteolíticas, de los sólidos totales, de la homogeneización, del pH, de la acidez, de las sales, de las albúminas, de las globulinas, y otros.

De todos los constituyentes de la leche, las enzimas libres y las proteínas del suero (inmunoglobulinas > seroalbúminas > β -lactoglobulina > α -lactalbúmina) son las más termosensibles, seguidas de las enzimas, ya sea unidas a las miscelas o a los glóbulos de grasa, de las caseínas, de la lactosa y, por último, de los lípidos. En términos generales, el 10 a 15% de las proteínas del suero (inmunoglobulinas y seroalbúminas) se desnaturalizan en la pasteurización y el 30 a 40% (inmunoglobulinas, seroalbúminas y algo de β -lactoglobulina) en la ultrapasteurización. La mayoría de los aminoácidos azufrados de la leche, cistina, cisteína y metionina, se localizan en estas proteínas, que son las responsables de la generación de ácido sulfhídrico (H_2S) y de mercaptanos, típicos del olor y el sabor de las leches sobrecalentadas. Su desnaturalización provoca el desdoblamiento y la exposición de

sus grupos sulfhidrido libres y causa la ruptura del enlace $-S-S-$, que también genera $-SH$; en estas condiciones, la leche reduce su potencial de oxidación-reducción y propicia una atmósfera que inhibe las reacciones de oxidación. El calentamiento excesivo del suero de la leche induce la precipitación y agregación de sus proteínas en un proceso no muy claro, que se lleva a cabo en varias etapas en las que la β -lactoglobulina interviene; esta globulina se encuentra como dímero al pH normal de la leche, y el calentamiento provoca que se desdoble en sus monómeros, con sus correspondientes sulfhidrilos expuestos, los cuales a su vez se asocian y agregan mediante iones calcio.^{12, 37}

Por otra parte, los tratamientos térmicos intensos de la leche propician la interacción entre la β -lactoglobulina y la caseína *k*, modificación que influye negativamente en la fabricación de quesos; el sulfhidrido de la primera ($-SH$) se une al enlace disulfuro ($-S-S-$) de la segunda, y así se produce un complejo en el que intervienen también otros enlaces, como los de hidrógeno, los hidrófobos y los electrostáticos.²⁵ En estas condiciones, la caseína *k* no es fácilmente atacada por la renina, puesto que la globulina bloquea el sitio específico (aminoácidos 105-106) en el que actúa la enzima; el coágulo así formado es muy débil y el rendimiento del queso es inadecuado para una operación industrial.

Esta reacción, indeseable para la industria de los quesos, es necesaria para la manufactura de leche evaporada o condensada con 25 a 26% de sólidos. Antes del enlatado, estos productos se someten a un precalentamiento (90°C por 15 a 20 min) para favorecer la interacción de las proteínas, ya que de otra manera, la β -lactoglobulina se desnaturaliza y precipita durante la esterilización, lo cual trae consigo la inestabilidad de todo el sistema de proteínas, incluyendo a las caseínas. Las miscelas de menor tamaño tienen una proporción mayor de caseína *k*, y por lo tanto, reaccionan más fácilmente con la β -lactoglobulina. En el caso de los yogures, dicha interacción proteína-proteína también es benéfica, siempre y cuando se haga de manera muy controlada, ya que si es excesiva, los resultados son igualmente negativos, puesto que se reduce el rendimiento y deteriora las propiedades reológicas del yogurt.³⁰

En términos generales, las caseínas son muy estables ante la mayoría de los tratamientos térmicos, aun cuando en ciertos casos se puede perder su sistema de estabilidad. Su precipitación por calor al pH normal de la leche sólo se logra en condiciones de temperatura-tiempo muy drásticas que en general no se emplean comercialmente. Ya que las caseínas no tienen estructuras secundaria y terciaria definidas, difícilmente se desnaturalizan como lo hace la mayoría de las proteínas del suero que presentan una estructura más compleja. Como se explicó, las miscelas se estabilizan principalmente por su carga negativa, además de su hidratación, su balance salino y sus interacciones con los fosfatos coloidal y soluble; cuando alguna de estas funciones se altera por un excesivo calentamiento, se induce la inestabilidad, cuya intensidad depende del grado de calentamiento. Cuando se genera inestabilidad, puede presentarse: *a*) la degradación de la lactosa en ácidos, como el fórmico, que reduce el pH; *b*) el cambio del fosfato de calcio soluble a coloidal y su transformación al estado más estable de hidroxiapatita, lo que trae consigo una desprotonación de los fosfatos y una baja del pH; y *c*) la hidrólisis de las fosfoserinas de las caseínas. El conjunto de todas estas alteraciones puede abatir el pH hasta 5, situación en la que las caseínas están muy cercanas a su punto isoeléctrico y consecuentemente a su precipitación.

Además de estas reacciones, las proteínas lácteas están sujetas a modificaciones que inducen la formación de lisinoalanina, de lantionina y de enlaces entrecruzados, así como la racemización de aminoácidos.

Por su parte, la lactosa interviene principalmente en las transformaciones de oscurecimiento no enzimático de Maillard; la disponibilidad de lisina hace que el grupo reductor del disacárido produzca rápidamente la glucosilamina correspondiente (capítulo 2). La caramelización se observa en la fabricación de algunos dulces a base de leche que requieren de temperaturas muy elevadas durante tiempos prolongados. Los lípidos se llegan a degradar para sintetizar lactonas que contribuyen al aroma y al sabor de los productos muy calentados.

Algunos países sobreproductores de leche procesan sus excedentes para obtener derivados deshidratados, caseínas, caseinatos y proteínas del suero; cada uno tiene usos específicos en la industria, ya que además de su valor nutritivo, presentan propiedades funcionales que los hacen adecuados para fabricar otros alimentos. Sin embargo, si la leche de donde provienen sufrió calentamientos severos el derivado probablemente no tendrá todas sus características nutritivas y funcionales. Por esta razón, existen varios métodos sencillos para determinar el daño térmico, como por ejemplo, los índices de solubilidad.⁶

12.5.1.2 Homogeneización

La homogeneización se emplea en la industria para estabilizar los lípidos de la leche y evitar la separación de fases con formación de la crema. Primero se calienta, como en el proceso de pasteurización, para disminuir su viscosidad, licuar la grasa y facilitar el rompimiento de los glóbulos; en esas condiciones se pasa a través de una válvula con una abertura muy pequeña en donde las partículas alcanzan velocidades de 250 m/seg o más por efecto de las altas presiones ejercidas que van de 50 a 200 kg/cm². Los glóbulos originales, grandes en diámetro, se desintegran en un gran número de ellos de menor tamaño ($< 2 \mu\text{m}$), lo que aumenta de 6 a 8 veces su área superficial. La homogeneización no sólo rompe los glóbulos de grasa, si no que provoca una interacción lípido-proteína.

Después de homogeneizada, la leche adquiere nuevas características y propiedades que hacen que se reduzca notablemente su tendencia natural al cremado y se aumente la estabilidad de la fase lipídica; es decir, se desarrolla un estado de dispersión de la grasa que no tiene capacidad de formar la crema. Esto se atribuye a que la membrana original del glóbulo se rompe para dar lugar a una nueva, constituida por diferentes proteínas, caseínas y por el suero, que se unen a la superficie del glóbulo mediante enlaces hidrófobos, y a que las inmunoglobulinas pierden su capacidad de interactuar entre ellas, ya que ahora lo hacen con la caseína *k*. Al mismo tiempo, la densidad de los nuevos glóbulos aumenta por la influencia de las proteínas, con lo que se disminuye el gradiente de densidades que originalmente existe entre las fases lipídica y proteínica de la leche cruda.

Por todo lo anterior, el sistema que se genera es tan estable que es muy difícil recuperar la grasa de la leche homogeneizada con los métodos tradicionales de centrifugación.

Dado que en este proceso se produce un gran número de pequeños glóbulos de grasa, la difracción de la luz es mayor y, por tanto, la leche adquiere un color más blanco; al mismo tiempo, este aumento del área superficial hace que los glóbulos se vuelvan más susceptibles a la fotooxidación, pero también se inhibe la autooxidación iniciada por el cobre y los fosfolípidos, ya que estos se solubilizan en el suero y pierden su efecto catalítico.

Si la leche no está pasteurizada, la homogeneización provoca la rancidez hidrolítica ocasionada por las lipasas que se localizan en las miscelas; al interactuar con los glóbulos, la caseína pone en contacto íntimo la enzima con la fase lipídica, lo cual se favorece por el considerable incremento del área superficial. En general esto no ocurre, ya que las leches se pasteurizan inmediatamente antes o después de la homogeneización con lo cual se inactivan las lipasas.

12.5.2 Quesos

El queso es el producto que resulta de la precipitación de las caseínas, que deja como residuo el llamado suero de la leche; para llevar a cabo este proceso, se emplean básicamente dos métodos: por medio de la renina o cuajo, o bien, acidificar en el punto isoeléctrico de las caseínas (pH 4.6).

Los pasos fundamentales para su elaboración incluyen la coagulación de la leche, el cortado del coágulo, la eliminación del suero (desuerado), el salado, el prensado y la maduración (si se requiere). Hay quesos de los llamados “frescos”, que son los más consumidos en México, que no son madurados y se consumen solamente salados o sazonados con especias.

En el mundo existen aproximadamente 1,000 variedades que comparten diversos pasos en su elaboración. Las diferencias de textura, aroma, sabor, etcétera, se deben fundamentalmente a factores como: *a*) tipo de leche: vaca, oveja, cabra, búfala, etcétera; *b*) calidad de la leche: pasteurizada, cruda, pasteurizada “en frío”, etcétera; *c*) relación de concentraciones grasa-proteína; *d*) tipos de microorganismos y enzimas añadidos; *e*) velocidad e intensidad del desarrollo de la acidez; *f*) tipo y concentración de la enzima coagulante; *g*) grado y forma de deshidratación del coágulo; *h*) cantidad y forma de adición de la sal; *i*) forma y tamaño del queso; *j*) condiciones de maduración, temperatura, humedad, etcétera; *k*) tratamientos superficiales del queso, encerado; *l*) perforaciones en el queso para permitir la entrada de aire, y *m*) adición de enzimas o microorganismos para efectuar la maduración.

A continuación se mencionan los aspectos más relevantes de un procedimiento simple para la fabricación de quesos madurados.

Si se considera que se parte de una leche pasteurizada y homogeneizada, el primer paso es su acondicionamiento a 35-37°C en la tina de fabricación para que el inóculo empleado crezca favorablemente. Los microorganismos utilizados varían según el tipo de queso, pero entre los más comunes destacan *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *Lactobacillus lactis* y *L. bulgaricus*, que se añaden en una concentración de 1% y se deja que actúen durante 30 a 40 minutos; en este tiempo, transforman la lactosa en ácido láctico, lo que aumenta un 0.01-0.02% la acidez de la leche y reduce el pH a 5.3-5.5.

En estas condiciones se añade la renina o bien, otro cuajo que puede ser de origen microbiano, cuya actividad enzimática durante 30 minutos provoca la coagulación de la leche mediante un fenómeno que se efectúa en dos pasos: *a*) hidrólisis de la caseína *k* (enlace 105-106) en *para*-caseína *k* y el macropéptido, que trae consigo la pérdida del sistema de estabilización de las caseínas, y *b*) formación del coágulo por la acción del calcio sobre las caseínas α y β que precipitan.⁸

Cabe indicar que la leche en su estado natural puede estar contaminada con diversos microorganismos, como *Pseudomonas*, productores de proteasas termorresistentes capaces de modificar la acción enzimática del cuajo.^{17, 39}

La medición de la firmeza óptima del coágulo para el siguiente paso del proceso es de mucha importancia y normalmente se lleva a cabo subjetivamente, de acuerdo con la experiencia del técnico; sin embargo, se han desarrollado algunos métodos objetivos basados en la determinación de sus propiedades reológicas, espectroscópicas, ultrasónicas, térmicas y otras.¹⁶

El coágulo se corta longitudinal y transversalmente con liras metálicas para deshidratarlo y concentrar los sólidos. Los cubos formados son de tamaño variable, de acuerdo con el queso deseado; mientras más pequeños, mayor será el desuerado, lo que es deseable en quesos con bajo contenido de agua. La agitación lenta y el calentamiento aceleran la deshidratación, ya que además se favorece una generación extra de ácido láctico que ocasiona que las miscelas se unan más estrechamente para integrar una estructura tridimensional continua de caseínas en la que queda atrapada la grasa y algo

de suero. El resultado es un precipitado rodeado del suero que se recupera al abrir la válvula correspondiente de la tina. La caseína precipitada tiene una consistencia muy elástica, similar a la del hule, no tiene ni sabor ni aroma y está muy lejos de parecer un buen queso; a este sólido se le añade sal (de 1.5 a 1.8%), que contribuye al sabor y a detener la producción de ácido láctico. Después se coloca en moldes que se someten a una presión para continuar con el desuerado, hasta llegar a la humedad final deseada.

Esta masa de caseínas contenida en los moldes puede o no ser inoculada con otros microorganismos para la maduración; se colocan en un cuarto con una humedad relativa de 80-90% a 10-15°C, que propicia las condiciones ideales para que los microorganismos y las enzimas naturales y añadidas lleven a cabo una muy complicada red de reacciones químicas: las proteínas se degradan en aminoácidos, al igual que los hidratos de carbono y los lípidos (en ácidos grasos de cadenas corta y larga), compuestos que a su vez entran en una secuencia de transformaciones interrelacionadas muy complejas, mediante las cuales se produce la textura y las decenas de compuestos responsables del aroma y el sabor.

El gusto mexicano está dirigido a los quesos suaves que recuerdan lo más posible a la materia prima, es decir a la leche, entre los que destaca el queso blanco que no utiliza cuajo o renina, sino que precipita la leche con la adición de ácido acético. Otros quesos un poco más elaborados, pero sin o muy poca maduración, son el Sierra o Añejo y el Oaxaca. Entre los quesos madurados destaca el Chihuahua y el Manchego (Asadero en el norte del país); cabe aclarar que este último no tiene relación alguna con el Manchego Español, fabricado con leche de oveja y con hierbas aromatizantes. También se fabrica en pequeña escala algunas especialidades internacionales como *Camembert*, *Port Salut*, *Gruyère*, y *Roquefort* (en México también conocido como Cabrales).

12.5.2.1 Suero de la leche

A partir de 10 litros de leche se produce de 1 a 2 kg de queso y de 8 a 9 kg de suero de leche, del cual existen dos tipos que se diferencian por su forma de obtención: a) el llamado suero dulce, proveniente de los quesos fabricados con renina, y b) el suero ácido que utiliza ácido acético para la precipitación; éste es un subproducto de los quesos blanco y *cottage* y, debido a su pH, es muy corrosivo para los metales (cuadro 12.9). Los lactatos y los fosfatos que contiene actúan como amortiguador de pH y el equilibrio ácido-base influye en muchas de sus propiedades, en la estabilidad y en la precipitación térmica.¹⁴

CUADRO 12.9 Composición de los sueros del queso

	Dulce (%)	Ácido (%)
Sólidos totales	6.5	5.2
Lactosa	4.9	4.3
Proteína	0.8	0.6
Nitrógeno no proteínico (% del total)	22.0	27.0
Ácido láctico	0.15	0.75
Cenizas	0.56	0.46
pH	6.2	4.6

El suero tiene una proporción baja de proteínas, pero éstas poseen una calidad nutritiva superior a la de las caseínas que conforman el queso. Se han desarrollado muchas técnicas encaminadas a su aprovechamiento, y una de las más sencillas de tipo casero, es calentarlo para precipitar las proteínas y después eliminar el agua por prensado; en muchas poblaciones de México se consume directamente después de salarlo, y se conoce como requesón.

A un nivel industrial, el suero se usa en forma deshidratada (una vez que se le elimina el agua mediante evaporación y se seca por aspersión), aun cuando el producto resultante se daña térmicamente y es poco soluble. Sus propiedades funcionales y usos en la alimentación humana dependen de los daños que pueda recibir durante su procesamiento, por lo que se deben tener controles estrictos de pH y de temperatura en el secado.^{21, 27}

Sus sales y su lactosa se separan por ósmosis inversa, ultrafiltración y adsorción de intercambio iónico, con lo cual se concentran las proteínas; los llamados concentrados de suero de leche (*WPC*, *whhey protein concentrates*) se comercializan con un 80% mínimo de proteínas, no están dañados térmicamente y se usan por su alta solubilidad, retención de agua, capacidades emulsificante, espesante y espumante, y por su formación de geles estables, en productos como yogurt, quesos procesados y análogos, cremas, panadería, repostería, cárnicos, formulaciones infantiles, aderezos, helados, sustitutos de leche reducidos en grasa, productos nutricionales, etcétera.

12.5.3 Yogurt

La leche usada para yogurt se tiene que estandarizar a un nivel menor de grasa y mayores contenidos de lactosa, proteínas, minerales y vitaminas; para eso se pueden añadir sólidos lácteos no grasos (leche deshidratada descremada, suero de leche, etcétera), de tal forma que la gravedad específica aumenta de 1.03 g/ml a 1.4 g/ml y paralelamente los sólidos no grasos suben a 12%. También se añaden gomas, estabilizantes, saborizantes y edulcorantes. La pasteurización destruye la mayoría de la microflora innata de la leche, lo que permite un campo libre para los cultivos lácticos que se añaden posteriormente; la interacción de la caseína *k* y la β -lactoglobulina provocada por el tratamiento térmico controlado (85°C/25 minutos) y favorecida por el pH y la presencia de calcio, crea una nueva estructura que tiene una mejor capacidad de absorción de agua que dará como resultado un gel más firme y terso, de mayor viscosidad que no presenta sinéresis. La homogeneización, después de la pasteurización, estabiliza la grasa en pequeñas partículas que previenen el cremado durante la fermentación, y mejora la textura por la interacción entre las caseínas y los glóbulos de grasa.⁷

En estas condiciones, la leche se inocula con diversos microorganismos, como por ejemplo, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, que actúan de una manera sinérgica a 40-45°C. El ácido láctico, producido a partir de la lactosa, baja el pH hasta 5 en donde se inicia la formación del coágulo. El sabor y aroma se deben al ácido láctico, además del acetaldehído, la acetona, el diacetilo y a otros compuestos con grupos carbonilo.

Son muchas las variables que afectan las propiedades de estos derivados, tales como el calentamiento, el contenido proteínico, la homogeneización, la acidez alcanzada en la fermentación, el tipo de cultivo y la presencia de estabilizadores.²⁹

12.5.4 Otros productos lácteos

- *Leche evaporada*: también llamada leche condensada no azucarada, se produce al eliminar agua por evaporación hasta llegar a un 26% de sólidos aproximadamente (cuadro 12.10). El proceso

implica un precalentamiento a 95°C, concentración a baja temperatura (50-55°C), homogeneización, enlatado y esterilización. El “balance de sales” se ajusta mediante la adición de fosfato disódico, citrato sódico o bicarbonato sódico para evitar la influencia del calcio en la coagulación de las proteínas durante la esterilización, que es el tratamiento térmico más drástico.

- *Leche condensada*: se fabrica mediante la eliminación de agua por evaporación de la mezcla de leche y azúcar (40-45%) hasta alcanzar aproximadamente 73% de sólidos (cuadro 12.10). Los tratamientos térmicos tienen una gran influencia sobre su viscosidad y en la cristalización de la lactosa; esta segunda debe desarrollarse como cristales β -anhídros pequeños para tener una consistencia tersa, y su formación se induce al añadir lactosa o leche en polvo con agitación para crear el mayor número de núcleos de cristalización. La baja actividad del agua hace a este producto muy estable ante contaminaciones microbianas; sin embargo, las reacciones de tipo Maillard durante su fabricación y el almacenamiento le dan el color amarillo-cremoso característico.
- *Leche en polvo*: tanto la entera como la descremada se obtienen mediante secado por aspersión, después de eliminar parcialmente el agua por evaporación; el producto resultante forma grumos difíciles de desbaratar y se vuelve poco soluble por efecto de los diversos daños térmicos en las proteínas y la lactosa (p.ej. desnaturalización, reacción de Maillard, etcétera). Para remediar la falta de solubilidad, se procede a la aglomeración del producto seco, aplicando vapor, con lo cual se producen partículas más porosas que fácilmente se hidratan; en esta operación, la lactosa, que se encuentra en estado amorfo, se humidifica y recristaliza en formas más solubles. Su estabilidad a la oxidación disminuye por la eliminación de agua (< 5%), por lo que algunas legislaciones permiten el uso de antioxidantes; para evitar su deterioro se recomienda mantenerla a temperaturas moderadas y protegida de la luz solar.

CUADRO 12.10 Composición de los productos lácteos concentrados (%)

Producto	Agua	Proteínas	Grasa	Hidratos de carbono	Cenizas
Leche evaporada	73.8	7.0	7.9	9.7	1.6
Leche condensada	27.1	8.1	8.7	54.3	1.8
Leche en polvo	3.0	24.6	26.5	38.8	7.1
Leche en polvo descremada	3.0	35.8	1.0	52.3	7.9

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alais, C. 1971. *Ciencia de la leche*. Cía Editorial Continental, México, D.F.
2. Al-Mashikh, S.A. y Nakai, S. 1987. “Reduction of beta-lactoglobulin content of cheese whey by polyphosphate precipitation”, *J. Food Sci.*, 52:1237.
3. Awadhwal, N.K. y Singh, C.P. 1985. “A rheological model for milk products”, *J. Food Sci.*, 50:1611.
4. Brew, K y Grobler, J.A. 1992. “ α -Lactalbumin”. Cap. 5 en *Advanced Dairy Chemistry. Proteins*, vol. 1, Ed. P.F. Fox p. 191-229. Elsevier Applied Science, Londres.
5. Brunner, J.R. 1981. “Cow milk proteins: Twenty-five years of progress”, *J. Dairy Sci.*, 64:1038.
6. Bushill, J.H. y Wright, W.B. 1964. “Some physical methods of assessing the effects of processing on the structure and properties of milk”, *J. Soc. Dairy Technol.*, 17:3.

7. Chandan, R.D. y Shahari, K.M. 1992. "Yogurt". Cap. 1 en *Dairy Science and Technology Handbook*, vol. 2. Ed. Y.H. Hui, p. 1-56. VCH Publishers, Inc., N.Y.
8. Dalgleish, D.G., Brinkhuis, J. y Payens, T.A.J. 1981. "The coagulation of differently sized casein micelles by rennet", *European J. Biochem.*, 119:257.
9. Farkye, N. Y. 1992. "Other enzymes", en *Advanced Dairy Chemistry. Proteins*. Ed. P.F. Fox, p. 339-367. Elsevier Applied Science, London.
10. Garnier, J. y Ribadeau-Dumas, B. 1970. "Structure of casein micelle. A proposed model", *J. Dairy Res.*, 37:493.
11. Gresti, J.M., M. Bugant, C. Maniongui y J. Bezar. 1993. "Composition of molecular species of triacylglycerols in bovine milk fat". *J. Dairy Sci.* 76:1850-1869.
12. Harper, J.W. 1976. "Processing-induced changes", en *Dairy Technology and Engineering*, Ed. J.W. Harper y C.H. Hall, pp. 539-596. The Avi Publishing, Westport, Conn.
13. Hayakawa, S. Y Nakai, S. 1985. "Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins", *J. Food Sci.*, 50:486.
14. Hill, A.R., Irvine, D.M. y Bullock, D.H. 1985. "Buffer capacity of cheese wheys", *J. Food Sci.*, 50:733.
15. Holt, C. 1985. "The milk salts: Their secretion, concentrations and physical chemistry", en *Developments in Dairy Chemistry. Lactose and Minor Constituents*. Ed. P.E. Fox, Elsevier Applied Science, Londres.
16. Hori, T. 1985. "Objective measurements of the process of curd formation during rennet treatment of milks by the hot wire method", *J. Food Sci.*, 50:911.
17. Jackman, D.M., Patel, T.R. y Haard, N.F. 1985. "Effect of heat-stable proteases on the kinetic parameters of milk clotting by chymosin", *J. Food Sci.*, 50:602.
18. Jensen, R.G., A.M. Ferris, y C.J. Lammi-Keefe. 1991. "The composition of milk fat". *J. Dairy Sci.* 74:3228.
19. Kuwata, T., Phan A.M., Ma, C.Y. y Nakai, S., 1985. "Elimination of β -lactoglobulin from whey to simulate human milk protein", *J. Food Sci.*, 50:605.
20. Larson, B.L. 1979. "Biosynthesis and secretion of milk proteins: A review", *J. Dairy Res.*, 46:161.
21. Mathur, B.N. y Shahani, K.M. 1979. "Use of total whey constituents for human food", *J. Dairy Sci.*, 62:1.
22. Mercier, J.C., Ribadeau-Dumas, B. Y Grosclaude, F. 1973. "Amino-acid composition and sequence of bovine *k*-casein", *Neth. Milk Dairy, J.*, 27:313.
23. Miller, G.D., Jarvis, J.K. y McBean, L.D. 1995. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. CRC Press, Boca Raton, Fl.
24. Morr, C.V. 1967. "Effect of oxalate and urea upon ultracentrifugation properties of raw and skim milk casein micelles", *J. Dairy Sci.*, 50:1744.
25. Morr, C.V. y Josephson, R.V. 1968. "Effect of calcium, *N*-ethylmaleimide and casein upon heat-induced whey protein aggregation", *J. Dairy Sci.*, 51:1349.
26. Morr, C.V. 1974. "Chemistry of milk proteins in food processing", *J. Dairy Sci.*, 58:977.
27. Morr, C.V. 1985. "Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates", *J. Food Sci.*, 50:1406.
28. Nickerson, T.A. 1961. "Interrelationships of milk constituents", *J. Dairy Sci.*, 44:1025.
29. Nielson, V. 1975. "Factors which control the body and texture of commercial yoghurts", *Am. Dairy Rev.*, 37(11):36.
30. Parnell-Clunies, E.M., Kakuda, Y. y Deman, J.M. 1986. "Influence of heat treatment of milk on the flow properties of yoghurt", *J. Food Sci.*, 51:1459.
31. Parsons, J.G., Baer, R.J. y Mistry, V.V. 1992. "Milk and milk products". En *Encyclopedia of Food Science Technology. Vol. 3*. Ed. Y. H. Hui. p. 1795-1803. John Wiley and Sons, Inc. N.Y.
32. Ribadeau-Dumas, B., Mercier, J.C. y Grosclaude, F. 1973. "Amino-acid composition and sequence of bovine α_s and β -caseins", *Neth. Milk Dairy J.*, 27:304.
33. Rolls, B.A. 1982. "Effect of processing on nutritive value of food: Milk and milk products", en *Handbook of Nutritive Value of Processed Food*, Vol. 1. Ed. M. Rechcigl, p. 383-399. CRC Press, Boca Raton, Fl.
34. Rose, D. 1969. "A proposed model of micelle structure in bovine milk", *Dairy Sci. Abstr.*, 3(4):171.

35. Schmidt, D.G. 1980. "Colloidal aspects of casein", *Neth. Milk Dairy J.*, 34:42.
36. Shahani, K.M. 1979. "Humanized milk", *J. Dairy Sci. Technol.*, 14:2.
37. Singh, H. y L.K. Creamer. 1992. "Heat stability of milk", en *Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins*. Ed. P.F. Fox, p. 621-656. Elsevier Applied Science, London.
38. Slattery, C.W. 1976. "Review: Casein micelle structure; an examination of models", *J. Dairy Sci.*, 59:1547.
39. Stepaniak, L., Fox, P.F. y Daly, C. 1982. "Influence to the growth of *Pseudomonas fluorescens* AFT 36 on some technologically important characteristics of milk", *Irish J. Food Sci. Technol.*, 6:135.
40. Swaisgood, H.E. 1973. "The casein", *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, 3:375.
41. Swaisgood, H.E. 1982. "Chemistry of milk protein", en *Developments in Dairy Chemistry. I. Proteins*, Ed P.F. Fox, Applied Science Publishers, Londres.
42. Swaisgood, H.E. 1992. "Chemistry of caseins", Cap. 2 en *Advanced Dairy Chemistry. Volume 1. Proteins*. Ed. P.F. Fox, p. 63-110. Elsevier Applied Science, Londres.
43. Thompson, M.P. y Farrell, H.M. 1973. "The casein micelle – The forces contributing to its integrity", *Neth Milk Dairy J.*, 27:220.
44. Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994. *Milk and Milk Products Technology –Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall, N.Y.
45. Waugh, D.F. y Noble, R.W. 1965. "Casein micelles. Formation and structure II", *J. Am. Chem. Soc.*, 87:2246.
46. Wharton, B. 1981. "Immunological implications of alternatives to mother's milk", en *The Immunology of Infant Feeding*, Ed. A.W. Wilkinson, Plenum Press, Nueva York.
47. Whitney, R., Brunner, J.R., Ebner, K.E., Farrell, H.M., Josephson, R.V., Morr, C.V. y Swaisgood, H.E. 1976. "Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fourth revision", *J. Dairy Sci.*, 59(5):795.

13

Soya

- 13.1 Introducción
- 13.2 Proteínas de la soya
- 13.3 Formas comerciales de la soya
- 13.4 Propiedades funcionales
- 13.5 Factores antifisiológicos
- 13.6 Soya y nutrición
- 13.7 Mejora genética de la soya

Referencias bibliográficas



13.1 INTRODUCCIÓN

La soya, o frijol de soya, (*Glycine max*) pertenece a las leguminosas, aunque por su elevado contenido de aceite se incluye también, junto con la canola, el algodón, el girasol, la aceituna y el cacahuete, en las oleaginosas. Estados Unidos y Brasil conjuntamente cosechan más del 80% de la producción mundial. Es un cultivo anual de verano de clima caluroso y húmedo, y sus vainas contienen tres o más semillas que se utilizan industrialmente para la extracción del aceite, y el residuo, o pasta, rico en proteínas, se utiliza para la alimentación humana o animal; en el capítulo 4 se describe la obtención y la refinación del aceite de soya. Por otra parte, en diversos países del Oriente, como China y Japón, la soya ha representado, desde hace varios miles de años, un ingrediente fundamental en la dieta de un gran sector de la población. Debido a sus propiedades nutritivas, principalmente por sus proteínas, en las últimas décadas ha

habido un gran desarrollo científico y tecnológico para su aprovechamiento integral. La producción de proteínas de soya representa una alternativa muy importante para la gran deficiencia que existe de las proteínas convencionales, como las de la leche, la carne y el huevo.

Como sucede con la mayoría de los alimentos provenientes del campo, su composición química depende de muchos factores, tales como la variedad de la semilla, el tipo de suelo, la irrigación, la fertilización, la temperatura ambiental, etcétera; se conocen algunas variedades cuyo contenido de proteínas es mayor, pero a expensas de la grasa y de los hidratos de carbono, así como del rendimiento por hectárea. En los últimos años y mediante manejos genéticos, se ha mejorado su producción y también se ha modificado su composición química. En el cuadro 13.1 se muestra una composición promedio.

En forma general, la soya está anatómicamente constituida por tres fracciones principales: la cascarilla, que representa aproximadamente el 8% del peso total de la semilla, el hipocotilo (2%) y el cotiledón (90%); en este último se localiza el aceite en pequeños compartimientos llamados esferosomas, de 0.2 a 0.3 μ , que a su vez están dispersos entre los cuerpos proteínicos (aleuronas) de mayor tamaño (2 a 20 μ), integrados por aproximadamente un 98% de proteínas y algo de lípidos y de ácido fítico. La función de la proteína es de reserva para la germinación y el crecimiento de la planta, y debido a su gran importancia, se estudiará con detalle más adelante.

CUADRO 13.1 Composición de la soya y de sus partes en base seca (%)

	<i>Proteína</i>	<i>Grasa</i>	<i>Hidratos de carbono</i>	<i>Cenizas</i>	<i>Constituyente de la semilla</i>
Soya total	40	21	34	4.9	100
Cotiledón	43	23	29	5.0	90
Cascarilla	9	1	86	4.4	8
Hipocotilo	41	11	43	4.3	2

La fracción lipídica está integrada por triacilglicéridos, llamados comúnmente triglicéridos, que contienen aproximadamente un 12% de ácidos grasos saturados, 20% de ácido oleico, 60% de ácido linoleico y 4% de ácido linolénico, con un punto de fusión de -16°C y un índice de yodo de 130. También se encuentran fosfolípidos, esteroides y tocoferoles; cabe indicar que de la refinación del aceite se obtiene la lecitina, ampliamente utilizada por sus propiedades funcionales (capítulo 4). La acumulación de lípidos en las oleaginosas va acompañada de un decremento de los hidratos de carbono, lo que significa que es muy probable que éstos sean los precursores en la síntesis del aceite.

Por su parte, el contenido de hidratos de carbono se divide casi en partes iguales en compuestos insolubles y solubles en agua y se pueden clasificar como:

- Polisacáridos insolubles en agua y en etanol (tales como arabinogalactanas, arabinanas, xilanas, galactomananas, celulosa y un polímero ácido muy parecido a las sustancias pécticas), que representan aproximadamente el 50% de los hidratos de carbono totales.
- Oligosacáridos hidrosolubles, tales como verbascosa (en muy baja concentración), estaquiosa (3.8%), rafinosa (1.1%) y sacarosa (4.5%), que son los responsables de la flatulencia que provoca el consumo de oleaginosas.
- Monosacáridos en menor cantidad, principalmente glucosa y arabinosa.

Al igual que sucede con otros tejidos vegetales, la soya contiene en su estado natural diversos factores antifisiológicos, como son los inhibidores de tripsina y las hemaglutininas, que no representan un riesgo, debido a que se destruyen durante los distintos procesos industriales, sobre todo los térmicos, a los que se somete el grano.

Los ácidos nucleicos se encuentran en muy baja concentración y, cuando la determinación de proteína se hace con el método de Kjeldahl, se incluyen como nitrógeno total (factor de conversión, 6.25).

13.2 PROTEÍNAS DE LA SOYA

A diferencia de los cereales (maíz, arroz, trigo, etcétera) que son abundantes en glutelinas y prolaminas, las proteínas de la soya y de otras oleaginosas son una mezcla heterogénea de globulinas (60 a 75% del total) y de albúminas, con pesos moleculares muy variados, solubles en disoluciones salinas y en agua, y precipitan en su punto isoeléctrico, en el intervalo de 4.2 a 4.8. En general, las proteínas de las leguminosas son ricas en los aminoácidos indispensables, tales como lisina, treonina, isoleucina, leucina, fenilalanina y valina; sin embargo, son deficientes en metionina y cisteína (cuadro 13.2). Algunos procesos de obtención de aislados de proteína de soya a pH muy alcalinos provocan todavía una pérdida de dichos aminoácidos azufrados.²⁶ Por su contenido de lisina, se ha sugerido usarlas como complemento de las proteínas de cereales.

Estos polímeros se caracterizan por tener una estructura cuaternaria muy compleja que se disocia en subunidades cuando se tratan con ácidos, álcalis y otros agentes químicos. Su fraccionamiento no se puede llevar a cabo tan fácilmente como en el caso de la leche (figura 12.1), aunque existen métodos para efectuarlo.⁹ Su clasificación se realiza de acuerdo con el coeficiente de sedimentación en la ultracentrífuga, medido en unidades Svedberg, y así se tienen las fracciones 2S, 7S, 11S y 15S (a mayor valor de 'S', mayor peso molecular); a su vez, cada una de ellas puede estar constituida por un grupo de polipéptidos con un peso molecular y un punto isoeléctrico (pI) determinados, y representan un porcentaje del total de proteínas (cuadro 13.3).

CUADRO 13.2 Aminoácidos en proteínas comerciales de soya
(gramos de aminoácidos por 100 g de proteína)

<i>Aminoácido</i>	<i>Harinas desgrasadas</i>	<i>Concentrados</i>	<i>Aislados</i>
Isoleucina	4.6	4.9	4.8
Leucina	7.7	8.0	7.8
Lisina	6.2	6.2	6.0
Metionina	1.3	1.3	1.0
Cistina	1.2	1.6	1.0
Fenilalanina	5.3	5.3	5.5
Treonina	4.2	4.3	3.7
Triptofano	1.4	1.4	1.3
Valina	4.9	5.0	4.8

CUADRO 13.3 Características de las proteínas de la soya

Fracción	Total (%)	pI	Peso molecular
2S	22		
Inhibidores de tripsina		4.5	8 000, 21 500
Citocromo c			12 000
Globulina 2.3S			18 200
Globulina 2.8S			32 000
Alantoinasa			50 000
7S	36		
Hemaglutinina		6.1	110 000
Lipoxigenasa		5.4	108 000
β -Amilasa		5.8	61 700
Globulina 7S			(186-210) $\times 10^3$
11S	31		
Globulina 11S		4.8	350 000
15S	11	4.8	600 000

La fracción 2S está compuesta por polímeros de peso molecular bajo, solubles en su punto isoelectrico y contiene los inhibidores de tripsina de Bowman-Birk y de Kunitz.

La fracción 7S está básicamente integrada por cuatro proteínas, dos de las cuales son enzimas (β -amilasa y lipoxigenasa), una es hemaglutinina y la otra, la globulina 7S. Esta última, la más abundante, es baja en metionina, contiene hidratos de carbono y presenta nueve grupos amino terminales: dos serinas, ácidos aspártico y glutámico, alanina, glicina, valina, leucina y tirosina, lo que indica que su estructura cuaternaria consta de nueve cadenas polipeptídicas que integran un complejo altamente organizado; a un pH de 7.6 y una fuerza iónica de 0.5, tiene un peso molecular de 186,000 a 210,000, mientras que a una fuerza iónica de 0.1, la proteína se disocia y alcanza un pm de 37,000.

En la fracción 11S sólo se ha encontrado un tipo de proteína llamada globulina 11S o glicinina, de alto peso molecular y que de manera individual es el polipéptido más abundante en la soya, puesto que representa 31% del total. Al ponerse en una disolución con un pH de 7.6 y una fuerza iónica de 0.5 se demuestra su estructura cuaternaria compleja integrada por 12 grupos amino terminales: ocho glicinas, dos fenilalaninas y dos leucinas o dos isoleucinas. Parece que es un "dímero" de dos "monómeros" iguales, los que a su vez están constituidos por seis subunidades o verdaderos monómeros cada uno; de éstos, algunos tienen puntos isoelectricos en el lado ácido y otros en el alcalino. Los pesos moleculares de las subunidades son de 37,200 y 22,300 para las ácidas y las básicas, respectivamente. Las propiedades funcionales de esta fracción, a su vez tienen una gran influencia en las propiedades funcionales de los derivados comerciales de la soya.²²

Por su parte, la 15S no se ha estudiado tanto como las anteriores, pero se supone que puede ser un polímero de la 11S; ésta es la fracción de mayor peso molecular.

Las proteínas de la soya tienen la capacidad de formar geles, a través de varios mecanismos que implican ciclos de calentamiento-enfriamiento.¹⁶ Se ha demostrado que el calentamiento causa una ruptura irreversible de la estructura cuaternaria de la globulina 11S y una subsiguiente división en subunidades; al parecer existe un estado intermedio transitorio en forma de un agregado soluble que rápidamente se convierte en gel.²¹

Los geles basan su estructura en el fenómeno de asociación-disociación de las proteínas, lo que a su vez está determinado por diversos factores, como la temperatura, la fuerza iónica^{14, 17} y el tipo de sal.^{12, 13}

Las fuerzas que hacen posible la formación de geles son diversas, y algunas influyen más en una cierta fracción proteínica; la 11S y la 7S interactúan cuando se calientan y ayudan a producir rápidamente este estado de dispersión;⁶ sin embargo, en forma individual, la 7S establece geles por medio de puentes de hidrógeno, mientras que los provenientes de la 11S lo hacen gracias a la creación de interacciones electrostáticas con iones divalentes y de enlaces disulfuro, como ocurre en la elaboración de tofu (producto similar al queso fabricado por la precipitación de las proteínas con sulfato de calcio).³⁰ Además de estas uniones, cuando se elaboran geles con el conjunto total de proteínas de la soya, también influyen las fuerzas hidrófobas.

Debido a su compleja estructura, estas fracciones proteínicas son muy sensibles a muchos agentes desnaturizantes, como los pH extremos, las temperaturas altas, las concentraciones elevadas de disolventes y de sales, etcétera. De todos estos, el efecto del calor es el más importante, ya que los tratamientos térmicos son las operaciones unitarias que más se emplean en la manufactura de los alimentos. La consecuencia de esto es, en una primera instancia, la reducción de la solubilidad de las proteínas, lo que puede llegar a inducir la gelificación. El calentamiento de las dispersiones de proteínas de soya en una concentración de 7% causa rápidamente la formación de geles.

CUADRO 13.4 Composición de los diferentes derivados de la soya

	<i>Harinas</i>		<i>Concentrados</i>		<i>Aislados</i>	
	<i>Sin desgrasar</i>	<i>Desgrasada</i>	<i>Alcohol</i>	<i>Ácido</i>	<i>Calor húmedo</i>	
Proteína	41.5	53.0	66.0	67.0	70.0	93.0
Grasa	21.0	1.0	0.3	0.4	1.2	0.0
Humedad	5.0	5.0	6.7	5.2	3.1	4.7
Fibra cruda	2.1	2.9	3.5	3.4	4.5	0.2
Ceniza	5.2	6.0	5.6	4.8	3.8	3.8
ISN	—	—	5.0	7.0	3.0	85.0

ISN = Índice de solubilidad de nitrógeno.

13.3 FORMAS COMERCIALES DE LA SOYA

A partir de esta leguminosa se han elaborado diversos productos comerciales clasificados de acuerdo con su contenido de proteínas; las que contienen menos son las harinas enteras, luego las desgrasadas parcial o totalmente, le siguen los concentrados y, por último, los aislados (cuadro 13.4). Para

fabricarlos es preciso romper el arreglo interno ordenado de las células del cotiledón, para separar adecuadamente los diferentes constituyentes; cada uno de estos derivados tiene ciertas características y propiedades funcionales que pueden aprovecharse en la producción de otros alimentos más complejos y elaborados.⁹ En la figura 4.5 se muestra un diagrama para la obtención del aceite de soya; en este caso, el “residuo” es la harina desgrasada que se utiliza para la elaboración de alimentos balanceados y de derivados proteínicos para consumo humano tales como las harinas, los concentrados y los aislados, de acuerdo con la metodología que se describe a continuación.

13.3.1 Harinas

Las harinas son la forma menos refinada de la soya; se pueden fabricar con toda su grasa, y parcial o totalmente desgrasadas, ya sea como hojuelas, gránulos o polvo; contienen un mínimo de 40% de proteínas, y durante su manufactura se someten a un calentamiento con vapor para eliminar el residuo del disolvente usado para la extracción de aceite, y a un tostado (115°C durante 15 a 25 minutos) para inactivar la lipoxigenasa, los inhibidores de tripsina y otros factores antifisiológicos. Después de estos procesos, el producto resultante tiene un mejor valor nutritivo, que se observa por el aumento de la relación de eficiencia proteínica REP (PER, *Protein Efficiency Ratio*) que aumenta de 1.45 a 2.45 al tratarse con calor húmedo (vapor), como se muestra en la figura 13.1. Un método comercial para la elaboración de harinas sin desgrasar consiste en hacer pasar la soya a una velocidad constante a través de un cocedor con vapor que trabaja a presión; durante este proceso se elimina la cascari-lla, que está compuesta básicamente de polisacáridos, y el grano descascarado se muele a una finura de malla US 100 o mayor. Su composición química es prácticamente la misma que la del cotiledón, ya que los cambios que sufre el grano son mínimos; la eficiencia del descascarado se mide por la cantidad de fibra cruda residual.²⁷

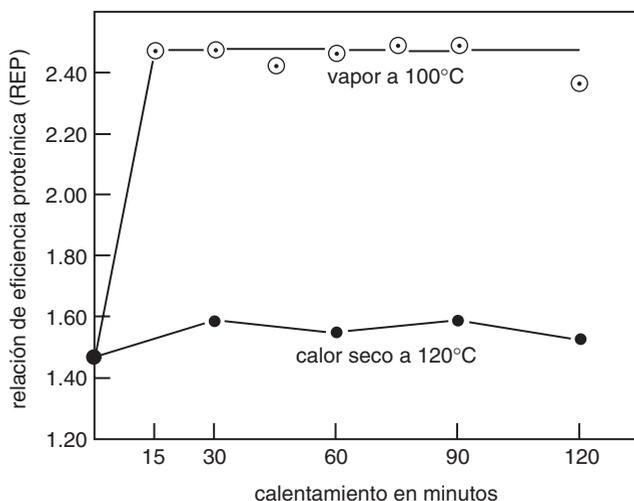


Figura 13.1 Efecto de los tratamientos térmicos en el valor nutritivo de la soya.²⁵

En su producción es preciso controlar los tratamientos térmicos, ya que la proteína es muy sensible y se puede desnaturalizar fuertemente con el vapor; para determinar la intensidad del calentamiento, se emplean los índices de solubilidad de nitrógeno (ISN) y el de dispersibilidad de proteína (IDP). Por definición, el ISN es el porcentaje del nitrógeno total que es soluble en agua en determinadas condiciones de extracción, mientras que el IDP es el porcentaje de la proteína total que es dispersable en agua; la figura 13.2 muestra la relación que existe entre estos dos índices. Ambos métodos miden el grado de desnaturalización de la proteína y están basados en principios un tanto empíricos, por lo que existen muchos factores que influyen en su determinación: pH, temperatura, tamaño de partícula, tipo de mezclador, tiempo y velocidad de mezclado, etcétera. El cuadro 13.5 muestra los valores del ISN de la soya sujeta a diferentes tratamientos, y permite observar que el valor nutritivo mejora a medida que se incrementa la intensidad del calentamiento, pero al mismo tiempo se reduce la solubilidad de la proteína.

Además de estos dos métodos para medir la intensidad del calentamiento, existe la prueba de la actividad ureásica; la enzima ureasa es muy abundante en la soya cruda, produce amoníaco a partir de la urea y se desnaturaliza mediante tratamiento térmico, lo que trae consigo la pérdida de su actividad. El análisis se basa en los cambios de pH que resultan de la formación de amoníaco cuando la harina se incuba con una solución de urea.

Existen varios procedimientos para elaborar harinas con diferentes valores de ISN e IDP, y por lo tanto, con una gran diversidad en sus propiedades funcionales.

Los lípidos de las harinas sin desgrasar contribuyen al valor nutritivo; sin embargo, éstos contienen un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados indispensables, aproximadamente 60% de ácido linoleico y 4% de linolénico, propensos a reacciones de oxidación que traen consigo pérdidas en las cualidades sensorial y nutricional (capítulo 4). Hay procesos industriales de molido que no dañan los esferosomas donde se encuentra el aceite, y por tanto se reducen considerablemente las reacciones de oxidación; además, la lecitina y los tocoferoles que contiene funcionan como antioxidantes naturales y ayudan parcialmente a estabilizar el aceite y a evitar estos cambios indeseables.

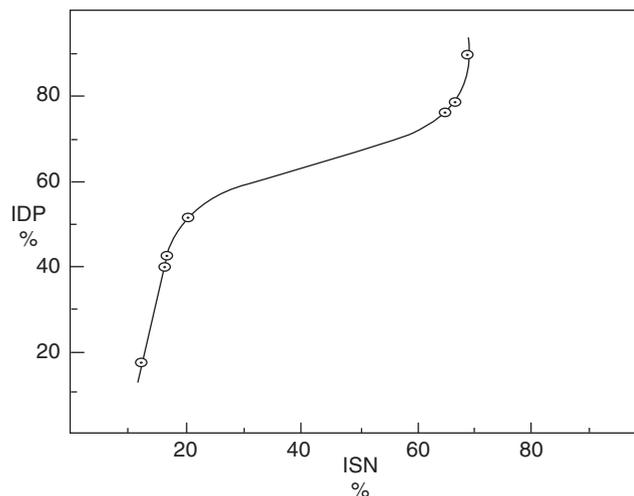


Figura 13.2 Relación entre el índice de solubilidad de nitrógeno y el de dispersibilidad de proteína.

CUADRO 13.5 Valor nutritivo e ISN de la soya sujeta a diferentes tratamientos térmicos

<i>Tratamiento térmico</i>	<i>Eficiencia proteínica relativa^a (%)</i>	<i>ISN</i>
Insignificante	40-50	85-90
Ligero	50-60	40-60
Moderado	75-80	20-40
Tostado	85-90	10-20

a. La leche deshidratada descremada representa el 100% de eficiencia.

Las harinas desgrasadas son muy comunes en el mercado, ya que la extracción del aceite resulta económicamente ventajosa; las pastas recuperadas de dicha extracción tienen un muy amplio consumo en la industria de alimentos, tanto para el hombre como para los animales.

El aceite de soya se utiliza industrialmente en la manufactura de margarinas, aceites de mesa, mayonesa y en muchos otros productos alimenticios e industriales; un subproducto de la refinación es la lecitina que se emplea ampliamente en la formulación de alimentos, debido a sus propiedades emulsionantes y antioxidantes, como en el caso de los derivados de la confitería; además, la lecitina, por ser un producto natural, es el único emulsionante permitido en ciertos alimentos infantiles. La obtención de este fosfolípido se hace por medio de un tratamiento de las gomas que se separan en la refinación del aceite de soya crudo (capítulo 4).

Además de estos productos que derivan de la obtención de las harinas desgrasadas, también se pueden obtener las proteínas vegetales hidrolizadas. Para este fin, la harina se somete a una intensa hidrólisis ácida con HCl a presión y temperatura elevadas; la proteína se transforma en oligopéptidos y aminoácidos. El líquido resultante se filtra, se neutraliza y se puede someter a operaciones de desodorización y de decoloración; por último se concentra o se deshidrata y se usa como saborizante y potenciador del sabor en alimentos como consomés, sopas, aderezos, etcétera.

13.3.2 Concentrados

Estos productos son más refinados que las harinas y contienen un mínimo de 65% de proteínas (cuadro 13.4); en su manufactura se elimina menos de la mitad de los hidratos de carbono de las harinas, además de otros componentes de menor importancia. Para su elaboración se pueden seguir tres diferentes procesos (figura 13.3); el primero utiliza una solución de etanol al 80% para quitar ciertas fracciones solubles como son los oligosacáridos, parte de las cenizas y otras sustancias de peso molecular bajo; en estas condiciones, las proteínas y los polisacáridos precipitan debido a que son insolubles en alcohol y se pueden recuperar sometiéndolos a una desolventización para obtener un concentrado proteínico como residuo final; existe una modificación a este proceso que consiste en utilizar una mezcla de hexanol-etanol para desechar los lípidos residuales antes de efectuar el tratamiento con el etanol acuoso.

El segundo proceso implica una extracción de las proteínas en su punto isoeléctrico (figura 13.4), en el que las globulinas y los polisacáridos se insolubilizan y precipitan, y posteriormente se neutralizan y se secan. El tercer método utiliza calor húmedo para desnaturalizar e insolubilizar los polipéptidos de la harina, seguido de un lavado con agua para eliminar los azúcares y otras moléculas pequeñas.

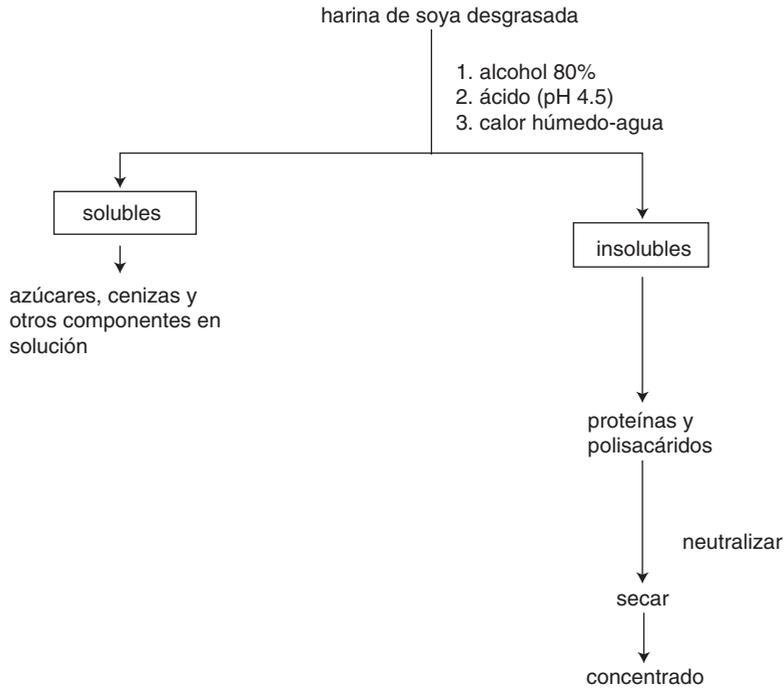


Figura 13.3 Procesos de obtención de concentrados.

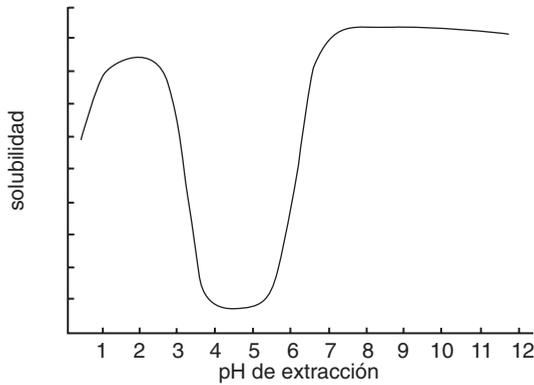


Figura 13.4 Extracción de la proteína de soya a diferentes valores de pH.

Los concentrados obtenidos mediante estos tres procesos tienen aproximadamente la misma composición; sin embargo, las propiedades físicas y funcionales son diferentes en cada caso.

El ISN varía considerablemente, ya que los productos elaborados con ácidos son mucho más solubles que los producidos con etanol o con calor húmedo. En general, tienen un sabor y un olor me-

nos intenso que las harinas, ya que durante las etapas de manufactura se eliminan algunos de los compuestos responsables del sabor. Debido a su contenido de polisacáridos, los concentrados retienen mucha agua y producen geles más firmes.

13.3.3 Aislados

Estos productos son la forma comercial más purificada de las proteínas de soya, ya que contienen 90% o más de ellas; se logran eliminando de los concentrados los polisacáridos, los oligosacáridos residuales y algunos otros componentes. El proceso de aislamiento se basa en las diferencias de solubilidad de las fracciones globulínicas con respecto al pH; para su obtención se parte de harinas desgrasadas que han recibido un tratamiento térmico mínimo, y la extracción se efectúa con una disolución acuosa de hidróxido de sodio a 60°C y pH 9-11 (figura 13.5); el residuo insoluble contiene principalmente polisacáridos que se eliminan por centrifugación. El extracto se acidifica a pH 4.5, lo que hace precipitar la mayor parte de la proteína en forma de crema, que se separa del suero (fracción soluble) por centrifugación; posteriormente se lava y se neutraliza con hidróxido de sodio para resolubilizarla y, por último, se seca por aspersion; así se obtiene un proteinato de sodio que es más soluble en agua que la proteína en su punto isoeléctrico.

Los aislados todavía contienen ciertos compuestos de bajo peso molecular como saponinas, fosfolípidos, isoflavonas y algunos glucósidos.

Al igual que sucede con los concentrados, los diferentes aislados comerciales tienen aproximadamente la misma composición química; sin embargo, sus propiedades físicas y funcionales pueden variar, e incluso se pueden diseñar de acuerdo con los métodos de modificación que más adelante se describirán.

Desde la década de 1970 se desarrollaron técnicas para fabricar fibrilados a partir de los aislados; éstos son materiales con características fibrosas o de hilo, capaces de imitar la textura de los te-

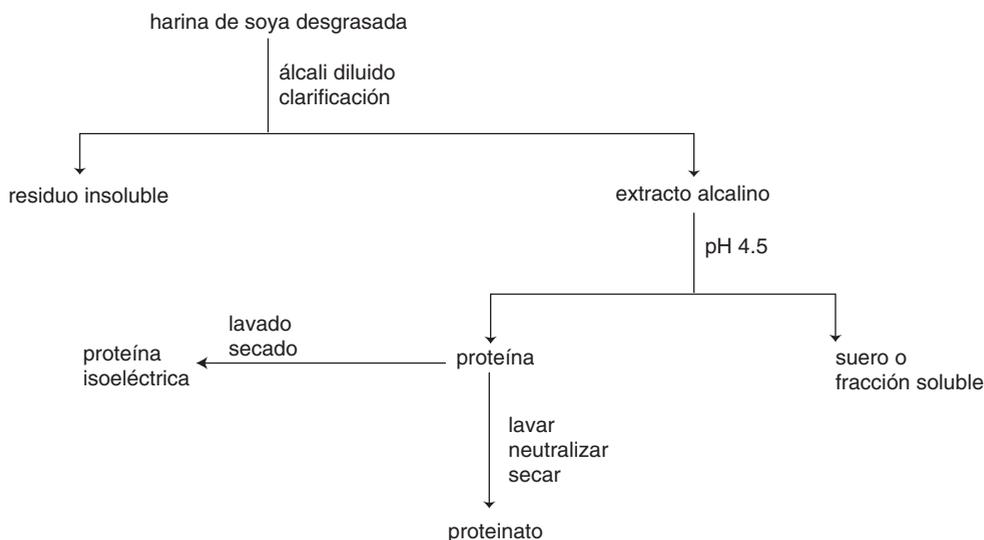


Figura 13.5 Diagrama de obtención de aislados proteínicos de la soya.

jididos animales. Con estas proteínas fibriladas como base, y con la adecuada adición de grasas, nutrientes, colorantes, saborizantes, etcétera, se pueden desarrollar productos con formas y tamaños que semejen las estructuras de filetes de pescado, de pollo, de res, etcétera.

Para su elaboración se siguen los pasos indicados en la figura 13.6. El aislado se disuelve en agua y se produce una suspensión ácida (al 20%) a la que posteriormente se le añade un álcali para formar una masa muy viscosa que se filtra; se hace pasar por un dado perforado con miles de orificios de aproximadamente 0.1 mm de diámetro cada uno, que está sumergido en un baño de ácido fosfórico y cloruro de sodio al 8%, con un pH de 2.5. Este cambio brusco de la alcalinidad a la acidez provoca que las proteínas reaccionen más intensamente entre sí, se alineen y produzcan hilos, que después integran haces, los cuales se hacen circular por varios rodillos para que adquieran rigidez; este ordenamiento de las proteínas se observa en la figura 13.7.

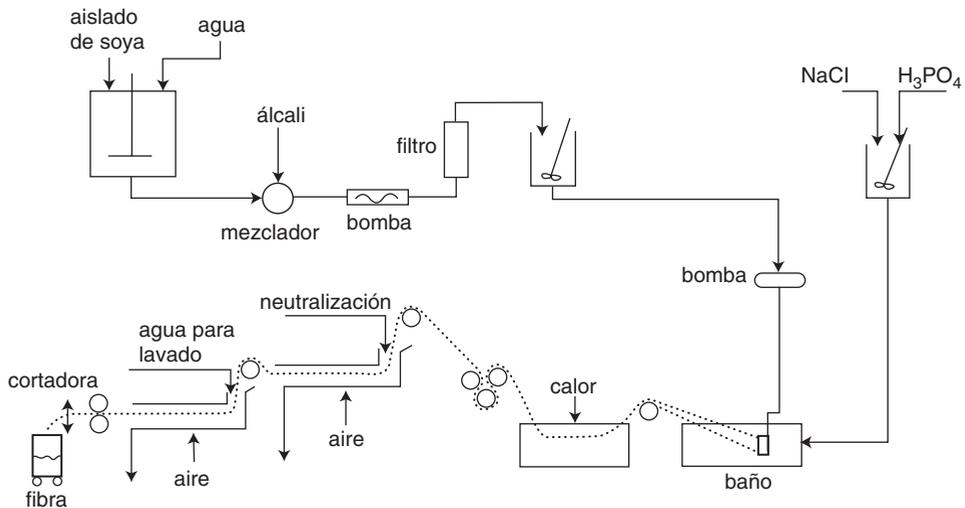


Figura 13.6 Obtención de proteínas fibriladas de la soya.

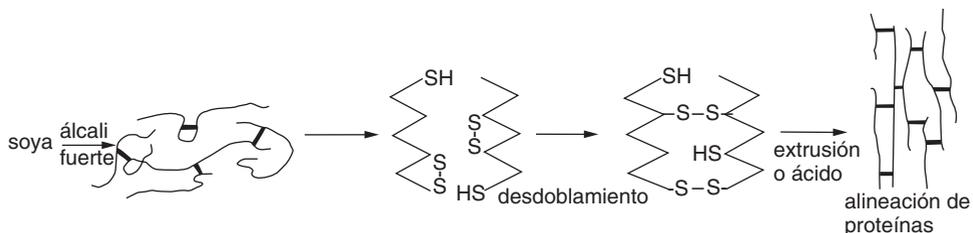


Figura 13.7 Formación de fibras a partir de proteínas de soya.

Además de esta tecnología para la elaboración de análogos de carne, se cuenta con diversos procesos basados en la extrusión, algunos de los cuales son más sencillos. Destaca la extrusión húmeda que igualmente produce estructuras proteínicas que semejan las fibras del tejido animal; se efectúa

con derivados de la soya, como los aislados, añadidos de maíz, arroz o trigo, sabor, color, etcétera. Al producto extruido se le puede dar la forma de alguna pieza de pollo o de carne de res.

Los aislados presentan valores de ISN que van desde 10 hasta 90, una capacidad emulsificante de 10 a 35 mL de aceite por 100 mg de proteína y una retención y absorción de agua de hasta 400%. La consistencia de sus geles varía de acuerdo con la concentración de proteína y de la presencia de sales; la viscosidad de sus dispersiones puede modificarse de acuerdo con el método de obtención y modificación de la proteína.

De acuerdo con su calidad, y después de haber abandonado el método tradicional del REP para esta evaluación, las proteínas aisladas de soya presentan un valor de proteína corregido por digestibilidad (PDCAAS, *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*) de uno, que es el mayor posible y semejante a la caseína y al huevo.¹¹

13.4 PROPIEDADES FUNCIONALES

Por problemas de disponibilidad de alimentos de origen animal y por razones de salud, en los últimos años han surgido diversas tecnologías que permiten la incorporación de proteínas vegetales, hasta llegar a la total sustitución de las de la carne, huevo y leche. Las propiedades funcionales de las distintas formas comerciales de soya (harinas con o sin grasa, concentrados, aislados, texturizados, extruidos, etcétera) varían de acuerdo con su composición química y método de obtención, y en consecuencia, su empleo se limita a ciertos productos alimenticios en donde se desarrollan y se aprovechan verdaderamente dichas propiedades.²³ En algunos casos se emplean mezclas con otras proteínas, como los caseinatos, para lograr efectos más específicos, como la estabilidad de emulsiones.⁴

Algo muy importante y que se debe indicar, es que su aplicación debe hacerse según lo establecido en las regulaciones legales oficiales y no usarse como adulterante.

Las propiedades funcionales incluyen su capacidad como emulsionante, espesante, hidratante, gelificante, espumante, formador de películas, promotor de la viscosidad, termoplástico, etcétera; en el cuadro 13.6 se presenta un resumen de las distintas aplicaciones de los derivados de la soya en la industria de los alimentos. El contenido proteínico es particularmente importante para desarrollar estas propiedades, aunque también pueden influir otros constituyentes; por ejemplo, una harina absorbe mayor cantidad de agua que los concentrados y que los aislados, debido a la presencia de hidratos de carbono. Cabe indicar que muchas de las propiedades mencionadas se obtienen al modificar los aislados por alguno de los métodos que más adelante se mencionarán.¹⁹

Se emplean ampliamente en la elaboración de diversos derivados cárnicos (salchichas, mortadelas, albóndigas, jamones, hamburguesas, entre otros), ya que ayudan a formar emulsiones estables, pues cuando gelifican producen una estructura firme; en la panificación (pasteles, galletas, donas, harinas preparadas, etcétera) y en pastas tipo macarrones; en la industria láctea (sustitutos de leche de vaca, quesos procesados y frescos, etcétera); en sustitutos de leche humana; en complementos alimenticios; en dulces y confitería; en líquidos viscosos (cremas, sopas, *gravies*); debido a que producen espumas estables, se usan como sustituto de clara de huevo en helados y merengues.

Las harinas desgrasadas tienen capacidad de absorber agua y de emulsionar grasa, propiedades que disminuyen a medida que las proteínas se desnaturalizan y el tamaño de partícula aumenta; es decir, los polipéptidos que han sufrido intensos tratamientos térmicos no presentan estas funciones, y los que están en su estado natural son los mejores. Por lo tanto, se debe encontrar un equilibrio entre

CUADRO 13.6 Propiedades funcionales de las proteínas de la soya en alimentos

<i>Propiedad funcional</i>	<i>Forma de la proteína</i>	<i>Sistema utilizado</i>
Emulsificación		
Formación	H, C, A	Salchichas, embutidos, salami, panes, pasteles y sopas
Estabilización	H, C, A	Productos batidos como crema chantilly, postres congelados, embutidos en general
Absorción de grasa		
Promoción	H, C, A	Salchichas, embutidos y hamburguesas
Prevención	H, A	Donas y bollos
Absorción de agua		
Absorción	H, C	Pasteles, panes y pastas
Retención	H, C	Pan y pasteles
Textura		
Viscosidad	H, C, A	Sopas y salsas
Gelificación	A	Sustitutos de carne molida
Formación de fibras	A	Sustitutos de carne
Formación de masas	H, C, A	Productos de panificación
Formación de películas	A	Salchichas y salami
Adhesión	C, A	Embutidos, carnes frías
Cohesión	H, A	Productos horneados, macarrones y sustitutos de carne
Elasticidad	A	Productos horneados y sustitutos de carne
Control del color		
Blanqueado	H	Pan
Oscuramiento	H	Pan y derivados
Solubilidad	H, C, A	Bebidas fortificadas
Aeración	A	Productos batidos y confituras

H = harina; C = concentrado; A = aislado.

dicha funcionalidad y el valor nutritivo, ya que, como se vio, este último se incrementa con un calentamiento controlado. En algunos alimentos es posible llegar a una relación óptima; tal es el caso de la industria de la panificación que requiere de proteínas no desnaturalizadas para la formación de la masa (propiedad funcional) que posteriormente se hornea para producir el pan (mejora el valor nutritivo).

Las harinas de soya sin desgrasar que no se someten a tratamiento térmico tienen una solubilidad mínima de aproximadamente 80% y retienen su actividad enzimática, principalmente de lipoxigenasa; esta enzima provoca la decoloración o blanqueado del trigo al destruir los carotenoides, razón por la cual en ocasiones se añade de 0.5 a 1.0% de harina de soya a las harinas de panificación.

Se ha propuesto utilizar la soya para enriquecer la dieta de pueblos cuya alimentación se basa en el maíz, que es deficiente en triptofano y en lisina. Es un hecho que el valor nutricional del cereal se incrementa cuando se le añade proteína de soya (relación 1:1 con base en contenido de proteína), debido a que sus perfiles de aminoácidos se complementan, y más aún si también se les adiciona directamente metionina y lisina.

13.4.1 Modificaciones de las proteínas

Como se indicó antes, muchas de las propiedades funcionales de las proteínas de la soya sólo se obtienen al modificarlas por algún método químico o enzimático. Existen diversos procedimientos a nivel experimental, pero que aún no son aceptados por las autoridades de salud; por ejemplo, los derivados succinilados y acetilados provenientes de la reacción con los anhídridos succínico y acético, presentan mayor solubilidad, son más tolerantes al calcio, etcétera, pero su uso está restringido a las aplicaciones industriales. De igual manera sucede con las modificaciones basadas en la oxidación, reducción, sulfitación, clorinación y fosforilación.²⁸

El empleo de enzimas microbianas, vegetales y animales, para modificar las proteínas permite “diseñar” ingredientes para que cumplan la función requerida; éste es el caso de las proteínas de soya que se usan como sustituto de la clara de huevo para la formación de espumas estables en pasteles, merengues, dulces, etcétera. El proceso se basa en la hidrólisis enzimática (p. ej., con pepsina) de los aislados a pH 2-4, por debajo del punto isoeléctrico; se producen polipéptidos de pm 15,000 que son más solubles y que tienen la capacidad de atrapar y retener más aire. Los productos comerciales basados en esta proteína modificada pueden contener hexametáfosfato de sodio, sacarosa y algún emulsificante, como los polisorbatos, para darle mayor estabilidad.

Por otra parte, existen diversos derivados que no son propiamente modificados, sino que están adicionados con aditivos que le confieren otras propiedades; las harinas añadidas de lecitina se emplean en la panificación por su mayor capacidad de emulsificación, mejoran el manejo de la masa y sustituyen parcialmente la yema de huevo.

13.5 FACTORES ANTIFISIOLÓGICOS

La soya, al igual que otros tejidos, produce algunos metabolitos que pueden ser dañinos. La alimentación de animales de laboratorio con soya cruda causa muchos problemas debido a sus factores antifisiológicos; sin embargo, un calentamiento controlado los elimina (figura 13.1), por lo que en la actualidad ya no representan un riesgo para la salud del hombre. Desde hace varias décadas, la industria productora de harina de soya y pastas ha optimizado los tratamientos térmicos para garantizar que los productos sean seguros al destruir los factores antifisiológicos, que tengan funcionalidad y que mantengan su valor nutricional.

Los inhibidores de proteasas se encuentran en la soya, los cereales, los tubérculos, las verduras, etcétera, son proteínas de bajo pm que se asocian con las proteasas del intestino y forman un complejo estable sin actividad catalítica. Los de la soya son siete a 10 polímeros, y destacan los que inhiben la tripsina y la quimotripsina, llamados de Kunitz y de Bowman-Birk y que se localizan en la fracción 2S.²⁵

Una molécula de Kunitz interactúa estequiométricamente con una de tripsina; tiene actividad en pH 1-12 y se desnaturaliza a >80°C; cuando el tratamiento térmico es insuficiente, regenera su estructura y recupera su función. Contiene enlaces disulfuro, por lo que el efecto de los agentes reductores, como la cisteína, causa su inactivación por una reacción sulfhidrido-disulfuro.

El de Bowman-Birk es más termoresistente y requiere temperaturas de autoclave durante varios minutos para su destrucción; soporta los ácidos y la acción hidrolizante de las enzimas proteolíticas. Sus siete cistinas establecen enlaces disulfuro intramoleculares que le confieren una estructura rígida.

Los inhibidores de proteasas suprimen el control de la síntesis de enzimas pancreáticas, provocando que continúe la secreción de éstas al intestino y se consuma más metionina y cistina (aminoácidos deficientes en la soya).

Sus efectos dañinos: inhibición del crecimiento, reducción de la digestibilidad de la proteína, requerimiento mayor de aminoácidos azufrados, crecimiento del páncreas, aumento de secreción de enzimas pancreáticas y de la actividad de la vesícula biliar y reducción de la energía metabolizable.

Tradicionalmente, las hemaglutininas o lectinas se consideraban factores antifisiológicos, aunque en la actualidad ya se han desechado de esta categoría. Son proteínas de pm 100,000, aglutinan los glóbulos rojos de la sangre *in vitro*, y abundan mucho en el reino vegetal. En la soya se han identificado cuatro diferentes, capaces de llevar a cabo esta aglutinación pero nunca se ha comprobado que la efectúen *in vivo*; son glucoproteínas con un contenido de hasta 10% de hidratos de carbono, aunque algunas adolecen de ellos.¹⁵

En la soya y en las crucíferas (rábano, col, mostaza) se han identificado tioglucósidos que inducen el bocio, al evitar la fijación del yodo en la glándula tiroidea; en el caso de la leguminosa, la estructura de estos agentes es de oligopéptido o glucopéptido, de poca actividad y que se destruyen con los tratamientos térmicos tradicionales.

La soya también contiene 0.5% de saponinas, pero a diferencia de otras, éstas no son tóxicas ya que aun en elevadas cantidades no causan problemas en los animales de laboratorio. Su estructura química es de glucósido, se hidrolizan por la microflora intestinal en sus correspondientes hidratos de carbono y saponinas.

Los azúcares verbascosa, estaquiosa y rafinosa producen flatulencia en el hombre, debido a la falta de las enzimas que hidrolizan el enlace galactosídico; estos oligosacáridos llegan al intestino grueso en donde la microflora los metaboliza para producir gases. En los aislados prácticamente no se encuentran.

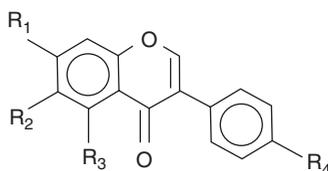
13.6 SOYAY NUTRICIÓN

Tradicionalmente, en las culturas orientales no se observan las enfermedades crónicas (corazón, cáncer, etcétera) que están permanentemente presentes en los países occidentales. Se supone que una razón de esto es la dieta basada en soya de países como Japón y China. En los últimos años se ha publicado una enorme cantidad de trabajos que muestran las relaciones benéficas del consumo de la proteína de soya con la prevención de las enfermedades cardiovasculares (principal causa de muerte en México), del cáncer, de la osteoporosis y de los síntomas de la post menopausia. En muchos casos el mecanismo de acción es desconocido, aun cuando se proponen diversas teorías. Por el cúmulo de esta información, en 1999 la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos, señaló que el consumo de 25 g de proteína de soya al día, integrados a una dieta balanceada, reduce el riesgo de enfermedades del corazón.

Cabe indicar que la dieta oriental incluye pocas grasas saturadas y colesterol, agentes que definitivamente aceleran la hipercolesterolemia y en consecuencia, los trastornos cardiovasculares. Sin embargo, la influencia de la proteína de soya se ha comprobado en diversos estudios.^{3, 7, 8, 10} La sustitución de proteína animal por soya reduce significativamente los niveles de colesterol, de LDL-colesterol y de triglicéridos. Las fracciones 7S y 11S tienen un efecto importante al interactuar con los

receptores celulares de las LDL y además favorecen la eliminación fecal de los ácidos biliares y, por tanto, la remoción de colesterol.

La presencia de las isoflavonas genisteína, daidzeína y gliciteína (figura 13.8), englobadas como fitoquímicos, con actividad de fitoestrógeno, también se ha relacionado con la reducción del colesterol; son solubles en alcohol y parcialmente en agua, por lo que se reducen en las extracciones para obtener algunos derivados de la soya. La combinación de proteínas con isoflavonas tiene un mayor efecto que cualquiera de los dos de forma aislada. De igual manera, las isoflavonas influyen en la prevención de cáncer de mama y de próstata mediante un mecanismo desconocido, aun cuando se considera su acción antioxidante como una posible causa de este efecto benéfico.^{5, 24, 29, 31}



<i>Isoflavona</i>	R_1	R_2	R_3	R_4	<i>Concentración (ppm)</i>
Genisteína	OH	H	OH	OH	—
Genistina	O-glucosil	H	OH	OH	1,644
Daidzeína	OH	H	H	OH	—
Daidzina	O-glucosil	H	H	OH	581
Gliciteína	OH	OCH ₃	H	OH	—
Gliciteína-7-O-β-glucósido	O-glucosil	OCH ₃	H	OH	—

Figura 13.8 Estructura de las diversas isoflavonas de la soya.²³

La osteoporosis que provoca la porosidad y la reducción de la densidad del hueso se presenta en adultos, sobre todo en mujeres post menopáusicas. La proteína de soya previene la excreción de calcio en la orina y las isoflavonas, con su capacidad estrogénica, ayudan al balance óseo al evitar la ruptura del tejido.^{2, 18} Los síntomas postmenopáusicos se reducen con una dieta en la que se incluye la soya.^{1, 20}

13.7 MEJORA GENÉTICA DE LA SOYA

Los avances de la biotecnología y de la ingeniería genética han sido enormes en los últimos años, y muchos de estos conocimientos se han aplicado a la soya, tanto en su producción básica de grano, como en la modificación de su composición química. La primera acción se tomó en la década de 1990 al lanzar al mercado una semilla resistente a herbicidas, de tal forma que estos agentes químicos actúan y controlan las hierbas, sin afectar a la planta. Otros avances incluyen la resistencia a los ataques por virus e insectos, la adaptación a condiciones específicas de cultivo, incremento en los rendimientos por hectárea, etcétera.

Por otra parte, también se han desarrollado algunas semillas modificadas cuyo patrón de ácidos grasos del aceite ha sido cambiado; así se pueden producir aceites con bajo ácido linolénico y una mayor estabilidad a la oxidación; aceites con mayor contenido de ácido oleico; aceites altos en ácido esteárico; etcétera.

En el capítulo 14 se revisan estos aspectos con más detalle.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albertazzi, P., Pansini, F. y Bonaccorsi, G. 1998. "The effect of dietary soy supplementation on hot flashes", *Obstet. Gynecol.* 91:6-11.
2. Alekel, D.L. y Germain, A.S. 2000. "Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women", *Am. J. Clin. Nutr.* 73(3):844-852.
3. Anderson, J.W., Johnstone, B.W. y Cook-Newell, M.E. 1995. "Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids", *N. Engl. J. Med.* Aug. 3:276-315.
4. Aoki, H., Shirase, Y., Kato, J. y Watanabe, Y. 1984. "Emulsion stabilizing properties of soy protein isolates mixed with sodium caseinates", *J. Food Sci.*, 49:212.
5. Aronson, W.J., Tymchuk, C.N., Elashoff, R.M., McBride, W.H., McLean, C., Wang, H. y Heber, D. 1999. "Decreased growth of human prostate LNCaP tumors in SCID mice fed a low-fat, soy protein diet with isoflavones", *Nutr. Cancer*, 35:130-136.
6. Babajimopoulos, M., Damodaran, S., Rizvi, S.S.H. y Kinsella, J.E. 1983. "Effects of various anions on the rheological and gelling behavior of soy proteins: Thermodynamic observations", *J. Agric. Food Chem.*, 31: 1270.
7. Constantinou, A.I., Xu, H., Cunningham, E., Lantvit, D.D. y Pezzuto, I.M. 2001. "Consumption of soy products may enhance the breast cancer-preventive effects of tamoxifen", *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 42: Abstract 4440.
8. Erdman, J.W. 2000. "Soy protein and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the AHA", *Circulation* 102(20):2555-2559.
9. Gibson, P.W. y Yackel, W.C. 1989. "Proceedings of the World Conference on Vegetable Protein Utilization in Human Foods and Animal Feedstuffs", ed. T.H. Appelwhite. American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois. P. 528-547.
10. Greaves, K.A., Wilson, M.D. y Rudell, L.L. 2000. "Consumption of soy protein reduces cholesterol absorption compared to casein protein alone or supplemented with isoflavone extract or conjugated equine estrogen in ovariectomized cynomolgus monkeys", *J. Nutr.* 130:820-826.
11. Henley, E.C. y Juster, J.M. 1994. "Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring", *Food Technol.* 48(4):74-77.
12. Iwabuchi, S. y Shibasaki, K. 1981. "Immunochemical studies of the effect of ionic strength on thermal denaturation of soybean 7S globulin", *Agric. Biol. Chem.*, 45:1365.
13. Iwabuchi, S. y Shibasaki, K. 1981. "Immunochemical studies of the effect of ionic strength on thermal denaturation of soybean 11S globulin", *Agric. Biol. Chem.*, 45:285.
14. Iwabuchi, S. y Yamauchi, F. 1984. "Effects of heat and ionic strength upon dissociation-association of soybean protein fractions", *J. Food Sci.*, 49:1289.
15. Jaffe, W.G. 1980. "Hemagglutinins", en *Toxic Constituents of Plant Food Stuffs*, Ed. I.E. Liener, Academic Press, Nueva York.
16. Kinsella, J.E. 1979. "Functional properties of soy proteins", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56:242.
17. Koshiyama, I., Hamano, M. Y Fukushima, D. 1980. "A heat denaturation study of the 11S globulin in soybean seeds", *Food Chem.*, 6:309.

18. Li, D., Yee, J.A., McGuire, M.H., Murphy, P.A. y Yan, L. 1999. "Soybean isoflavones reduce experimental metastasis in mice", *J. Nutr.* 1075-1078.
19. Lusas, E.W. y Rhee, K.C. 1995. "Soy Protein Processing and Utilization", en *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. Ed. D.R. Erickson, AOCS Press y United Soybean Board, St. Louis, Missouri, p 117-160.
20. Merz-Demlow, B.E. y Duncan, A.M. 2000. "Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women", *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6):1462-1469.
21. Mori, T., Nakamura, T. y Utsumi, S. 1982. "Gelation mechanism of soybean 11S globulin: Formation of soluble aggregates as transient intermediates", *J. Food Sci.*, 47:26.
22. Peng, I.C., Quass, D.W., Dayton, W.R. y Allen, C.E. 1984. "The physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin-A review", *Cereal Chem.*, 61:480.
23. Perkins, E.G. 1995. "Composition of Soybeans and Soybean Products", en *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. Ed. D. R. Erickson, AOCS Press y United Soybean Board, St. Louis, Missouri, p 9-28.
24. Potter, S.M., Baum, J.A. y Teng, H. 1998. "Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women", *Am. J. Clin. Nutr.* 68:1375S-1379S.
25. Rackis, J.J. 1980. "Biologically active components", en *Soybean Chemistry and Technology*, vol.1, *Proteins*, Ed. A.K. Smith y S.J. Circle, The Avi Publishing, Westport, Connecticut.
26. Robbins, K.R. y Ballew, J.E. 1982. "Effect of alkaline treatment of soy protein on sulfur amino acid bioavailability", *J. Food Sci.*, 47:2070.
27. Smallwood, N. J. 2000. "Producción de aceite crudo, pasta y harina de soya", Editado por ASA, México, D.F.
28. Sung, H.Y., Chen, H.J., Lui, T.Y. y Su, J.C. 1983. "Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation", *J. Food Sci.*, 48:716.
29. Thiagarajan, D.G., Bennink, M.R., Bourquin, L.D. y Kavas, F.A. 1998. "Prevention of precancerous colonic lesions in rat by soy flakes, soy flour, genistein and calcium", *Am. J. Clin. Nutr.* 68:1394S-1399S.
30. Utsumi, S. y Kinsella, J.E. 1985. "Forces involved in soy gelation: Effects of various reagents on the formation, hardness and solubility of heat-induced gels made from 7S, 11S, and soy isolate", *J. Food Sci.*, 50:1278.
31. Wangen, K.E. y Duncan, A.M. 2001. "Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women", *Am. J. Clin. Nutr.* 73(2):225-231.

Alimentos transgénicos

- 14.1 Ingeniería genética y alimentos
- 14.2 Principales métodos para la transferencia de genes
- 14.3 Modificaciones genéticas más utilizadas para la producción de alimentos
- 14.4 Flavr Savr® el primer alimento GM
- 14.5 Los OGMs comerciales para alimentación
- 14.6 Microorganismos GM para la producción de enzimas auxiliares de proceso
- 14.7 OGMs de segunda generación
- 14.8 OGMs de tercera generación
- 14.9 Animales domésticos GM
- 14.10 Modificaciones de interés para productores y para el consumidor
- 14.11 Posibles impactos en la salud humana y análisis de riesgo

Referencias
bibliográficas



14.1 INGENIERÍA GENÉTICA Y ALIMENTOS

La Organización de las Naciones Unidas calcula que para el año 2050 la población mundial será de 16 mil millones de habitantes. Ante esta situación surgen grandes incógnitas debido a la contaminación, la deforestación, el deterioro de la capa de ozono y el impacto de estos factores sobre los sistemas productivos de alimentos. A pesar de los avances existentes actualmente, en ciencia y tecnología aún perduran las preguntas acerca de cómo se cubrirán las necesidades de agua y alimentación para la subsistencia de la creciente población. Ya se ha hecho una serie de elucubraciones al respecto, sin embargo habrán de adoptarse medidas para lograrlo.

Desde hace 10,000 años, tanto la agricultura como la ganadería y la pesca han sido la base de la alimentación. Diversos avances tecnológicos se han integrado a estas actividades con la intención de hacerlas más

productivas y rentables. Una característica deseable en el aprovechamiento de los recursos naturales es la sustentabilidad que ante todo busca en su explotación el cuidado de la naturaleza, incluyendo mecanismos que respeten a los grupos poblacionales que mantienen esos recursos. La ingeniería genética ha contribuido en los últimos años, con técnicas novedosas, al fitomejoramiento y la manipulación de animales y microorganismos, generando organismos novedosos en el ambiente, llamados organismos genéticamente modificados (OGM). Se trata de aquellos organismos a los que se les han introducido genes ajenos a ellos, es decir, que mediante la manipulación genética realizada en el laboratorio se obtienen organismos con características novedosas, lo que por cruza tradicionales no se lograría, dado que se trata de una transferencia que ocurre de una especie a otra, de un género a otro, o incluso de un reino a otro, y se les llama transgénicos. Generalmente, las características nuevas que se les confieren son de gran interés: mejor comportamiento agronómico, mejores rendimientos en campo, mejor calidad de frutos; tolerancia a enfermedades, plagas y condiciones ambientales adversas. El propósito de estas modificaciones genéticas, además de mejorar las variedades, es obtener algunos productos difíciles de conseguir en la naturaleza; los organismos genéticamente modificados conforman un sistema más fácil de manejar: de esta manera, se cuenta con desarrollos interesantes como cultivos resistentes a plagas, la expresión de lisozima y lactoferrina humanas en la leche de ganado bovino u ovino, la producción de insulina genéticamente modificada (GM) o recombinante en sistemas bacterianos; también se han manipulado árboles para modificar su lignina de forma que se facilite la extracción de la pulpa de celulosa. Se han creado peces que alcanzan el tamaño comercial en menor tiempo gracias a la inserción de genes de hormona de crecimiento en su organismo. Gran parte de los organismos genéticamente modificados (OGM) se relacionan con la cadena de producción de alimentos; respecto a lo anterior, la Organización Mundial para la Salud (OMS) de las Naciones Unidas sugiere cuatro categorías para los alimentos producidos mediante biotecnología moderna.⁴⁷

1. Alimentos que consistan o que contengan organismos vivos o viables; por ejemplo el maíz.
2. Alimentos derivados de, o que contengan ingredientes derivados de OGMs; por ejemplo harinas, productos que contengan proteínas o aceite de soya genéticamente modificado.
3. Alimentos que contengan un solo ingrediente o aditivo producido por un microorganismo GM; como pueden ser colorantes, vitaminas o aminoácidos indispensables.
4. Alimentos cuyos ingredientes hayan sido procesados por enzimas producidas mediante microorganismos GM; por ejemplo, el jarabe fructosado producido a partir de un almidón que haya sido procesado usando glucosa isomerasa producto de un OGM.

Los alimentos llamados comúnmente “transgénicos”, en sentido estricto pertenecen a la primera categoría, aunque se insiste en llamar de la misma manera a las otras tres categorías. Para fines prácticos, en el presente capítulo se tratarán principalmente las dos primeras categorías.

La manipulación genética se basa en la introducción de trozos de ácido desoxirribonucleico o ADN ajeno a las células que se desee transformar, mediante diversas técnicas llamadas “de ADN recombinante”, que tienen la capacidad de modificarlo o manipularlo. En la actualidad, las plantas son las que dominan el comercio de productos genéticamente modificados; le siguen los productos del mismo tipo que con frecuencia se hallan en el mercado de ingredientes, denominados “ayudas de proceso” y enzimas obtenidas generalmente con microorganismos recombinantes; finalmente, existen también algunos animales genéticamente modificados como los salmones y tilapias con hormona de crecimiento, que aún no son comerciales.

Como ya se mencionó, en la actualidad el comercio se encuentra dominado por plantas genéticamente modificadas o por sus productos, de los que generalmente se obtiene lo que se denomina “alimentos transgénicos”. Un alimento transgénico es en muchas ocasiones el fruto o el grano obtenido de una planta transgénica, aunque a veces la transformación no va dirigida a éste sino más bien a las hojas, tallos o raíces. Sin embargo, las modificaciones genéticas están presentes en todo el organismo, en el polen y en sus semillas, y las posibilidades de flujo génico aumentan, ya que estas plantas pueden ser capaces de heredar su ADN recombinante.

Son dos las estrategias generales de transformación genética de plantas: la transformación mediada por vectores vivos, utilizando organismos que naturalmente infectan las plantas como *Agrobacterium* y con algunos virus, así como la transferencia directa de genes utilizando métodos físicos o fisicoquímicos.²³

Cualquiera de estas técnicas requiere de la manipulación del gen de interés que será integrado en un vehículo capaz de ser introducido a las células que se desee transformar, como se explica más adelante. Una vez transformadas las células es necesario regenerar la planta transformada a partir de esas células, por lo que la ingeniería genética se apoya en el cultivo de tejidos.

El punto de partida (figura 14.1) es una planta de la cual, mediante polinización, se generan otras plantas, de donde se obtiene, en las primeras etapas de desarrollo, el material vegetativo necesario para el cultivo de tejidos. La mayoría de las técnicas de transformación genética emplean embriones inmaduros como blanco potencial para la introducción del ADN ajeno al organismo. Cuando se les coloca en los medios de cultivo apropiados, los embriones comienzan a formar callos; otras técnicas practican la introducción del ADN foráneo en esta fase. En cualquiera de los casos, una vez que se ha insertado este ADN en las células, debe contarse con un mecanismo para seleccionar las que han sido transformadas exitosamente; mediante este mecanismo se obtienen subconjuntos de células que pueden ser sometidas al proceso de regeneración. Esto se logra colocando las células en un medio de

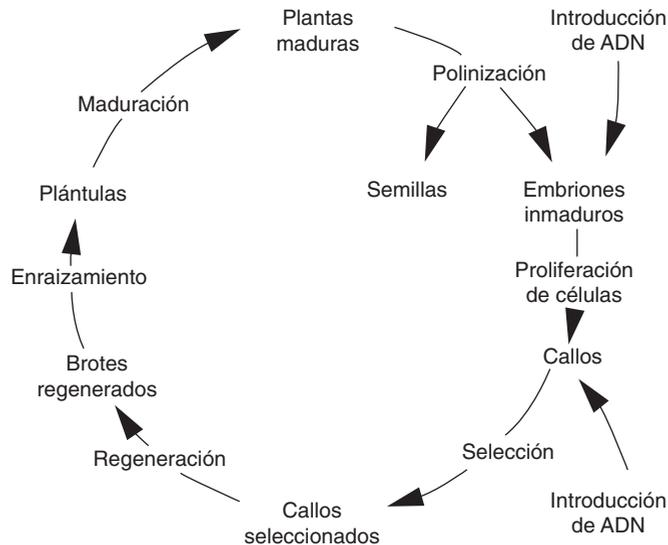


Figura 14.1 El proceso de ingeniería genética. Fuente: Hoisington, D., 1996.

cultivo que contenga un agente de selección, como un herbicida o un antibiótico al cual sean resistentes únicamente las células que hayan recibido el nuevo material genético intacto. Esta resistencia debe estar integrada en el vector de clonación que acarrea el gen de interés. Las células que sobreviven se transfieren a los medios de cultivo apropiados y se desarrollan brotes de tejido verde. Luego, los brotes se transfieren a otro medio para formar plántulas, las cuales pueden ser retiradas del medio de cultivo y plantadas por primera vez en tierra. Más tarde se transplantan a un invernadero y, si todo sale bien, maduran para convertirse en plantas completas.

En este punto se cuenta ya con una planta transgénica que se cultiva hasta llegar a la madurez para producir semillas, las cuales se convierten en la base de las subsiguientes generaciones para realizar los ensayos de este material novedoso, ya que debe verificarse la productividad, la expresión fenotípica, el rendimiento y las características nutricias de la planta transformada.

La figura 14.2 presenta un esquema simplificado de lo que se está introduciendo en el genoma de una planta. En el proceso de desarrollo del organismo genéticamente modificado, normalmente se inserta un vector en una bacteria que sirve como una especie de reactor biológico que lo replica el vector, como se le llama por su función de transmitir un gen, tiene diversos componentes. El gen marcador de selección permite discriminar las células que obtuvieron al vector durante la transformación, de tal modo que se utilicen para amplificar el ADN y se obtengan suficientes copias del material genético para emplearlas en los pasos posteriores. Entre los componentes del vector se encuentran también los elementos de control, requeridos porque el segmento nuevo de ADN tiene que ser controlado por un promotor que lo active en los tejidos apropiados y que permita su expresión. Además, la mayoría de los genes requieren algún tipo de señal de terminación que detenga la transcripción de ese segmento de ADN.

Para realizar una evaluación de la seguridad de las construcciones genéticas es necesario contar con información acerca de lo que incluye la secuencia del ADN introducida, así como los segmentos que regulan su expresión y los segmentos subordinados: el gen marcador de selección (resistencia a antibióticos o a herbicidas), el gen que codifica para la característica de interés, las secuencias de pro-

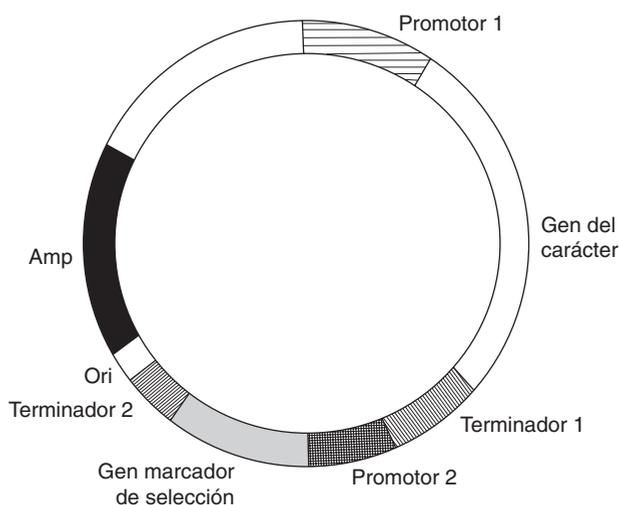


Figura 14.2 Vector típico de la transformación. Fuente: Hoisington, D., 1996.

motor y terminador, y alguna otra secuencia como pueden ser péptidos señal, etcétera. En algunos casos se insertan genes reporteros bajo el control de los elementos de la construcción que permiten el estudio del proceso mismo de la transformación.

En las evaluaciones de riesgo, un aspecto importante que debe conocerse son los genes marcadores. Como se describió antes, al transformar la planta se inserta no sólo un gen para un carácter específico sino también genes marcadores que permiten, mediante su expresión fenotípica, verificar el éxito de la inserción del vector en el genoma. Estos elementos son una herramienta útil en el proceso de transformación, que en general se arrastran en la construcción final, aunque no tengan una utilidad posterior. A continuación se presentan algunos de los marcadores que se utilizan con mayor frecuencia para la transformación de plantas.

CUADRO 14.1 Genes de resistencia a antibióticos usados como genes marcadores de selección

Grupo	Nombre del gen	Origen/Fuente	Modo de acción	Sustrato
I	<i>Hpt</i>	<i>E. coli</i>	Fosfotransferasa higromicina	Higromicina B
	<i>nptII</i>	Transposón Tn 5 de <i>E. coli</i>	APH (3') enzima II	Kanamicina, neomicina, geneticina
II	<i>Bla_(TEM-1)</i>	<i>E. coli</i>	TEM-1 β -lactamasa	Ampicilina, penicilina G, amoxicilina
	<i>aadA</i>	Plásmido R538-1 de <i>E. coli</i>	Aminoglicósido-3'-adenil-transferasa	Estreptomocina, espectinomocina
	<i>cat</i>	Transposon Tn9	Acetiltransferasa	Cloramfenicol
III	<i>npt III</i>	Plásmido R de <i>Enterococcus faecalis</i>	APH (3') enzima II	Kanamicina, neomicina, geneticina, amikacina
	<i>tet A</i>	Transposon Tn 10	Mecanismo de flujo inverso de solutos	Tetraciclina

APH: Aminoglicósido-3'-fosfotransferasa.

Fuente: Van den Eede, *Food and Chem Toxicol.*, 2004.

Los genes marcadores de selección basados en la resistencia a los antibióticos han sido utilizados ampliamente, de forma que muchas de las variedades comerciales los contienen. Entre los más utilizados se encuentran el gen de la aminoglicósido 3'-fosfotransferasa II (APH(3')II), el gen *nptII* de la neomicina fosfotransferasa, ya que resultaban en un mejor sistema marcador que el de tolerancia a herbicidas. Sin embargo, se ha cuestionado fuertemente la presencia de estos fragmentos en las construcciones finales, por la posibilidad, aunque remota de su transferencia a las bacterias del rumen o del tracto gastrointestinal de quien consume el alimento transgénico.

Otra estrategia de selección es la utilización de genes de resistencia a herbicidas o a otros agentes selectivos que permitan discriminar cuáles células han incorporado exitosamente la construcción genética. Uno de los más usados es el llamado gen *bar*, que confiere tolerancia al herbicida Basta® gracias a que se expresa la enzima fosfinotricina acetiltransferasa que confiere resistencia al herbicida también conocido como, bialofós o glufosinato de amonio o PPT (fosfinotricina por su siglas en inglés). Éste ha sido un marcador útil para la transformación de muchos cereales, particularmente por-

que es de uso sencillo para seleccionar y obtener transformantes en un medio de cultivo con el herbicida. Evidentemente existe preocupación por el empleo de la tolerancia a los herbicidas como un marcador de selección, en particular, porque al permanecer en el producto final se incrementa la posibilidad de ser transferido a algunos parientes silvestres en el caso de escape de genes que produjera polinización y descendencia viable. En el cuadro 14.2 se presentan otros marcadores de selección distintos de los antibióticos.

CUADRO 14.2 Ejemplos de genes marcadores diferentes de los que confieren resistencia a antibióticos

<i>Gen</i>	<i>Producto génico</i>	<i>Agente selectivo o sustrato</i>
Genes que confieren resistencia a herbicidas		
<i>als</i> (<i>ahas</i>), <i>esr1-1</i> , <i>esr1-2</i> , <i>suRB-S4-hra</i>	Acetolactato sintasa	Sulfonilureas, imidazolinas, triazolopirimidinas, Pirimidilbenzoato
<i>bxn</i>	Bromoxinil nitrilasa	Bromoxinil
<i>epsps</i> , <i>epsps5</i>	5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintasa	Glifosato
<i>gox</i>	Glifosato oxidoreductasa	Glifosato
Genes que codifican para características metabólicas específicas		
<i>manA</i>	6-Fosfomanosa isomerasa	Manosa
<i>tdc</i>	Triptofano decarboxilasa	4-metil-triptofano
<i>xylA</i>	Xilosa isomerasa	Xilosa
<i>ipt</i>	Isopentenil transferasa	Desarrollo de meristemos
Genes reporteros		
<i>gfp</i>	Proteína verde fluorescente	Fluorescencia, oxígeno
<i>luc</i>	Luciferasa de luciérnaga	Luciferina, ATP, oxígeno
<i>luxA</i> , <i>luxB</i>	Luciferasa bacteriana	Decanal, FMNH ₂ , oxígeno
<i>lacZ</i>	β -galactosidasa	Galactósidos
<i>uidA</i> (<i>GUS</i>)	β -glucuronidasa	β -glucurónidos, formación de coloración azul

Fuente: Van den Eede *et al.*, 2004.

En las primeras etapas del desarrollo de un sistema de transformación en las plantas se emplean por lo menos tres sistemas principales de genes reporteros muy útiles, y algunos investigadores todavía los incorporan como parte de su actividad ordinaria, para confirmar que la transformación se ha producido exitosamente. Para ellos, así como para los genes marcadores de resistencia a antibióticos, es necesario evaluar su seguridad. Probablemente uno de los genes más comunes sea el llamado GUS, el cual produce una enzima que, con el sustrato correspondiente, da como resultado una típica coloración azul en las células transformadas (cuadro 14.2). Esto lo convierte en un mecanismo eficaz para observar células que hayan sido transformadas, que han integrado el ADN y lo están expresando. Otro gen reportero bastante común, que no aparece en el cuadro 14.2 y que es útil en particular para la transformación de maíz blanco o amarillo, es el gen *C1*, que produce pigmentos rojos en la mayoría de las células de maíz que se transforman. El tercer gen reportero, es el gen *lux*, que produce una

reacción de luminiscencia en la mayoría de las células transformadas. Por lo general, los genes reporteros no son productos finales, pero pueden ser muy útiles para monitorear los procesos de modificación genética por lo que a menudo se incorporan en el proceso definitivo de transformación y, consecuentemente, también se incluyen en el producto final.

En relación más estrecha con el gen del carácter de interés se encuentran los componentes que regulan su expresión. Los promotores tienen dos tipos básicos: el primero es el promotor constitutivo, que activa la expresión del gen en todos los tejidos y constantemente en el tiempo. El ejemplo por excelencia es el promotor CaMV 35S del virus del mosaico de la coliflor, que ha sido ampliamente utilizado en las construcciones comerciales, y de hecho su detección constituye uno de los primeros métodos utilizados para el monitoreo de OGMs en el ambiente. Otros promotores constitutivos usados comúnmente son los de los genes de la ubiquitina y la actina; a pesar de que trabajan en todos los tejidos, cada vez que se insertan genes regulados por promotores constitutivos se obtienen diferencias en cuanto a la especificidad para el tejido o el grado de expresión. Por lo tanto, aun cuando se activan los genes, no siempre se activan en el mismo grado en todos los tejidos. El segundo tipo de promotores lo constituyen los sistemas de promotores inducibles o específicos para un tejido. Por ejemplo, si el objetivo es manipular el polen, entonces se tienen disponibles varios promotores que pueden ser inducidos mediante un choque térmico o por lesiones, o los que requieren de un tejido fotosintético para expresarse. Con la amplia gama de promotores que se encuentra a disposición de los investigadores, y sobre la base del tipo de gen que se desee insertar, así como el tejido y la etapa de desarrollo en los cuales se expresará el gen, es relativamente simple identificar el promotor más apropiado para la construcción.²⁵

14.2

PRINCIPALES MÉTODOS PARA LA TRANSFERENCIA DE GENES

La transferencia directa de ADN puede lograrse a través de diferentes métodos físicos como bombardeo de tejidos o células con micropartículas cubiertas de ADN (biobalística), permeación de membranas celulares al ADN, inducida por corrientes eléctricas (electroporación), tratamientos químicos (con polietilenglicol, PEG), abrasión con fibras de silicio, microinyección y láser.²³

Estos métodos, especialmente la electroporación y la transformación medida por PEG han demostrado ser útiles para introducir, con éxito, ADN en protoplastos (células vegetales sin pared). Desafortunadamente, la regeneración de plantas completas a partir de protoplastos es difícil en algunas especies y frecuentemente, dependiente del genotipo.

La técnica que se emplea con mayor frecuencia para la transformación de plantas se basa en la utilización de *Agrobacterium tumefaciens* como vehículo. Esta bacteria fitopatogena presente en el suelo tiene la capacidad de transferir ADN de sus plásmidos (ADN circular extracromosómico) a las células vegetales, al introducir un segmento de su ADN denominado ADN transferido, contenido en sus plásmidos Ti (inductor de tumores) y Ri (inductor de raíces). Las cepas de *Agrobacterium* deben haber sido manipuladas para eliminar los genes que inducen la formación de tumores y raíces, y a la vez deben introducir los genes deseados. El proceso culmina con la regeneración de tejidos y la creación de plantas completas. Esta técnica está casi exclusivamente restringida para dicotiledóneas.⁵²

La biobalística o bombardeo con micropartículas es un proceso muy original desarrollado por el grupo del doctor John Sanford, que permite introducir ADN a, virtualmente, cualquier tipo de célula. En este procedimiento el ADN se introduce a las células por medio de partículas microscópicas a

altas velocidades, que atraviesan la pared y la membrana celular causando la muerte de muchas de las células, pero siempre hay algunas que son viables y han sido transformadas. Los microproyectiles adquieren un *momentum* (masa \times velocidad) suficiente para penetrar las células blanco mediante el impulso de un choque de gas, que puede derivarse de una explosión química, la explosión eléctrica de una gota de agua, o una descarga de un gas inerte. Las células o tejidos que constituyen el blanco de los proyectiles se disponen de tal forma que presentan la máxima superficie para el bombardeo, en un área cercana a los 5 cm de diámetro (figura 14.3).²³



Figura 14.3 Pistola de genes.

Existen varios factores que afectan la transformación por bombardeo de micropartículas:

1. Naturaleza de las micropartículas, de tungsteno y de oro, aunque el tungsteno de bajo costo y disponible en una gran variedad de tamaños es tóxico para algunos tipos de células. El oro es un material biológicamente inerte, no es tóxico para las células vegetales y no cataliza la degradación del ADN que se adhiere. Sin embargo, es un material de alto costo.³²
2. Concentración de las micropartículas, ya que una concentración muy baja no logrará cubrir el área deseada, mientras que una alta puede resultar en la aglomeración de partículas que lograrán causar un gran daño a las células blanco.⁵²
3. Adherencia de ADN a las micropartículas, resulta esencial para el buen transporte del mismo. El método de Klein³² involucra la adición del plásmido disuelto en un buffer a una suspensión estéril de micropartículas de tungsteno, seguido por la adición de cloruro de calcio 2.5M y espermidina 0.1M. La suspensión de micropartículas se sonica para evitar la formación de agregados.
4. Transporte de las micropartículas al tejido, que se ve afectado por el intervalo que se sugiere de 10-280 plg Hg según estudios realizados.³² La distancia de las micropartículas al tejido blanco también afecta la velocidad de las mismas y su distribución en el tejido.
5. Incorporación del ADN introducido en el genoma del hospedero. En el bombardeo de micropartículas, los niveles de expresión transitoria del gen son mucho mayores a los de la expresión permanente. Siempre que se utilice esta técnica de transformación deberá estar consiente de que un alto nivel de expresión transitoria no está relacionado con un alto nivel de expresión permanente u obtención de plantas transgénicas. Una ineficiente incorporación del gen foráneo al genoma del huésped puede conducir a una expresión inicial pero se perderá en la siguiente replicación del ADN genómico durante la división celular.⁵² Debe ser posible verificar la integración de la construcción genética y por lo general se hace mediante la expresión

de un gen reportero de expresión transitoria que pueda ser rápida y monitoreada fácilmente. El sistema del gen reportero GUS, desarrollado por Jefferson, se basa en el gen GUS que codifica para la β -glucuronidasa, que al transformar al sustrato incoloro X-gluc (ácido 5-bromo-4cloro-3indolil- β -D-glucorónico) da lugar a un producto oxidable de coloración índigo. Las células transformadas pueden ser identificadas por su coloración. El sistema GUS ha sido utilizado extensamente para optimizar el bombardeo de micropartículas.²⁷

14.3 MODIFICACIONES GENÉTICAS MÁS UTILIZADAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS

14.3.1 Caracteres de interés más utilizados

En los cultivos genéticamente modificados los caracteres expresados con mayor frecuencia son la resistencia a insectos y la tolerancia a herbicidas. En la práctica agrícola se utiliza desde hace más de 40 años la toxina de *Bacillus thuringiensis* (Bt) que es una bacteria común en el suelo³¹ y tiene la virtud de producir, en su fase de esporulación, una enorme cantidad de una proteína que se acumula en forma de un cuerpo de inclusión llamada δ endotoxina. Esta proteína tiene la capacidad de activarse en el intestino de los insectos y resulta altamente específica contra larvas de ciertos tipos de insectos. Se han descrito una gran cantidad de cepas distintas de Bt que generan diferentes endotoxinas cuyos genes han sido identificados y aislados, por lo que su información puede ser fácilmente insertada en plantas. Entre los genes más utilizados y que se encuentran presentes en los granos comercializados a granel en el mundo se encuentran: *CryIAb*, *CryIAc* y *CryIIIA*.

La característica de tolerancia a herbicidas se describió anteriormente como un marcador de selección (cuadro 14.2), pero también es un carácter importante que permite aplicar un herbicida particular en el campo para matar malezas sin dañar al cultivo resistente. El herbicida más utilizado en este ámbito es el glifosato de amonio comercializado como RoundUp™ por la compañía Monsanto (cuadro 14.3). También existen materiales resistentes a glufosinato y otros herbicidas de menor circulación comercial.

Los nuevos materiales generados se denominan eventos de transformación, debido a que se trata de organismos que provienen de una sola célula transformada genéticamente, que tienen insertado el ADN foráneo en un sitio particular en su genoma. En el cuadro 14.3 se presentan tanto los principales cultivos transformados genéticamente como los eventos comerciales de transformación.

Cuando se habla de maíz Bt que expresa la toxina *CryIAb*, se encuentran varios eventos de transformación, como los denominados Bt11, Bt176 o MON810 que corresponden a distintos “disparos” de biobalística y/o distintas células transformadas cada uno realizado en una variedad particular de maíz. Es lógico pensar que en la práctica comercial esos eventos originales de transformación puedan utilizarse en fitomejoramiento y se utilicen para hacer retrocruzas. De hecho, en el caso del algodón Bollgard™ de Monsanto, se utilizó un híbrido manipulado con *Agrobacterium* para transferir el gen *CryIAc* con acción contra lepidópteros en la variedad Coker C312. El evento resultante se denomina MON0531-6 una vez que ha sido retrocruzado, de esta forma es posible generar variedades comerciales de buen rendimiento y utilidad, ya que éstas han sido adaptadas a condiciones ambientales específicas, y han heredado el carácter transgénico pero conservan el fenotipo útil que se busca con la retrocruza. Las nuevas variedades se consideran como el mismo evento de transformación, siempre y cuando el inserto se mantenga en el mismo sitio del genoma donde originalmente se insertó.

CUADRO 14.3 Principales cultivos GM a nivel mundial

Cultivo	Característica	Área cultivada 2004 (millones de has)	Área cultivada 2003 (millones de has)	Principales eventos de transformación
Soya	Tolerante a herbicida (tol. Glifosato principalmente)	48.4 (60% del área global sembrada con OGMs)	41.4	Soya RR™
Maíz	Resistente a insectos (<i>Bt</i>) y tolerante a herbicidas	19.3 (23% del área global sembrada con OGMs)	15.5	<i>Bt</i> -11, <i>Bt</i> -176, MON-810
Algodón	Resistente a insectos (<i>Bt</i>) y tolerante a herbicidas	9.0 (11% del área global sembrada con OGMs)	7.2	Bollgard™ y Bollgard II™
Canola	Tolerante a herbicidas	4.3 (6% del área global sembrada con OGMs)	3.6	

Adaptado de James, C., 2004.

Los caracteres de interés insertados en los eventos de transformación comerciales permiten clasificarlos en dos generaciones de materiales transgénicos, y ambas se encuentran actualmente en el mercado: la primera generación de OGMs se ha diseñado para obtener un mejor comportamiento agronómico como los cultivos *Bt* y los resistentes a herbicidas, que de hecho actualmente dominan el mercado de granos a granel de soya, canola, algodón y maíz (cuadro 14.3). Un carácter importante en los eventos de primera generación lo constituye la resistencia a virus. La primera estrategia desarrollada fue la expresión de las llamadas proteínas de la cubierta viral, que le confieren a la planta resistencia a la infección, y recientemente se manejó la modificación del movimiento sistémico real de las partículas víricas a través de toda la planta (cuadro 14.4). Los ejemplos más comunes de esta estrategia son las papas resistentes a los virus PVX y PVY, que se analizarán en el apartado 14.7.2. En la primera generación también puede incluirse a los OGMs que contienen toxinas diferentes de las mencionadas arriba y que confieren resistencia a tipos distintos de insectos. Así mismo, se encuentran ya en el mercado los cultivos que tienen la combinación de ambas características: resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas (anexo 1). La segunda generación tiene por objeto mejorar las variedades desde un punto de vista nutritivo y sensorial, de lo cual se hablará más adelante.

Para tener una idea de la popularidad de los granos transgénicos, se puede mencionar que en 2004 se calcularon 81 millones de hectáreas cultivadas con estos materiales. Los países con producción de transgénicos en el mundo son: Estados Unidos con 47.6 millones de hectáreas (59%); Argentina; 16.2 millones de hectáreas (20%); Canadá; 5.4 millones de hectáreas (6%); Brasil; 5 millones de hectáreas (6%); China; 3.7 millones de hectáreas (5%); Paraguay; 1.2 millones de hectáreas (2%); Sudáfrica; 0.5 millones de hectáreas (1%); Uruguay; 0.3 millones de hectáreas (<1%); Australia; 0.2 millones de hectáreas (<1%); Rumania; 0.1 millones de hectáreas (<1%); México; 0.1 millones de hectáreas (<1%); España; 0.1 millones de hectáreas (<1%); Filipinas (<1%)²⁶ (cuadro 14.4).

CUADRO 14.4 Características expresadas en los principales eventos comerciales de transformación

<i>Fenotipo</i>	<i>Elemento genético modificado</i>	<i>Fuente</i>
Composición de ácidos grasos	Delta(12)-acil deshidrogenasa	<i>Glycine max</i> (soya)
	Tioesterasa	<i>Umbellularia californica</i>
Restauración de fertilidad	Inhibidor de la barnasa	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa	<i>Agrobacterium tumefaciens CP4</i> <i>Z. mays</i> (maíz)
Tolerancia a herbicidas	Acetolactato sintasa	Gen quimérico (S4-Hr4) <i>A. thaliana</i> <i>Nicotiana tabacum</i> tolerante a clorosulfuro
	Glifosato oxidoreductasa	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	nitrilasa	<i>Klebsiella pneumoniae subspecies ozanae</i>
	Fosfinotricina N-acetiltransferasa	<i>S. hygrosopicus</i> <i>S. viridochromogenes</i>
Resistencia a insectos	<i>CryIAb</i> delta-endotoxina (Btk HD-1)	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki</i> (Btk)
	<i>CryIAC</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki</i> (Btk)
	<i>cryIF</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis var. aizawai</i>
	<i>Cry2Ab</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis</i>
	<i>Cry34Ab1</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis</i> cepa PS149B1
	<i>Cry35Ab1</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis</i> cepa PS149B1
	<i>cry3A</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis subsp. Tenebrionis</i>
	<i>cry3Bb1</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kumamotoensis</i>
	<i>Cry3Bb1</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kumamotoensis</i> cepa EG4691
Resistencia a lepidópteros	<i>cry9c</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Tolworthi
	Inhibidor de proteasas	<i>S. tuberosum</i>
	<i>cry1F</i> delta-endotoxina	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Esterilidad masculina	Ribonucleasa barnasa	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	ADN adenina metilasa	<i>Escherichia coli</i>
Maduración retardada	1-amino-ciclopropano-1-ácido carboxílico desaminasa	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
	Aminociclopropano ciclasa sintasa	<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)
	poligalacturonasa	<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)
	S-adenosilmetionina hidrolasa	Bacteriófago T3 de <i>E. coli</i>
Resistencia a virus	Helicasa	Luteovirus del enrollado de la hoja de papa (PLRV)
	Replicasa	Luteovirus del enrollado de la hoja de papa (PLRV)
	Proteína de la cápside viral	Virus del mosaico del pepino
		Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV)
		Virus Y de la papa (PVY)
	Virus del mosaico de la sandía 2	
	Virus del mosaico de la calabaza	

Adaptado de la base de datos de Agbios <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Synopsis>.

14.4 FlavrSavr® EL PRIMER ALIMENTO GM

En mayo de 1994 se puso en mercado el primer alimento transgénico. El desarrollo hecho por la compañía norteamericana Calgene, Inc., tuvo por objeto ofrecer una alternativa a los consumidores no satisfechos con los tomates disponibles fuera de temporada, cuya apariencia y sabor eran poco atractivos. El tomate es un fruto climatérico en el que el mecanismo enzimático de degradación se desencadena súbitamente cuando es removido de la planta. Una de las principales enzimas involucradas en el proceso de decaimiento es la poligalacturonasa, enzima que degrada las paredes celulares, que provoca un ablandamiento del tejido y, por lo tanto del fruto. Este proceso sucede rápidamente en los frutos climatéricos por lo que es fácil perder su valor comercial. El objeto de la modificación genética fue reducir la expresión normal del gen que codifica para esta enzima, para hacer la maduración del tomate mucho más lenta, y favorecer su comercialización, al poderse almacenar por largo tiempo. La marca registrada por Calgene fue Flavr Savr®. La construcción genética presentaba un gen de tomate (*Lycopersicon esculentum*), que era un fragmento de ADN antisentido con respecto al gen normal, esto quiere decir que poseía una orientación contraria y una secuencia complementaria respecto a una porción del gen fisiológico, de modo que el producto de este antígeno sintético, su ARN mensajero, se une específicamente al ARN mensajero correspondiente al gen normal de la poligalacturonasa causando su bloqueo. Al bloquearlo se impide su traducción, anulando la síntesis de la enzima. La construcción de Calgene contenía como marcador de selección un gen de resistencia a kanamicina que, aunque no es un antibiótico recetado con frecuencia, debido a sus efectos colaterales, sí podría transferirse la resistencia a bacterias patógenas de importancia en salud humana, lo que puede suceder con bajísimas probabilidades.⁵⁴

Como el primer alimento transgénico fue pionero en muchas situaciones. La agencia encargada, en los EUA, de la autorización de alimentos, la Food and Drug Administration (FDA), debió desarrollar nuevas técnicas analíticas y adoptar una serie de medidas pues no podían realizarse evaluaciones como si fuera un medicamento, pero tampoco como un tomate natural. En este sentido, la FDA decidió evaluar toxicidad, inocuidad y alergenicidad del tomate *per se*, ya que no existía en este caso una proteína expresada, sino la expresión bloqueada de una enzima natural. Se evidenció la inexistencia de modelos animales o experimentales para realizar evaluaciones de riesgos a la salud humana de este tipo de alimentos. En el caso de alimentos que expresen una toxina o una proteína como es el caso de los granos Bt se realizan experimentos con animales de laboratorio alimentados con una sobredosis de la proteína heteróloga, aunque frecuentemente se les alimenta con la proteína sobrepresada en vectores bacterianos y no la proteína directamente extraída del alimento: se utiliza la proteína aislada ante la imposibilidad de administrar una sobredosis del alimento entero. Han pasado más de 10 años desde la salida al mercado del primer alimento transgénico, y desde 1998 se cuenta con maíz y soya transgénicos en los EUA y los países que los importan, y para el mercado de *commodities* frecuentemente se autorizan nuevos eventos de transformación y otros desaparecen, de hecho el tomate Flavr Savr® no se encuentra más en el mercado pues la variedad fue retirada porque al parecer su sabor no resultaba atractivo para el consumidor. Otras variedades de tomate altas en sólidos, y útiles para ahorrar energía durante la evaporación en la producción de puré que eran utilizadas por la cadena Sansbury en el Reino Unido fueron retiradas del mercado europeo, no porque fueran poco útiles, sino porque la aceptación de los alimentos transgénicos en Europa es difícil y las estrictas reglamentaciones han dificultado la comercialización y el cultivo de estos materiales.

Los problemas mencionados respecto de los modelos requeridos para hacer evaluaciones no se han resuelto del todo. Más adelante se darán algunos detalles sobre evaluaciones de riesgos de los alimentos GM.

14.5 LOS OGMs COMERCIALES PARA ALIMENTACIÓN

Como se mencionó al inicio del capítulo, la OMS ha hecho una clasificación de los alimentos obtenidos mediante biotecnología moderna. Para fines prácticos en el presente capítulo principalmente se tratan las dos primeras categorías mencionadas en la sección 14.1, que se refieren a los alimentos compuestos por o que contengan organismos vivos/viables por ejemplo el maíz o un yogurt inoculado con microorganismos genéticamente modificados, y a los alimentos derivados de o que contengan ingredientes derivados de OGMs, por ejemplo harinas, productos que contengan proteínas o aceites de maíz o soya, como las tortillas o las bebidas a base de leche de soya.

En la tabla presentada en el anexo 1 se listan los OGMs que han sido aprobados en al menos un país y que constituyen el universo de eventos de transformación que podrían llegar a encontrarse en alimentos o ser alimentos *per se*. De las categorías allí mencionadas, se describirán con más detalles los tipos de alimentos que son comercializados con mayor frecuencia y son:

14.5.1 Granos a granel

Los OGM que se mueven a granel a nivel mundial consisten principalmente en cereales y oleaginosas: maíz, soya, canola y algodón; las modificaciones genéticas que dominan este sector del comercio son la resistencia a insectos y la tolerancia a herbicidas como se mencionó anteriormente, con todas las combinaciones entre estos fenotipos. Enseguida se presentan los valores del mercado global actual de *commodities* GM, donde aparecen los principales países productores (cuadro 14.5).

CUADRO 14.5 Valores del mercado internacional de cultivos genéticamente modificados

2003/2004	Valor del mercado (millones de dólares)	2003/2004	Valor del mercado (millones de dólares)
Cinco países	43,900	Cuatro cultivos	43,900
Estados Unidos	27,500	Soya	23,500
Argentina	8,900	Maíz	11,200
China	3,900	Algodón	7,800
Canadá	2,000	Canola	1,400
Brasil	1,600		

Fuente: Ford Runge *et al.*, 2004.

Los valores de la producción de la soya y el maíz genéticamente modificados se resumen en los cuadros siguientes (cuadros 14.6 y 14.7).

CUADRO 14.6 Valores del mercado global de soya GM

<i>Soya</i> 2003/2004	<i>Superficie</i> <i>sembrada (1)</i>	<i>Producción</i> (2)	<i>Tasa de</i> <i>adopción</i>	<i>Valor del mercado</i> (millones de dólares) (3)
Cinco países	74.2	171.8	54%	23,500
Estados Unidos	29.2	65.8	81%	13,300
Brasil	21.3	65.8	12%	1,600
Argentina	14.0	34.0	98%	8,300
China	8.7	16.2	—	—
Canadá	1.1	2.3	50%	284
Resto del mundo	13.8	18.3	—	—

(1) Área en millones de hectáreas, (2) Producción en millones de toneladas métricas, (3) En millones de dólares y asumiendo un precio en el mercado mundial de 250 dólares/ton. Fuente: Ford Runge *et al.*, 2004.

En países como México se cultiva soya Solución Faena (tolerante a glifosato) en áreas del norte del país que abarcaron casi 16,000 has en 2002.

CUADRO 14.7 Valores del mercado global de maíz GM

<i>Maíz</i> 2003/2004	<i>Superficie</i> <i>sembrada (1)</i>	<i>Producción</i> (2)	<i>Tasa de</i> <i>adopción</i>	<i>Valor del mercado</i> (millones de dólares) (3)
Cinco países:	68.5	434.5	19%	11,200
Estados Unidos	28.8	256,965.8	40%	10,300
China	23.5	114	—	—
Brasil	12.6	41.5	—	—
Argentina	2.1	12.5	40%	500
Canadá	1.2	9.6	40%	384
Resto del mundo	71.9	179.5	—	—

(1) Área en millones de hectáreas, (2) Producción en millones de toneladas métricas, (3) En millones de dólares y asumiendo un precio en el mercado mundial de 100 dólares/ton. Fuente: Ford Runge *et al.*, 2004.

Tan sólo en Estados Unidos el mercado del maíz GM arroja ganancias anuales de alrededor de 20 mil millones de dólares, mientras que la soya representa un mercado de 14 mil millones. Son nueve los estados de la región Centro-Norte de los EUA que tienen la mayor producción: Illinois, Indiana, Iowa, Kansas, Minnesota, Missouri, Nebraska, Ohio y Dakota del Sur; juntos forman la llamada “Franja maicera” (*Corn Belt* en inglés). En ella se siembran soya y maíz en los mismos campos o incluso se construyen esquemas de rotación de cultivos entre ellos.⁴⁵ En México, que es el país centro de origen y diversificación del maíz, no se ha sembrado hasta ahora en forma comercial ante la incertidumbre del posible escape de genes y sus impactos potenciales en las variedades criollas.⁸

El algodón se siembra esencialmente para la obtención de aceite, pienso animal y, por supuesto, la fibra. Son cinco los países que principalmente lo producen y el cultivo está creciendo en países

como México donde se sembró en el año 2002 una superficie de 120,000 hectáreas con algodón Bollgard™ (*Cry IAc*), Bollgard II™ (*Cry IAc* y *Cry2Ab*), Solución Faena™ [tolerante a glifosato (genes de EPSPS)] y la versión *stacked* Bollgard II™ / Solución Faena™ (anexo 1).⁶⁰

CUADRO 14.8 Valores del mercado global de algodón GM

<i>Algodón</i> 2003/2004	<i>Superficie</i> <i>sembrada (1)</i>	<i>Producción</i> (2)	<i>Tasa de</i> <i>adopción</i>	<i>Valor del mercado</i> (<i>millones de dólares</i>) (3)
Cinco países	11.2	46.7	61%	7,800
China	5.1	22.4	62%	3,900
Estados Unidos	4.9	18.3	73%	3,800
Brasil	1.0	5.7	—	—
Argentina	0.3	0.4	60%	75
Canadá	—	—	—	—
Resto del mundo	21.4	46.8	—	—

(1) Área en millones de hectáreas, (2) Producción en millones de toneladas métricas, (3) En millones de dólares y asumiendo un precio en el mercado mundial de 250 dólares/ton. Fuente: Ford Runge *et al.*, 2004.

Canola y la colza (*Brassica napus* y *B. rapa*, respectivamente) se emplean principalmente para la extracción de aceite; éste es uno de los cultivos que también se maneja a granel y que genera pasta residual utilizada en la fabricación de piensos (cuadro 14.9).

CUADRO 14.9 Valores mundiales del mercado de canola GM

<i>Canola</i> 2003/2004	<i>Superficie</i> <i>sembrada (1)</i>	<i>Producción</i> (2)	<i>Tasa de</i> <i>adopción</i>	<i>Valor del mercado</i> (<i>millones de dólares</i>) (3)
Cinco países	12.6	18.8	28%	\$1,430
China	7.5	11.4	—	—
Canadá	4.7	65.8	12%	\$1,600
Estados Unidos	0.4	0.7	73%	\$138
Argentina	—	—	—	—
Brasil	—	—	—	—
Resto del mundo	13.4	20.2	—	—

(1) Área en millones de hectáreas, (2) Producción en millones de toneladas métricas, (3) En millones de dólares y asumiendo un precio en el mercado mundial de 285 dólares/ton. Fuente: Ford Runge *et al.*, 2004.

14.5.2 Variedades comerciales de menor volumen y movimiento

Se han aprobado en diversos países del mundo variedades de papaya, papa, arroz, calabaza, remolacha azucarera y tomate, con diferentes fenotipos de interés (cuadro A.1 del anexo 1). Y gracias a los rápidos avances en la tecnología de ADN recombinante y a las herramientas empleadas, se han autorizado variedades GM de muchos otros cultivos más, que se enlistan en el siguiente cuadro.

CUADRO 14.10 Listado de especies vegetales manipuladas genéticamente en la actualidad

Cultivos	Vegetales	Frutas	Varios
Alfalfa	Brócoli	Manzana	Chicoria
Cebada	Col	Plátano	Cacao
Canola	Zanahoria	Melón	Café
Yuca	Coliflor	Cereza	Ajo
Trébol	Pepino	Cítricos	Lupino
Algodón	Berenjena	Coco	Mostaza
Linaza (lino)	Lechuga	Uva	Palma aceitera
Maíz	Cebolla	Kiwi	Amapola
Arroz	Chícharo	Mango	Olivo
Cártamo	Chile	Papaya	Cacahuete
Sorgo	Papa	Piña	Tabaco
Soya	Espinaca	Ciruela	
Remolacha	Calabaza	Frambuesa	
Caña de azúcar	Tomate	Fresa	
Girasol		Sandía	
Trigo			

Adaptado de: Ford Runge *et al.*, 2004. "The Global Difusion in Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004".

14.6 MICROORGANISMOS GM PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS AUXILIARES DE PROCESO

Las enzimas como catalizadores biológicos de origen proteínico han estado sujetas a modificaciones desde el inicio de las aplicaciones de la ingeniería genética en alimentos, partiendo de la modificación de la secuencia de sus genes, de manera que sea posible modular su actividad a través de modificar de esa forma su secuencia de aminoácidos, lo que permite conferirles mayor estabilidad a la temperatura o al pH, cambios en el uso y especificidad por sus sustratos. Actualmente se cuenta con la producción de enzimas que se han aislado y de hormonas de origen animal cuyos genes se han introducido por ingeniería genética en organismos hospederos microbianos más fáciles de manejar (como *B. subtilis*, *E. coli*, etcétera) que la fuente animal original. En este punto cabe una aclaración: no existen en el mercado microorganismos GM, aunque se han realizado investigaciones y desarrollos para modificar microorganismos para producción de queso y yogurt, o microorganismos que produzcan probióticos o levaduras para pan y cerveza, o iniciadores de cultivos lácticos, pero no han sido aprobados para producción comercial. En 1993 se aprobó en el Reino Unido una levadura de cerveza modificada, pero no se utiliza comercialmente.⁴⁷ En pocas palabras: actualmente no existen en el comercio microorganismos GM que se consuman vivos en los alimentos.

Sin embargo, donde se utilizan frecuentemente los microorganismos GM es en la producción de enzimas auxiliares de proceso en la producción de alimentos para humanos y animales. En el proceso general de producción, los microorganismos son inactivados, degradados o separados del producto final una vez que se ha terminado la fermentación o la síntesis; por lo que su aceptación ha sido más

fácil, además de que se ha cuidado que los microorganismos hospederos no produzcan sustancias dañinas o estén filogenéticamente relacionados con patógenos, con excepción de la *E. coli* con sus cepas como la K12 que han sido ya completamente adecuadas para evitar cualquier problema de infectividad o invasividad. Ejemplos de las enzimas producidas de esta forma son la α -amilasa para panificación, glucosa isomerasa para la producción de jarabes fructosados y quimosina para queso. También se han autorizado microorganismos GM para la producción de vitaminas, aminoácidos y pigmentos carotenoides, por mencionar algunos ejemplos.⁴⁷

Una de las enzimas más empleadas en la producción de alimentos es la quimosina (renina) que se utiliza para cuajar la leche en la fabricación de quesos y se obtiene del estómago de los terneros. Esta fuente resulta cada vez más cara y actualmente presenta, en su extracción, la posibilidad de acarrear priones relacionados con la encefalopatía espongiforme bovina (BSE). Durante muchos años se trató de sustituir la enzima original utilizando proteasas con actividades lo más específicas posible de origen microbiano como las proteasas de *Mucor mihei*, *Rhizomucor* y *Endothia parasitica*. Sin embargo, fue hasta el advenimiento de la ingeniería genética en el área de alimentos que se logró producir comercialmente la enzima idéntica a la del ternero. La síntesis bioquímica de la ruta metabólica es sumamente complicada, pues *in vivo* se sintetiza como prequimosina, una proteína de 365 aminoácidos como se observa en la figura 14.4.⁴³

El gen que codifica para quimosina ha sido clonado y expresado exitosamente empleando un sinnúmero de plásmidos o vectores de plásmidos modificados y organismos hospederos como: *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus* spp, así como también

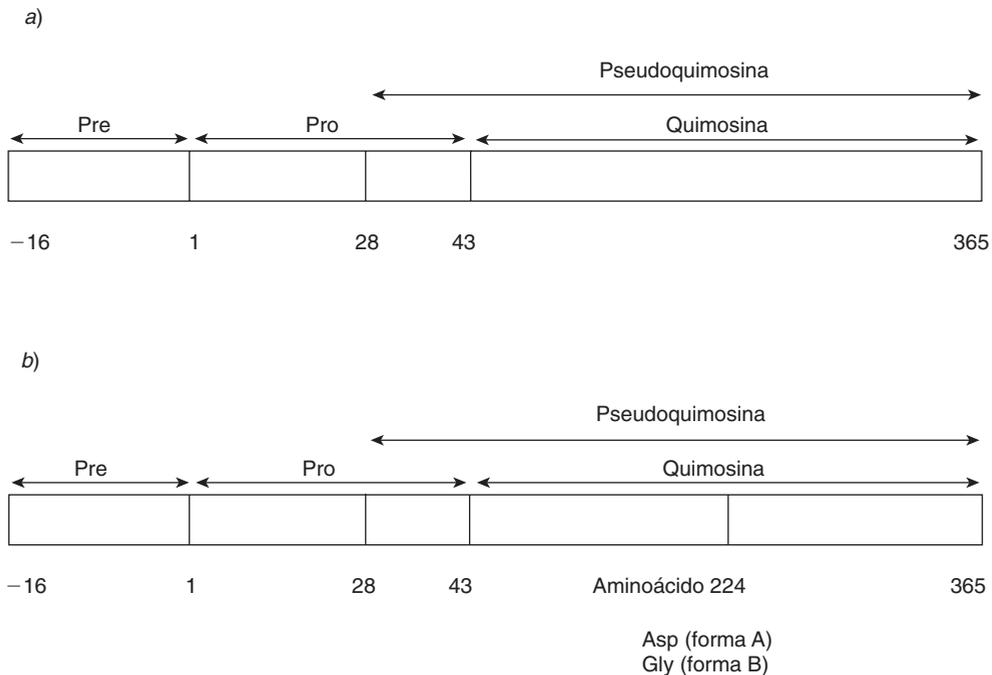


Figura I4.4 Quimosina: a) estructura de la proteína, y b) variantes de la proteína. Fuente: Mohanty, 1999.

en células de riñón de hamster recién nacidos, entre otros sistemas de clonación. Se ha logrado la expresión de las diferentes formas de quimosina, incluyendo preproquimosina, meta-proquimosina y meta-quimosina como proteína heteróloga en *E. coli*.⁴³ La adecuada expresión de la quimosina se da cuando se utiliza el sistema de proteína de fusión que se activa autocatalíticamente a quimosina, como sucede en la naturaleza durante la recuperación del producto asegurando con esto que el péptido final tenga el amino terminal adecuado.⁴⁴ La quimosina recombinante se produce comercialmente en *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus niger* manipulados genéticamente y se utiliza ampliamente en EUA y Gran Bretaña sustituyendo a la quimosina de terneros y a la biotecnológica tradicional obtenida de hongos.

14.7 OGMs DE SEGUNDA GENERACIÓN

Los OGMs desarrollados con mejoras agronómicas son conocidos generalmente como los de primera generación. Estos materiales ofrecen beneficios a los primeros actores de la cadena, es decir, los agricultores. Como ya se mencionó anteriormente, los principales fenotipos de interés son resistencia a insectos, tolerancia a herbicidas y resistencias a enfermedades y plagas. La investigación y desarrollo en este tipo de OGMs se centra en la obtención de nuevas y más variedades de maíz, soya, algodón y canola que sean tolerantes a un grupo más amplio de herbicidas como bromoxinil, oxinil y sulfonilurea, así como que adquieran nuevos genes que les confieran resistencia a más y diferentes insectos.⁴⁷

La mayor parte de la superficie global sembrada actualmente (cuadro 14.3), se concentra en dos cultivos y dos fenotipos: soya y maíz, tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos, con la combinación de ambas características en una misma planta, a lo que se le denomina OGM *stacked* (del inglés apilado), pues son dos o más genes de interés insertados en un mismo genoma, ya sea por transformaciones subsecuentes o por cruces entre dos o más OGMs, de forma que el híbrido resultante contenga en el genoma todas las secuencias.

La resistencia a virus es otra característica importante para el manejo agronómico de los cultivos, esto con el fin de mejorar la productividad agrícola; los principales desarrollos se han llevado a cabo en calabazas, papayas, papas⁵⁸ ya en fase comercial, mientras que el maíz, mandioca y camotes se encuentran aún en fase experimental.⁴⁷ La expresión de este fenotipo se obtiene principalmente por inserción en la planta de genes del virus en cuestión que codifican para proteínas de la cápside.

OGMs de segunda generación

Las modificaciones de los OGMs de esta generación están enfocadas principalmente al beneficio de productores de alimentos, productores en general y consumidores finales. Éstas consisten en modificaciones o sobreexpresiones de productos de rutas metabólicas específicas con el fin de lograr los beneficios deseados. Dichos beneficios pueden ir desde modificaciones en la coloración de flores, hasta el incremento de nutrimentos específicos o la no-expresión de compuestos o proteínas indeseables en el alimento final. La gran mayoría de este tipo de OGMs aún se encuentra en fase experimental en varios países. Sin embargo, existen algunos OGMs de esta generación que ya han pasado por el proceso regulatorio y se encuentran en fases muy avanzadas en búsqueda de la aprobación comercial; se pueden mencionar, por ejemplo, la soya y la canola con elevados contenidos de ácido oleico o la canola con bajos niveles de fitatos⁵⁹ (cuadro 14.11).

Otros desarrollos aún en etapa de experimentación se enlistan a continuación:

CUADRO 14.11 Ejemplos de cultivos modificados genéticamente con fenotipos que confieren mejoras nutrimentales en alimentos y piensos

Cultivo/Especie	Fenotipo	Transgen	Referencia
Alfalfa	+Fitasa +Resveratrol Lignina ↑	Fitasa (<i>Aspergillus</i>) Glucósido de resveratrol Disminución de la expresión del ácido cafeico-3-O-metiltransferasa y cafeoil CoA 3-O-metiltransferasa	Austin-Phillips, <i>et al.</i> , 1999 Hipskind y Palva, 2000 Guo, <i>et al.</i> , 2001
Arabidopsis y tabaco	+Catecol +Fructanos	Salicilato hidroxilasa (<i>nahG</i>) 1-Sucrosa-sucrosa fructosil transferasa	Friedrich, <i>et al.</i> , 1995 Smeekens, 1997
Remolacha	Vitamina E ↑	γ -Tocoferol metil tranferasa	Shintani y DellaPenna, 1998
Canola	Ácido láurico ↑ Ácido γ -linolénico + o 3 ácidos grasos + β -caroteno	(<i>Arabidopsis</i>) Lauroil ACP tioesterasa (<i>laurel</i>) δ -6 y δ -12 desaturasas δ -6 Desaturasa (<i>Mortierella</i>) Fitoeno sintasa (<i>narciso</i>) Fitoeno desaturasa (<i>Erwinia</i>) Licopeno ciclasa (<i>narciso</i>) cDNA de la tioesterasa Ch FatB2	Del Vecchio, 1996 Liu, <i>et al.</i> , 2002 Ursin, 2000, James, <i>et al.</i> , 2003 Ye, <i>et al.</i> , 2000
	8.0 y 10.0 Ácidos grasos de cadena mediana ↑		
Cassava o yuca	Glucósidos cianogénicos ↑	Hidroxinitril liasa	Sirtunga y Sayre, 2003
Algodón	Ácido oleico ↑ Aceites de semilla de algodón altos en oleico y esteárico	δ -12 desaturasa mutante silenciamiento post-transcripcional desaturasas de hpRNA	Chapman, <i>et al.</i> , 2001 Liu, <i>et al.</i> , 2002
Café	Cafeína ↑	Gen antisentido xantosina-N-7-metil transferasa (café)	Moisyadi, <i>et al.</i> , 1998
Lupino	Metionina ↑	Albúmina de girasol	White, <i>et al.</i> , 2001
Maíz	Metionina ↑	Estabilidad de mRNA por cambio de intrón Dzr1 blanco	Lai y Messing, 2002
	Resistencia a fumonisina	desesterasa+aminasa (microbiana)	Duvick, 2001 Kramer, <i>et al.</i> , 2000
	Resistencia a insectos e Proteína con perfil de aminoácidos favorable ↑	Avidina (pollo) α -Lactoalbúmina (porcina)	Yang, <i>et al.</i> , 2002
	↑ Aminoácidos azufrados	15KDa-zeína de maíz	Dinkins, <i>et al.</i> , 2001
Maíz	Vitamina C ↑	Dehidroascorbato reductasa de trigo (DHAR)	Chen, <i>et al.</i> , 2003
Papa	Almidón ↑	ADP glucosa pirofosforilasa (<i>Escherichia coli</i>)	Stark, <i>et al.</i> , 1992
	Almidón de muy alta amilosa ↑	Inhibición de SBE A y B	Schwall, <i>et al.</i> , 2000

CUADRO 14.11 (Continuación)

Cultivo/Especie	Fenotipo	Transgen	Referencia
	Moléculas de inulina	1-SST (sucrosa-sucrosa 1-fructosiltransferasa) y el 1-FFT (fructano:fructano 1-fructosiltransferasa) genes de alcachofas (<i>Cynara scolymus</i>)	Hellwege, <i>et al.</i> , 2000
	+Proteínas ricas en azufre	Gen de albúmina de semilla no alergénica (<i>Amaranthus hypochondriacus</i>)	Chakraborty, <i>et al.</i> , 2000
Papa	Solanina ↓	Gen antisentido esterol glicol transferasa (Sgt)	McCue, <i>et al.</i> , 2003
Arroz	+ β-Caroteno	Fitoeno sintasa (daffodil) Fitoeno desaturasa (<i>Erwinia</i>) Licopeno ciclasa (daffodil)	Ye, <i>et al.</i> , 2000
	Hierro ↑	Ferritina (<i>Phasaolus</i>) Metalotionina (arroz) Fitasa (<i>Aspergillus</i> mutante)	Lucca, <i>et al.</i> , 2002
Arroz	Proteínas alergénicas ↓ + Compuestos de Puroindolinona: Grano de arroz más suave, mayor rendimiento harinero partículas más finas, menos daño al almidón.	Alérgeno antisentido 16KDa (arroz) Genes de puroindolina de trigo	Tada, <i>et al.</i> , 1996 Krishnamurty y Giroux, 2001
Sorgo	Digestibilidad mejorada en la alimentación del ganado	Gen mutante del sorgo marrón que codifica para la ácido cafeico O-metiltransferasa (COMT), una enzima productora de lignina	Vermerris y Bout, 2003
Soya	Composición mejorada de aminoácidos	Proteínas sintéticas	Rapp, 2002
	Incremento de aminoácidos azufrados	Sobreexpresión de la zeína de maíz 15 kDa	Dinkins, <i>et al.</i> , 2001
	Ácido oleico	Δ-12 Desaturasa (soya, supresión del sentido)	Kinney y Knowlton, 1998
	Ácido oleico	Disminución de la síntesis de ácidos grasos bloqueando los ARN transcritos por ribozimas	Buhr, <i>et al.</i> , 2002
	Alérgeno Inmunodominante ↓	Silenciamiento del gen de la cisteína proteasa p34 (34kDa)	Herman, 2002
Soya/Arabidopsis	Isoflavonas ↑ + Isoflavonas	Isoflavona sintasa	Jung, <i>et al.</i> , 2000
Papa dulce	Contenido de proteína ↑	Gen artificial de almacenamiento de proteína (ASP-1)	Prakash, <i>et al.</i> , 2000
Tomate	ProVitamina A y licopeno ↑ ProVitamina A ↑ Flavonoides ↑ Licopeno ↑	Licopeno ciclasa (<i>Arabidopsis</i>) Fitoeno desaturasa (<i>Erwinia</i>) Chalcona isomerasa (<i>Petunia</i>) Acumulación de poliamina manipulada	Rosati, <i>et al.</i> , 2000 Frasar, <i>et al.</i> , 2001 Muir, <i>et al.</i> , 2001 Mehta, <i>et al.</i> , 2002
Trigo	Gluteninas ↑ Ácido caféico y férilico ↑	Gen de subunidad de alto peso molecular Gen de trigo	Barro, <i>et al.</i> , 1997, Rooke, <i>et al.</i> , 1999 UPJ, 2002

Adaptado de: Chassy B., *et al.*, 2004.

14.7.1 Plantas que producen aceites modificados

Las propiedades funcionales de las grasas y aceites se encuentran determinadas principalmente por el tipo de ácidos grasos esterificados en sus triglicéridos. Los aceites que contienen principalmente ácidos grasos insaturados son líquidos y los que en su composición involucran variedades saturadas resultan ser grasas sólidas a temperatura ambiente, como sucede en la mayoría de los lípidos de origen animal. En la industria alimentaria el contenido de grasas sólidas (SFC, por sus siglas en inglés) es una de las propiedades que determina la funcionalidad de las grasas. Un elevado SFC indica una grasa sólida a temperatura ambiente, útil en la industria de la pastelería y confitería principalmente. Unos de los ácidos grasos más apreciados en este contexto es el esteárico (C18:0) que a pesar de ser saturado se le considera provechoso para la salud, y es por lo anterior que una de las estrategias más socorridas en la modificación de grasas y aceites sea la sobreexpresión de esteárico que tiene un punto de fusión de 70°C.

Otra de las propiedades más buscada en este ámbito es la estabilidad frente al deterioro. Es el número y posición de las dobles ligaduras lo que determina la estabilidad frente a la rancidez oxidativa de los lípidos, y por lo tanto su estabilidad durante la vida de anaquel y sus propiedades de cocinado, siendo los triglicéridos con ácidos grasos saturados los más resistentes al enranciamiento. La búsqueda de grasas estables ha llevado a la modificación de la posición las dobles ligaduras en los ácidos grasos naturales para evitar la presencia de dobles ligaduras no-conjugadas, que en los sistemas de pentadieno, presentes en los ácidos linoléico y linolénico, poseen un metileno flanqueado por dos dobles ligaduras, y cuyos átomos de H resultan sumamente lábiles lo que facilita la iniciación de la rancidez oxidativa.

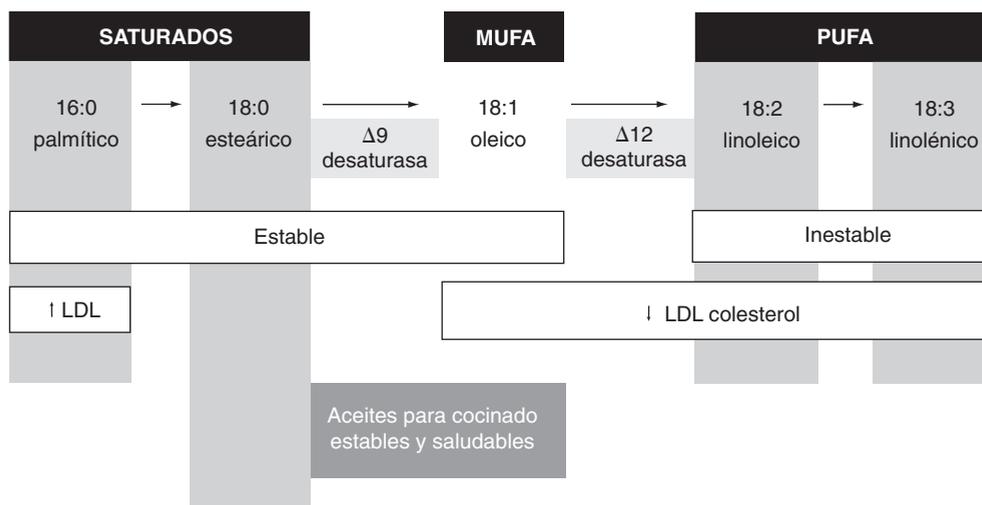


Figura 14.5 Diagrama esquemático de las rutas biosintéticas de los principales ácidos grasos saturados, monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) en semillas de oleaginosas y sus atributos nutricionales y funcionales clave. Traducido de: Liu Q., 2002.

A su vez, la composición de ácidos grasos determina el valor nutricional de las grasas y aceites comestibles, así como su impacto al estado de salud de los consumidores. Es por lo anterior que se recomienda el consumo de grasas no-saturadas a individuos con problemas cardiovasculares, ya que los ácidos grasos como el palmítico contribuyen a la elevación del colesterol sanguíneo al formar las LDLs (lipoproteínas de baja densidad) que deben ser mantenidas en niveles bajos.³⁷ Las tendencias actuales en nutrición y salud indican que los problemas cardiovasculares pueden ser mejorados si se consume una mayor cantidad de ácido oleico, como sucede en la llamada dieta “mediterránea”. Así mismo, se puede ayudar a la prevención del cáncer de mama de acuerdo con los resultados de Menéndez⁴¹ en los que demuestra que el ácido oleico es el principal compuesto que bloquea la acción del oncogen llamado HER-2/neu que ha sido encontrado en aproximadamente el 30% de pacientes con cáncer de mama. Sin embargo, es importante recordar el papel nutricional del ácido linoleico y del ácido α -linolénico, cuyo sistema de pentadienos con dobles ligaduras no-conjugadas resulta indispensable para un buen desarrollo de los seres humanos.²¹

Las tendencias actuales en este mercado buscan poner a disposición del consumidor productos con las bondades de los ácidos grasos insaturados, sin perder la textura y propiedades funcionales que proveen las grasas saturadas. Las margarinas fueron durante muchos años la respuesta a este problema. Sin embargo, a raíz de la confirmación del impacto a la salud de un alto contenido de ácidos grasos *trans* provenientes de la hidrogenación,³ se ha dado un cambio en el enfoque tecnológico. Se busca mantener la funcionalidad dada por las grasas saturadas al incrementar el contenido de ácido esteárico pero elevando el contenido de ácido oleico. De esta forma se asemeja a lo que sucede con el aceite de oliva presente en la dieta mediterránea. La solución fue modificar genéticamente las oleaginosas más comunes en el mercado: soya y canola. Normalmente la canola contiene ácido oleico en aproximadamente un 60%, mientras que la soya, que es la fuente más utilizada de aceite en el mundo sólo lo presenta en un 25% del total de sus ácidos grasos en triglicéridos. El maíz también resulta una fuente importante de aceite, que normalmente es alto en linoleico y α -linolénico, pero a pesar de ser los ácidos grasos indispensables, actualmente se modifica por ingeniería para convertirlo en algo más parecido al aceite de oliva respecto de su contenido de oleico.

La ingeniería genética también ha logrado incrementar la vida de anaquel de las grasas aunque a costa del nivel de los ácidos grasos indispensables por su alta tendencia a la rancidez: las estrategias actuales se basan en modificar los sistemas de pentadienos originales por sistemas que no contienen metilenos intermedios, que permitirían un ataque más expedito del oxígeno en las moléculas.

Hasta antes del advenimiento de la ingeniería genética agrícola las propiedades de las oleaginosas se manipulaban a través de programas de fitomejoramiento tradicional y de selección, solos o en combinación con programas de mutagénesis. A inicios de la década de 1990 se logró obtener grasas con un alto SFC y un bajo índice de rancidez al elevar el contenido de ácido esteárico bloqueando su desaturación hacia ácido oleico. En 1992 Knutzon y colaboradores³³ aislaron cDNA de una esteroil-ACP-desaturasa de *Brassica rapa*, y lograron su expresión antisentido en *B. rapa* y *B. napus*. Se redujo la actividad y la cantidad de la proteína de la desaturasa en semillas en desarrollo, lo que resultó en un dramático aumento en los niveles de esteárico en el aceite de las semillas maduras (figura 14.6).

Las principales estrategias moleculares incluyen tecnologías como el ARN antisentido para reducir los niveles de enzimas clave para la inserción de dobles ligaduras en la cadena de carbonos, con una complicación en el caso de las oleaginosas: dado que la biosíntesis de lípidos es un paso metabólico crucial para la integridad de los lípidos de las membranas de las hojas y otros tejidos, debe realizarse la modificación tejido específica para tener como blanco la semilla y no comprometer la integridad de la planta. Uno de los primeros resultados obtenidos involucró la reducción de la estea-

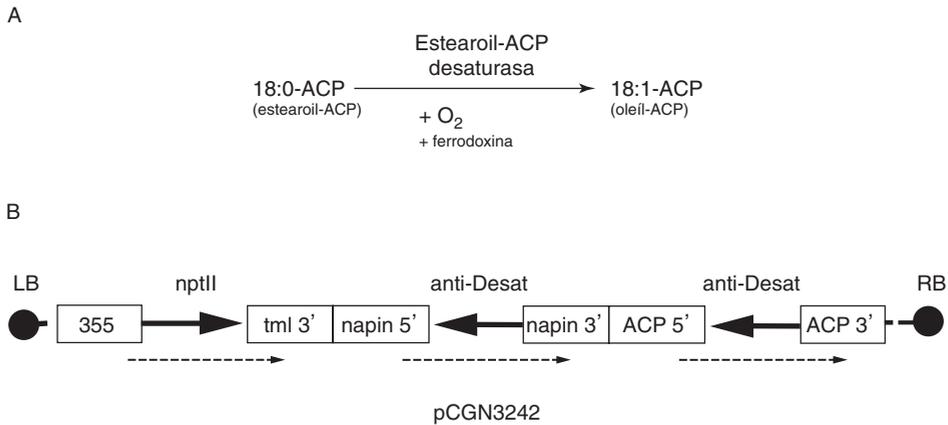


Figura 14.6 Estrategia para la inhibición antisentido de la estearoil-ACP desaturasa.

(A) Reacción catalizada por la estearoil-ACP desaturasa (2), la enzima “blanco” de la modulación antisentido. (B) Representación esquemática de la porción del ADN de transferencia (T-DNA) del pCGN3242, construcción de la estearoil-ACP desaturasa usada para transformar plantas de *B. rapa* y *B. napus*. Las flechas punteadas indican la dirección de la transcripción de la neomicin fosfotransferasa (nptII) y los genes antisentido de estearoil-ACP desaturasa (anti-Desat); las flechas sólidas indican la orientación 5' 3' de las secuencias codificantes dentro de las unidades de expresión. La frontera izquierda (LB) y la derecha (RB) para el t-DNA, así como el gen quimérico 35S-nptII-tml usado como gen marcador para la transformación se derivan del vector binario pCGN1557 (3). Fuente: Knutzon, *et al.*, 1992.

roil-acil-ACP-desaturasa (donde ACP = Acyl Carrier Protein) en semillas. Esta enzima cataliza el primer paso de desaturación en la biosíntesis del aceite en semillas, convirtiendo el estearoil-ACP a oleil-ACP, obteniendo aceites altos en esteáricos con un mayor SFC.

Las otras enzimas que se manipulan en las grasas son las desaturasas, también llamadas delta desaturasas si se usa el sistema de nomenclatura de ácidos grasos que considera como número 1 al carbono carboxílico; en este sistema el ácido oleico es el C18^{Δ9}. Estas enzimas asociadas a la membrana pertenecen al metabolismo de aceites en semillas en desarrollo y catalizan la introducción de dobles ligaduras en las cadenas de los ácidos grasos de forma secuencial. Kinney²⁸ describió el proceso y fueron identificadas dos desaturasas importantes: la delta-12 (d-12) codificada por el gen *GmFad2-1*²² que añade al oleico una segunda doble ligadura en la posición 12, y la delta-15 (d-15) codificada por el gen *GmFad3*,⁵⁶ que genera el linolénico.

Se ha logrado reducir el contenido de aceites poliinsaturados mediante el silenciamiento del gen *GmFad2-1* que codifica para la desaturasa d-12 (figura 14.8).

Al bloquear el gen que expresa la d-12 se evita la formación de la mayoría de los ácidos poliinsaturados en la semilla, aunque se sigue produciendo alrededor de un 5% por catálisis de enzimas en plástidos o por la enzima constitutiva *GmFad2-2*²⁹ (figura 14.7). Se ha logrado exitosamente la sobreexpresión de la Δ-12 desaturasa (*GmFad2-1*) en soya, para disminuir el contenido de oleico hasta un 5% y también al ser insertado este sistema de silenciamiento en canola se logró reducir el contenido de oleico hasta 30%.⁵⁵ En la figura 14.9 se ilustra el modelo de flujo de la síntesis de triglicéridos en semillas de canola en desarrollo a 30 días de la floración.

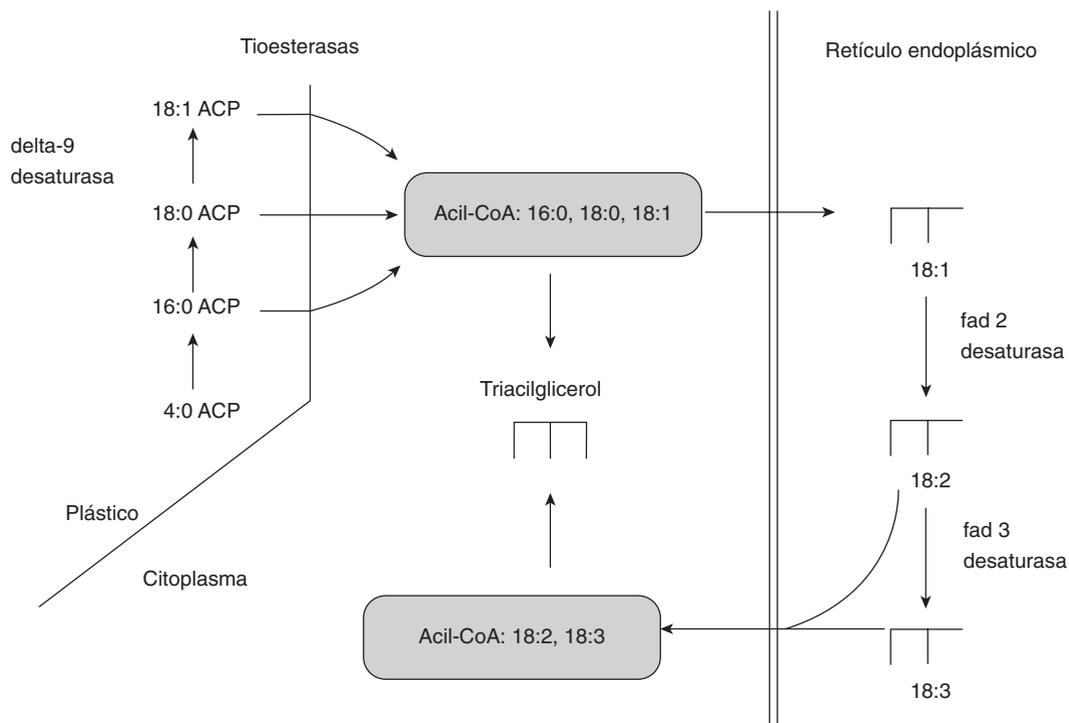


Figura 14.7 Biosíntesis de aceite en semillas de oleaginosas en desarrollo. Fuente: Kinney y Knowlton, 1998.

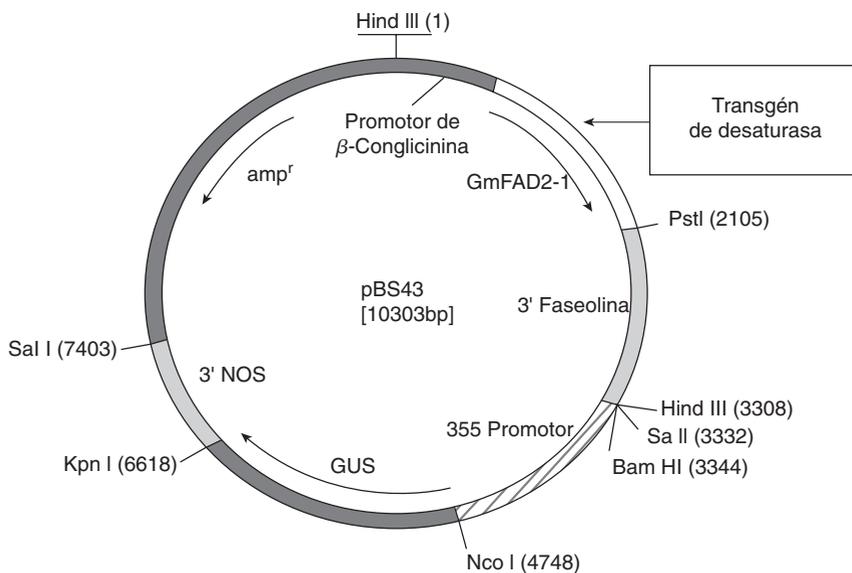


Figura 14.8 Vector de ADN usado para transformar soja con el gen *GmFad2-1*. Biosíntesis de aceite en semillas de oleaginosas en desarrollo. Fuente: Kinney y Knowlton, 1998.

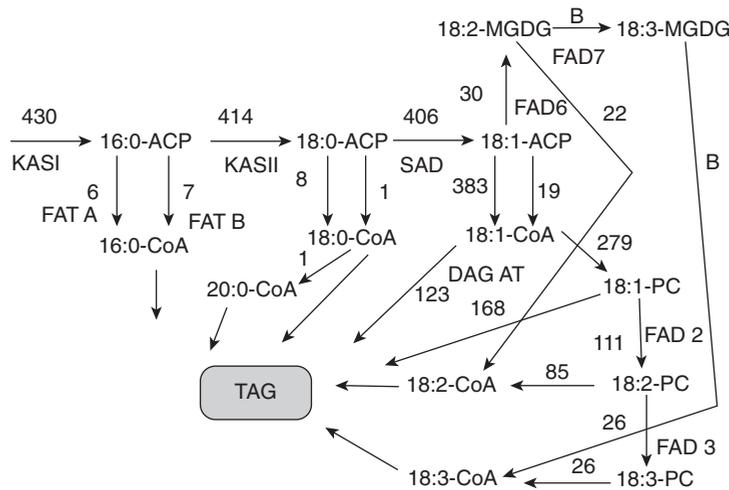


Figura 14.9 Modelo de flujo de síntesis de triglicéridos en semillas de canola (a 30 días de floración). Fuente: Kinney, *et al.*, 2002.

Debido a la complejidad de las rutas metabólicas involucradas (figura 14.9), las estrategias utilizadas no se dominan aún del todo, principalmente debido a los flujos en la red de enzimas de cada especie, que además cambian dependiendo de la etapa de desarrollo de los tejidos. De hecho, incrementar la expresión de una de ellas no garantiza que se produzca una sobreexpresión del ácido graso de interés, a pesar de que la tecnología permita actualmente expresar niveles confiables de ARNm y manipular el silenciamiento de enzimas de una forma más precisa.^{30, 38}

Asimismo, las técnicas de silenciamiento utilizando ARN de interferencia, que normalmente ocurre en plantas y está mediado por la degradación secuencia-específica de ARN_{ds}, son sumamente poderosas.⁵¹ Con esta técnica se utilizan secuencias repetidas invertidas que al ser diseñadas específicamente, con regiones autocomplementarias que producen de manera confiable transcritos en forma de horquillas de ARN (hpARN) provocan la degradación secuencia-específica del ARN, dirigida a la región de doble hebra del hpARN y a las moléculas homólogas endógenas de ARN. Al utilizar una secuencia parcial de un gen endógeno en las regiones repetidas invertidas de la construcción, se obtiene un alto nivel de silenciamiento de la expresión del gen blanco. Con este sistema se ha logrado disminuir la expresión del gen de la Δ -12 desaturasa (*FAD2*), el *ghSAD-1* y *ghFAD2-1* en algodón, que codifican la estearoil-ACP Δ 9-desaturasa³⁶ y la ω 6 desaturasa microsómica también conocida como Δ 12-desaturasa, respectivamente, que son las enzimas clave para la modificación de aceites³⁵ (figura 14.10).

Otra aplicación útil en la industria es la modificación del aceite de colza (*Brassica rapa*) para la elevación del ácido láurico (12C) en triglicéridos¹¹ para sustituir las aplicaciones en alimentos del aceite de palma. En este caso los genes insertados y expresados de una tioesterasa provienen del laurel de California. Los triglicéridos resultantes contienen al láurico en las posiciones 1 y 3 con un saturado de 18C en la posición media, que al hidrogenarse produce siempre triglicéridos LSL. La ventaja tecnológica es que estos LSL (triglicérido que contiene láurico esteárico láurico en las posiciones 1, 2 y 3 respectivamente) tienen un SFC similar a la manteca de cacao y pueden sustituirla en

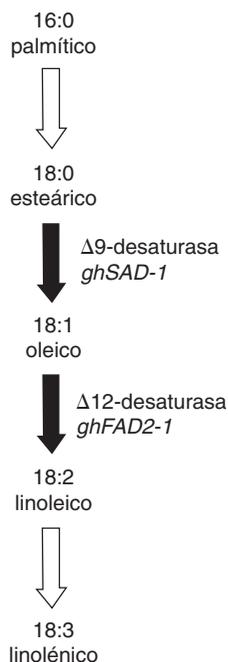


Figura 14.10 Representación diagramática de las rutas biosintéticas de ácidos grasos en algodón.

aplicaciones de confitería, mas no proveen de los precursores necesarios para desarrollar el aroma a chocolate.

El éxito de las estrategias anteriores abrió paso al uso comercial del aceite de soya GM que es la especie más manipulada en este ámbito, seguida por la canola así como también a fuentes menos comerciales como son algodón y maíz. Soya y canola son cultivos de climas templados, lo que ha permitido sustituir importaciones de aceite de palma y otros aceites producidos en climas tropicales a los países desarrollados con lo que se impulsa la producción de aceites modificados a gran escala, en un mercado internacional que en el rubro de aceites de origen vegetal manejó en el año 2003 a nivel global 403,079 toneladas métricas, lo que equivale a un valor de 553,000 millones de dólares¹³ e incluye a fuentes menos comerciales como son algodón y maíz. Estas cifras hacen de la modificación genética de oleaginosas un área promisoría. Aunque estas aplicaciones, que de alguna manera independizan al productor de las importaciones, son criticadas porque no promueven la conservación de empleos y el uso de las fuentes tradicionales en poblaciones como Filipinas en donde sucedió una serie de problemas económicos al sustituirse estas fuentes de grasa.

14.7.2 Papas GM

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es un cultivo importante para la alimentación humana, ocupa el cuarto lugar a nivel mundial como cultivo básico. El mercado estadounidense de este cultivo representa ganancias por 27,000 millones de dólares, de los cuales el 50% provienen del mercado de las papas a la francesa⁵³ y ocupa un porcentaje importante de la superficie cultivable.

CUADRO 14.12 Superficie sembrada y producción de papa en México, Estados Unidos y a nivel mundial

Superficie cultivada (ha)	2002			2003			2004		
	2002	2003	2004	Producción (ton)	2002	2003	2004		
Mundo	19,071,787	18,956,796	18,630,196	Mundo	316,671,373	315,478,323	327,624,417		
México	62,448	68,810	68,810	México	1,483,500	1,734,809	1,734,810		
Estados Unidos	514,080	505,300	472,480	Estados Unidos	20,856,270	20,766,100	20,680,770		

Fuente: FAOSTAT, 2005.

El proceso de mejoramiento tradicional de papa siempre ha sido muy largo debido a la alta heterogeneidad genética de este cultivo, sin embargo, es una de las plantas que más fácilmente se manejan en cultivo de tejidos, permitiendo a los fitomejoradores mantener líneas “puras” y altamente estables que conservan las características agronómicas y de calidad de interés. Esta ventaja metodológica permitió a los investigadores experimentar muy pronto con el objeto de insertar genes foráneos a esta solanácea; el método más usado de transformación es el mediado por *Agrobacterium*. El primer reporte de una papa transgénica fue en 1986, y para 1995, Estados Unidos ya había concedido los permisos para uso a nivel comercial de la papa NewLeaf™, perteneciente a Monsanto.⁵³ Esta marca comercial incluye los siguientes eventos de transformación BT6, BT10, BT12, BT16, BT17, BT18 y BT23.⁵⁸ Estas papas GM adquirieron la característica de ser resistentes al ataque de una plaga de coléopteros (*Leptinotarsa decemlineata*, Say), debido a la expresión de la proteína *Cry3A* de *Bacillus thuringiensis*.

Actualmente, la única variedad que sigue vigente en el mercado es la denominada BT16, las demás fueron discontinuadas por la propia empresa. Posteriormente, la compañía desarrolló nuevas versiones de papas GM, poniendo énfasis en otras plagas y, por supuesto, empleando nuevos genes; adicionaron la resistencia a los virus PVY y PVLR que atacan a la planta.

CUADRO 14.13 Eventos de transformación en papa en fase comercial

Evento	Descripción	Marca comercial
ATBT04-6, ATBT04-27, ATBT04-30, ATBT04-31, ATBT04-36, SPBT02-5, SPBT02-7	Papas resistentes a la catarinita mediante la inserción del gen <i>Cry3A</i> de <i>Bacillus thuringiensis</i> (subsp. Tenebrionis).	Atlantic y Superior NewLeaf®
BT6, BT10, BT12, BT16, BT17, BT18, BT23	Papas resistentes a la catarinita mediante la inserción del gen <i>Cry3A</i> de <i>Bacillus thuringiensis</i> (subsp. Tenebrionis).	Russet Burbank NewLeaf®
RBMT15-101, SEMT15-02, SEMT15-15	Papas resistentes a la catarinita y al virus PVY mediante la inserción del gen <i>Cry3A</i> de <i>Bacillus thuringiensis</i> (subsp. Tenebrionis) y el gen de la proteína de la cápside del virus Y.	NewLeaf® Y
RBMT21-129, RBMT21-350, RBMT22-082	Papas resistentes a la catarinita y al virus del enrollado de hoja (PLRV) mediante la inserción del gen <i>Cry3A</i> de <i>Bacillus thuringiensis</i> (subsp. Tenebrionis) y el gen de la replicasa del virus.	Russet Burbank NewLeaf® Plus

Fuente: <http://www.agbios.com/dbase.php>

El mercado de las papas es muy amplio, puesto que son empleadas para consumo en fresco, congeladas en rebanadas a la francesa, en hojuelas para botanas fritas, en purés deshidratados, los almidones se emplean en la industria alimenticia como espesantes y panadería, entre otros. Debido al interés de mejorar las características industriales deseadas, las modificaciones genéticas de este cultivo se han ampliado. Existen algunos ejemplos de modificaciones de segunda generación que se describirán a continuación.

14.7.2.1 Desarrollo de papas GM para la obtención de harinas con mejores propiedades viscoelásticas

La harina de papas convencionales forma una masa poco viscoelástica que disminuye sus oportunidades de aplicación en la industria alimenticia, por lo que aumentar sus capacidades viscoelásticas resulta una modificación interesante para potenciar su explotación. Para lograrlo, en el grupo de Benmoussa⁴ abordaron la estrategia de insertar en el genoma de la papa el gen de la glutenina de bajo peso molecular del trigo (LMW-GS-MB1), con el fin de producir macromoléculas con estructuras de redes similares a las del gluten de trigo, que justamente confieren las características viscoelásticas de las masas para pan. Emplearon una construcción con promotores endógenos de papa y marcadores de selección de resistencia a kanamicina.

Después de la transformación se seleccionaron tres líneas transgénicas que mostraron presencia de los insertos y expresión de la proteína. De estas líneas se obtuvieron harinas y se emplearon para pruebas de viscosidad, lo que dio como resultado incrementos de valores de viscosidad muy considerables para las líneas transgénicas.⁴

Los autores concluyen su trabajo exponiendo que si se insertaran simultáneamente los genes de trigo LMW-GS y HMWGS que codifican para las proteínas glutenina de bajo y alto peso molecular respectivamente, se obtendrían polímeros de gluten más largos con mejor comportamiento viscoelástico.

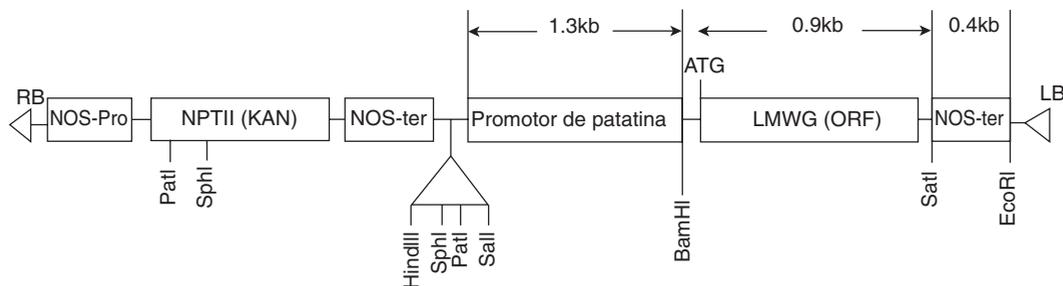


Figura 14.11 Mapa de la construcción empleada para la obtención de papa con elevadas propiedades viscoelásticas. Tomada de Benmoussa M. *et al.*, 2004.

14.7.2.2 Obtención de papas con alto contenido de almidón

El objetivo de este desarrollo se enfocó en incrementar los contenidos de almidón en el tubérculo de la papa. La estrategia abordada por el grupo de Regierer,⁵⁰ consistió en modificar la actividad de la adenilato cinasa, insertando el gen StpADK en antisentido con el fin de promover la acumulación de almidón.

Posterior a la transformación, probaron tres líneas genéticamente modificadas y se obtuvieron elevadas concentraciones de almidón, mayor número de tubérculos y tubérculos más grandes.

CUADRO 14.14 Rendimiento, número de tubérculo, densidad y rendimiento de almidón por planta de las transformantes antisentido StpADK ^a					
Parámetro	WT	Prueba en invernadero (1999)			
		ADK-20	ADK-4	ADK-2	ADK-24
Rendimiento total de tubérculo	309 ± 37	287 ± 28	327 ± 41	366 ± 19	541 ± 57
Número de tubérculos	8.3 ± 1.0	7.2 ± 1.4	10.4 ± 0.9	11.9 ± 2.1	16.6 ± 3.3
Densidad específica	1.087 ± 0.005	1.091 ± 0.007	1.093 ± 0.003	1.096 ± 0.002	1.099 ± 0.010
	WT(1)	Prueba de campo (2001)			
		WT(2)	ADK-20	ADK-4	ADK-24
Rendimiento total de tubérculo	867 ± 81	1310 ± 103	1460 ± 74	1486 ± 54	1596 ± 97
Número de tubérculos	7.9 ± 0.8	11.1 ± 0.9	11.2 ± 0.3	10.6 ± 0.4	7.9 ± 0.5
Densidad específica	1.072 ± 0.001	1.072 ± 0.002	1.080 ± 0.003	1.081 ± 0.003	1.081 ± 0.002
Almidón (g/planta)	106 ± 11	151 ± 19	202 ± 10	209 ± 9	224 ± 17

^a Las plantas de papa se cultivaron en invernadero en macetas de 2L o bajo condiciones de campo en Golrn, Alemania. En ambos casos las determinaciones se llevaron a cabo en plantas en plena senescencia. Fuente: Regierer, 2002.

Otros desarrollos de segunda generación incluyen la intención de obtener papas con elevada calidad proteínica mediante la expresión de proteínas de amaranto,⁶ con elevado contenido de carotenoides y luteína,¹² papas con elevado contenido de flavonoides,³⁹ o incluso con altos contenidos de calcio.⁴⁸ Con estos ejemplos se puede observar que el interés actual está puesto en beneficiar a los productores de alimentos y a los consumidores finales.

14.8 OGMs DE TERCERA GENERACIÓN

Estos OGMs están diseñados principalmente para obtener productos de interés industrial (no alimenticios) o vacunas orales, y se emplean cultivos como el maíz (principalmente), soya, algodón y algunos otros en menor proporción. Los productos finales son fármacos o compuestos químicos de alto valor agregado para la industria química, como son aceites industriales no comestibles, bio-plásticos,

precursores de fármacos, vacunas humanas y animales purificables a partir del cultivo, así como vacunas humanas orales, entre otros. La superficie sembrada de estos materiales de especialidad es muy pequeña comparada con los desarrollos de primera o incluso de segunda generación, debido a que muchos de ellos se encuentran aún en fase experimental, aunque también se debe a que con muy pocas hectáreas sembradas de estas nuevas variedades se puede obtener una elevada ganancia económica por el alto valor agregado de los productos derivados de la modificación genética.¹ El desarrollo de estos OGMs no está dirigido a la alimentación humana, sin embargo, deben ser considerados en este respecto ya que representan uno de los riesgos potenciales más reconocidos de la modificación genética puesto que durante su cultivo o manejo siempre existe el riesgo de que se mezclen con las variedades de primera generación o convencionales que son vendidas principalmente a granel en el mercado mundial, o en el peor de los casos, que causen flujo génico, razón por la cual el maíz que es una planta de polinización abierta no es recomendable por tener un potencial más alto para el escape de genes.

En el siguiente cuadro (cuadro 14.15) se enlistan algunos ejemplos de los cultivos modificados que producen vacunas.

CUADRO 14.15 Proteínas con aplicaciones para vacunas humanas o animales expresadas en plantas transgénicas				
Origen de la proteína y especie blanco para la vacuna	Proteína o péptido expresado	Planta	Nivel máximo de expresión registrado en la planta	Integridad, inmunogenicidad y capacidad protectora de la vacuna
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Tabaco	< 0.01% PTS	La proteína intacta forma multímeros y es inmunogénica por administración oral
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Papa	0.19% PTS	Actividad inmunogénica, protectora y de unión al receptor por administración oral
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Maíz	No registrado	Inmunogénica y protectora por administración oral
<i>Vibrio cholerae</i> (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Papa	0.30% PTS	La proteína intacta forma multímeros, tiene actividad de unión al receptor y es inmunogénica y protectora por administración oral
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Tabaco	< 0.01% PTS	Forma partículas tipo virus y la proteína extraída es inmunogénica por administración por inyección
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Papa	< 0.01% PF	Inmunogénica por administración oral

CUADRO 14.15 (Continuación)				
Origen de la proteína y especie blanco para la vacuna	Proteína o péptido expresado	Planta	Nivel máximo de expresión registrado en la planta	Integridad, inmunogenicidad y capacidad protectora de la vacuna
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Lupino (<i>Lupinus</i> spp.)	< 0.01% PF	Inmunogénica por administración oral
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Lechuga	< 0.01% PF	Inmunogénica por administración oral
Virus de Nonvák (para humano)	Proteína de la cápside	Tabaco	0.23% PTS	Forma partículas tipo virus, inmunogénica por administración oral
Virus de Nonvák (para humano)	Proteína de la cápside	Papa	0.37% PTS	Forma partículas tipo virus, inmunogénica por administración oral
Virus de la rabia (para humano)	Glicoproteína	Tomate	1.00% PTS	Proteína intacta
Citomegalovirus humano (para humano)	Glicoproteína B	Tabaco	< 0.02% relacionada	Proteína inmunológicamente
Virus hemorrágico de conejos (para conejos)	VPGO	Papa	0.30% PTS	Inmunogénica y protectora por administración por inyección
Virus de fiebre aftosa (para animales de granja y domésticos)	VP1	Arabi-dopsis	No registrado	Inmunogénica y protectora por administración por inyección
Virus de fiebre aftosa (para animales de granja y domésticos)	VP1	Alfalfa	No registrado	Inmunogénica y protectora por administración por inyección o por vía oral
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Arabi-dopsis	0.06% PTS	Inmunogénica y protectora por administración por inyección
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Tabaco	0.20% PTS	Proteína intacta e inmunogénica por administración por inyección
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Maíz	< 0.01% PF	Protectora por administración por vía oral

Fuente: Gómez Lim, 2001.

14.9 ANIMALES DOMÉSTICOS GM

En términos de producción alimenticia, la aplicación de la biotecnología moderna en la manipulación genética de animales domésticos se divide en dos áreas principales: producción animal y nutrición humana.

14.9.1 Peces

La creciente demanda proyectada y la sobreexplotación de la pesca sugiere que los peces GM pueden tornarse importantes tanto en países desarrollados como en países en desarrollo. Es posible que el salmón del Atlántico con un desarrollo acelerado, que contiene un gen de la hormona de crecimiento del salmón Chinook, sea el primer animal GM en el mercado de alimentos.¹⁴ Este pez crece de tres a cinco veces más rápido que sus contrapartes no transgénicos, lo que reduce el tiempo de producción y aumenta su disponibilidad como alimento. Por lo menos otras ocho especies de peces de criadero se han modificado genéticamente, para aumentar su crecimiento. Otros peces en los cuales se introdujeron en forma experimental hormonas de crecimiento son: la carpa, la trucha arco iris, la tilapia y el siluro.² En todos los casos, los genes de la hormona de crecimiento provienen de peces. Para encarar algunos de los problemas prácticos de la acuicultura, las investigaciones se enfocan a mejorar la resistencia a enfermedades mediante la producción del salmón del Atlántico con ADNc de lisozima de la trucha arco iris. La lisozima tiene propiedades antimicrobianas contra patógenos como *Vibrio*, *Aeromonas* y *Yersinia*. Se está investigando otro tipo de proteína antimicrobiana, la cecropina del gusano de seda en el siluro. Esto mejoraría la resistencia del siluro a enfermedades como la septicemia entérica. La cría de especies de peces carnívoros como la trucha y el salmón produjeron pesca excesiva de anguilas de arena y capelán que son los alimentos naturales para estos peces. Para manejar este problema, se busca en el laboratorio alterar el metabolismo de estas especies mejorando su digestión de carbohidratos para permitir un cambio a una dieta más rica en vegetales.

La falta de tolerancia al frío en las especies nativas de aguas templadas como carpa y tilapia producen pérdidas significativas de reservas en invierno. El trabajo en esta área sugiere alterar la conformación molecular de los lípidos, aumentando así la fluidez de las membranas, y para extender el rango geográfico de la cría de peces se transfiere un gen anticongelante de una especie de pez de aguas frías a la especie de interés de aguas templadas. Si bien se han producido cepas de salmón del Atlántico resistentes al congelamiento, el nivel de proteína anticongelante secretada por el salmón no fue suficiente para tener un impacto significativo en el punto de congelación de la sangre.

Aún se están discutiendo los temas involucrados en la identificación de peligros y la evaluación de riesgos que podrían estar asociados con la liberación de peces GM ya que se les considera como especies invasoras o exóticas por las características que adquieren y porque pueden ahora sobrevivir en ecosistemas donde antes era imposible.¹⁴ Una de las soluciones que se implementa es la producción de peces GM que son triploides y por lo tanto estériles, para minimizar el riesgo de que transfieran su material genético en el ambiente donde existen poblaciones silvestres con las que competirían. Aunque se propone que se críen en estanques contenidos, no se descarta la posibilidad de un accidente que produzca su liberación al ambiente y que puedan escaparse a un ecosistema donde pongan en peligro el equilibrio ecológico porque estas especies GM crecen verdaderamente rápido y pueden convertirse en una especie introducida depredadora, de otras o de su misma especie.

14.9.2 Ganado y aves de corral

Los alimentos derivados del ganado y las aves de corral GM están lejos de ser usados comercialmente. Se han introducido varios genes novedosos para aumentar el crecimiento en cerdos que también tienen impacto en la calidad de la carne, es decir, la carne es más magra y tierna.¹⁴ Esta investigación se inició hace más de una década, pero debido a ciertos efectos morfológicos y fisiológicos desarrollados por los cerdos, los mismos no han sido comercializados.

Se han propuesto modificaciones en la leche para expresar en ella proteínas heterólogas o bien para manipular las proteínas endógenas. Para lograrlo es necesario modificar a los animales para que en las glándulas se secrete leche con mayores niveles de caseína. El uso de dicha leche rica en proteínas aumentaría la eficiencia de la producción de queso. Asimismo, la reducción de lactosa con la intención de lograr leche apta para el consumo de individuos con intolerancia ha resultado exitosa cuando se logra la cosecreción de leche y lactasa.

Otras aplicaciones de la modificación genética en la producción animal, que se encuentra en etapas tempranas de investigación y desarrollo, incluyen mejorar la resistencia a enfermedades, aumentar tasas de natalidad en ovejas, alterar la proporción de sexos de las aves de corral y mejorar su producción de huevos creando dos ovarios activos, y mejorar la conversión del alimento en cerdos favorables para el medio ambiente que excretan menos fósforo. La mayor parte de este trabajo es todavía experimental y por lo tanto, los tiempos estimados para las posibles introducciones comerciales de cualquiera de estas aplicaciones no están disponibles.

14.10 MODIFICACIONES DE INTERÉS PARA PRODUCTORES Y PARA EL CONSUMIDOR

Es bien conocido que el consumo de soya produce flatulencia, en muchas personas, debido a su contenido de oligosacáridos que pasan intactos a la parte baja del intestino y allí la flora sí los degrada produciendo metano, H₂ y otros subproductos de la fermentación, lo que causa molestos síntomas. Esto limita el consumo de productos no sólo de soya, sino de otras leguminosas como el frijol. La posible solución es la transformación de bacterias lácticas (*Lactococcus lactis*) con la enzima α -galactosidasa de *Lactobacillus plantarum* ATCC8014. Actualmente los autores de esta investigación evalúan la eficiencia de la biotransformación de rafinosa y estaquiosa en leche de soya con estos microorganismos GM o *in situ* en la porción alta del tracto gastrointestinal de animales al administrar oralmente un preparado de probióticos GM.³⁴

La industria vitivinícola es, como la cervecera, una industria tradicionalista, en la que es difícil introducir organismos novedosos o modificados genéticamente. Sin embargo, la investigación para modificar genéticamente algunas levaduras ha producido resultados interesantes. Respecto del mejoramiento de las propiedades sensoriales de las bebidas alcohólicas, Ganga¹⁸ y colaboradores construyeron una cepa recombinante que expresaba el gen de la β -(1,4)-endoxilanas de *Aspergillus nidulans* bajo el control de un promotor del gen de actina de levadura que lograba incrementar el aroma frutal y fue posible detectarlo organolépticamente en el vino producido con la cepa recombinante.

La industria del sake también podría beneficiarse de construcciones como las reportadas por Hirosawa,²⁴ acerca de una levadura “autoclonaible” que sobreexpresaba el gen ATF1 que codifica para el alcohol acetiltransferasa que mejora el perfil de sabor del sake.

En cuestiones del uso de nutraceuticos para mejorar la salud, el resveratrol (cuadro 14.11) es un compuesto fenólico responsable de parte de las bondades del vino tinto en la llamada “dieta mediterránea” y que resulta interesante añadirlo en vinos que no lo contienen como el vino blanco, o en otros productos alimenticios. González-Candelas²⁰ reportó el uso de levaduras recombinantes que expresaban el gen *abfB* de *Aspergillus* para alfa-L-arabinofuranosidasa, o bien el gen *bgIN* de *Candida molischiana* que codifica para la beta-glucosidasa. Los vinos fermentados con las cepas recombinantes mostraron un incremento total de resveratrol y derivados, especialmente de sus formas no-glicosiladas.

14.11 POSIBLES IMPACTOS EN LA SALUD HUMANA Y ANÁLISIS DE RIESGO

El empleo de la tecnología de los OGMs en la alimentación, puede acarrear beneficios indirectos, a la salud humana, claramente definidos cuando se trata de variedades que por la modificación genética son resistentes a insectos o a plagas y enfermedades por lo que no se rocían de insecticidas químicos o funguicidas; es debido a la disminución del uso de esas sustancias químicas potencialmente tóxicas en las prácticas agrícolas tradicionales que los OGMs se consideran parte del manejo moderno de la producción agrícola y pecuaria, y la sostenibilidad de los cultivos, haciéndolos sumamente atractivos.^{47, 8}

Pero de todas formas dado que en el alimento GM se están expresando proteínas heterólogas es necesario llevar a cabo una evaluación del potencial alergénico, y de la posibilidad de que sucedieran efectos pleiotrópicos en las plantas que pudieran generar una elevación, por ejemplo, en los alcaloides naturales del alimento, o bien cambiar significativamente sus niveles de nutrimentos importantes como vitaminas o minerales. Los sistemas internacionales que vigilan la inocuidad de los alimentos GM (*Principios del Codex Alimentarius*)^{9, 14} entraron en vigor en 2003. La consulta de expertos del 2003 presentó también un esquema del desarrollo del proceso de evaluación de riesgos (figura 14.12).

Existe un concepto acuñado en la OCDE, la FAO y la OMS que permite comparar el producto GM con el producto convencional que se considera como un alimento seguro: se trata de la “equivalencia substancial”.⁴⁶ Este concepto sugiere que los alimentos GM pueden ser considerados tan inocuos como los convencionales cuando sus componentes toxicológicos y nutricionales clave sean comparables, tomando en consideración la variabilidad natural, y cuando la propia modificación genética sea considerada como inocua. El concepto en sí, ha sido criticado⁴² principalmente porque los análisis tradicionales de alimentos fueron diseñados para conocer la composición “macro” de los alimentos y en algunos casos se analizan trazas de minerales y de vitaminas, pero no es suficiente para descubrir cambios menores en la composición de proteínas que podrían causar alergenicidad en el producto alimenticio. Las evaluaciones de riesgos a las que deben someterse estos alimentos y que son las que se requieren para las autorizaciones comerciales en los países que los importan se basan en el análisis de una gran cantidad de información y de los reportes de los experimentos llevados a cabo por los desarrolladores en los que prueban la inocuidad, enfocándose primordialmente a las pruebas de toxicidad y alergenicidad. En el cuadro 14.16 se presenta una lista parcial de las pruebas toxicológicas efectuadas a los alimentos GM desarrollados en distintos países que da una buena idea de la variedad de información científica a considerar. El equipo de evaluación de riesgos debe ser multidisciplinario para poder decidir cuál es el nivel de riesgo potencial que el alimento podría im-

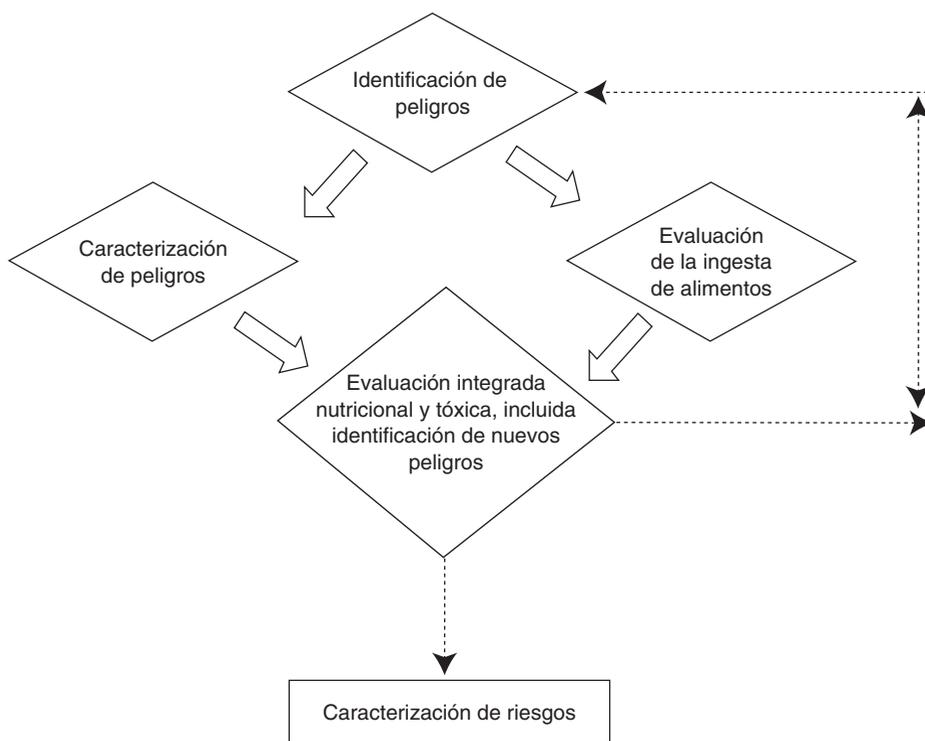


Figura 14.12 Reseña esquemática del proceso de evaluación de riesgos. Fuente: FAO/WHO, 2003.

poner a un ser humano normal (cuadro 14.16). Debe considerarse también el nivel de exposición al alimento y la forma en que se prepara, lo que varía de país a país.^{5, 10} El caso del maíz transgénico en México es crítico, ya que el país es centro de origen y diversificación del cultivo, por lo que el riesgo de flujo génico y la posibilidad del escape de genes es real si se cultiva en el territorio nacional. Adicionalmente, en México, una gran proporción del maíz se destina a consumo humano, cosa que no sucede en los países donde se han desarrollado las variedades comerciales que se destinan para el procesamiento o para consumo animal, por lo que debe hacerse una evaluación rigurosa, con expertos nacionales que consideren lo anteriormente descrito.^{49, 17}

El enfoque más moderno para el análisis de riesgos se apoya en las herramientas actuales asociadas a la genómica que desembocan en un análisis de la misma, pero desde el punto de vista funcional, es decir, que se analiza en específico la expresión génica que es la que da lugar al conjunto de proteínas que componen el material GM y que justamente es lo que se desea modificar con la manipulación. Una vez insertadas estas nuevas proteínas en el metabolismo del OGM, se estudian los productos metabólicos modificados a raíz de los cambios acarreados en las proteínas expresadas. El estudio (denominado metabolómica) es complejo y requiere contar con las variedades originales no manipuladas del hospedero, y aplicar las herramientas analíticas como la cromatografía líquida asociada a resonancia magnética nuclear y la cromatografía de gases, con la espectroscopia de masas para poder descifrar qué sustancias nuevas se han generado en el nuevo organismo que pudieran afectar la salud humana o animal (ver figura 14.13).

CUADRO 14.16 Estudios de toxicidad llevados a cabo con cultivos GM

Cultivo	Fenotipo	Especie	Duración	Pruebas efectuadas
Semilla de algodón	Endotoxina Bt (<i>Bacillus thuringiensis</i>)	Rata	28d	Peso corporal Conversión de alimento Histopatología de órganos Química sanguínea
Maíz	Endotoxina <i>Cry9C</i> (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>)	Humanos		Reactividad de suero de pacientes alérgicos-maíz GM
Maíz	Endotoxina <i>Cry9C</i> (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>)	Ratas y ratones	91d	Peso corporal Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología de órganos relacionados al sistema inmune Niveles de IgE, IgG, e IgA en suero
Papa	Lectina (GNA)	Ratas	10d	Histopatología de intestinos
Papa	Endotoxina <i>CryI</i> (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i> HD1)	Ratón	14d	Histopatología de intestinos
Papa	Glicinina de soya (<i>Glycine max</i>)	Rata	28d	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología de hígado y riñón
Arroz	Glicinina de soya (<i>Glycine max</i>)	Rata	28d	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología de hígado y riñón
Arroz (también probaron mutagenicidad)	Fosfinotricin acetiltransferasa (<i>Streptomyces hygroscopicus</i>)	Ratas, ratón	Aguda y 30d	Consumo de alimento Peso corporal Dosis letal media Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología
Soya GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (<i>Agrobacterium</i>)	Rata, ratón	105d	Consumo de alimento Peso corporal Histopatología de intestinos y del sistema inmune Niveles de IgE, IgG e IgA en suero.
Soya GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (<i>Agrobacterium</i>)	Humanos		Reactividad con suero de pacientes alérgicos a soya

CUADRO 14.16 (Continuación)				
Cultivo	Fenotipo	Especie	Duración	Pruebas efectuadas
Soya GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (<i>Agrobacterium</i>)	Rata	150d	Química sanguínea Composición de orina Actividad de enzimas hepáticas
Soybean	Albúmina 2S de la nuez del Brasil (<i>Bertholetta excelsa</i>)	Humanos		Reactividad con suero de pacientes alérgicos a nuez del Brasil.
Tomate	Cr1Ab endotoxina (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	Rata	91d	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología
Tomate	Poligalacturonasa en antisentido (tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>))	Rata	28d	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematocrito Peso de órganos Histopatología

Adaptado de: Chassy B., et al., 2004.

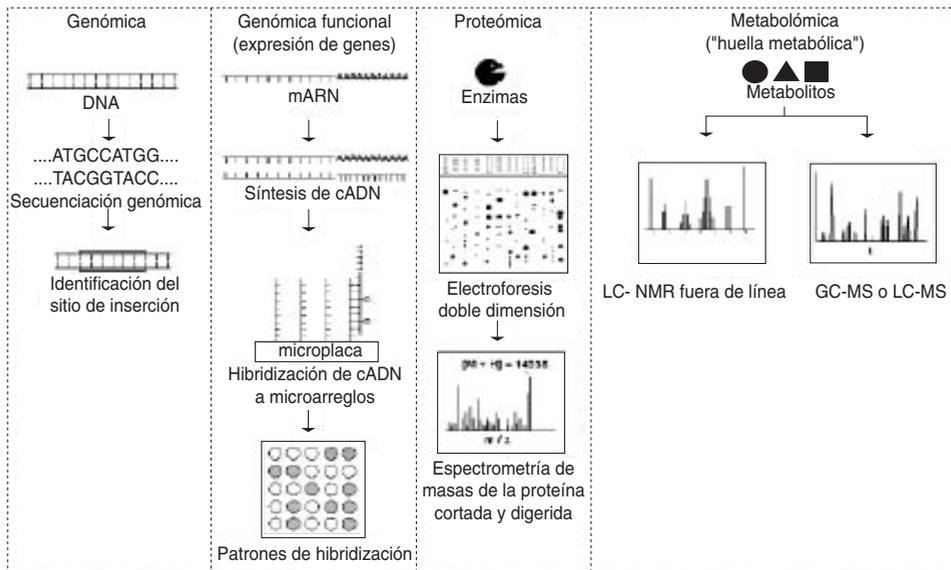


Figura 14.13 Ejemplos de las técnicas para perfilar las sustancias presentes en las células a distintos niveles de organización: genoma [ADN] (genómica), transcriptoma [mARN] (genómica funcional), proteoma [proteínas incluyendo enzimas] (proteómica) y metaboloma [sustancias químicas incluyendo metabolitos] (metabolómica). Abreviaturas: GC = cromatografía de gases, LC = cromatografía líquida, NMR = resonancia magnética nuclear, MS = espectrometría de masas. Tomado de Chassy B., et al., 2004.

En los ejemplos y descripciones presentados en este capítulo se perfilan dos áreas que presentan un reto para la comunidad científica que trabaja en el área de la ingeniería genética de los alimentos: conciliar el deseo de poner en práctica los descubrimientos y aplicar los conocimientos recientemente generados, pero con respeto al medio ambiente y ejerciendo el cuidado necesario para preservar la seguridad y la salud de los consumidores. La mejor arma para lograrlo es el estudio científico profundo y objetivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andow D., Strayer D., Daniell H., Gepts P., Lamkey K. y Nafzinger E. 2004. "Introduction. Chapter 1", en: *A growing concern. Protecting the Food Supply in an Era of Pharmaceutical and industrial Crops*. Ed.: Andow, David. Union of Concerned Scientists, pp. 21-26.
2. Anon. 2003. *Animal Cloning and the Production of Food Products: Perspectives from the Food Chain. Proceedings from a workshop in Dallas, USA*. Sponsored by Pew Initiative on Food and Biotechnology and the Center for Veterinary Medicine of the U.S. Food and Drug Administration. <http://pewabiotech.org/events/0924/proceedings2.pdf>
3. Ascherio, A. y Willet, W.C. 1995. "New directions in dietary studies of coronary heart disease". *J. Nutr.*, 125:647-55.
4. Benmoussa, M., Vézina, L. P., Pagé, M., Gélinas P., Yelle, S., Laberge, S. 2004. "Potato Flour Viscosity Improvement Is Associated With the Expression of a Wheat LMW-Glutenin Gene". *Biotechnology and Bioengineering*, 20 de agosto, 87(4):495-500.
5. Bourges, H. y Lehrer S. 2004. "Assessment of Human Health Effects". En: *Maize and Biodiversity: The Effects of Transgenic Maize in Mexico, Article 13 Initiative on Maize and Biodiversity*. Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental en el Tratado de Libre Comercio de América del Norte. <http://www.ccc.org/maize/resources/chapters.cfm?varlan=espanol>.
6. Chakraborty, S., Chakraborty, N. y Datta, A. 2000. "Increased nutritive value of transgenic potato by expressing a non allergenic seed albumin gene from *Amaranthus hypochondriacus*". *PNAS*. 28 de marzo, 97(7):3724-3729.
7. Chassy B. *et al.*, 2004. "Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology". Preparado por: Task Force of the ILSI International Food Biotechnology Committee as published in *IFT's Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, (3):38-104.
8. Chauvet, M. y Gálvez, A. 2005. "Learning about Biosafety in Mexico: between Competitiveness and Conservation". *Int. J. of Biotechnol.* 7(1, 2, 3):62-71.
9. *Codex Principles for the Risk Analysis of Food Derived from Modern Biotechnology*. 2003. *Codex Alimentarius Commission*. FAO/WHO, Roma, (CACGL 44-2003).
10. Conner, A. J., Jacobs, A.M.E. 1999. "Genetic engineering of crops as potencial source of genetic hazard in the human diet". *Mutation Research*. 443:223-234
11. Del Vecchio, A. J. 1996. "High laurate canola". *Inform* 7:230-243.
12. Ducreux, L. J. M., Morris, W.L., Hedley, P.E., Shepherd, T., Davies, H.V., Millam, S. y Taylor, M.A. 2005 "Metabolic engineering of high carotenoid potato tubers containing enhanced levels of β -carotene and lutein". *Journal of Experimental Botany*, 56(409):81-89.
13. FAOSTAT, 2005. <http://faostat.fao.org/faostat/servlet/XteServlet3?Areas=801&Items=340&Elements=61&Elements=62&Years=2003&Format=Table&Xaxis=Years&Yaxis=Countries&Aggregate=&Calculate=&Domain=SUA&ItemTypes=Trade.CropsLivestockProducts&language=EN>
14. FAO/WHO. 2003. *Safety assessment of foods derived from genetically modified animals, Including fish*. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on food derived from biotechnology, Roma, Italia, pp. 17-21.

15. Ford Runge, C. y Ryan, B. 2004. *The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research*.
16. "Future fish-Issues in science and regulation on transgenic fish". 2003. *The Pew Initiative on Food and Biotechnology*. Washington, USA.
17. Gálvez, A. 2004. "Consecuencias para la industria alimentaria de la utilización de organismos modificados genéticamente". En: Alimentos transgénicos. Ciencia, ambiente y mercado: un debate abierto. Julio Muñoz Rubio (coordinador). Siglo XXI Editores SA de CV. ISBN 968-23-2544-7. México, D.F. pp. 219-231.
18. Ganga, M.A., Piñaga, F., Vallés, S., Ramón, D. y Querol. 1999. "Aroma improving in microvinification processes by the use of a recombinant wine yeast strain expressing the *Aspergillus nidulans xlnA* gene". *International Journal of Food Microbiology*. 47(3):171-178.
19. Gómez, L.M.A. 2001. "Producción de vacunas y compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas". *Avance y Perspectiva*. 20:365-375.
20. González-Candelas, L., Gil, J.V., Lamuela-Raventos, R.M., Ramon, D. 2000. "The use of transgenic yeasts expressing a gene encoding a glycosyl-hydrolase as a tool to increase resveratrol content in wine". *Int. J. Food Microbiol.* 59(3):179-83.
21. Gura, K.M., Parsons, S.K., Bechard, L.J., Henderson, T., Dorsey, M., Phipatanakul, W., Duggan, C., Puder, M., Lenders, C. 2005. "Use of a fish oil-based lipid emulsion to treat essential fatty acid deficiency in a soy allergic patient receiving parenteral nutrition". *Clin Nutr.* 16 de julio.
22. Heppard, E.P. *et al.* 1996. "Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal pmeqa-6 desaturase genes in soybean". *Plant Physiol.* 110, 311-19.
23. Herrera, E. L., Jofre, A. 1997. *Transformación genética de plantas*. Tesis. CINVESTAV, Irapuato.
24. Hirosawa, I., Aritomi, K., Hoshida, H., Kashiwagi, S., Nishizawa, Y., Akada R. 2004. "Construction of a self-cloning sake yeast that overexpresses alcohol acetyltransferase gene by a two-step gene replacement protocol". *Appl Microbiol Biotechnol.*, 65(1):68-73.
25. Hoisington, D. 1996. "Conocimientos actuales en relación con las transformación del maíz". En: Serratos, J.A., Willcox, M.C. y Castillo, F. (eds.) *Flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones para el maíz transgénico*. México, D.F: CIMMYT. pp. 1-10.
26. James, C. 2004. *Preview: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: ISAAA, Briefs (32)*. Ithaca, Nueva York, p. 12.
27. Jefferson, R.A., Kavanagh, T.A. y Bevan, W. 1987. "GUS fusions: β -glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants". *EMBO J.*, 6:3901-3907.
28. Kinney, A.J. 1994. "Genetic modification of storage lipids of plants". *Curr. Opin. Biotechnol.* 5:144-51.
29. Kinney, A.J. y Knowlton, S. 1998. *Genetic Modification in the Food Industry*. Roller, S. y Harlander, S. Eds. Chapman y Hall, Londres, pp. 193-213.
30. Kinney, A.J., Cahoon, E.B. y Hitz, W.D. 2002. *Biochemical Society Transactions*. Col. 30, part 6, pp. 1099-1103.
31. Kuziel, M.G. *et al.* 1993. "Agrobacterium mediated plant transformation and its further application to plant biology". *Annu. Rev. Plant Physiol.* (38):467-86.
32. Klein, T.M., Gradziel, T. Fromm, M.E. y Stanford, J.C. 1988. "Factors influencing gene delivery into *Zea mays* cells by high-velocity microprojectiles". *Biotechnology*, 6:559-563.
33. Knutzon, D.S., Thompson, G.A., Radke, S.E., Johnson, W.B., Knauf, V.C. y Kridl, J.C. 1992. "Modification of *Brassica* Seed Oil by Antisense Expression of a Stearoyl-Acyl Carrier Protein Desaturase Gene". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, (89):2624-2628.
34. LeBlanc, J.G., Silvestroni, A., Connes, C., Juillard, V., Savoy de Giori, G., Piard, J.C. y Sesma, F. 2004. "Reduction of non-digestible oligosaccharides in soymilk: application of engineered lactic acid bacteria that produce α -galactosidase". *Genetics and Molecular Research* 3 (3):432-440.
35. Liu, Q., Singh, SP., Brubaker C.L., Sharp, P.J., Green, A.J., Marshall, D.R. 1996b. "Molecular Cloning and expression of cDNA encoding a microsomal ω -6 fatty acid desaturase in cotton (*Gosypium hirsutum* L.)". *J. Plant Physiology* 26:101-106.

36. Liu, Q., Singh, S.P., Sharp, P.J., Green, A.J., Marshall, D.R. 1996. "Nucleotide sequence of a cDNA from *Gosypium hirsutum* L. encoding a stearyl-acyl carrier protein desaturase (accession No. X959888) (OGR 96-012)". *Plant Physiology* 110:1435.
37. Liu, Q., Singh, S. and Green, A. 2000. "Genetic modification of cotton oil using inverted-repeat gene-silencing techniques". *Biochemical Society Transactions, part 6.* (28):927-929.
38. Liu, Q., Singh, S. y Green, A. 2002. "High-Oleic and High-Stearic Cottonseed Oils: Nutritionally Improved Cooking Oils Developed Using Gene Silencing". *Journal of the American College of Nutrition*, 21(3):205S-211S.
39. Lukaszewicz, M., Matysiak-Kata, I., Skala, J., Fecka, I., Cisowski, W., Szopa, W. 2004. "Antioxidant Capacity Manipulation in Transgenic Potato Tuber by Changes in Phenolic Compounds Content". *J. Agric. Food Chem.*, 52:1526-1533.
40. Martens, M. 2000. "Safety evaluation of genetically modified foods". *Int Arch Occup Environ Health.* 73 (Suppl): S14-S18.
41. Menéndez, J.A., Vellon, L., Colomer, R. y Lupu, R. 2005. "Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/*neu* (*erbB-2*) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin™) in breast cancer cells with Her-2/*neu* oncogene amplification". *Annals of Oncology* 16(3):359-371; doi:10.1093/annonc/mdi090.
42. Millstone E., Brunner, E., Meyer, S. 1999. "Beyond substantial equivalence". *Nature* 401:525.
43. Mohanty, A.K., Mukhopadhyay, U.K. Grover, S., Batis, V.K. 1999. *Bovine chymosin: Production by rDNA technology and application in cheese manufacture Biotechnology Advances*, 17:205-217.
44. Moir, D., Mao, T., Schumm, J.W., Vovis, G.F., Alford, B.L. y Taunton-Rigby, A. 1982. "Molecular cloning and characterization of double stranded cDNA coding for bovine chymosin". *Gene* 19:127-138.
45. Nafzinger, E. 2004. "On farm production of Corn and Soya". En: Andow, D. (Ed.) *A growing concern. Protecting the Food Supply in a Era of Pharmaceutical and industrial Crops. Union of Concerned Scientists*, pp. 75- 88.
46. *OECD Safety Evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles.* 1993. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). París, Francia, <http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf>.
47. OMS. 2005. *Biología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencias.* Departamento de Inocuidad Alimentaria. Organización Mundial de la Salud. Junio, p. 87.
48. Park, S., Kang, T. S., Kim, C. K., Han, J. S., Kim, S., Smith, R. H., Pike, M., y Hirschi K.D. 2005. "Genetic Manipulation for Enhancing Calcium Content in Potato Tuber". *J. Agric. Food Chem.* 53:5598-5603.
49. Quirasco, M. y Gálvez, A. 2003. "Biología Moderna: OVMs, Evaluación de Riesgos y Aspectos Regulatorios en México". *Memorias del Primer Encuentro Internacional de Derecho Ambiental.* Instituto Nacional de Ecología. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT) ISBN: 968-817-584-6. México DF. pp. 519-532.
50. Regierer, B., Fernie, A. R., Springer, F., Pérez-Melis, A., Leisse, A., Koehl, K., Willmitzer, L., Geigenberger, P., Kossmann, J. 2002. "Starch content and yield increase as a result of altering adenylate pools in transgenic plants". *Nature Biotechnology*, 20:1256-1260.
51. Smith, N.A., Singh, S.P., Wang, M.B., Stoutjesdijk, P.A., Green, A.G., Waterhouse, P.M. 2000. "Totally silencing by intron-spliced hairpin RNAs". *Nature* 407:319-320.
52. Southgate, E.M., Davey, M.R., Power, J.B. and Marchant, R. 1995. "Factors Affecting the Genetic Engineering of Plants by Microprojectile Bombardment". *Biotec. Advanc.* 13:631-651.
53. Stark, D.M., 1998. "Potatoes. Genetic Modification in the Food Industry. A strategy for food quality improvement". Blackie Academic & Professional. Londres, Reino Unido, Chapter 11 en Ed. Roller S., y Harlander S.
54. van den Eede, G., Aarts, H., Buhk, H.J., Corthier, G., Flint, H.J., Hammes, W., Jacobsen, M., Midtvedt, T., van der Vossen, J., von Wright, A., Wackernagel, W., Wilcks, A. 2004. "The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants". *Food Chemical Toxicology.* 42:1127-1156.

55. Voelker, T. y Kinney, A. J. 2001. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 52:335-361.
56. Yadav, N.S *et al.* 1993. "Cloning of higher plant omega-3 fatty acid desaturases". *Plant Physiol.* 104:467-76.
57. <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Synopsis>
58. <http://www.agbios.com/dbase.php>
59. <http://bch.biodiv.org/decisions/default.shtml>
60. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/cgi-bin/siovm.cgi>

Anexo I

CUADRO A.1 Resumen de las aprobaciones de los OGMs a nivel mundial

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a glufosinato)						
HCN10	Canadá	1995		1995	1995	
	Japón	1997		1997	1998	
	Estados Unidos	1995	1995			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a glufosinato)						
HCN92	Canadá	1995		1995	1995	
	Unión Europea					1998
	Japón	1996		1996	1996	
	Estados Unidos	2002		1995		
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a glufosinato)						
T45 (HCN28)	Australia	2003	2002			
	Canadá	1996		1997	1995	
	Japón	1997		1997	1997	
	Estados Unidos	1998	1998			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas)						
GT200	Canadá	1996		1997		
	Estados Unidos	2003	2002			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas)						
GT73, RT73	Australia	2003		2000		
	Canadá	1995		1994	1995	
	China					2004
	Unión Europea			1997		
	Japón	1996		1996	1996	
	Filipinas			2003	2003	
	Estados Unidos	1999	1995			

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas + cambios en fertilidad) MS1, RF1 =>PGS1	Australia	2003	2002			
	Canadá	1995		1995	1995	
	Unión Europea					1996
	Japón	1996		1996	1996	
	Estados Unidos	2002	1996			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) MS1, RF2 =>PGS2	Australia	2003	2002			
	Canadá	1995		1995	1995	
	Unión Europea					1997
	Japón	1997		1997	1997	
	Estados Unidos	2002	1996			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) MS8xRF3	Australia	2003	2002			
	Canadá	1996		1997	1996	
	Japón	1998		1997	1998	
	Estados Unidos	1999	1996			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) PHY14, PHY35	Japón	1997		1997	1998	
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) PHY36	Japón	1997		1997	1997	
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Composición de lípidos) 23-18-17, 23-198	Canadá	1996		1996	1996	
	Estados Unidos	1994	1994			
Canola (<i>Brassica napus</i>) (Oxynil) OXY-235	Australia			2002		
	Canadá	1997		1997	1997	
	Japón	1998		1999	1999	
	Estados Unidos			1999		

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Chicoria (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) RM3-3, RM3-4, RM3-6	Unión Europea	1996				1996
	Estados Unidos	1997	1997			
	Canadá	2004		2004	2004	
Algodón (Tolerancia a glufosinato LL25)	Estados Unidos	2003	2003			
	Argentina	1999		2001	2001	
Algodón (Tolerancia a herbicidas) MON1445/1698	Australia	2000		2000		
	Canadá			1996	1996	
	China					2004
	Japón	1997		1997	1998	
	Filipinas			2003	2003	
	Sudáfrica	2000				
	Estados Unidos	1995	1995			
	Estados Unidos	2004	2005			
Australia	2002		2002			
Canadá	2003		2003	2003		
Algodón (Resistencia a insectos) 15985	Japón			2002	2003	
	Filipinas			2003	2003	
	Estados Unidos					
	Estados Unidos	2002		2002		
	México				2004	
Algodón (Resistencia a insectos) 281-24-236	Estados Unidos	2004	2004			
Algodón (Resistencia a insectos) 3006-210-23	México		2004			
	Estados Unidos	2004	2004			
	Argentina	1998		1998	1998	
Algodón (Resistencia a insectos) MON531/757/1076	Australia	1996		1996	1996	
	Canadá			1996	1996	
	China	1997		1997	1997	
	India	2002				
	Japón	1997		1997	1997	

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
	México	1997		1997	1997	
	Filipinas			2004	2004	
	Sudáfrica	1997		1997	1997	
	Estados Unidos	1995	1995			
Algodón (Resistencia a lepidópteros+ oxynil) 31807/31808	Japón	1998		1999	1999	
	Estados Unidos	1997	1998			
Algodón (Oxynil) BXN	Australia		2002			
	Canadá			1996	1996	
	Japón	1997		1997	1998	
	Estados Unidos	1994	1994			
Algodón (Sulfonilurea) 19-51A	Estados Unidos	1996	1996			
Lino, Linaza (Sulfonilurea) FP967	Canadá	1996		1998	1996	
	Estados Unidos	1999	1998			
Maíz (gusano barrenador europeo) MON80100	Estados Unidos	1995	1996			
Maíz (gusano barrenador europeo + Tolerancia glifosato) MON802	Canadá	1997		1997	1997	
	Japón	1997				
	Estados Unidos	1997	1996			
Maíz (gusano barrenador europeo + Tolerancia a glifosato) MON809	Canadá	1996		1996	1996	
	Japón	1997		1998		
	Estados Unidos	1996	1996			
Maíz (Tolerancia a glufosinato) B16 (DLL25)	Canadá	1996		1996	1996	
	Japón	1999	1999		1999	1999/2000
	Filipinas			2003	2003	
	Taiwán			2003		
	Estados Unidos	1995	1996			
Maíz (Tolerancia a glufosinato) T14, T25	Argentina	1998		1998	1998	
	Australia		2002			
	Canadá	1996		1997	1996	

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>	
Maíz (Tolerancia a herbicidas) GA21	Unión Europea		1998			1998	
	Japón	1997		1997	1997		
	Filipinas			2003	2003		
	Taiwán			2002			
	Estados Unidos	1995	1995				
	Argentina	1998					
	Australia				2000		
	Canadá	1998			1999	1998	
	China						2004
	Japón	1998			1999	1999	
Maíz (Tolerancia a herbicidas) MON832	Corea			2002			
	Filipinas			2003	2003		
	Taiwán			2003			
	Estados Unidos	1997	1996				
	Canadá				1997		
	Maíz (Tolerancia a herbicidas) NK603	Argentina	2004	2004			
		Australia			2002		
		Canadá	2001		2001	2001	
		Unión Europea					2004
		Japón	2001		2001	2001	2004
Filipinas					2003	2003	
Sudáfrica		2002	2002				
Taiwán				2003			
Estados Unidos							
Unidos		2000	2000				
Maíz (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) 676, 678, 680	Estados Unidos						
	Unidos	1998	1998				
Maíz (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) MS3	Canadá	1996		1997	1998		
	Estados Unidos						
Maíz (Tolerancia a herbicidas + Cambios en fertilidad) MS6	Unidos	1996	1996				
	Estados Unidos						
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) 176	Unidos	1999	2000				
	Argentina	1996		1998	1998		

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
	Australia		2001			
	Canadá	1996		1995	1996	
	Unión Europea	1997		1997	1997	
	Japón	1996		1996	1996	
	Holanda			1997	1997	
	Filipinas			2003	2003	
	Suiza			1997	1997	
	Taiwán			2003		
	Reino Unido			1997		
	Estados Unidos	1995	1995			
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) (X4334CBR, X4734CBR)	Argentina	2001		2001	2001	
	Australia		2001			
	Canadá	1996		1996	1996	
	China		2004			
	Unión Europea			1998	1998	1998
	Japón	1996		1996	1996	
	Corea			2003		
	Filipinas			2003	2003	
	Rusia			2003		
	Sudáfrica	2003	2002			
	Suiza			1998	1998	
	Taiwán			2004		
	Reino Unido			1998	1998	
	Estados Unidos	1996	1996			
	Uruguay	2004	2004			
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) CBH-351	Estados Unidos	1998			1998	
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) DAS-59122-7	Estados Unidos		2004			
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) DBT418	Argentina	1998				
	Australia			2002		
	Canadá	1997		1997	1997	
	Japón	1999		1999		

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>	
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) MON88017	Filipinas			2003	2003		
	Taiwán			2003			
	Estados Unidos	1997	1997				
	Estados Unidos		2005				
Maíz (Tolerancia a herbicidas + resistencia a insectos) TC1507	Canadá	2002		2002	2002		
	Japón	2002		2002	2002		
	Filipinas			2003	2003		
	Sudáfrica		2002				
	Taiwán			2003			
	Estados Unidos	2001	2001				
	Estados Unidos	2004	2004				
Maíz (Resistencia a insectos) DAS-06275-8	Argentina	1998		1998	1998		
	Australia			2000			
	Canadá	1997		1997	1997		
	China					2004	
	Unión Europea	1998	1998			1998	
	Japón	1996		1997	1997		
	Corea			2002			
	Filipinas	2002		2002	2002		
	Sudáfrica	1997		1997	1997		
	Suiza			2000	2000		
	Taiwán			2002			
	Estados Unidos	1995	1996				
	Maíz (Resistencia a insectos) MON863	Australia			2003		
		Canadá	2003		2003	2003	
Japón				2002	2002	2001	
Filipinas				2003	2003		
Taiwán				2003			
Estados Unidos		2003	2001				
Melón (Maduración retardada) A, B	Estados Unidos						
	Estados Unidos						
	Estados Unidos						
Papaya (Resistencia a virus) 55-1/63-1	Canadá			2003			
	Estados Unidos						
	Estados Unidos	1996	1997				

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Canola (Brassica rapa) (Tolerancia a glufosinato) HCR-1	Canadá	1998			1998	
Canola (Brassica rapa) (Tolerancia a herbicidas) ZSR500/502	Canadá	1997			1997	
Papa (CPB) ATBT04-6, ATBT04-27, ATBT04-30, ATBT04-31, ATBT04-36, SPBT02-5, SPBT02-7	Australia		2001			
	Canadá	1997		1996	1997	
	Japón			1997		
	Filipinas			2003	2003	
	Estados Unidos	1996	1996			
Papa (CPB) BT6, BT10, BT12, BT16, BT17, BT18, BT23	Canadá			1995	1995	1995
	Japón			1996		
	Filipinas			2003	2003	
	Estados Unidos	1995	1994			
Papa (CPB + resistencia a virus) RBMT15-101, SEMT15-02, SEMT15-15	Australia		2001			
	Canadá	1999		1999	1999	
	Filipinas			2003	2003	
	Estados Unidos	1999	1998			
Papa (CPB + resistencia a virus) RBMT21-129, RBMT21-350, RBMT22- 082	Australia		2001			
	Canadá	1999		1999	1999	
	Japón				2001	
	Estados Unidos	1998	1998			
Arroz (Tolerancia a glufosinato) LLRICE06, LLRICE62	Estados Unidos	1999	2000			
Soya (Tolerancia a glufosinato) A2704-12, A2704-21, A5547-35	Canadá	1999		2000	2000	
	Japón	1999		2002	2003	
	Estados Unidos	1996	1998			

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Soya (Tolerancia a glufosinato) A5547-127	Estados Unidos	1998	1998			
	Estados Unidos	1998	1998			
Soya (Tolerancia a glufosinato) GU262	Estados Unidos	1996	1998			
	Estados Unidos	1996	1998			
Soya (Tolerancia a glufosinato) W62, W98	Argentina	1996		1996	1996	
	Australia			2000		
Soya (Tolerancia a herbicidas) GTS 40-3-2	Brasil	1998		1998	1998	
	Canadá	1995		1996	1995	
	China					2004
	República Checa			2001	2001	2001
	Unión Europea					1996
	Japón	1996		1996	1996	
	Corea			2000		
	México	1998		1998	1998	
	Filipinas			2003	2003	
	Rusia			1999		1999
	Sudáfrica	2001		2001	2001	
	Suiza			1996	1996	
	Taiwán			2002		
	Reino Unido			1996	1996	
	Estados Unidos					
	Uruguay	1994	1994			
	Uruguay	1997		1997	1997	
Soya (Composición de lípidos) G94-1, G94-19, G168	Australia			2000		
	Canadá	2000		2000	2000	
	Japón	1999		2001	2000	
	Estados Unidos					
Calabaza (Resistencia a virus) CZW-3	Estados Unidos	1997	1997			
	Canadá			1998		
Calabaza (Resistencia a virus) ZW20	Estados Unidos	1996	1994			
	Canadá			1998		
	Estados Unidos					
	Uruguay	1994	1997			

<i>Cultivo, fenotipo, identificador</i>	<i>País</i>	<i>Siembra</i>	<i>Alimento humano/animal</i>	<i>Alimento humano</i>	<i>Alimento animal</i>	<i>Comercialización</i>
Remolacha (Tolerancia a glufosinato) T120-7	Canadá	2001		2000	2001	
	Japón			1999	1999	
	Estados Unidos	1998	1998			
Remolacha (Tolerancia a herbicidas) GTSB77	Australia		2002			
	Estados Unidos	1998	1998			
	Estados Unidos	2005	2004			
Remolacha (Tolerancia a herbicidas) H7-1	Estados Unidos	2005	2004			
	Tomate (Maduración retardada) 1345-4	Canadá		1995		
	Estados Unidos	1995	1994			
Tomate (Maduración retardada) 35 1 N	Estados Unidos	1996	1996			
Tomate (Maduración retardada) 8338	Estados Unidos	1995	1994			
Tomate (Maduración retardada) B, Da, F	Canadá			1996		
	Estados Unidos	1995	1994			
	Tomate (Maduración retardada) FLAVR SAVR	Canadá		1995		
	Japón	1996		1997		
	México	1995		1995	1995	
	Estados Unidos	1992	1994			
Tomate (Resistencia a insectos) 5345	Canadá			2000		
	Estados Unidos	1998	1998			
	Estados Unidos		2004			

Tabla adaptada de: <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Synopsis>.

Índice

A

- Abrillantadores, 543
- Absorbancia, 145
- Acarreadores de sabor, 201
- Aceite de soya GM, 676
- Aceites esenciales, 543
- Aceites modificados, 671
- Acelsulfamo K, 529
- Acentuadores, 522
- Acetatos, 512
- Achiote, 409
- Acidez, índice, 262
- Ácido
 - acético, 512
 - ascórbico, 184, 424, 493
 - benzoico, 511
 - carmínico, 436
 - cisteico, 144
 - cítrico, 525
 - eritóbico, 184
 - esteárico, 671
 - fértilico, 93
 - fítico, 577
 - fólico, 385
 - fumárico, 524
 - galacturónico, 93
 - graso *trans*, 296
 - láurico, 675
 - lipoico, 365
 - monocarboxílico, 248
 - nicotínico, 386
 - oleico, 672
 - orótico, 365
 - pantoténico, 387
 - propiónico, 513
 - retinoico, 370
 - shiquímico, 417
 - sórbico, 512
 - tartárico, 524
 - tiobarbitúrico, 294
- Ácidos grasos, 248
 - indispensables, 672
 - insaturados, 249
 - nomenclatura, 249
 - saturados, 248, 249, 671
 - trans, 595
- Acidulantes, 524
- Acilglicéridos, 253
- Acondicionadores de panificación, 533
- ACP-desaturasa, 672
- Acrilamida, 594
- Actina, 215
- Actividad acuosa, 1
 - ver también* Actividad del agua
- Actividad
 - del agua, 432
 - y estabilidad de los alimentos, 21
 - específica, 319
 - ureásica, 639
- Aditivos, 507
- ADN recombinante, 357
- Aereantes, 543
- Aflatoxina, 572
- Agar, 102
- Agaritina, 566
- Agente antiespumante, 560
- Aglucón, 430
- Aglucona, 41
- Aglutinantes, 543
- Agrobacterium tumefaciens*, 657
- Agua, 1
 - actividad, 15
 - calor
 - específico, 7
 - latente de fusión, 7
 - latente de sublimación, 10
 - latente de vaporización, 7
 - capacidad
 - de atrapamiento, 190
 - de retención de, 15
 - para ligar, 190

- capilar, 14
- condensación, 7
- conductividad térmica, 11
- congelada, 13-14
- constante dieléctrica, 8
- densidad del hielo, 11
- descongelamiento, 11
- dipolo, 7
- efecto de los solutos en, 11
- en la industria alimentaria, 25
- estados físicos, 9
- evaporación, 9
- fuentes de, 2
- ionización, 7
- ley de los gases ideales, 7
- libre, 13
- ligada, 13
- ligar, 191
- liofilización, 9
- propiedades, 3
 - coligativas, 11
 - físicoquímicas, 6
- punto triple, 9
- sublimación, 9
- tensión superficial, 8
- Aislados, 642
 - proteicos, 189
- Albúminas, 635
 - sérica bovina, 145
- Alcalinizantes, 524
- α -amilasa, 323
- α -lactoalbúmina, 614
- α -galactosidasa, 568
- Alfalfa, 666
- Alginato, 103
- Algodón, 664, 666, 669, 695
- Aliinasa, 478
- Alimentos
 - de humedad intermedia, 23
 - transgénicos, 652, 653
- Alitamo, 531
- Almidón, 81, 678
- Almidones modificados, 88, 89, 97
- Alolactosa, 54
- Amanitina, 580
- Amaranto, 230
- Amargantes, 542
- Amarillo, 6, 538
- Amatoxina, 579
- Amigdalina, 43, 567
- Amiloglicosidasa, 326
- Amilograma, 85
- Amilopectina, 82
- Amilosa, 82
- Aminas
 - biógenas, 597
 - primarias, 142
- Amino terminal, 147
- Aminoácidos, 121
 - aromáticos, 128
 - básicos, 129
 - fluorescamina, reacciones, 142
 - hidrindantina, reacciones, 142
 - ninhidrina, reacciones, 142
 - polares, 128
 - ramificados, 128
 - reactividad, 129
 - Ruhemanns, reacciones, 142
 - uniones coplanares, 137
- Aminoazúcares, 37
- Análisis
 - de compuestos del aroma, 498
 - de enantiómeros, 501
 - de riesgo, 684
- Anato, 409
- AND recombinante, 411
- Anfótero, 130
- Anserina, 134
- Antiaglomerantes, 535
- Antiapelmazantes, 535
- Antibióticos, 515
- Anticarcinogénico, 413
- Antiespumante, 535
 - agente, 560
- Antioxidantes, 289
- Antisalpicantes, 543
- Antivitaminas, 587
- Antocianidina, 421
- Antocianinas, 420
- Antraceno, 591
- Antraquinonas, 436
- Aprobaciones de los OGMs a nivel mundial, 693
- Arabinosa, 34
- Áreas
 - inodoras, 201
 - interfacial, 199
- ARN de interferencia, 675

Aromas, 454
 y sabor, 445
 y sabores, generación, 461
 Aromatizantes, 542
 Arroz, 665, 666, 670, 700
 Asarona, 589
 Aspartamo, 529
 Astaxantina, 407, 410
 Astringencia, 429, 453
 Atemperamiento, 258
 Autooxidación, 283, 491
 Avidina, 212, 384
 Azafrán, 410
 Azodicarbonamida, 534
 Azúcar
 invertido, 51
 reductor, 32
 Azucarado, 2
 Azúcares ácidos, 33
 Azúcares-alcoholes, 40
 Azul brillante, 537

B

Bacillus thuringiensis (Bt), 659
 Bacteriocinas, 233
 Bacterioclorofilas, 414
 Balance hidrófilo-lipófilo, 560
 Base de Schiff, 184
 Batido o agitación, 199
 Bebidas alcohólicas, 495
 Bentonita, 539
 Benzantraceno, 592
 Benzoatos, 511
 Benzopireno, 592
 Benzoquinonas, 436
 Beriberi, 377
 β -amilasa, 323
 β -caroteno, 370, 410
 β -conglucina y glicina, 164
 β -D-galactosidasa, 53
 β -galactosidasa, 568, 609
 β -glucanasas, 329
 β -lactoglobulina, 161, 614
 β -oxidación, 469, 494
 Betacianinas, 429
 Betaninas, 430
 Betaxantinas, 429
 y betacianinas, 430
 BHA, 411

BHL, 520
 BHT, 411
 Biobalística, 657
 Biocatalizadores, 353
 Bioconservación, 233
 Biodisponibilidad, 368, 205, 396
 Biosíntesis, 463
 Biotina, 384
 Bióxido de titanio, 536
 Birrefringencia, 84
 Biuret, 146
 Bixina, 409, 410
 Blanqueadores, 534
 Bocio, 584
 Bollgard II, 665
 Bomba de oxígeno, 295
 Bombardeo con partículas de alta energía, 500
 Bowman-Birk, 646
 Bromelina, 336
 Bromuro de cianógeno, 138

C

Cadaverina, 479
 Cafeína, 578
 Calabaza, 665, 666
 Calcio, 396, 679
 Calidad, 401
 Canavanina, 582
 Cáncer, 210
 Cancerígenos, 184
 Canola, 665, 693
 Cantaxantina, 410
 Caña de azúcar, 666
 Capa molecular BET, 14
 Capacidad de retención de agua, 15, 78
 Capacidad emulsificante, 197
 Caplaínas, 338
 Caprenín, 541
 Capsaicina, 583
 Capsantina, 410
 Caramelización, 22, 60, 402, 481
 Caramelo, 61
 color, 438
 Carbamato de etilo (uretano), 590
 Carbanión, 179
 Carbohidrasas, 323
 Carbohidratos, 29
 Carbono quiral, 128
 Carboximetilcelulosa, 79

- Carne, 213, 402, 493
 Carnitina, 365
 Carnosina, 134
 Carotenoides, 370, 473
 Carotenos, 407
 Carrageninas, 78, 103
 Caseínas, 220, 611
 Catalasa, 342, 615
 Catecol oxidasa, 346
 Catepsinas, 338
 Catequina, 428
 Cefalina, 259
 Celobiosa, 53, 79
 Células inmovilizadas, 353
 Celulasas, 329
 Celulosa, 78, 107
 microcristalina, 80
 Ceralenona, 576
 Ceras, 260
 Cereales, 33, 571
 Cerebrósidos, 33
 Chaconina, 583, 585
 Chalconas, 420
 Chicle, 540
 Cianocobalamina, 382
 Cianogénicos, 44
 Ciclamatos, 530
 Ciclo de Krebs, 30
 Ciclodextrin glucosiltransferasa, 350
 Cinc, 398
 Cítricos, 474
 Clarificantes, 539
 Clatratos, 13
 Clorinas, 416
 Cloro, 398
 Clorofilas, 413, 414, 415
 Clorofilasa, 417
 Cloroplastos, 414
 Clorotetraciclina, 515
 Cloruro
 de dansilo, 148
 de guanidino, 170
Clostridium botulinum, 177
 Coágulos, 204
 Coalescencia, 549, 560
 Cobre, 398
 Cochinilla, 436
 Código genético, 125
 Codones, 125
 Colágena, 160
 Colágeno, 215
 Colecalciferol, 372
 Colesterol, 261, 295, 413, 490
 Colina, 365
 Coloide(s), 548, 549
 doble capa, 550
 liofílicos, 549
 liofóbicos, 549
 potencial épsilon, 550
 potencial zeta, 550
 protector, 553
 Colorantes, 536
 Colza, 665
 Concentración, 2
 Concentrados, 542, 640
 Conformación, 153
 Congelamiento, 2
 de los alimentos, 25
 Constante
 catalítica, 318
 de Michaelis-Menten, 317
 dieléctrica, 172
 Construcciones genéticas, 654
 Contenido
 de grasas sólidas (SFC), 671
 diferencial, 169
 Coomassie, 147
 Cornezuelo, 571
 Coulter counter, 197
 Cremor tártaro, 532
 Crioprotección, 97
 Criptoxantina, 370, 410
 Cristalización, 72
 CRNPR, 207
 Crocina, 410
 Cromaticidad o saturación, 439
 Cromatografía
 de gases, 498
 de líquidos de alta presión, 498
 de líquidos y gases, 499
 Crucíferas, 477, 479
 Cruz de malta, 84
 Cry1Ab, 659
 Cry1Ac, 659, 665
 Cry2Ab, 665
 CryIII A, 659
 Cuajo, 626
 Cúrcuma, 436
 Curcumina, 436

D

D121 (valor), 392
 Datem, 520
 Decoloración, 268
 Degradación de Strecker, 66
 Dehidroalanina, 179
 Delta desaturasa, 673
 Deoxinivalenol, 576
 Desaturasa, 673
 Desgomado, 267
 Deshidratación, 2
 Desnaturalización, 164
 Desnutrición proteínico-calórica, 120
 Desodorización, 268
 Desorción asistida por láser, 500
 Desoxiazúcares, 39
 Detergente, 171
 Determinación de las curvas de adsorción
 y desorción, 19
 Dextranacarasa, 350
 Dextrinas, 89
 Dextrosa, 32
 Dicroísmo circular, 165
 Dieta mediterránea, 672
 Difracción de rayos X, 96
 Digestibilidad Verdadera (DV), 208
 Dihidrochalcona, 532, 420
 Dimetil-polisiloxano, 536
 Dioxano, 598
 Dióxido de azufre, 513
 Distribución del agua en los alimentos, 13
 Ditanos, 482
 Ditiinas, 482
 Ditiolos, 482
 Dobles ligaduras no conjugadas, 671
 Dulcina, 531
 Durrina, 43

E

EDTA, 411, 527
 Edulcorante(s), 528
 poder, 73
 producción, 327
 Efecto batocrómico, 421-422
 Eflorescencia, 258
 Electroforesis, 150
 Electronebulización, 500
 Electroporación, 657
 ELISA, 357

Empardeamiento, 59
 Emulgentes, 518
 Emulsificación, 97
 Emulsificante, 552, 518
 Emulsión, 196, 458
 tipo de, 561
 Emulsionante, 518, 560
 Emulsiones, 560
 Emulsivos, 518
 Enantiómeros, 128, 498
 Encafecimiento, 59
 Encapsulantes, 543
 Encefalopatía espongiiforme bovina, 210
 Endoenzimas, 323
 Energía de activación (Ea), 306
 Energía radiante, 401
 Enlace peptídico, 132
 Enlaces cruzados, 90
 Enmascaradores, 543
 Enolización, 56
 Enturbiantes, 543
 Enzimas, 301, 302
 activadores, 315
 auxiliares de proceso, 666
 cinética, 316
 inhibidores, 315
 inmovilizada, 352
 máxima velocidad, 317
 pectinolíticas, 95
 termófilas, 314
 velocidad inicial, 317
 Epóxidos, 517
 Equivalencia sustancial, 684
 Ergocalciferol, 372
 Ergotismo, 571
 Eritrosina o rojo (3 o 14), 538
 Escaldado, 391
 Escorbuto, 389
 Esculina, 588
 Esencias, 543
 Especificidad esteroquímica, 306
 Espectro
 de luz, 401
 de resonancia magnética, 439
 Espectrometría
 de masas, 498
 de reflexión, 439
 Espectroscopia de infrarrojo, 498
 Espesante, 98

Espumas, 198, 213, 558
 Estabilización, 97
 Estabilizantes de espumas, 559
 Estado de dispersión, 547
 Estaquirosa, 54, 568
 Estearasas, 424
 Esteárico, ácido, 671
 Estearina, 269
 Estearoil-2-lactilato de sodio, 519
 Estearoil-ACP desaturasa, 673
 Esterilización, 623
 Esteroles, 260
 Esteviósido, 46, 532
 Etil maltol, 523
 Etilendiamintetracetato, 527
 Etileno, 464
 Etilmaltol, 65
 Etil-maltol, 74
 Evaluación
 de la seguridad, 654
 de riesgos, 655, 682
 Eventos comerciales de transformación, 661
 Exaltadores, 522
 Exoenzimas, 323
 Extracción sólido-líquido, 438
 Extractos, 543

F

Factores antifisiológicos, 646
 Faloidina, 580
 Falotoxina, 579
 Faseolina, 161
 Favismo, 570
 Fehling, 57
 Fenolasas, 345
 Feofitina, 415
 Feofitización, 416
 Feofórbidos, 415, 416
 Fibra, 107
 cruda, 97, 108
 detergente neutra, 108
 dietética, 108
 muscular, 402, 548
 Filoquinona, 375
 Filtración en gel, 152
 Fitatos, 668
 Fitina, 40
 Fitohemaglutininas, 570
 Fitosteroles, 260, 261

Flatulencia, 54, 568
 Flavandioles, 419
 Flavanonas, 420
 Flavonas, 420
 Flavonoides, 417, 679
 Flavonoles, 418
 FlavrSavr, 662
 Floculación, 560
 Fluidos
 newtonianos, 202, 554
 no-newtonianos, 555
 pseudoplásticos, 555
 Fluoro-2,4-dinitrobenceno, 148
 Folacina, 385
 Folatos, 385
 Fosfatasa alcalina, 357, 615
 Fosfatidilinositol, 259
 Fosfatidilserina, 259
 Fosfoglicéridos, 258
 Fosfolípidos, 259
 Ver también fosfoglicéridos
 Fosfolípidos, 490
 Fósforo, 397
 Fotosíntesis, 1, 406, 413, 414
 Fotooxidación, 432
 Fraccionamiento, 276
 Freído, 281
 Fresa, 666
 Fructosa, 32, 74
 Frutas climatéricas y no climatéricas, 465
 Frutosanas, 106
 Fugacidad, 14, 16
 Furanonas, 482
 Furanos, 482
 Furfural, 60
 Furocumarinas, 566

G

Galactitol, 40
 Galactosa, 33
 Gangliósidos, 33
 Gasificantes para panificación, 532
 Gel, 203
 Gelación, 203
 Gelatina, 217
 Gelatinización, 83, 84, 88
 Geles, 551, 556
 opacos, 204
 translúcidos, 204

- Gelificación, 95, 103, 104
 Gelificante, 98
 Gen
 GmFad2-1, silenciamiento, 675
 GUS, 659
 reportero GUS, 659
 Genciana, 436
 Generación de aromas y sabores, 461
 Genes
 de resistencia a herbicidas, 655
 marcadores, 655, 656
 reporteros, 656
 Genómica, 120, 685, 687
 Gliadinas, 224
 Glicirricina, 532
 Globulinas, 224, 635
 Glóbulos de grasa, 402
 Glucagon, 152
 Glucanas, 76
 Glucoamilasa, 89
 Glucógeno, 97
 Gluconato ferroso, 438
 Glucono- δ -lactosa, 526
 Glucosa, 32
 isomerasa, 351, 352
 oxidasa, 341
 oxidasa, 70
 Glucosidasa, 478
 Glucósidos, 41
 cianogénicos, 567
 Glucosinolato, 585
 Glucosinolatos, 42
 Glufosinato, 693
 Glutamato monosódico, 523
 Glutamil lisina, 181
 Glutación, 134
 Glutelinas, 224
 Gluten, 225, 678
 Gluteninas, 224
 Glycerol, 40
 GM
 maíz, 664
 microorganismos, 666
 microorganismos, 666
 papas, 676
 peces, 682
 soya, 664
 GMS, 523
 Goma
 arábiga, 100
 de alerce, 101
 de algarrobo, 101
 de mesquite, 106
 gatti, 102
 guar, 100
 karaya, 102
 tragacanto, 101
 xantano, 102
 Gomas, 97, 107
 Gosipol, 583
 Gránulo, 83, 84, 88
 Grasas, 672
 butírica, 606
 de los aceites, características, 256
 Grupo amino, 121
 Guanilato sódico, 523

H
 HACCP, 16
 Helados, 279, 558, 608
 Hemaglutininas, 647
 Hemiacetal, unión, 36
 Hemicelulosa, 79, 80, 107
 Hemoglobina, 432
 Herbicidas, 693
 Heteropolisacárido, 76
 Hibernación, 269
 Hidratación, 73
 Hidratos de carbono, 29
 Hidrazinas, 566
 Hidrocoloides, 77
 Hidrogenación, 269
 selectiva, 271
 Hidrógeno
 puente, 6
 puentes, 6
 Hidrolasas, 305
 Hidroperóxidos, 471
 Hidroxiapatita, 617
 Hidroxipropilometilcelulosa, 79
 Hienanquina, 588
 Hierro, 397
 Higroscopicidad, 19
 Histamina, 597
 Histéresis, 17
 HLB (hydrophilic-lipophilic balance), 520
 Hofmeister, 173

Homocisteína, 385
 Homogeneización, 625
 Homogeneizador de válvula, 562
 Homopolisacárido, 76
 HPLC, 499
 HTST, 392
 Huevo
 clara de, 210
 de gallina, 210
 yema, 213
 Huevo, 177
 Humectantes, 540

I

Imbibición, 557
 Imidoazarenos, 178
 Índice
 de acidez, 262
 de flujo, 556
 de Polenske, 262
 de saponificación, 262
 de sólidos grasos, 262
 de solubilidad de nitrógeno, 639
 de yodo, 262
 de actividad emulsificante, 197
 PDCCEAS (Cuenta química con digestibilidad verdadera), 229
 Infrarrojo, 500
 Ingeniería de proteínas, 358
 Inhibidores
 de amilasas, 578
 de tripsina, 636
 Inmunoglobulinas, 615
 Inosin-5'-monofosfato, 493
 Inosinato sódico, 523
 Inositol, 40, 365
 Interfase, 552
 Inulina, 106, 541
 Inulinasa, 333
 Invertasa, 334
 Islanditoxina, 580
 Isocianato de alilo, 43
 Isoflavonas, 419, 648
 Isomerasas, 305, 351
 Isomerización, 56, 411
 Isopreno, 474
 Isoterma
 de adsorción, 17
 de desorción, 17
 Isotiocianato de alilo, 590

J

Jarabes invertidos, 73

K

Kjeldahl, 147
 Kofler, microscopio, 85
 Konjac, 106
 Kunitz, 646

L

Lactasa, 53, 310, 333, 609
 Lactida, 526
 Lactosa, 53, 494, 608
 Lamela, 198, 558
 Lantionina, 180
 Leche, 603
 condensada, 629
 en polvo, 629
 evaporada, 628
 Lecitina, 259, 570
 Leucoantocianidinas, 419
 Levana, 106
 Levansacarasa, 350
 Levulosa, 32, 106
 Ley de Coulomb, 172
 Ley de Raoult, 12
 Liasas, 305
 Licopeno, 408, 410
 Lignina, 79, 107
 Linamarina, 43
 Liofilización, 2
 Lipasas, 339, 615
 Lípidos, 245
 composición, 701
 Lipólisis, 283
 Lipoproteínas
 de alta densidad, 295
 de baja densidad, 295
 Lipoxidasas, 170
 Lipoxigenasa, 170, 343, 417, 469
 Lisina, 480
 Lisinoalanina, 180
 Lisozima, 210, 212
 Litesse, 541
 Lixiviación, 368, 376, 412, 427, 429
 Longitud de onda, 401
 Lovibond, 262
 Lowry, 146

L-ramnosa, 34
 Luminosidad, 439
 Luteína, 407, 410, 679
 Luz, 417

M

Maduración retardada, 661, 702
 Magnesio, 398
 Maillard, 591
 Maíz, 666, 669
 GM, 664
 gusano barrenador europeo, 696
 transgénico, 685
 Malaxado, 279
 MALDI-TOF, 148
 Malonaldehído, 491
 Malteado, 52
 Malteo, 327
 Maltol, 65, 74, 523
 Maltosa, 52
 Manteca de cacao, 281
 Mantecas vegetales, 279
 Mantequilla, 279
 Manufactura de grasas y aceites, 265
 Marcadores de selección, 655
 Marea roja, 586
 Margarina, 277
 Maritol, 40
 Masticación, 457
 Mayonesa y aderezos, 280
 Mejoradores, 534
 Mejoras nutrimentales en alimentos y piensos, 669
 Melanoidinas, 68, 591
 Menadiona, 375
 Menaquinona, 375
 Mercaptanos, 488
 Metabólica, 685, 687
 Metaloproteasas, 336
 Metamioglobina, 434
 Metilcelulosa, 79
 Método del oxígeno activo (AOM), 294
 Mezcal, 495
 Mezcla aceite-disolvente, 267
 Micelas, 171
 Micoproteína, 235
 Micotoxinas, 571
 Microelectroforesis, 144
 Microorganismos GM, 666
 Microscopio Kofler, 85

Miel de abeja, 588
 Mimosina, 582
 Minerales, 395
 Miofibrillas, 214
 Mioglobina, 169, 432
 Miosina, 214
 Miraculina, 532
 Mirosina, 42
 Miscela, 267, 402
 Modificación del aceite de colza, 675
 Molinos coloidales, 562
 Monelina, 232, 532
 Mono y diacilglicéridos, 253
 Monofenol monooxigenasa, 346
 Monosacáridos, 31
 reacciones químicas, 56
 Movilidad dinámica, 16
 Munson Walker, 57
 Músculo, 547
 Mutarrotación, 37

N

Naftoquinona, 375, 436
 Naringina, 34, 420, 532
 N-aspartil lisina, 181
 Natamicina, 515
 N-bromosuccinimida, 183
 Neoquestona, 53
 Neutralización, 267
 Newtoniano, fluido, 554
 Niacina, 386
 Nicotinamida, 386
 Nisina, 515,
 Nitrate de plata, 147
 Nitrito de sodio, 494
 Nitritos y nitratos, 514
 Nitrosamina, 492
 Nitrosaminas, 593
 Nitrosomioglobina, 134
 Nitrosopirrolidina, 592
 Nivalenol, 576
 Nixtamalización, 227, 386, 397, 526
 N-nitroaminas, 184
 N-Oil, 541
 Nombre sistemático, 303
 NPU, 207
 Número de recambio, 318
 Nutracéuticos, 684
 Nutrición, 205

Nutrientos, 541
 inorgánicos, 395
 Nylander, 57

O

OGMs de tercera generación, 679
 OGMs, 663, 668
 aprobados, 663
 granos a granel, 663
 valores del Mercado, 664
 Oleaginosas, 672
 Oleico, ácido, 672
 Oleorresinas, 543
 Olfatometría, 498
 Olfatómetro, 500
 Oligómeros, 164
 Oligopéptidos, 133
 Oligosacáridos, 47
 Organismos genéticamente modificados, 652
 Ornitina, 180
 descarboxilasa, 176
 Ornitinoalanina, 180
 Orto-ftalaldehído, 143
 Osborne, procedimiento, 222
 Oscurecimiento, 59
 de Maillard, 481
 no enzimático, 21, 462, 481
 Osladina, 46
 Ovoalbúmina, 204, 211
 Ovoinhibidor, 177
 Ovomucina, 212
 Ovomucoides, 177, 212
 Oxazoles, 482
 Oxazolina, 482
 Óxido
 de etileno, 368, 517, 597
 de propileno, 368, 517
 Oxidorreductasas, 305, 341
 Oximioglobina, 434
 Oxitetraciclina, 515
 Oxitocina, 134

P

Papa, 665, 666, 669, 670, 700
 GM, 676
 Papaína, 336
 Papaya, 665, 666
 Parabenos, 512
 Paracelso, 598

Paraxantina, 578
 Partículas coloidales, 548
 Pasteurización, 622
 Patrón de respiración, 465
 PDCCEAS (Cuenta Química), 208
 Peces GM, 682
 Pectatoliasas, 330
 Pectinas, 78, 92, 107
 Pectinasas, 329
 Pectinoliasas, 330
 Pectinometilesterasas, 330
 Pehr Edman, 149
 Pelagra, 386
Penicillium, 575
 Pentosas, 34
 Pepsina, 337
 Péptidos, 132
 bioactivos, 234
 Peptización, 553
 PER, 207
 Periodo preclimático, 466
 Peroxidasa, 357, 424
 Peróxido de benzoílo, 534
 Petequias, 434
 Picante, 454, 542
 Pigmentos, 401
 Pimaricina, 515
 Piperazinas, 482
 Pirazinas, 482
 Piridinas, 482
 Piridoxal, 381
 Piridoxamina, 381
 Piridoxina, 381
 Piridoxol, 381
 Pirocarbonato de dietilo, 517
 Pirólisis, 177, 480
 Pironas, 482
 Pirroles, 414, 482
 Pirrolidinas, 482
 Pirrolizinas, 482
 Pistola de genes, 658
 Plasticidad, 262
 Polenske, índice, 262
 Polidextrosa, 541
 Poliestireno sulfonado, 144
 Polifenoles, 496
 Polifenoloxidasas, 424
 Poligalacturonasa, 95
 Poligalacturonasas, 330

- Poliglicerol, 520
 - Polimorfismo, 256
 - Polioles y polialcoholes, 521
 - Polioles, 40
 - Polipéptido, 126, 133
 - Polisacaráridos, 775
 - Polisorbatos, 520
 - Polivinilpirrolidona, 539
 - Polvos para hornear, 532
 - Porfirinas y porfinas, 415
 - Potenciadores del sabor, 522
 - Presión osmótica, 13
 - Productos lácteos, 494, 621
 - Prolaminas, 222
 - Propionatos, 513
 - Prostaglandinas, 253
 - Proteasas, 335
 - ácidas, 336
 - alcalinas, 335
 - inhibidores, 568
 - Proteína
 - adiaciones ionizantes, 181
 - adsorbida, 197
 - adsorción, 194
 - agentes oxidantes, 182
 - α -hélices, 155
 - β -eliminación, 179
 - calidad, 206
 - calificación, 206
 - conformación helicoidal, 155
 - de arroz, 229
 - de leguminosas, 231
 - de maíz, 226
 - de soya, 231
 - del estroma o insolubles, 215
 - del suero, 220
 - dipolo-dipolo, 155
 - edulcorantes, 232
 - espesamiento, 190
 - flexibilidad, 195
 - funcionalidad, 187
 - hidratación, 175
 - índice
 - de dispersabilidad, 194
 - de solubilidad, 194
 - interacciones, 154
 - electrostáticas, 155
 - hidrofóbicas, 155
 - lámina plegada, 160
 - películas, 194
 - peso molecular, 152
 - plastificante, 170
 - puentes de hidrógeno, 155
 - punto isoelectrónico, 192
 - sarcoplásmicas, 215
 - solubilidad, 175
 - unicelular, 235
 - Van der Waals, 153
 - vegetales, 222
 - zonas aperiódicas, 161
 - Proteínas, 119
 - alimentarias, 120
 - efectos negativos, 120
 - estructura primaria, 122
 - secuencia, 122
 - síntesis, 126
 - del suero, 614
 - lácteas, 220
 - vegetales hidrolizadas, 640
 - Proteólisis, 176
 - selectiva, 231
 - Proteómica, 120, 687
 - Proteosa peptonas, 615
 - Protoantocianidinas, 419
 - Protopectinas, 93
 - Provitámeros, 364
 - Provitaminas, 364
 - Prueba del frío, 265
 - Pseudoplástico, 203
 - Puentes de hidrógeno, 5, 6
 - Pululanasa, 326
 - Pungencia, 453
 - Punto
 - de fusión, 264
 - de humeo, 265
 - Punto de inversión, 197
 - Putrescina, 480
 - PVX, 660
 - PVY, 660
- ## Q
- Quelantes, 527
 - Quesos, 626, 666
 - Quimioselectividad, 307
 - Quimosina, 337, 666
 - recombinante, 668
 - Quinonas, 436
 - Quitina, 106

R

Racemización, 179, 596
 Radiaciones, 432
 Radicales libres, 491
 Radiólisis, 289
 Rafinosa, 54, 568
 Rancimat, 294
 Raquitismo, 372
 Reacciones
 de Maillard, 61, 22, 402
 enzimáticas, 310
 Realzadores, 522
 Recambio, 176
 Receptores
 del gusto, 447
 olfativos, 456
 Reducción de lactosa, 683
 Regioespecificidad, 307
 Reguladores del pH, 524
 Relación de la Eficiencia de la Proteína, 206
 Relación Neta de la Proteína, 207
 Remolacha, 666
 azucarera, 665
 Renina, 337, 626
 Reología, 554
 Requerimientos diarios de vitaminas, 364
 Resinas de intercambio iónico, 438
 Resistencia
 a antibióticos, 655, 656
 a insectos, 661, 695
 a lepidópteros, 661
 a virus, 661
 Resonancia
 calorimétrica, 165
 magnética nuclear, 165, 263, 498, 501
 magnética, espectro, 439
 Resveratrol, 669
 Retina del ojo, 401
 Retinal, 370
 Retinol, 370
 Retrogradación, 86, 521
 Reversión, 288
 Riboflavina, 379
 Ribosa, 34
 Ribosa, 71
 R-NPR, 207
 RNV, 207
 Rodopsina, 371

Rojo 40, 537

RPV, 207

S

Sabor, 446
 ácido, 453
 amargo, 452
 dulce, 448
 salado, 452
 umbral de percepción, 455
 Saboreadores, 542
 Sabores primarios, 447
 Saborizantes, 542
 Sacarina, 530
 Sacarosa, 48
 Saciedad, 234
 Sacralosa, 531
 Safrol, 566
 Salado, 2
 Salatrim, 541
 Salinizantes, 542
Salting-in, 202
Salting-out, 202
 Sancochado, 367
 Saponificación, 247, 267
 Saponinas, 570, 647
 Sasafrás, 566
 Saxitoxina, 586
 Schiff, base de, 184
 Secuestradores, 527
 Segunda generación, 668
 Selenoaminoácidos, 481
 Series
 caotrópicas, 173
 liotrópicas, 173
 Serino-proteasas, 335
 Serotonina, 597
Shortenings, 258, 279
 Simplese, 540
 Sinalbina, 42, 590
 Sinéresis, 557, 78
 Sinigrina, 42, 586, 590
 Sitio activo, 308
 Sitosterol, 261
Soap stock, 267
 Sodio, 398
 Solanina, 34, 583, 585
 Soles, 553
 Sólido-líquido, extracción, 438

- Solución
 Faena, 665
 ideal, 12
Somogyi-Nelson, 57
Sorbatos, 512
Sorbitol, 40, 520
Soya, 633, 666, 670, 701
 proteínas, 635
 GM, 664
Span, 520
Staphylococcus aureus, 177
Strecker, reacción, 483
Suero de la leche, 627
Sugar bloom, 73
Sulfitado, 425
Sulfitos, 348, 513
Surfactantes, 518
Surimi, 217
Sustancias para masticar, 540
Sustitutos de grasas, 540
- T**
- Taninos, 424, 427
Tartracina, 536
Taumatinas, 232, 532
Tecnología de los azúcares, 72
Tempe, 55
Temperatura de transición vítrea y de fusión, 190
Tensión superficial, 552
Teobromina, 578
Teofilina, 578
Tequila, 495
Termoestabilidad, 170
Termonebulización, 500
Terpenos, 473
Tetradoxina, 586
Tiamina, 377, 489
Tiazoles, 482
Tiazolidinas, 482
Tiazolinas, 482
Tinción de proteínas, 147
Tiofenos, 482
Tioglucosidasa, 479
Tioglucósidos, 42, 584, 647
Tiol-proteasas, 335
Tiramina, 480, 597
Titer, 262
Tofu, 55, 637
- Tolerancia
 α enfermedades, 652
 α herbicidas, 661
 plagas, 652
Tomate, 665, 670, 702
Tóxicos presentes en los alimentos, 565
Toxina botulínica, 581
Transferasas, 305, 349
Transformación medida por PEG, 657
Transgénicos, alimentos, 652, 653
Transición térmica, 165
Transposición de Amadori, 65
Tretatianos, 482
Triacilglicéridos, 254, 248, 256, 490
Tricotecenos, 576
Triglicéridos, 248, 254
Trigo, 224, 666, 670
Triotiolanos, 482
Tripsina, 568
Trombina, 375
Tujona, 589
Turgencia, 13, 25
Tutina, 588
Tween, 520
- U**
- UHT, 280
Ultrapasteurización, 392, 623
Umami, 453, 523
Uperización, 623
Urea, 170
- V**
- Vacunas humanas orales, 680
Valina, 121
Valores N, 263
Vasopresona, 134
Vector, 654
Verbascosa, 54, 568
Verde 3, 538
Vida de anaquel, 672
Vinos, 424
Viscosidad, 94, 108, 202, 554
 puntual o aparente, 556
Vitámeros, 364
Vitaminas
 A, 370
 B1, 489
 B12, 382

B6, 381
C, 387
D, 372
E, 373
hidrosolubles, 376
K, 375
liposolubles, 368
y nutrientes inorgánicos, 363

X

Xantina, 578
Xantofilas, 407, 408

Xantonas, 436
Xilosa, 34

Y

Yema, 213
Yodo, 398
Yogurt, 628

Z

Z (valor), 392
Zeaxantina, 407, 410
Zwitterions, 121

