

Química de los Alimentos

5ª edición

Salvador Badui Dergal

ALWAYS LEARNING

PEARSON

Química de los Alimentos

Química de los Alimentos

Quinta edición

Salvador Badui Dergal

Director Técnico
Grupo Hérdez, S. A. de C. V.

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 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 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
Ocean Nutrition Canada
Dartmouth, Nueva Escocia, Canadá
Dra. Raquel García Barrientos
Universidad Politécnica de Tlaxcala

CAPÍTULO 8
Dra. Edith Ponce Alquicira
Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Departamento de Biotecnología
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa

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 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
M. en C. María del Rocío Fernández Suárez
Programa Universitario de Alimentos
Universidad Nacional Autónoma de México

REVISIÓN TÉCNICA
Ruth Pedroza Islas
Coordinación de Ingeniería de Alimentos
Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas
Universidad Iberoamericana

PEARSON

Datos de catalogación bibliográfica

BADUI DERGAL, SALVADOR

Química de los alimentos
Quinta edición

PEARSON EDUCACIÓN, México, 2013

ISBN: 978-607-32-1508-4
Área: Ciencias

Formato: 18.5 × 23.5 cm Páginas: 744

Edición en español

Dirección Educación superior:	Mario Contreras
Editora:	Gabriela López Ballesteros e-mail: gabriela.lopezballesteros@pearson.com
Editor de desarrollo:	Bernardino Gutiérrez Hernández
Supervisor de producción:	José D. Hernández Garduño
Gerencia editorial educación superior Latinoamérica:	Marisa de Anta

QUINTA EDICIÓN, 2012

D.R. © 2012 por Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
Atlacomulco 500-5o. piso
Industrial Atoto, C.P. 53519
Naucalpan de Juárez, Edo. de México
E-mail: editorial.universidades@pearsoned.com

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

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 VERSIÓN IMPRESA: 978-607-32-1508-4
ISBN E-BOOK: 978-607-32-1509-1
ISBN E-CHAPTER: 978-607-32-1510-7

Impreso en México. *Printed in Mexico.*
1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 - 15 14 13 12

PEARSON

Contenido

Introducción xvii

Prólogo 1

Capítulo 1 Agua 3

Introducción 3
Fuentes de agua para el ser humano 5
Propiedades del agua 6
Puentes de hidrógeno 7
Propiedades fisicoquímicas 8
Estados físicos del agua 11
Efecto de los solutos en el agua 14
Distribución del agua en los alimentos 16
Actividad del agua 17
Actividad del agua y estabilidad de los alimentos 21
Alimentos de humedad intermedia 23
Congelamiento de los alimentos 24
Dureza del agua 25
Agua potable 26
Agua en la industria alimentaria 26
Referencias bibliográficas 28

Capítulo 2 Hidratos de carbono 31

Introducción 31
Monosacáridos 32
- Monosacáridos más comunes 36
- Aminoazúcares, desoxiazúcares y polioles 38
- Glucósidos 39

Reacciones de oscurecimiento 45
- Caramelización 46
- Reacción de Maillard 48

Oligosacáridos 55
- Sacarosa 56
- Maltosa 59
- Lactosa 59
- Rafinosa, estaquiosa y verbascosa 60
- Otros oligosacáridos 61

Tecnología de los azúcares 61
- Conservación 62
- Cristalización 62
- Hidratación 62
- Poder edulcorante 63

Polisacáridos 64
- Celulosa 65
- Hemicelulosa 67
- Almidón 68
- Pectinas 78
- Glucógeno 81
- Gomas 81
- Fructosanas 88
- Otros polisacáridos 88

Hidratos de carbono y salud 88
- Fibra 89

Referencias bibliográficas 91

Capítulo 3 Proteínas 95

Introducción 95
Aminoácidos 96
- Del gen a la proteína 99
- Estereoquímica de los α-aminoácidos 102
- Clasificación de los aminoácidos 103
- Reactividad química 103
- Propiedades ácido-base 104

Péptidos y enlace peptídico 107
- Estabilidad y formación del enlace peptídico 109

Organización estructural 112
Estabilidad de la estructura proteínica 112
Estructura primaria 114
Estructura secundaria 115
Estructura terciaria 120
Estructura cuaternaria 123
Detección y cuantificación de aminoácidos, péptidos y proteínas 124
Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas y métodos de tinción 128
Cuantificación de proteínas 130
Caracterización de proteínas 132
Análisis de los aminoácidos de las proteínas 135
Determinación de amino y carboxilo terminales y secuenciación 136
Desnaturalización 139
Termodinámica de la desnaturalización 140
Desnaturalización por cambios de temperatura 142
Desnaturalización por cambios de pH 145
Desnaturalización por urea y cloruro de guanidinio 145
Desnaturalización con detergentes 146
Desnaturalización con solventes orgánicos 147
Efecto de la adición de sales en la solubilidad de las proteínas 148
Inactivación mecánica 151
Proteólisis 151
Modificaciones químicas 152
Tratamientos térmicos moderados 152
Pirólisis 152
Racemización y formación de aminoácidos modificados 153
Entrecruzamientos 156
Reacciones de las proteínas con agentes oxidantes 158
Reacciones con nitritos 159
Reacciones con sulfitos 160
Reacciones carbonil amino 160
Formación de acrilamida en altas temperaturas 161
Pérdida de aminoácidos por fraccionación 163
Propiedades funcionales de las proteínas 163
Definición de funcionalidad y clasificación 163
Propiedades de hidratación 166
Propiedades interfaciales de las proteínas 170
Unión de sabores 176
Viscosidad 178
Gelación 179
Propiedades nutrimentales 181
Evaluación de la calidad proteínica en términos nutrimentales 182
Proteínas de algunos alimentos 184
Proteínas del huevo 185

Proteínas de la carne 188
Gelatina 191
Proteínas de pescado: surimi, hidrolizados de pescado 192
Proteínas lácteas 193
Proteínas vegetales 196
Proteínas edulcorantes 205
Péptidos de importancia en el campo de alimentos 206
Proteínas microbianas 208
Referencias bibliográficas 210

Capítulo 4 **Lípidos** 223
Introducción 223
Clasificación 224
Ácidos grasos 225
Acilglicéridos 231
Fosfoglicéridos o fosfolípidos 236
Ceras 237
Esteroides 238
Análisis físicos y químicos 239
Manufactura de grasas y aceites 242
Desgomado 243
Neutralización 244
Decoloración 244
Desodorización 245
Hibernación 245
Procesos de modificación de grasas y aceites 245
Hidrogenación 246
Interesterificación 250
Fraccionamiento 253
Sistemas grasos en alimentos 253
Margarina 253
Mantecas vegetales 255
Mantequilla 255
Grasas para alimentos infantiles 255
Helados 256
Mayonesa y aderezos 256
Sustitutos de manteca de cacao 257
Freído 257
Deterioro de los lípidos 259
Lipólisis o rancidez hidrolítica 259
Oxidación o rancidez oxidativa 260
Antioxidantes 264

Determinación de la oxidación 268
Evaluación sensorial 268
Índice de peróxido 269
Método del ácido tiobarbitúrico 269
Método del oxígeno activo 269
Otros métodos 269
Aspectos nutricionales 270
Referencias bibliográficas 272

Capítulo 5 Enzimas 275
Introducción 275
Nomenclatura 278
Las enzimas como catalizadores 279
Especificidad 281
Sitio activo 283
Factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas 285
Efecto del pH 285
Efecto de la temperatura 286
Efecto de la concentración de sustrato 289
Efecto de la actividad acuosa 290
Efecto de otros agentes en la actividad enzimática 290
Cinética de las reacciones enzimáticas 292
Cuantificación de la actividad enzimática 294
Uso industrial de las enzimas 296
Revisión de enzimas de importancia en alimentos 299
Carbohidrasas 301
Proteasas 311
Lipasas 316
Oxidorreductasas 318
Transferasas 326
Isomerasas 329
Procesos de interés en alimentos con enzimas o células inmovilizadas 330
Análisis químico con enzimas 332
Tecnología de ADN recombinante aplicada a la producción y modificación de enzimas de interés en alimentos 333
Referencias bibliográficas 337

Capítulo 6 Vitaminas y nutrimentos inorgánicos 341
Introducción 341
Contenido de vitaminas en los alimentos 344

Vitaminas liposolubles 346
Vitamina A 348
Vitamina D 349
Vitamina E 351
Vitamina K 352
Vitaminas hidrosolubles 354
Tiamina (B_1) 354
Riboflavina (B_2) 356
Vitamina B_6 359
Vitamina B_{12} 359
Biotina 361
Folatos 361
Niacina 362
Ácido pantoténico 363
Vitamina C 364
Compuestos asociados a las vitaminas 367
Resumen de la estabilidad de las vitaminas 368
Nutrimentos inorgánicos o minerales 371
Calcio 373
Fósforo 374
Hierro 374
Sodio 374
Otros elementos 375
Referencias bibliográficas 376

Capítulo 7 Pigmentos 379

Introducción 379
Pigmentos naturales y sintéticos 380
Pigmentos naturales 380
Pigmentos sintéticos 381
Carotenoides 382
Estructura y características químicas 384
Carotenoides en alimentos 384
Obtención 387
Estabilidad 388
Usos 390
Carotenoides en la salud humana 390
Clorofilas 391
Estructura 392
Efecto del procesamiento 394
Pigmentos fenólicos 396
Flavonoides 396
Antocianinas 399
Taninos 403

Betalaínas 405
Estructura 406
Estabilidad 406
Hemopigmentos 407
Estructura 408
Color en carne fresca 409
Color de carne curada 411
Otros pigmentos naturales 411
Cúrcuma 411
Ácido carmínico 412
Quinonas 414
Xantonas 414
Color caramelo 415
Gluconato ferroso 415
Pigmentos de origen microbiano 415
Pigmentos de origen marino 416
Referencias bibliográficas 418

Capítulo 8 Olor y sabor de los alimentos 429
Introducción 429
Gusto 430
Gusto dulce 432
Gusto amargo 436
Gusto salado 437
Gusto ácido 438
Umami 439
Fenómenos de percepción asociados con los gustos básicos 440
Moduladores del gusto 440
Aromas 442
Aspectos fisicoquímicos en la percepción del olor y el sabor 444
Proceso de masticación 444
Efecto de macromoléculas en la percepción del sabor 446
Microencapsulación y nanoemulsiones 448
Materiales de empaque 450
Mecanismos de la generación de olores y sabores 450
Biosíntesis 452
Generación de aromas por el efecto de tratamiento térmico 469
Precursores y desarrollo del aroma y el sabor en alimentos 482
Carne y sus derivados 482
Leche y sus derivados 483
Bebidas alcohólicas 483
Análisis de compuestos de aroma y sabor 488
Extracción de compuestos del aroma y el sabor 489
Identificación de compuestos del aroma y el sabor 493
Referencias bibliográficas 501

Capítulo 9 Aditivos 511

Introducción 511
Aspectos legales 513
Conservadores 517
- Ácido benzoico y benzoatos 517
- Ácido sórbico y sorbatos 518
- Ácido acético y acetatos 519
- Parabenos 519
- Ácido propiónico y propionatos 519
- Sulfitos y dióxido de azufre 520
- Nitritos y nitratos 521
- Antibióticos 522
- Pirocarbonato de dietilo 523
- Epóxidos 523
- Otros conservadores 524

Emulsionantes 525
Polioles o polialcoholes 527
Potenciadores del sabor 529
Acidificantes, alcalinizantes y reguladores de pH 530
Secuestradores o quelantes 533
Edulcorantes 534
Gasificantes para panificación 537
Acondicionadores de panificación 539
Antiaglomerantes 540
Antiespumantes 540
Colorantes 541
Clarificantes 544
Sustancias para masticar 544
Humectantes 545
Sustitutos de grasas 545
Saborizantes 546
Otros aditivos 547
Referencias bibliográficas 548

Capítulo 10 Estado de dispersión 551

Introducción 551
Clasificación de los coloides 553
Estabilidad de los coloides 556
Soles 557
- Propiedades reológicas de los soles 558

Geles 560
Espumas 561

Emulsiones 563
Nuevas tendencias para elaborar alimentos emulsionados bajos en calorías 567
Referencias bibliográficas 569

Capítulo 11 **Tóxicos presentes en los alimentos** **571**

Introducción 571
Leguminosas 572
- Glucósidos cianogénicos 572
- Promotores de flatulencia 574
- Inhibidores de proteasas como la tripsina 575
- Fitohemaglutininas 576
- Saponinas 576
- Favismo 576

Cereales 577
- Toxinas producidas por hongos (micotoxinas) 577
- Ácido fítico 582

Inhibidores de amilasas 583
Bebidas estimulantes 583
Péptidos, proteínas y aminoácidos tóxicos 584
- Amatoxina y falotoxina 584
- Islanditoxina 585
- Toxina botulínica 586
- Toxinas de *Stafilococcus* sp. 586
- Selenoaminoácidos 586
- Canavanina 587
- Mimosina 587

Gosipol 588
Capsaicina 588
Solanina y chaconina 589
Sustancias promotoras de bocio 590
Toxinas en mariscos y peces 591
- Saxitonina 591
- Tetradoxina 592

Antivitaminas 593
Tóxicos presentes en la miel de abeja 593
Compuestos tóxicos generados por proceso 595
- Compuestos producidos por altas temperaturas 595

Racemización de aminoácidos y formación de isopéptidos 601
Formación de aminas biógenas 602
Fumigantes y disolventes 602
Comentarios finales 603
Referencias bibliográficas 606

Capítulo 12 Leche 611

Introducción 611
Composición de la leche 612
- Lípidos 613
- Lactosa 615
- Proteínas 617
- Enzimas 623
- Vitaminas 624
- Sales y nutrimentos inorgánicos 625

Algunas propiedades físicas y químicas de la leche 625
Estado de dispersión de la leche 626
- Fase micelar 626
- Fase lipídica 628

Productos lácteos 628
- Leche pasteurizada, ultrapasteurizada y esterilizada 629
- Quesos 633
- Yogur 636
- Otros productos lácteos 636

Referencias bibliográficas 638

Capítulo 13 Soya 641

Introducción 641
Proteínas de la soya 643
Formas comerciales de la soya 646
- Harinas 646
- Concentrados 648
- Aislados 649

Propiedades funcionales 651
- Modificaciones de las proteínas 653

Factores antifisiológicos 653
Soya y nutrición 654
Mejora genética de la soya 656
Referencias bibliográficas 657

Capítulo 14 Alimentos transgénicos 661

Introducción 661
Ingeniería genética y OGMs 662
- ¿Cómo se obtiene una planta transgénica? Una visión general 662
- El vector de transformación y sus elementos 663
- Principales métodos para la transferencia de genes 665

Los OGMs comerciales para la alimentación 669
FlavrSavr™, el primer alimento GM 669
Cultivos GM en el comercio internacional 670
OGMs en México 674
Microorganismos GM para producción de enzimas auxiliares de proceso 675
Peces GM destinados a la alimentación 676
OGMs en desarrollo 677
OGMs de segunda generación 677
Microorganismos GM para mejorar la composición nutrimental de los alimentos y/o sus cualidades organolépticas 682
OGMs de tercera generación 682
Animales domésticos GM 683
Análisis de riesgos y marco regulatorio 684
Análisis de riesgos aplicados a OGMs 684
Evaluación de la inocuidad de los alimentos transgénicos 686
Marco regulatorio en materia de bioseguridad. El caso de México 688
Métodos de detección de OGMs en alimentos 688
El enfoque de las proteínas 689
El enfoque del ADN 691
Conclusiones 694
Referencias bibliográficas 696

Capítulo 15 **Nutracéuticos, fitoquímicos y alimentos funcionales** **701**

Introducción 701
Oxidación celular 702
Nutracéuticos 702
Fitoquímicos 703
Carotenoides 704
Polifenoles 704
Derivados azufrados 705
Fitoesteroles 706
Otros nutracéuticos 706
Probióticos y prebióticos 706
Aminoácidos y proteínas 707
Hidratos de carbono 707
Lípidos 708
Vitaminas y minerales 708
Resumen de su función biológica 708
Antioxidantes 709
Salud cardiovascular 709
Anticancerígeno 709
Diabetes 709

Energía 710
Reducción de peso 710
Sistema nervioso 711
Sistema óseo 711
Salud cerebral 711
Otras funciones de los nutracéuticos 711
Alimentos funcionales 712
Referencias bibliográficas 713

Índice **717**

Introducción

La ciencia de los alimentos es un área mutidisciplinaria, integrada por la química, la biología, la microbiología y la ingeniería, que en las últimas décadas ha cobrado gran relevancia. Para el estudio de los alimentos a lo largo de toda la cadena alimentaria, es decir, desde la producción primaria, su procesamiento, conservación, preparación y puesta del producto final en la mesa del comensal, se requiere de importantes conocimientos sobre química. Los ingenieros, los químicos, los bioquímicos, los chefs y, en general, todo profesional dedicado a esta actividad debe conocer estos principios.

Todos los alimentos están constituidos por distintas proporciones de agua, hidratos de carbono, proteínas, lípidos, enzimas, vitaminas, minerales, pigmentos, sabores, aromas y diversos agentes bioactivos; las interacciones físicas y químicas que ocurren entre ellos, y con el medio ambiente que los rodea, determinan la calidad de los cinco atributos que se buscan al consumir un producto: color, sabor, textura, valor nutritivo y seguridad o inocuidad.

Cada uno de los componentes de los alimentos tiene una reactividad que es importante conocer; en algunos casos, ésta se refleja muy positivamente al hacer comestible un grano duro de cereal o de leguminosa; en otros, lo notamos por un color indeseable, como en los aguacates o en los plátanos, o por el endurecimiento de la carne; y en algunos más, se refleja en la síntesis de compuestos con potencial tóxico.

En los últimos años se ha acrecentado considerablemente el cúmulo de conocimientos e investigaciones sobre la química de los alimentos, de tal forma que en la actualidad podemos encontrar profesionales muy especializados dedicados al estudio de cada uno de estos componentes.

No hay duda que se seguirá generando información muy valiosa sobre la química de los alimentos, la cual incluiremos en las siguientes ediciones de este libro.

Prólogo

A partir del 2006, año de la última edición de este texto, se ha generado mucha información científica y tecnológica sobre la ciencia de los alimentos, incluyendo, obviamente, la química. De hecho, muchos de los conceptos que en ese momento aparecían por primera vez, ahora son muy comunes. La nanotecnología, los fitoquímicos, los nutracéuticos, la proteómica, la nutrigenómica, la gastronomía molecular, y muchos otros, son ahora términos de uso general; de igual forma, han surgido muchos aditivos con aplicaciones más novedosas.

La estructura de esta nueva edición se mantiene, pero hemos revisado con detalle y actualizado el conocimiento que teníamos de cada uno de los componentes de los alimentos: agua, hidratos de carbono, proteínas, lípidos, enzimas, vitaminas, minerales, pigmentos, y los responsables del sabor y aroma. Lo mismo hicimos con los capítulos sobre aditivos, el estado de dispersión y el de los tóxicos. La leche y la soya se conservan como ejemplos de aplicación de los conceptos explicados en otras secciones del libro. La ingeniería genética sigue su avance espectacular, razón por la cual enriquecimos la sección sobre alimentos transgénicos.

Finalmente, y debido a la gran relevancia que ha adquirido en los últimos años, incluimos un capítulo nuevo, sobre fitoquímicos y nutracéuticos, muchos de los cuales siguen en estudio causando grandes controversias.

1

- Introducción
- Fuentes de agua para el ser humano
- Propiedades del agua
- Estados físicos del agua
- Efecto de los solutos en el agua
- Distribución del agua en los alimentos
- Actividad del agua
- Actividad del agua y estabilidad de los alimentos
- Alimentos de humedad intermedia
- Congelamiento de los alimentos
- Dureza del agua
- Agua potable
- Agua en la industria alimentaria

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Agua

Introducción

Junto con los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos, el agua es uno de los cuatro macrocomponentes que integran todos los alimentos que el hombre consume. En algunos casos representa 95.2% (*u. gr.* pepino) y en otros sólo 2.5% (leche en polvo) del producto comestible, como muestra el cuadro 1.1; en la sal y el azúcar de mesa el contenido de agua es prácticamente cero. La frescura de las frutas, de las verduras y de los cárnicos siempre se relaciona con su alta proporción de agua que, en la mayoría de los casos, es al menos de 60%; de igual manera, los microorganismos —bacterias, hongos y levaduras— la contienen en un porcentaje muy elevado.

CUADRO 1.1 **Contenido aproximado de agua de algunos alimentos[18]**

Leche entera en polvo	2.5	Papa	79.9
Chicharrón	2.6	Guayaba	80.5
Maíz blanco	10.6	Chabacano	85.0
Frijol negro	12.0	Papaya	87.1
Bolillo	25.0	Zanahoria	88.0
Tortilla	53.8	Brócoli	88.1
Jamón	55.3	Naranja (jugo)	88.5
Masa para tortilla	62.2	Cebolla blanca	88.6
Queso fresco	62.7	Leche	89.2
Carne de cerdo	65.0	Fresa	89.7
Aguacate	69.5	Nopal	90.1
Carne de res	71.6	Chile jalapeño	90.3
Plátano	73.2	Sandía	90.9
Leche evaporada	74.0	Jitomate	92.8
Huevo	74.3	Lechuga romana	94.3
Mojarra	78.7	Pepino	95.2

El agua es fundamental para cualquier forma de vida biológicamente activa, sea una bacteria, el ser humano o un elefante; su importancia es tal que sin ella la vida en nuestro planeta no sería posible. Sin embargo, con frecuencia no se le considera un nutrimento, como sí ocurre con los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos, debido a que prácticamente no sufre cambios químicos durante su aprovechamiento en el organismo humano.

Desempeña un gran número de funciones biológicas a partir de su capacidad para transportar sustancias, disolver otras y mantenerlas tanto en solución como en suspensión coloidal, además de su reactividad química al intervenir en reacciones enzimáticas de hidrólisis y, sobre todo, en la fotosíntesis; es decir, participa activamente en la síntesis de glucosa a partir de CO_2, monosacárido vital para la vida y que a su vez da origen a polisacáridos, proteínas, etcétera.[3]

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{luz solar}} \text{glucosa}$$

Muchas macromoléculas de interés biológico, como las enzimas y los ácidos nucleicos, se vuelven activas sólo cuando adquieren sus correspondientes estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, gracias a la interacción que establecen con el agua. Lo anterior significa que las células animales y vegetales, así como los microorganismos, sólo se desarrollan si encuentran las condiciones adecuadas en un medio en el que la actividad del agua es fundamental.[9]

El agua influye en las propiedades de los alimentos y éstos, a su vez, con sus componentes influyen en las propiedades físicas y químicas del agua, como se explica más adelante.[10] La consistencia, textura y otras características reológicas de los alimentos están determinadas por la interacción entre el agua y los macrocomponentes; además, esto también repercute en su estabilidad química y microbiológica.

El agua es decisiva en todos los procedimientos de conservación de los alimentos, entre ellos la concentración, la deshidratación, el congelamiento, la liofilización, el salado, el azucarado y la pasteurización por alta presión;[7] de hecho, estos sistemas consisten precisamente en regular la actividad del agua para controlar tanto las reacciones químicas y

enzimáticas, como el crecimiento microbiano. Sus propiedades fisicoquímicas en los tres estados físicos que asume —líquido, sólido y vapor— tales como calor de vaporización, el calor específico y el punto de congelación, entre otros, se deben tomar en cuenta en el diseño de todos estos sistemas de conservación.[23]

Fuentes de agua para el ser humano

Entre 60 y 70% del cuerpo humano de un adulto es agua y puede llegar hasta el 75% en los recién nacidos, aunque ciertos tejidos como huesos, cabellos y dientes 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 de un adulto requiere un mínimo aproximado de 2 500 mL diarios (según la edad, el sexo, la actividad física, etc.) y la pierde continuamente por el sudor, la orina, la espiración y las heces. El balance hídrico entre lo que pierde y lo que ingiere, es fundamental para el buen funcionamiento de su organismo; la insolación o la diarrea causan una pérdida elevada de líquidos que, en caso de alcanzar 10% del total, puede causarle problemas muy serios. El vapor que se elimina por la espiración depende también de la altitud del lugar; así, en el área metropolitana de la Ciudad de México (2 260 metros sobre el nivel del mar) se respira más seguido que en la costa porque el oxígeno es más escaso y en consecuencia se incrementa la pérdida de agua; además, a menor presión atmosférica el aire es seco y el agua se evapora más fácilmente por los poros de la piel. El hombre puede vivir un mes sin alimentos, pero no más de siete días sin agua.

Para tener un adecuado balance se recomienda consumir 1 mL por cada kilocaloría (Kcal); es decir, para una dieta de 2 500 Kcal diarias para un adulto se requieren 2.5 litros (L) de agua al día (cuadro 1.2).

La fuente más importante es la ingesta de líquidos pero también diferentes alimentos, como los vegetales que contienen en general más de 80% de agua; la leche, que tiene 87%; los huevos, con 74%, y el pan, que contiene aproximadamente 40% y es uno de los alimentos que más se consumen.

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 nutrimentos produzca 2 500 Kcal por día, generará 350 ml de agua.

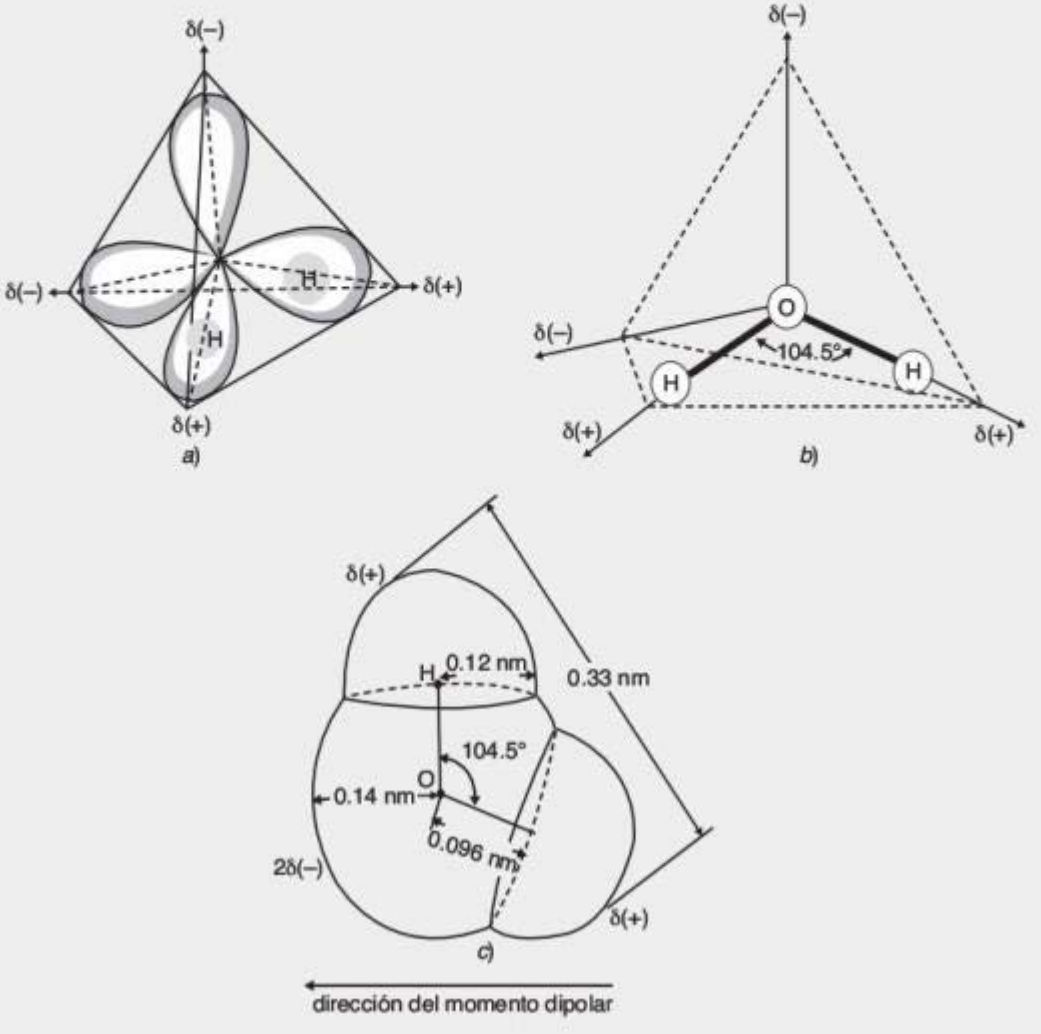
CUADRO 1.2 **Balance de agua para un adulto con un consumo de 2 500 Kcal**

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

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 1*s* del hidrógeno comparten dos electrones con las híbridas 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 forma imaginaria de tetraedro[28] (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°.

Figura 1.1 Representación esquemática de la molécula de agua: *a*) y *b*) estructura tetraédrica imaginaria formada por las órbitas sp^3 del oxígeno; *c*) dimensiones de la molécula de agua.

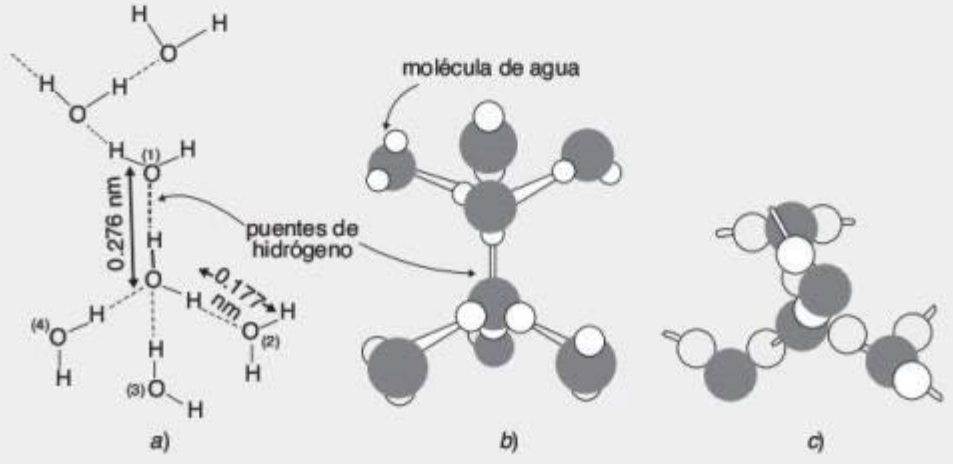


En el agua existe una diferencia de electronegatividades, debido a que el oxígeno tiene un gran poder de atracción por los electrones de los dos hidrógenos, lo que ocasiona que éstos desarrollen una carga parcial positiva $\delta(+)$ temporal y que el átomo de oxígeno desarrolle una carga parcial doble negativa $2\ \delta(-)$ temporal; esto hace que se produzca un momento dipolar muy fuerte, como un mini imán, cuya dirección se observa en la figura 1.1. Es decir, esta molécula no tiene una carga específica, 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.[20]

Puentes de hidrógeno

El puente de hidrógeno no es propiamente un enlace químico, sino una atracción electrostática que se produce cuando dos átomos negativos de compuestos polares se unen mediante uno de hidrógeno, de tal manera que sólo participan los elementos más electronegativos, como el oxígeno (figura 1.2), aun cuando también interviene el nitrógeno y otros. 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 momento específico, en conjunto representan una gran fuerza. Tanto el número de estas uniones como la longitud del puente de hidrógeno entre moléculas vecinas (*v. gr.* 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 está por encima de él y la 4 detrás del plano; *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 se explican más adelante. 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.

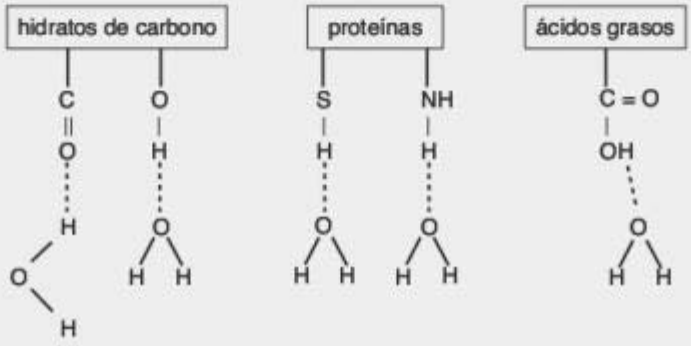
Cabe señalar que los puentes de hidrógeno no sólo se inducen en el agua, sino en cualquier sustancia que tenga características polares, como las proteínas y los hidratos de carbono, gracias a sus diversos grupos hidrófilos (figura 1.3). Mediante este mecanismo, los polímeros y algunos compuestos de bajo peso molecular retienen agua y le confieren a los alimentos propiedades reológicas muy especiales. Con base en esto, el agua de los tejidos vegetal y animal se retiene (se hidratan), lo que se manifiesta en su frescura y crujencia; los soles, los geles y otras texturas similares (vea el capítulo 10) se crean por las interacciones que establecen los macrocomponentes de los alimentos con el agua.

Las temperaturas bajas favorecen la formación de puentes de hidrógeno, mientras que las altas los destruyen; por esta razón, de manera simplificada se considera que en el hielo 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 de 35-45% de los puentes de hidrógeno; por lo tanto, hay relación entre la estructura del agua en estas condiciones y la facilidad para que se lleven a cabo las reacciones que sustentan la vida.

Propiedades fisicoquímicas

Debido a la formación de estructuras tridimensionales mediante puentes de hidrógeno, el agua muestra propiedades que resaltan 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 (°C), respectivamente; el agua con el menor peso molecular presenta valores de puntos de fusión y ebullición que no corresponden a la serie, y que son 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 siempre sería un gas.

Figura 1.3 Formación de puentes de hidrógeno con hidratos de carbono, proteínas y ácidos grasos.



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 en nuestro planeta (10-50 °C, aproximadamente).

Sus propiedades fisicoquímicas como el calor de vaporización, el calor específico, la conductividad, las propiedades dieléctricas, etc., 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 1 kg 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. Para comparar y entender mejor este valor, cabe señalar que el metanol, el etanol, la acetona y el cloroformo (todos ellos 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 concentración y deshidratación de alimentos), o que la vaporización de pequeñas cantidades de ella es suficiente para sustraer mucho calor, lo que explica por qué la vaporización del sudor es responsable de la mayor parte del calor perdido por un organismo que sirve de mecanismo de enfriamiento.

El proceso inverso al de la evaporación, 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 éste 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).

Su alto calor específico (4.186 kJ/g °K o 1 cal/g °C a 20 °C) indica que se requiere 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 °K 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 es la causa de que los mares y océanos actúen como reguladores térmicos del planeta.

Su gran dipolo es fundamental para calentar los alimentos en horno de 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 infinidad de aplicaciones en la naturaleza (existen disoluciones como océanos, mares, lagos, ríos, etc.), igual que en los alimentos, en el plasma san-

guíneo 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, etc.) o en grasas.

Los cristales de NaCl son estables por las fuertes atracciones electrostáticas entre sus iones positivo y negativo; mientras más fuerte sea la unión, más energía se requerirá para la separación. El agua es capaz de disolver estos cristales debido a la intensa fuerza que se crea entre su dipolo y los iones de sodio y cloro, lo que provoca la producción de Na^+ y Cl^- altamente hidratados; esa interrelación es mayor que la tendencia a la unión de los dos iones para restablecer la sal (figura 1.4). 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. Es precisamente la gran capacidad de hidratación del sodio la causante de los problemas de hipertensión que provoca el consumo excesivo de sal (vea el capítulo 6).

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:

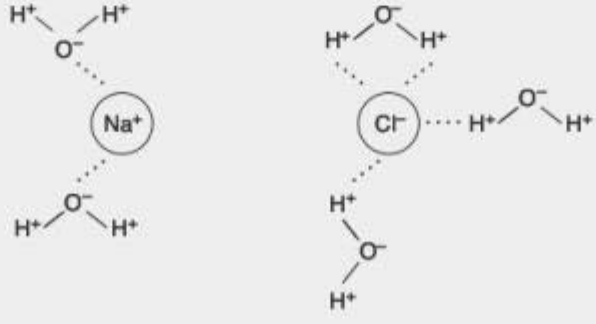
$$F = \frac{e_1 e_2}{Dr^2}$$

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, etc., que contienen grupos carbonilo, amino, hidroxilo o carboxilo que fácilmente interaccionan con ella por 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 esas uniones (figura 1.3).

Cabe indicar que la disolución se efectúa cuando la concentración del agua es superior a la del soluto; sin embargo, cuando ésta es baja las sustancias no se disuelven, sólo se hidratan y forman fluidos muy viscosos o incluso geles, en los que el líquido queda retenido también por puentes de hidrógeno en una red tridimensional (vea el capítulo 10).

Figura 1.4 Hidratación del cloruro de sodio (NaCl).



Las moléculas de agua que están en contacto con el aire se comportan de manera distinta de las que no lo están, ya que actúan como una película elástica sobre la que un insecto puede posarse en la superficie sin hundirse; esto es resultado de las fuerzas internas entre moléculas y se refleja en el fenómeno de tensión superficial. En la figura 1.5 se observa que mientras las moléculas internas interactúan de forma homogénea entre ellas, las que están 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 73 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 otras emulsiones, o al suministro de energía mecánica (agitación, homogeneización), para formar dispersiones coloidales estables. De igual manera, el café y el té reducen la tensión superficial del agua y provocan que al hervirla se formen burbujas que incluso se derraman del recipiente.

Estados físicos del agua

Como vimos antes, el agua existe en forma de vapor, de líquido o de sólido, dependiendo de la cantidad de puentes de hidrógeno que establezca internamente; la interrelación que se presenta entre estos tres estados físicos de la materia se muestra en el diagrama de fases de la figura 1.6 y que dependen de la temperatura y la presión.

Figura 1.5 Representación esquemática de la interacción agua-aire, las flechas indican los puentes de hidrógeno.

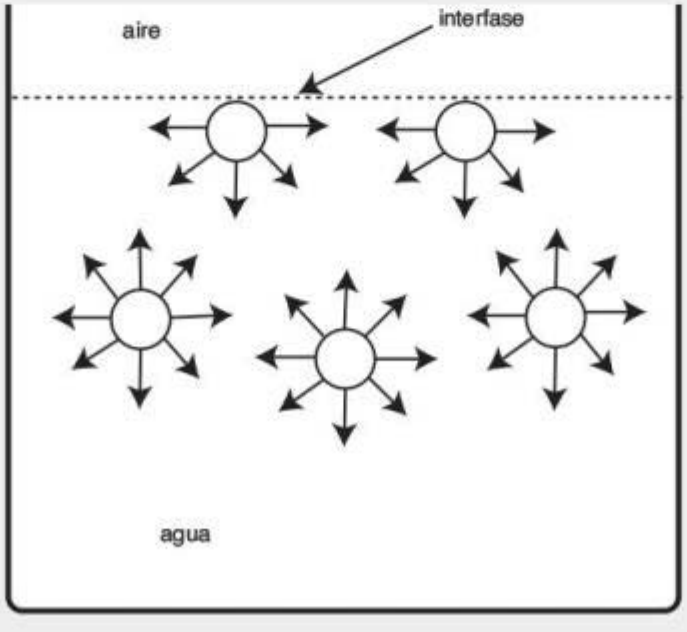
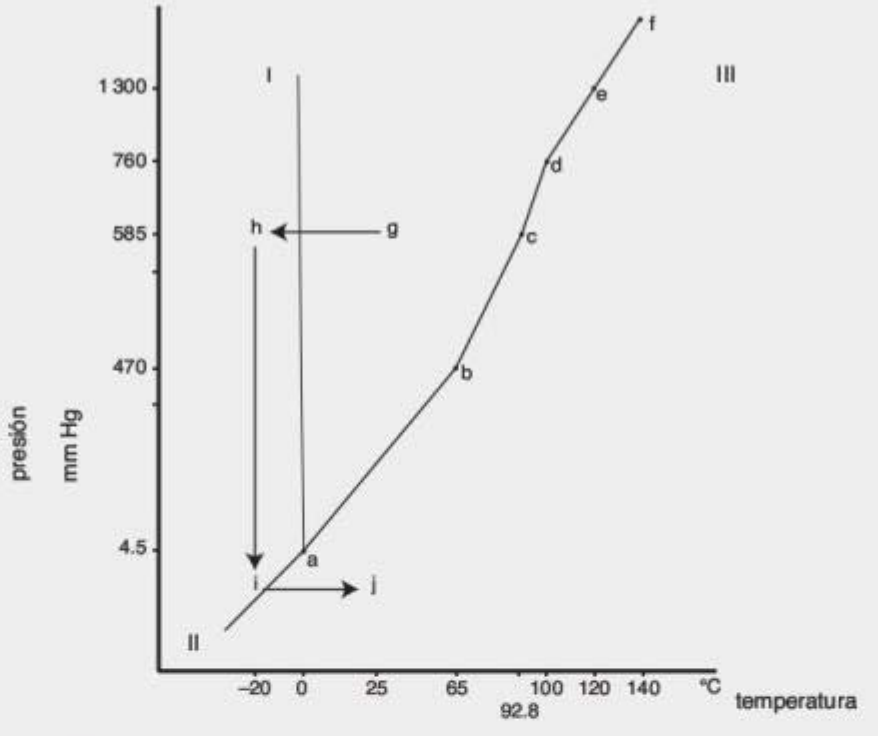


Figura 1.6 Diagrama de fases del agua.



a: punto triple (0.01, 4.5)
b: evaporación al vacío para fabricar mermeladas (65, 470)
c: ebullición del agua en la Ciudad de México (92.8, 585)
d: ebullición del agua a nivel del mar (100, 760)
e: olla a presión y esterilización industrial (120, 1,300)
f: ultrapasteurización de la leche (140, > 1,300)
g-h: ruta de la liofilización

Se observa que las curvas I, II y III delimitan cada uno de estos estados y que se cruzan en el llamado punto triple que se alcanza a 0.01 °C y 4.5 mm Hg, donde teóricamente conviven el hielo, el agua líquida y el vapor. A 760 mm Hg de presión, que corresponden al nivel del mar, el agua hierve a 100 °C, mientras que a 585 mm Hg, que es la presión de la Ciudad de México por encontrarse a poco más de 2 200 msnm, hierve a 92.8 °C. El agua líquida se evapora, es decir, cruza la curva II de izquierda a derecha a 100 °C; para evaporarse y desprenderse a la atmósfera, sus moléculas gaseosas deben vencer la presión que ejerce sobre ellas una columna de aire de 160 km de altura, aproximadamente, que equivale a la presión atmosférica a nivel del mar; la densidad del aire es muy baja, pero la cantidad acumulada por centímetro cuadrado a esta altura es considerable.

En general, la ebullición disminuye 1 °C por cada 300 m de altitud, razón por la cual en algunas poblaciones de Sudamérica a 4 000 msnm se alcanza a 86 °C, mientras que en el monte Éverest se logra a 71 °C (temperatura mínima para cocer un huevo). El efecto opuesto se observa en la olla a presión que alcanza 1 300 a 1 500 mm Hg, presión superior a la atmosférica, lo que provoca que el agua hierva a 120 °C; en términos de altitud, el agua herviría a

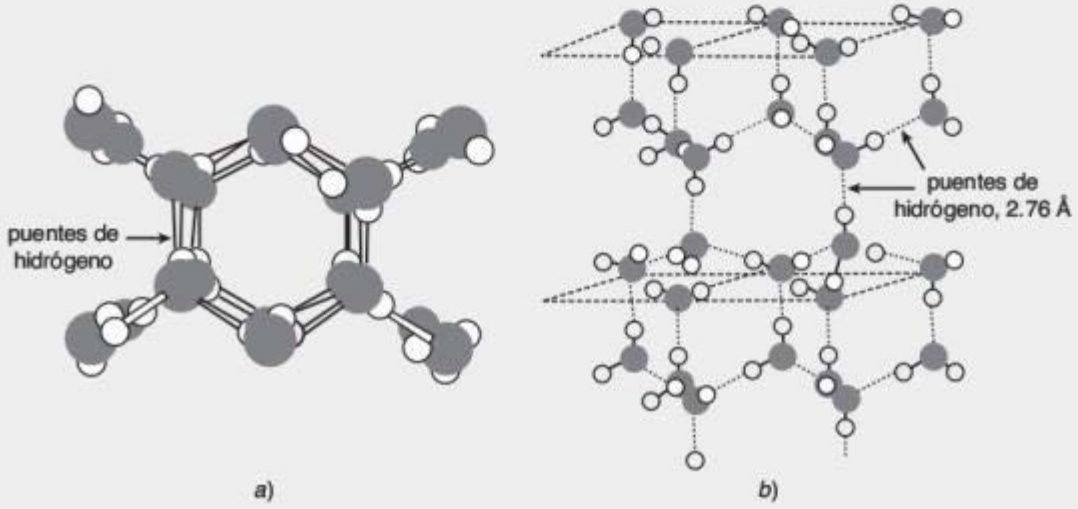
120 °C en un punto ubicado a 6 000 m (300 × 20) bajo el nivel del mar. Además del efecto de la presión, la temperatura de ebullición se incrementa ligeramente con la adición de sustancias de bajo peso molecular, como sal o azúcar; por ejemplo, 20 g de sal (2%) por litro de agua sólo la aumenta 1 °C.

En contraste, el cruce de la curva II de derecha a izquierda representa la condensación, como se observa al hervir el agua y cuyo vapor se condensa en pequeñas gotas al contacto con una superficie fría. Algo semejante ocurre en la parte externa de un vaso con hielo en un ambiente húmedo de playa, o con los anteojos al entrar a una zona húmeda y caliente.

Al continuar de derecha a izquierda y cruzar la curva I, ocurre el congelamiento y la formación de hielo. Esta estructura sólida es ordenada y simétrica y las moléculas de agua están unidas por puentes de hidrógeno, lo que resulta en una reducción de la entropía; 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 tetraedro perfecto de 109°20′, lo que evita tensiones en la estructura. Los oxígenos interaccionan de tal manera que generan planos paralelos de agua, según la figura 1.7, 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 otras cuatro o más, 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 10% de los puentes de hidrógeno. 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 J/m s °K (5.3 cal/cm s °C), que es cuatro veces el del agua.

El hielo flota en el agua, ya que su densidad es de 0.9168 g/cm^3 a 0 °C, mientras que la del agua a la misma temperatura es de 0.9998, y a 20 °C de 0.9982. La temperatura de congelación disminuye con la sal, el azúcar y otras moléculas pequeñas, efecto que se observa

Figura 1.7 *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 distintas instancias; por ejemplo los vegetales frescos con alta humedad también tienen sales, glucosa y ácidos orgánicos que reducen 1 a 2 °C su congelamiento con respecto al agua pura; los peces de aguas gélidas no se congelan debido a que sus tejidos concentran muchas sustancias nitrogenadas de bajo peso molecular; en los trozos grandes de carne, como la de pavo, se encuentra una proporción de agua de 5 a 10% en la que se concentran las moléculas pequeñas y no se congela ni a −20 °C; el mar contiene 3% o más de sal que conserva el agua en forma líquida aun a 0 °C; la alta concentración de sal en las salmueras permite mantener temperaturas bajas que se aprovechan para enfriar bebidas y helados.

Son muy comunes los procesos caseros o industriales que implican cruces de las curvas I y II (congelamiento, descongelamiento, evaporación y condensación), pero es más complejo llevar a cabo aquellos en los que se involucra la curva III. A una presión inferior al punto triple, el hielo se convierte en gas sin pasar por líquido mediante la sublimación, que es la base de la liofilización que se lleva a cabo siguiendo la ruta g-h-i-j; el primer paso consiste en la congelación rápida del producto (*u. gr.* a −20 °C o menos) para producir hielo amorfo, sin redes estructuradas típicas de los cristales (h); le sigue una fuerte reducción de la presión por debajo del punto triple (i) y, por último, se aplica una pequeña cantidad de calor por radiación suficiente para la sublimación (j). 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 vegetales, té, café, carnes y otros alimentos con propiedades sensoriales (aroma, textura, sabor, etc.) y contenido vitamínico muy semejantes a los de las materias primas. La sublimación también se observa con el llamado hielo seco, sólido, que en realidad es bióxido de carbono comprimido a −78 °C, y que se transforma en gas sin dejar residuo líquido.

Efecto de los solutos en el agua

Como se ha indicado, la presencia de solutos causa cambios importantes en la estructura del agua que se reflejan en sus propiedades coligativas, tales como 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. Por ejemplo, la sacarosa absorbe calor al disolverse en agua y su solubilidad aumenta con la temperatura; por su parte, el NaCl casi no absorbe calor y por tanto no se ve afectado por el incremento de 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 los alimentos. Las desviaciones de esta ley 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 reducción mayor, 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.[4]

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 en condiciones normales 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, hace que congele en un intervalo cerrado de alrededor de −0.54 °C; la determinación se efectúa en el crióscopo y se hace de manera rutinaria para cuantificar posibles adulteraciones (vea el capítulo 12).

Al reducir la temperatura de congelamiento, los solutos también afectan la presión de vapor y por lo tanto la actividad del agua; este hecho se ha aprovechado para relacionar ambos parámetros en soluciones acuosas binarias muy simples, de tal forma que con ese punto de congelamiento se deduce el valor de la actividad del agua.[17]

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, etc., al no disolverse, favorecen las formas estables de agregados o clatratos en los que los solutos se localizan en los espacios vacíos, lo que obliga 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 marchitos (*v. gr.* zanahorias y naranjas) recuperan su frescura cuando se remojan, sobre todo en agua fría ya que la hemicelulosa de sus paredes celulares se hidrata nuevamente y se hace más rígido y turgente al vegetal. 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 alimentos ricos en azúcares (mermeladas) o en sal (encurtidos).

Distribución del agua en los alimentos

Es un hecho que el total del agua contenida en un alimento no está distribuida de forma homogénea, como ocurre en los tejidos de frutas, verduras y cárnicos. Esta heterogeneidad se debe a las distintas interacciones que ocurren entre el líquido y los macrocomponentes, a la formación de microcapilares y a su rechazo por parte de los lípidos. Por este motivo, dentro del alimento existen fracciones de agua que se comportan de diferente manera; por ejemplo, en general un alimento se congela a −20 °C, pero aun en estas condiciones una fracción del agua permanece líquida por concentrar solutos de bajo peso molecular y requiere de temperaturas más bajas, de −40 °C, para que solidifique por completo.

Para entender mejor este comportamiento del agua, 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 0.01 g de H_2O por gramo de sólido, cantidad suficiente para formar una capa monomolecular llamada BET (en honor de Stephen Brunauer, Paul H. Emmett y Edward Teller); esta cifra es de 0.01, 0.06 y 0.03 g/g de sólido para la gelatina, la lactosa amorfa y la leche en polvo, respectivamente. Esta agua está unida a la superficie seca, su fugacidad es baja y en consecuencia su presión de vapor es reducida. Si se sigue 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 de 3 a 6% del agua total, mientras que la de las más externas, como "libre".

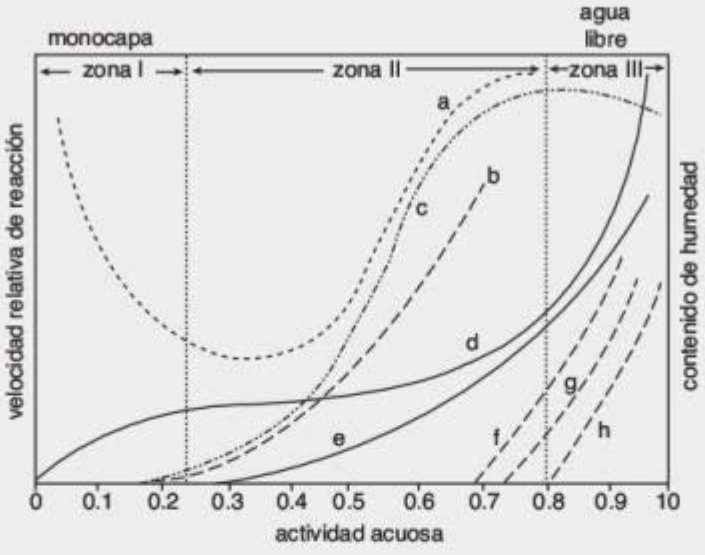
En realidad no existe ninguno de estos tipos de agua, ya que aun la más fuertemente ligada, que incluye a la capa monomolecular, tiene cierta movilidad puesto que ejerce una presión de vapor mensurable. De igual manera, no hay agua totalmente libre debido a que también está unida a otras moléculas de su misma especie o a otros constituyentes que la estabilizan y la retienen en el alimento; no es libre puesto que no se libera del alimento (*v. gr.* frutas y hortalizas), cuando se somete a esfuerzos mecánicos ligeros y no fluye cuando se corta un trozo de carne fresca, incluso en tamaños minúsculos. La capacidad de retención de agua de las proteínas y los polisacáridos, principalmente, se define como la cantidad de líquido que puede quedar atrapado en una red, sin que exista exudación o sinéresis; en cada caso este parámetro varía en función del tipo de alimento.[27]

Para efectos estrictamente didácticos y con datos generales, se ha elaborado la figura 1.8, 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 1.8 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.



Actividad del agua

Ya hemos explicado que el agua de los alimentos influye de diversas maneras: en la reología, la textura, la estabilidad microbiana y las reacciones químicas y enzimáticas que se estudian en otros capítulos. En este sentido, el agua libre es realmente la responsable de esta influencia, ya que el agua ligada no actúa porque no está disponible o permanece inmóvil. El agua libre es la que da origen al término actividad del agua (*Aa*) y es con base en este parámetro, y no el contenido total de agua, que se puede predecir la estabilidad y la vida útil de un producto.[1,5,6]

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:

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

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

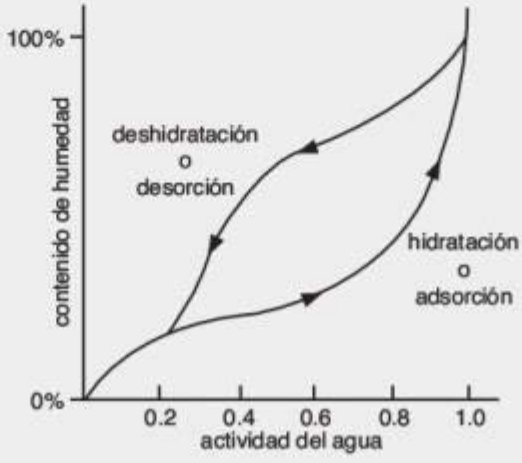
Termodinámicamente, la fugacidad es una medida de la tendencia de un líquido a escaparse de una solución; en virtud de que el vapor de agua se comporta como un gas ideal, se puede emplear la presión de vapor en lugar de la fugacidad. Es decir, la *Aa* es directamente proporcional a la presión de vapor relativa según la ecuación (1) y debido a que es una relación de dos presiones es adimensional. Sus valores varían desde 1.0 para el agua pura, hasta cero para un producto completamente seco. Estos dos parámetros sólo son equivalentes en los extremos; es decir, a 0% de agua le corresponde una *Aa* de 0.0 y a 100% de agua una *Aa* de 1.0; no hay una correspondencia directa, ya que un producto con 80% de humedad no significa que tenga una *Aa* de 0.8. Por ejemplo, un queso fresco y una mermelada pueden contener el mismo 65% de agua, pero desarrollan una *Aa* distinta; el agua de la mermelada está más unida a las pectinas de la fruta, no está tan "libre" y por eso su *Aa* es de 0.86, mientras que en el lácteo está más disponible, lo que induce una *Aa* de 0.90.[8]

La actividad del agua es una propiedad intrínseca y se relaciona de manera no lineal con el contenido de humedad mediante las curvas o isotermas de adsorción y desorción (figura 1.9). Para entender esto, considérese un alimento con agua, almacenado a una temperatura específica 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. Esa 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 comparada con el contenido de agua, a una temperatura específica; si esto se repite con diferentes porcentajes de agua y los resultados se grafican, se obtiene la isoterma de desorción (deshidratación del sólido).

Por el contrario, si 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 de nuevo pares de valores que al graficarse crean la isoterma de adsorción (hidratación del sólido).

Figura 1.9 Curvas típicas de las isotermas de adsorción y desorción de los alimentos.



En la figura 1.9 se aprecia que para un contenido de humedad determinado, la actividad del agua es menor durante la desorción que en la adsorción o que para una *Aa* 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.[15]

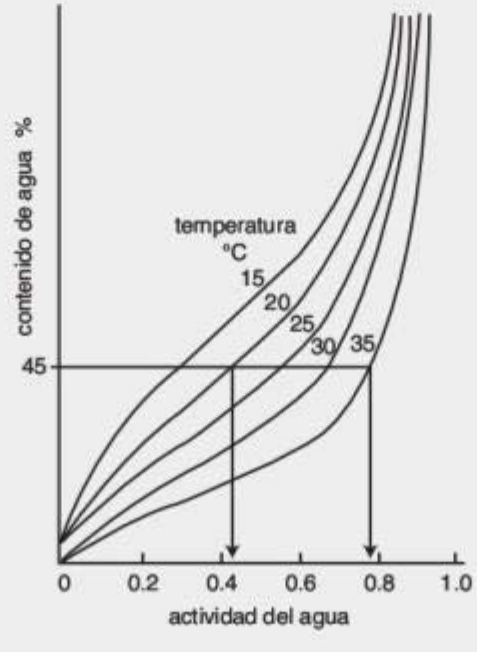
Por ejemplo, la histéresis se presenta con una proteína hidratada que se seca en una atmósfera de humedad relativa de 35% y alcanza el equilibrio a un contenido de 10% de agua (curva de desorción); por otra parte, si la misma proteína totalmente deshidratada se coloca en esa atmósfera, adsorbe humedad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

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.[16] Con base en ambas curvas se diseñan los sistemas de almacenamiento, de secado, de rehidratación, etc., además de que ayudan a predecir la estabilidad de los alimentos almacenados en distintas condiciones.

En el cuadro 1.3 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, la *Aa* se incrementa cuando se eleva la temperatura, ya que igualmente lo hace la presión de vapor,[12,15] como se observa en la figura 1.10; para ilustrar esto, considérense frutas semideshidratadas, no esterilizadas, con 45% de humedad, una *Aa* de 0.42 y empacadas en cajas de cartón equilibradas con la atmósfera a 20 °C; durante su envío a los clientes, la temperatura del camión subió a 35 °C y así permaneció por varias horas, de tal

Figura 1.10 Influencia de la temperatura en las isotermas de adsorción.



CUADRO 1.3 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

manera que la *Aa* se desplazó de 0.42 original a casi 0.8, situación en la que pueden crecer hongos y levaduras, además de propiciarse algunas reacciones de deterioro en detrimento del producto. Como regla general, aunque dependiendo del alimento de que se trate, muy pequeñas fluctuaciones de temperatura pueden ocasionar grandes modificaciones en la actividad del agua.

La *Aa* también está en función de los sólidos que contenga un alimento y para demostrarlo se han desarrollado diversas relaciones lineales matemáticas; es el caso del suero de la leche, cuya concentración C (gramos de sólido por 100 g de agua) es proporcional a la *Aa* mediante la ecuación: $Aa = 0.999\text{-}0.000558C$. Para este producto en particular, la lactosa y las sales, y en menor grado las proteínas, son las que determinan los valores de *Aa*.[14]

En el cuadro 1.4 se muestran los valores de *Aa* para diversos alimentos. Las frutas, las hortalizas, la carne y muchos enlatados tienen 0.97 en promedio; en cambio, 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. Como hemos visto, un alimento puede tener la misma *Aa* y un contenido de agua distinto; de igual manera, para un mismo contenido de agua los valores de *Aa* pueden ser diferentes.[2]

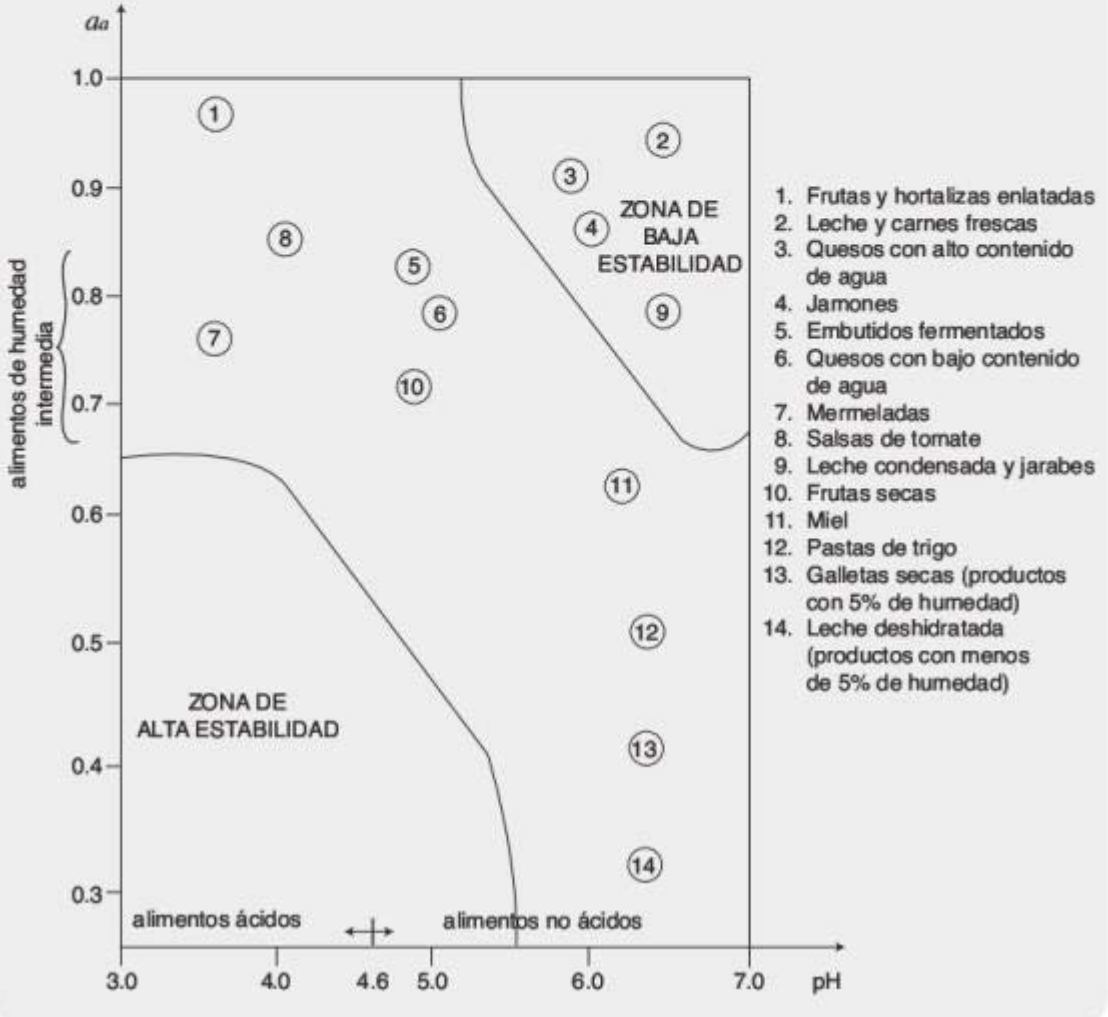
CUADRO 1.4 Actividad del agua de algunos alimentos

	Aa
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	0.40
Galletas y cereales	0.35
Azúcar	0.10

Actividad del agua y estabilidad de los alimentos

Los diversos métodos de conservación de alimentos se basan en el control de una o más de las variables que influyen en su estabilidad, es decir, actividad del agua, temperatura, pH, disponibilidad de nutrimentos y de reactivos, potencial de oxidorreducción y presencia de conservadores. En este sentido, la *Aa* es de fundamental importancia y con base en ella se puede conocer el comportamiento de un producto. En la figura 1.11 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, etc., para prolongar la vida de anaquel del producto.[24]

Figura 1.11 Influencia de la *Aa* y del pH en la estabilidad de los alimentos.



En general, mientras más alta sea la *Aa* y más se acerque a 1.0, mayor será la inestabilidad del alimento; por esta razón las carnes, frutas y vegetales frescos requieren refrigerarse para su conservación; en cambio, los alimentos estables a temperatura ambiente (excepto los tratados de forma térmica y comercialmente estériles, como los enlatados), son bajos en *Aa*, como sucede con los de humedad intermedia en los que el crecimiento microbiano es retardado.

Como vimos antes, la figura 1.8 muestra la influencia de la actividad del agua en varias de las reacciones químicas y enzimáticas que ocurren en los alimentos (oscurecimiento, rancidez, etc.), así como en el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias; pero además, la *Aa* influye en la degradación de vitaminas y pigmentos, pérdida de lisina y otras transformaciones. Esta gráfica varía mucho entre los distintos productos, de acuerdo con la composición, la homogeneidad de la distribución de los macrocomponentes, el tipo de reacción o el crecimiento microbiano involucrado y otros factores, por lo que solamente es indicativa de las tendencias generales.

La *Aa* afecta la velocidad del oscurecimiento no enzimático (vea el capítulo 2), aun cuando cada azúcar tiene un distinto poder reductor y, en consecuencia, influye de manera diferente. 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 veces cuando la *Aa* pasa de 0.35 a 0.65 y hasta tres veces por cada 10 °C de incremento. Sin embargo, cuando se concentran los alimentos se abate la *Aa*, pero también se concentran los reactivos, lo que favorece la reacción por un mayor contacto; al reducir aún más el agua, se pierde la 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 actividad del agua-temperatura, en el secado es recomendable reducir la temperatura del aire al final del proceso para prevenir el oscurecimiento.

La oxidación de los aceites insaturados (vea el capítulo 4) y de otras sustancias liposolubles como las vitaminas y varios pigmentos, está influida por la *Aa* de acuerdo con la figura 1.8; se observa un fuerte incremento por debajo de la monocapa, ocasionado por una falta de agua que proteja del oxígeno la superficie del alimento; después disminuye con la humedad por formar esa capa protectora, para posteriormente aumentar de nuevo debido a que el agua favorece la movilidad de los metales que catalizan la reacción para ponerse en contacto con el sustrato.[11]

En las enzimas, el agua facilita la integración de su centro activo, favorece la difusión de los reactivos e interviene como tal en las reacciones de hidrólisis. Cada enzima requiere una *Aa* para realizar su función; sin embargo, cuando el sustrato es líquido, como los aceites, las lipasas necesitan sólo un mínimo de agua (vea el capítulo 4), mientras que las carbohidrasas y proteasas requieren de *Aa* mayores en un intervalo muy amplio (*v. gr.* desde 0.4 hasta 0.95).

Para su crecimiento, los microorganismos necesitan condiciones propicias de pH, nutrimentos, oxígeno, temperatura y actividad del agua;[13,21] 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 *Aa*, el crecimiento microbiano puede incrementarse hasta en 100%. Los que más agua requieren son las bacterias ($Aa > 0.91$), 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 1.5). Como regla, la *Aa* mínima para producir toxinas es mayor que para el crecimiento microbiano. La reducción de la disponibilidad de agua inhibe ese 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. Los microorganismos responden a una baja humedad, lo que prolonga su fase inicial, baja la fase logarítmica y reduce el número de células viables.

La estabilidad de las vitaminas está influida por la *Aa* 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 *Aa*. Por el contrario, en los productos muy secos no existe agua que actúe como filtro del oxígeno y la oxidación se produce fácilmente, sobre todo de la vitamina C.

CUADRO 1.5 **Valores mínimos de la actividad del agua para el crecimiento de microorganismos de importancia en alimentos**

Organismo	Mínima
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
Salmonella	0.95
Clostridium botulinum	0.95
Escherichia coli	0.96
Staphylococcus aureus	0.86
Bacillus subtilis	0.95

Alimentos de humedad intermedia

Los alimentos de humedad intermedia tienen una larga vida de anaquel y no necesitan rehidratación ni enfriamiento para conservarse, por lo que son adecuados para zonas y países donde la refrigeración no existe o es muy costosa. No hay una definición precisa de ellos pero se les considera productos con *Aa* 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 *Staphylococcus aureus*, aunque es insuficiente para evitar hongos y levaduras, por lo que en su elaboración se añaden sorbatos y benzoatos.

Estos productos se fabrican quitándole agua al alimento húmedo o adicionándole solutos altamente hidratables que retienen agua y, en consecuencia, reducen la *Aa*. En el primer caso, la concentración por evaporación es muy común y se emplea en la leche, que de *Aa* = 0.97 pasa a 0.80-0.82, con lo que se obtiene una leche evaporada con mayor vida de anaquel; de igual manera se producen 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.[25]

La influencia de los solutos en la reducción de la actividad del agua en un alimento se refleja en la ecuación (1). Como ejemplo, considérese un litro de agua pura, por lo que *Ms* = 0 y por tanto *Aa* = 1.0; si se le añaden 2 moles de sacarosa (684 g, pm = 342), la *Aa* = 0.96, ya que *Ma* = 55.5 (1 000/18). Si fuera almidón (pm > un millón), se requeriría una mayor cantidad para lograr el mismo valor, lo que indica la gran influencia de los solutos de bajo pm. Estos últimos se seleccionan de acuerdo con su solubilidad, eficiencia, sabor, compatibilidad, pH, costo, regulaciones, etc.; se tienen 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, etc. Es claro que la concentración requerida para cada uno de ellos depende de factores como el sabor. Por ejemplo, para reducir la *Aa* de un cárnico con sólo NaCl, se necesitaría tal concentración de sal que volvería al producto imposible de comer. La combinación de estas sustancias, junto con los conservadores y otros agentes, es la razón de la estabilidad de los alimentos de humedad intermedia.

Al ser un potencial químico, la diferencia de *Aa* 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 *Aa* se incrementará; por el contrario, si la humedad externa es inferior, se deshidratará. Aun cuando el material de empaque sea impermeable, la actividad del agua puede incrementarse con la temperatura (figura 1.10). En cualquier caso, el alimento tendrá una *Aa* distinta que favorecerá el crecimiento de microorganismos o la velocidad de las reacciones indeseables.

Por otra parte, esta transferencia de agua también ocurre internamente entre los constituyentes de un alimento, como en las barras de los cereales con algunos componentes de humedad intermedia. El exterior es una galleta seca con 0.3 de *Aa* (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 *Aa* y acelera su migración.

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

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

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 (4-10 °C) y en la congelación (< 0 °C) también se desarrollan. Esto se debe, en parte, a que por tener disueltas sustancias de bajo peso molecular, como sales y azúcares, los alimentos 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 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 oxidorreducción, la solubilidad del oxígeno, la tensión superficial, etc.; en consecuencia, a pesar de la baja temperatura, en estas condiciones pueden ocurrir muchas reacciones químicas 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 10 a 15% del volumen, altera esas

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 la membrana retiene el agua; por lo tanto, también se encarga de mantener 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 nutrimentos, como vitaminas hidrosolubles, en el agua de descongelamiento. Debido a esto, frutas refrigeradas, como las fresas, se sirven parcialmente descongeladas en los restaurantes para evitar que al consumidor le llegue un producto sin estructura celular como ocurre cuando se descongela por completo. El congelamiento de helados y similares requiere de un proceso que implique la producción de microcristales para que el producto final se perciba terso y no arenoso por la producción de cristales de mayor tamaño.[19]

La velocidad de congelamiento determina la formación y localización de los cristales de hielo; cuando se hace rápidamente (unos cuantos minutos a muy baja temperatura), se producen muchos cristales pequeños tipo aguja a lo largo de las fibras musculares de la carne por ejemplo; 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, sobre todo, 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 aumentan su presión de vapor y, por lo tanto, las moléculas de agua migran con mayor facilidad.

Dureza del agua

Esta expresión alude a la concentración de calcio y magnesio disueltos en el agua, que se mide como carbonato de calcio. Por ejemplo, un agua considerada dura contiene 180 partes por millón (ppm) o mg/kg de dureza, mientras que una suave sólo 60 ppm. El calcio y el magnesio influyen de diversas formas en la cocina y en la industria, ya que forman carbonatos y sulfatos que precipitan como puntos blancos en los recipientes en los que se hierve el agua; afectan la panificación al inhibir la actividad de las levaduras; modifican el verde de la clorofila de los vegetales cocinados; confieren un sabor alcalino al agua y a las masas de panificación; endurecen los chícharos y otros vegetales con pectinas, en lugar de ablandarlos en la cocción, al establecerse interacciones entre los polisacáridos y los iones divalentes (vea el capítulo 2); en el escaldado de vegetales reduce la absorción de agua y modifica sus características de textura.

Algunas regiones de México sólo disponen de agua dura, de modo que las recetas de cocina deben adaptarse a esa circunstancia; además, esa agua no forma espuma con los jabones ni con los detergentes usados para el baño o el lavado de los utensilios de cocina. Además de dificultar la limpieza de los equipos industriales, este tipo de agua provoca que se deposite carbonato y sulfato de calcio en las paredes de los intercambiadores de calor, los pasteurizadores, las calderas, etc., con lo que ocasionan una reducción en el área de transferencia de calor.

Agua potable

El consumo de agua no potable es el origen de muchos problemas de salud que aquejan a un gran sector de la población mundial, entre ellas enfermedades como la parasitosis, el cólera, la hepatitis y otras de tipo gastrointestinal ocasionadas por bacterias, virus, lombrices intestinales o vermes y protozoarios.

La potabilización representa un paso muy importante para evitar problemas como los que se refieren y con ese propósito existen tecnologías adecuadas para aguas de mar, pozo, río y lago con diferentes contaminantes. Cabe indicar que la congelación no elimina a los agentes deletéreos, por lo que consumir hielo fabricado con agua no potable resulta igualmente peligroso.[26]

Con algunas variantes, la filtración es el proceso de purificación más utilizado porque elimina partículas grandes (como arena y trozos de madera), hasta moléculas muy pequeñas, todo en función de la abertura que tenga la malla filtrante. Las membranas para la microfiltración eliminan partículas suspendidas; las de la ultrafiltración separan microorganismos y macromoléculas como proteínas y polisacáridos, pero las de ósmosis inversa lo hacen con sustancias tan pequeñas como las sales disueltas en el agua de mar.

La filtración se complementa con diversos métodos para asegurar la destrucción de microorganismos patógenos. Una manera común consiste en la adición de cloro por ser un potente agente bactericida; se utiliza el hipoclorito de sodio para que el agua llegue al consumidor con una concentración de 0.3 a 1.5 ppm de cloro libre. Con la ozonificación se aprovecha el alto poder oxidante del ozono (O_3) que destruye bacterias, hongos y virus; es un gas muy inestable que se convierte en oxígeno (O_2), no se puede transportar y se genera *in situ* en los ozonificadores mediante una descarga eléctrica en el aire. Otro mecanismo son las lámparas UV, cuya longitud de onda de 254 nanómetros (nm) tiene un efecto fotoquímico oxidativo en el ADN de los microorganismos, pero debido a que su acción es más superficial y poco penetrante, su aplicación tiene algunas limitaciones.

En el ámbito casero y en establecimientos de comida, antes de usar el agua clorada por el municipio se le hace circular a través de filtros purificadores fabricados a base de carbón activado y resinas de intercambio iónico. El primero se elabora al calentar madera o cáscaras de coco o de nuez en ausencia de oxígeno para que no se quemen, con lo que se forma una masa porosa de gran área superficial en la que quedan adsorbidos los olores y sabores desagradables. Esta capacidad de retener gases es tan grande, que el carbón activado se usa en medicamentos contra la flatulencia. Cabe mencionar que el bicarbonato de sodio que se coloca en los refrigeradores realiza la misma función desodorizante, con la ventaja de que se regenera con un ligero calentamiento. Por su parte, las resinas son pequeñas partículas de plástico que intercambian sus iones de sodio y de hidrógeno por los disueltos en el agua con carga positiva, como el calcio y el magnesio de las aguas duras, así como el plomo, cobre, mercurio, zinc y cadmio.

Agua en la industria alimentaria

El agua tiene múltiples aplicaciones en la industria 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, etc.), en los sistemas de enfriamiento, en el lavado de equipo y maquinaria, etc. Su extracción se vuelve cada día más complicada y costosa, sobre todo en

países como México, donde se deben 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 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 sólo 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, lo que produce 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, que provienen del agua empleada. 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. 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 ríos, lagos, mantos acuíferos, mares, etc., 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 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 esos parámetros, se emplean diversos procesos físicos (sedimentación, flotación), químicos (coagulación, cambio iónico y ajuste de pH) y biológicos (digestión microbiana), por lo general 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, etc., con lo cual se contribuye a reducir la sobreexplotación de los mantos acuíferos.

Referencias bibliográficas

1. Barbosa-Cánovas, G.V. y Labuza, T.P. 2007. *Water Activities of Foods Fundamentals and Applications*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, Inglaterra.
2. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, Berlín.
3. 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.
4. Chen, C.S. 1987. *Relationship between water activity and freezing point depression of food systems*. J. Food Sci. 52:433.
5. Chinachoti, P. 2000. Water Activity. En Food Chemistry: Principles and Applications. Ed. G. Christen. Science Technology System. California.
6. Chinachoti, P. 1993. "Water mobility and its relation to food functionality of sucrose-containing food systems". *Food Technol.* 45(1):134-140.
7. Clark, P.J. 2011. *High Pressure Processing*. Food Technol. 6:107-110.
8. Clark, P.J. 2009. *Water Activity: Thermodynamics in Foods*. Food Technol. 10:73- 77.
9. Coultate, T.P. 2002. *Food. The Chemistry of its Components*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
10. DeMan, J.M. 1999. "Water". Cap. 1 en *Food Chemistry*. Tercera edición, pp. 1-32. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
11. Fritsch, C.W. 1994. "Lipid oxidation – The other dimensions". *Inform* 5:423-428, 431-436.
12. Iglesias, H.A., Chirife, J. y Ferro Fontán, C. 1986. *Temperature dependance of water sorption isotherms of some foods*. J. Food Sci. 51:551.
13. Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. 6a. ed. Gaithersburg, Md.
14. 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.
15. Kapsalis, J.G. 1987. "Influences of hysteresis and temperature on moisture sorption isotherms". *En* Water Activity: Theory and Applications to Food. Ed. L.B. Rockland y L.R. Beuchat. Marcel Dekker, Nueva York. pp. 173-213.
16. Labuza, T.P., Kaanane, A. y Chen, J.Y. 1985. *Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift to two dehydrated foods*. J. Food Sci. 50:385.
17. 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.
18. Muñoz de Chávez, M. 2010. *Composición de alimentos*. 2a. Ed. McGraw Hill. México.
19. Regand, A., Goff, H.D. 2002. *Effect of biopolymers on structure and ice recrystallization in dynamically frozen ice cream model systems*. J. Dairy Sci. 85(11):2722-2732.
20. Reid, D.S. y Fennema, O.R. 2008. "Agua y hielo". *En* Química de los alimentos, Ed. Damodaran, S., Parkin, K., L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
21. Robinson, R. y Patel, P. 2000. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press. Londres.

22. Schmidt, S.J. 2004. Water and solids mobility in foods. Adv. Food Nutr. Res. 48:1-101.

23. Singh, P.R. y Heldman, D.R. 2009. Food Engineering. Elsevier, Amsterdam.

24. 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.

25. Taoukis, P.S. y Richardson, M. 2007. Principles of Intermediate Moisture Foods and Related Technology. Cap. 11 in "Water Activities of Foods Fundamentals and Applications", Ed. Barbosa-Cánovas, G.V. y Labuza, T.P. pp. 273-312. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, Inglaterra.

26. Tarver, T. 2008. Ensuring Water Quality. Food Technol. 1:39-42.

27. Xiong, Y.L. 2005. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine enhanced meats. Food Res. Inter. 38, pp. 281-287.

28. Yan, P.S. 2000. "Chemistry and Physics of Water". En Food Chemistry: Principles and Applications. Ed. G. Christen. Science Technology System. California.

2

- Introducción
- Monosacáridos
- Reacciones de oscurecimiento
- Oligosacáridos
- Tecnología de los azúcares
- Polisacáridos
- Hidratos de carbono y salud

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

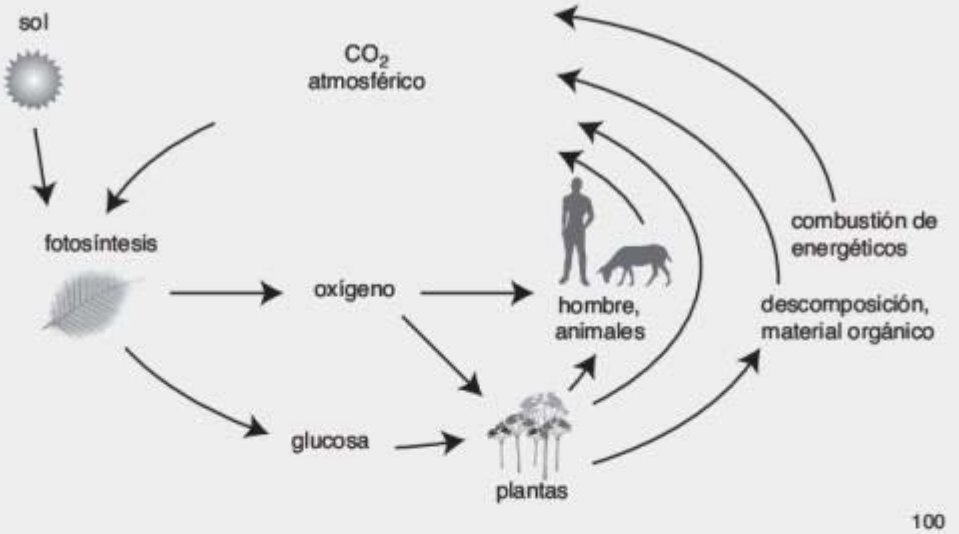
Hidratos de carbono

Introducción

En sus orígenes, el término hidratos de carbono (del inglés *carbohydrate;* en español carbohidrato) se refería a compuestos únicamente a base de átomos de carbono con igual número de moléculas de agua; es decir, se representaban con una fórmula condensada genérica de $C_x(H_2O)_x$ como sucede con la glucosa, la galactosa y la fructosa: $C_6(H_2O)_6$. Sin embargo, actualmente se aplica a una gran familia de sustancias que, además de carbono, hidrógeno y oxígeno, contienen elementos como azufre, fósforo y nitrógeno.

Su estructura es de polihidroxialdehído o de polihidroxicetona, es decir, contienen muchos grupos hidroxilos; son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza y también los que más consume el ser humano, dado que en muchos países representan 80% o más de la dieta. Se encuentran principalmente en el reino vegetal y en menor proporción en el animal.[6] Su origen común es la glucosa (del griego *gleukos*, vino dulce) proveniente de la fotosíntesis, es decir, de la transformación del bióxido de carbono y el agua por los efectos de la luz solar en presencia de la clorofila de los cloroplastos en las plantas verdes. En este complejo proceso la energía radiante del sol se transforma en energía química, que a su vez se almacena en forma de hidratos de carbono, sobre todo almidón, además de que se produce el vital oxígeno (figura 2.1).

Figura 2.1 Ciclo del bióxido de carbono y fotosíntesis.



De acuerdo con su tamaño molecular, los cientos de hidratos de carbono existentes en la naturaleza se clasifican en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (cuadro 2.1).

CUADRO 2.1 **Clasificación de los hidratos de carbono en alimentos**

a) *Monosacáridos (1 unidad de azúcar)*
Pentosas: xilosa, arabinosa, ribosa,
Hexosas:
aldohexosas: glucosa, galactosa, manosa
cetohexosas: fructosa, sorbosa

b) *Oligosacáridos (de 2 a 10 unidades de azúcar)*
Disacáridos: lactosa, sacarosa, maltosa, trehalosa, lactulosa
Trisacáridos: rafinosa
Tetra y pentasacáridos: estaquiosa, verbascosa

c) *Polisacáridos (más de 10 unidades de azúcar)*
Homopolisacáridos: almidón, glucógeno, celulosa
Heteropolisacáridos: hemicelulosa, pectinas, gomas, inulina

Monosacáridos

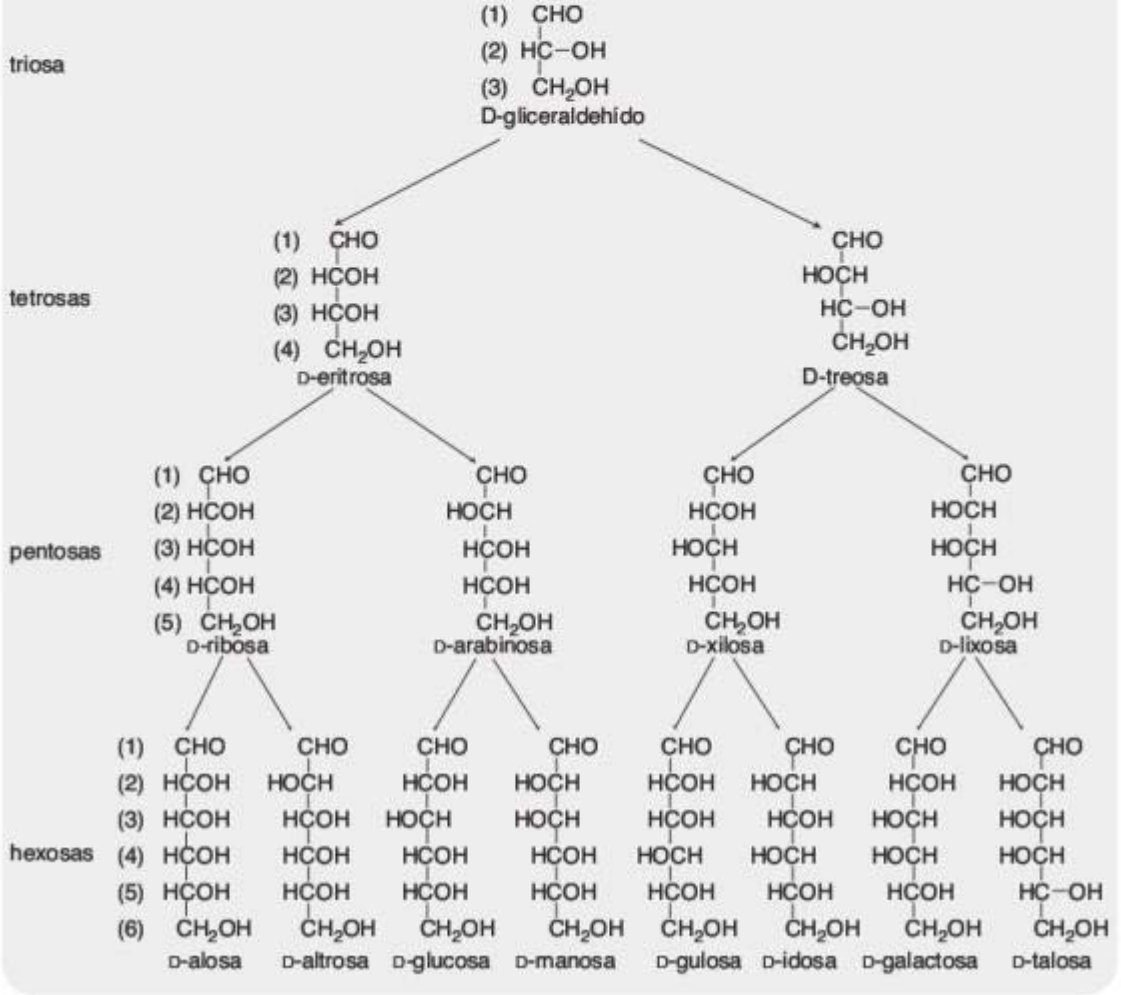
Son los hidratos de carbono más sencillos, y por lo cual no pueden ser hidrolizados a formas más simples; los más comunes provienen de la familia del D-gliceraldehído que por adición

de grupos –CHOH integran las tetrosas, pentosas y hexosas, razón por la que el grupo aldehído siempre se encuentra en el carbono número uno[7,25] (figura 2.2).

El carbono número 2 del gliceraldehído es asimétrico, por lo tanto existe como los isómeros D y L; lo mismo ocurre con el resto de los compuestos de esta familia y así, por ejemplo, los D presentan su hidroxilo del carbono anomérico más alejado del aldehído a la derecha del plano central: en las hexosas, las pentosas y las tetrosas se localiza en el C-5, C-4 y C-3, respectivamente, mientras que en los L el hidroxilo de referencia se ubica a la izquierda. Las designaciones D y L no indican la dirección en la que el azúcar hace rotar el plano de la luz polarizada; para ello se emplean los signos (+) y (–), que corresponden respectivamente a hidratos de carbono dextrorrotatorios y levorrotatorios.

Además de los monosacáridos que contienen un grupo aldehído (–CHO), existen los que llevan un grupo cetona (–C=O); los primeros incluyen el sufijo *–osa* en su designación (como en glucosa y galactosa) y los segundos *-ulosa* (como en levulosa y eritrulosa). En ambos casos, el grupo aldehído o cetona los convierte en agentes reductores.

Figura 2.2 Proyección de Fischer de los azúcares derivados del D-gliceraldehído de 4, 5 y 6 átomos de carbono. Los pares de moléculas (*v. gr.* glucosa y manosa) son epímeros.



Su representación química utiliza las proyecciones de Fischer y de Haworth, así como la fórmula conformacional (figuras 2.3 y 2.4). En la primera, los carbonos están en una cadena lineal abierta y se numeran desde el aldehído, mientras que en las cetosas se hace a partir del átomo de carbono más cercano a la cetona. Debido a su alta reactividad, el carbonilo interacciona con grupos alcohol de la misma molécula y produce enlaces hemiacetales intramoleculares que producen azúcares cíclicos; en agua, éstos se encuentran en equilibrio con la cadena abierta.

Estos enlaces hemiacetales provocan que las hexosas (figura 2.5) formen 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 común debido a que presenta menos tensiones en los enlaces. Por lo tanto, los monosacáridos se denominan con la terminación *-piranosa* o *-furanosa*, según el tipo de anillo que desarrollen.

La unión hemiacetal origina un nuevo centro asimétrico que corresponde al carbono anomérico en posición 1 de la representación de Haworth y da origen a dos posibles enantiómeros: se denomina α cuando el OH está por debajo del plano formado por los carbonos 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, lo que ocurre con la α y β-glucosa, como se observa en el cuadro 2.2.

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

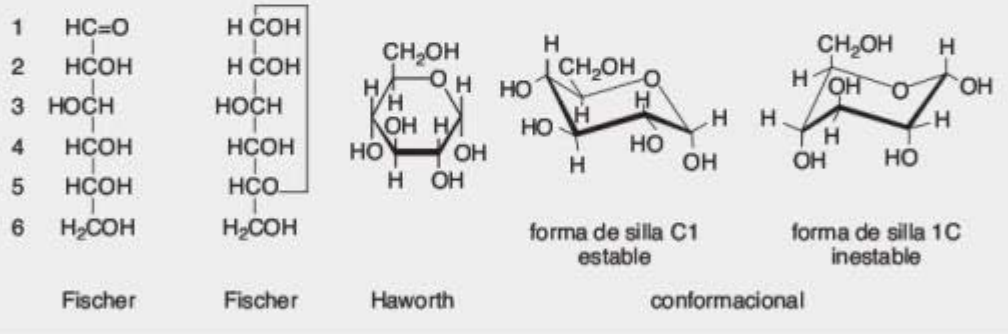


Figura 2.4 Diferentes representaciones de la D-fructosa (levulosa).

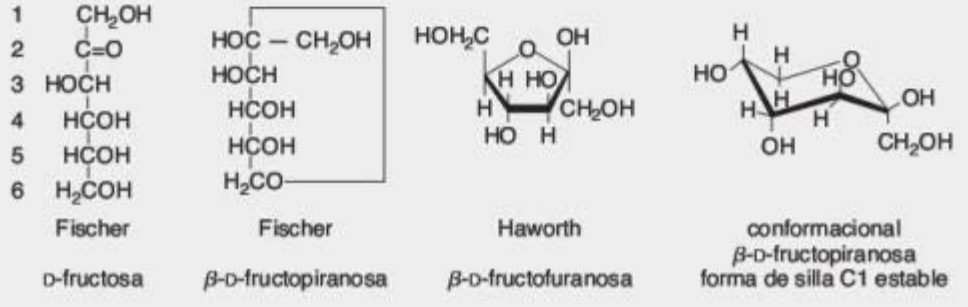
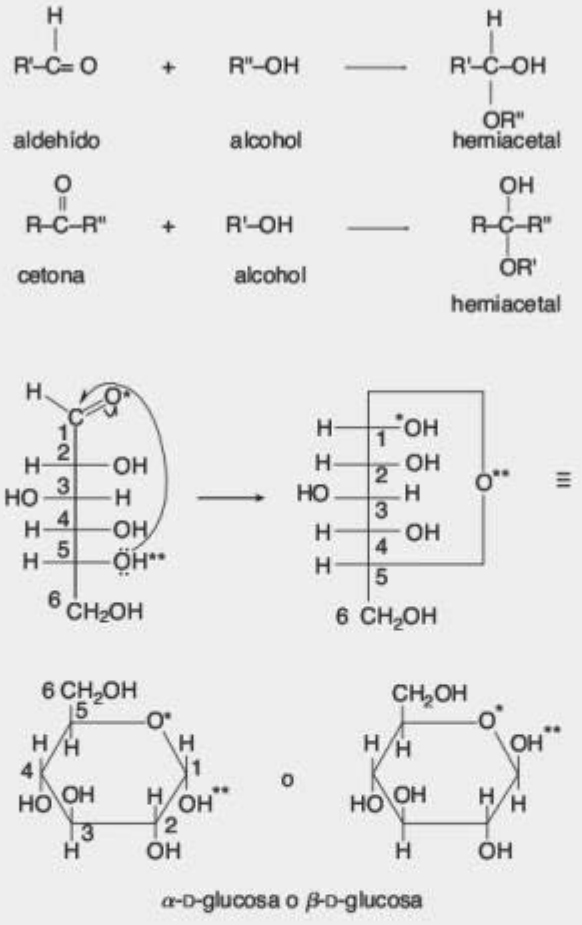


Figura 2.5 Enlaces hemiacetal de los monosacáridos.



CUADRO 2.2 **Propiedades de la glucosa**

	α-D-glucosa	β-D-glucosa
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 la existencia de un proceso dinámico de conformación química que alcanza el equilibrio mediante su mutarrotación; por ejemplo, la α-D-glucosa disuelta en agua tiene una rotación óptica de aproximadamente (+)112°, que se reduce hasta (+)53° después de cuatro horas, cuando se alcanza el equilibrio entre las formas cíclica

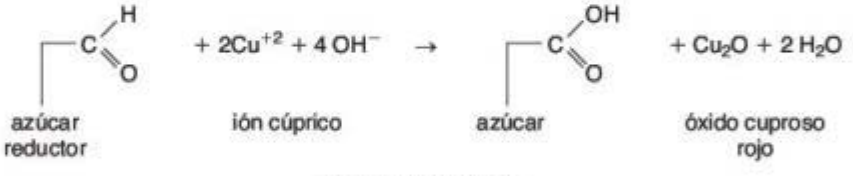
y lineal; por su parte, la β-D-glucosa aumenta de (+)18.7° a (+)53° en un proceso similar al anterior. La mutarrotación es una manifestación del equilibrio que se establece entre las estructuras anomérica o de aldehído, y la cíclica o hemiacetal de los azúcares reductores.

Se sabe que la conformación más estable de los monosacáridos ocurre cuando 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. En general 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 ese plano. A excepción de la α-D-arabinosa, que tiene estructura 1C, la mayor parte de los monosacáridos está como C1, puesto que en ésta hay más OH ecuatoriales y, en consecuencia, menos impedimentos.

Los monosacáridos son solubles en agua e insolubles en etanol y algunos son dulces pero otros amargos; comparativamente se encuentran poco en estado libre y en mayor proporción en forma de polisacáridos, sobre todo celulosa y almidón.

Debido a la presencia de un grupo aldehído o de una cetona, los monosacáridos son compuestos reductores y presentan cierta reactividad química ante álcalis, ácidos, altas temperaturas y oxidantes; esto provoca su isomerización, enolización, deshidratación, ciclización, oxidación, reducción, etcétera.

En presencia de álcalis se induce su enolización y hasta la ruptura, lo que resulta en compuestos con un alto poder reductor. Este principio se aprovecha en los métodos de análisis de azúcares reductores en un medio alcalino y con el ion cúprico como agente oxidante, como el de Fehling; los compuestos reductores transforman el cobre en óxido cuproso de color rojo y su resumen de reacción se muestra a continuación:



reacción de Fehling

Los monosacáridos se deshidratan en presencia de ácidos, sobre todo a altas temperaturas para producir furanos; mientras las hexosas generan el 5-hidroximetilfurfural, las pentosas, el 2-furfuraldehido; estas reacciones se aprovechan en la industria para fabricar furfural y derivados a partir de la mazorca del maíz debido a que contiene alta proporción de pentosanas.

La reducción mediante la hidrogenación de los monosacáridos genera los azúcares-alcoholes o polioles (vea el capítulo 9), mientras que su calentamiento origina dos reacciones muy importantes en alimentos: las de oscurecimiento no enzimático y las de caramelización que, por su relevancia, se tratan más adelante.

Monosacáridos más comunes

La glucosa es el monosacárido más abundante en la naturaleza, aun cuando la mayoría se encuentra como oligo y polisacáridos y poco en forma libre. Es el principal combustible de los animales ya que a través de su metabolismo, genera ATP. Debido a que es dextrorrotatoria (es decir, gira a la derecha el plano de la luz polarizada) también recibe la designación de dextrosa. Comercialmente se obtiene de la hidrólisis controlada del almidón (vea el capítulo 5) y junto con los jarabes altos en fructosa se emplea ampliamente en la industria de alimentos.

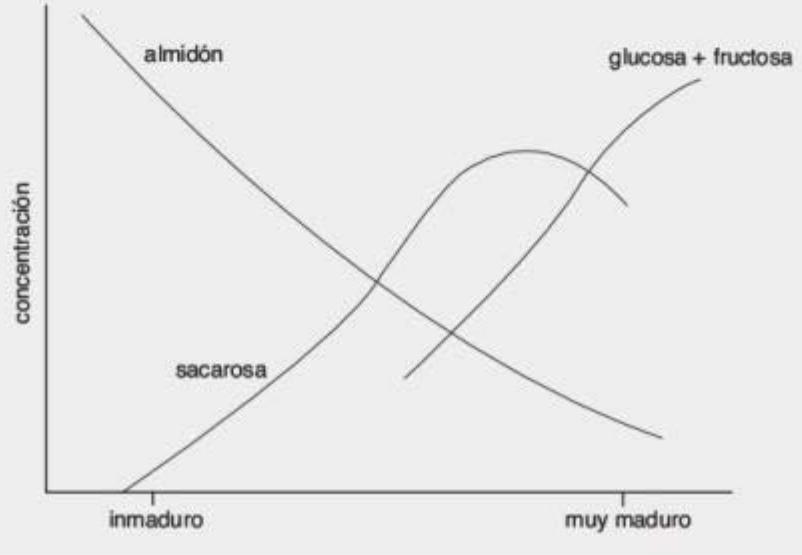
Por su parte, la fructosa se encuentra sobre todo en frutas y en las mieles y en forma polimerizada, como inulina; por ser levorrotatoria se le designa como levulosa. Junto con una molécula de glucosa integra la sacarosa.

La glucosa, la fructosa y la sacarosa son los principales azúcares de los vegetales (cuadro 2.3), aun cuando sus proporciones varían mucho dependiendo de la madurez del producto. 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 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; en la figura 2.6 se observa que la conversión del polisacárido da origen a la sacarosa y que, a su vez, la hidrólisis de este disacárido produce una mezcla de glucosa y fructosa.

CUADRO 2.3 **Porcentaje de contenido de azúcares de algunos alimentos**

	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
Betabel	6.1	0.2	0.2
Brócoli	0.4	0.7	0.7
Cebolla	0.9	2.0	1.0
Chabacano	4.4	2.0	0.4
Ciruela	4.3	4.0	1.4
Durazno	6.7	1.5	1.0
Fresa	1.3	2.6	2.3
Jitomate	0.1	1.1	1.3
Manzana	3.6	1.7	6.0
Pera	1.0	2.4	7.0
Uva	2.2	6.8	7.8
Zanahoria	4.2	0.8	0.8

Figura 2.6 Conversión del almidón en azúcares durante la maduración del plátano.



La composición de azúcares de las frutas y la miel está determinada por las precisas rutas metabólicas involucradas; con base en esto, para cuantificar posibles adulteraciones de jugos, mieles y demás productos, por ejemplo con la adición de sacarosa y de jarabes de glucosa y de fructosa, se mide la concentración de isotopos de carbono C_{13} y C_{14} La base de este análisis es que cada grupo de plantas tiene un metabolismo diferente y presenta una relación de estos dos isotopos muy característica.

Por su parte, la galactosa se encuentra poco en estado libre y la gran mayoría está en forma de oligo y polisacáridos. Junto con la glucosa integra la lactosa, es parte de diversas gomas y también de los cerebrósidos y los gangliósidos, compuestos indispensables en los tejidos nerviosos del cerebro.

Uno de los azúcares ácidos más importantes es el ácido ascórbico o vitamina C que, además de la relevancia que tiene como nutrimento, da origen a varias reacciones químicas que inducen a la producción de pigmentos amarillos. Los aspectos químicos del ácido ascórbico se revisan en el capítulo correspondiente a las vitaminas.

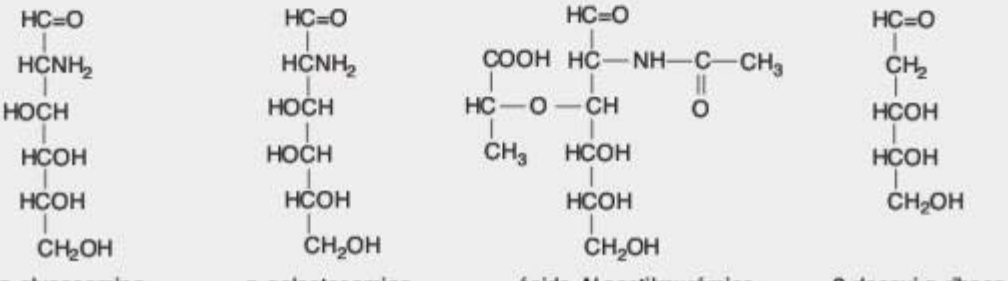
Casi todas las pentosas se encuentran como polímeros o glucósidos y es raro hallarlas en estado libre. Por ejemplo, la arabinosa es constituyente de varios polisacáridos (llamados arabanas), de gomas y de hemicelulosas del reino vegetal. La ribosa es un componente de los nucleótidos de los ácidos nucleicos. 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 de la madera (xilanas), de la mazorca del maíz y de la paja y se utiliza en la producción industrial del furfural.

Aminoazúcares, desoxiazúcares y polioles

Como se ha indicado, los monosacáridos son reactivos y dan origen a muchos otros compuestos, entre los que destacan los siguientes.

Los aminoazúcares son el resultado de la sustitución de un OH, normalmente el del C-2 por un grupo amino, como ocurre con la D-glucosamina y la D-galactosamina; la primera se encuentra en algunas proteínas y en polisacáridos constituyentes de las células de varios insectos y crustáceos, mientras que la segunda es parte integral del sulfato de condroitina. También se tiene el ácido siálico y sus derivados, que contienen una molécula de ácido pirúvico o de ácido láctico; los más representativos son el ácido *N*-acetilneuramínico y el ácido *N*-acetilmurámico, que forman parte de una glucoproteína de la leche, la caseína *K* (vea el capítulo 12).

Figura 2.7 Fórmulas de aminoazúcares y desoxiazúcares.

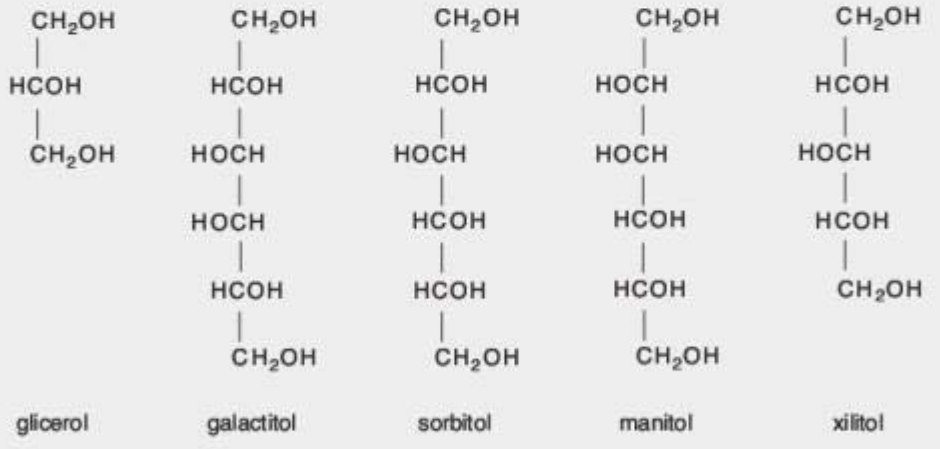


Los desoxiazúcares se producen cuando los monosacáridos pierden un átomo de oxígeno de un OH, indicado en la nomenclatura por el número que antecede al prefijo *desoxi-*. Entre los más importantes destaca el 2-desoxi-D-ribosa, componente de los ácidos desoxirribonucleicos.

Por su parte, los polioles, también llamados azúcares-alcoholes, 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; entre los pentitoles más comunes están el ribitol —el azúcar de la riboflavina— y el xilitol, mientras que el sorbitol (D-glucitol) y el manitol son los hexitoles más comunes (figura 2.8).

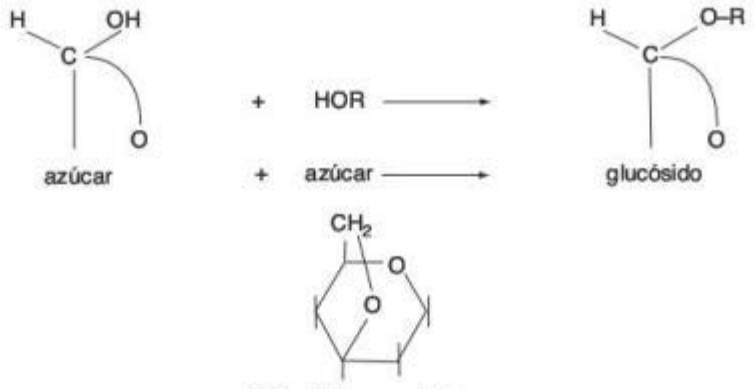
Tanto el sorbitol como el xilitol y la isomaltulosa (también llamada isomaltosa) se sintetizan de forma industrial mediante una hidrogenación a partir de la glucosa, xilosa y sacarosa, respectivamente, como ocurre con las grasas y aceites (vea el capítulo 4). Los polioles se usan en la elaboración de productos de la confitería, en panificación y en artículos para la higiene oral, como se describe en el capítulo 9; se absorben lentamente y de forma incompleta 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. Existen otros polioles en la naturaleza, como el inositol, que forma parte del ácido fítico.

Figura 2.8 Estructura química de algunos polioles.



Glucósidos

Estos compuestos derivados de los monosacáridos son los más importantes. Se sintetizan cuando el azúcar se une, mediante su carbono anomérico reductor, a un compuesto que puede o no ser un hidrato de carbono. En caso de ser otro monosacárido se producen los O-glucósidos mediante la formación de un enlace glucosídico, lo que da origen a los oligosacáridos y polisacáridos. 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. Por la importancia que tienen, los oligo y polisacáridos se revisan más adelante.



Por otra parte, el monosacárido se puede unir a otra sustancia de naturaleza no de hidrato de carbono (llamada aglucona) a través de átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre. Estos glucósidos se encuentran en baja concentración en los alimentos, pero desempeñan funciones muy importantes: algunos son pigmentos, otros son sabores, unos más son tóxicos, etcétera. En general, la aglucona es la responsable de estas propiedades, mientras que el azúcar sólo sirve para estabilizar y solubilizar el glucósido. Tal como 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) y por el hidrato de carbono; en general son más sensibles a los ácidos que a los álcalis y son hidrolizados por enzimas llamadas glucosidasas, como las amilasas, pectinasas y tioglucosidasas.

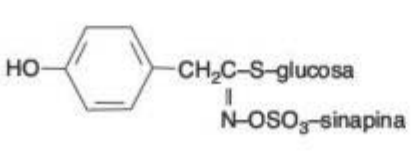
Entre los glucósidos más relevantes destacan los siguientes:

Flavonoides: Es una familia de pigmentos muy amplia que incluye las antocianinas con estructura de O-glucósidos y se revisan en el capítulo 7. En esta categoría entran la daidzeína y la genisteína, isoflavonas de la soya con actividad de fitoestrógeno que corrigen males cardiovasculares y óseos y que se revisan en el capítulo 15.[4,38]

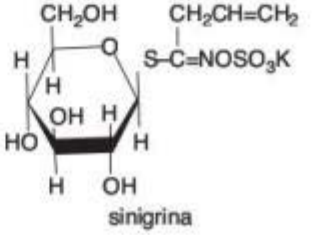
Betalaínas: Otro grupo de pigmentos con estructura de glucósidos que se revisa en el capítulo 7.

Tioglucósidos: También llamados glucosinolatos, son S-glucósidos de los que se conocen más de 70 compuestos; la aglucona está unida al azúcar, generalmente glucosa, mediante un átomo de azufre. Se encuentran principalmente en las plantas de la familia de las crucíferas y el género *Brassica* es el más representativo: incluye la col, el brócoli, la mostaza, el nabo, el rábano y la colza. Por su fuerte sabor y aroma, se considera que representan un mecanismo de defensa de las plantas contra sus depredadores.

Los tioglucósidos tienen funciones muy disímbolas, entre ellas las siguientes: son precursores del sabor; actúan como bociogénicos (goitrogénicos) al inhibir la disponibilidad del yodo en la glándula tiroides; se les adjudica un efecto preventivo contra ciertos tipos de cáncer y se consideran importantes fitoquímicos; su pungencia irrita la cavidad nasal y causa una sensación de hormigueo.



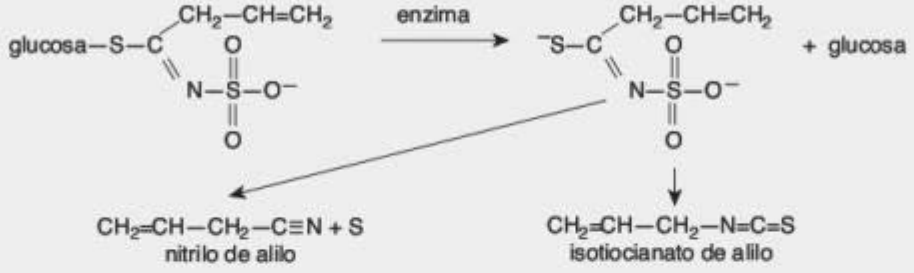
sinalbina



sinigrina

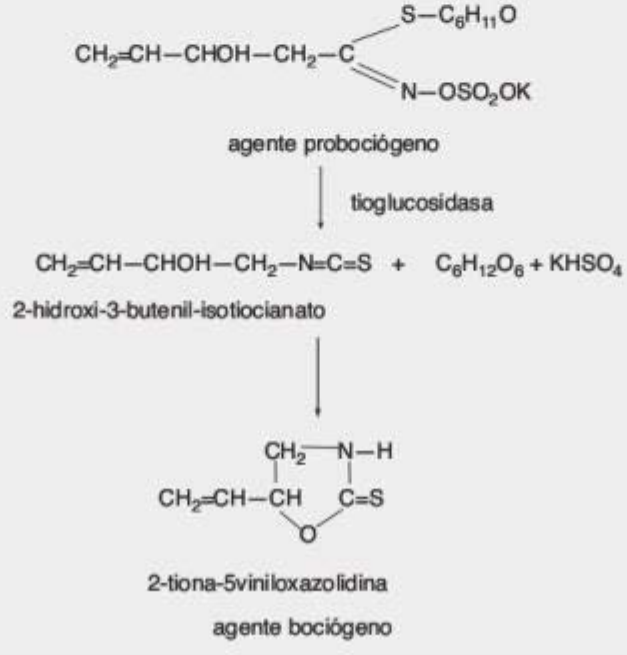
Entre los tioglucósidos más importantes están la sinalbina, la mirosina y la sinigrina; su aglucona, responsable del sabor de la mostaza, del rábano y de otros vegetales, se libera por la acción de la correspondiente tioglucosidasa que recibe el nombre de sinalbinasa, mirosinasa y sinigrinasa, respectivamente. Esto ocurre cuando el tejido se rompe por un daño mecánico, sea por un corte, una mordedura o un golpe, ya que es cuando se pone en contacto la enzima con el glucósido y se genera el isotiocianato de alilo (Figura 2.9).

Figura 2.9 Formación de compuestos aromáticos a partir de los glucosinolatos de las crucíferas.

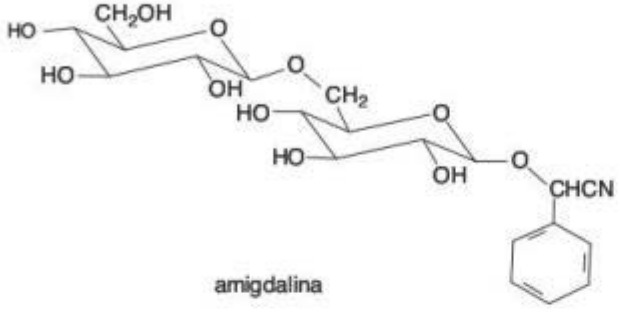


En la figura 2.10 se observa la generación de un isotiocianato, cuya ciclización produce el compuesto bociógeno. El calentamiento de la soya inactiva la enzima correspondiente, pero no destruye el glucósido, que bajo ciertas condiciones, los microorganismos del tracto intestinal hidrolizan y producen las correspondientes goitrinas.[43]

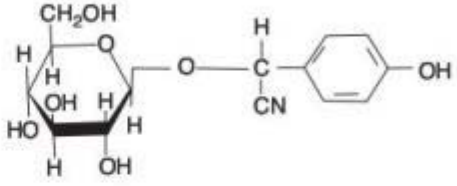
Figura 2.10 Reacciones enzimáticas conducentes a la producción de sustancias bociógenas.



Cianógenos: Son glucósidos cuya hidrólisis genera ácido cianhídrico, pero que en general no representan un riesgo para la salud y sólo provocan intoxicación cuando su consumo es desproporcionado. La amigdalina de las almendras amargas es de los cianógenos más conocidos, igual que la durrina y la linamarina del sorgo y la tapioca, respectivamente (cuadros 2.4 y 2.5). La dosis letal oral para el humano varía de 0.5 a 3.5 mg de HCN por kilogramo de peso. La cantidad de HCN producido también varía considerablemente aun para una misma especie que se cultiva en diferentes condiciones.



amigdalina



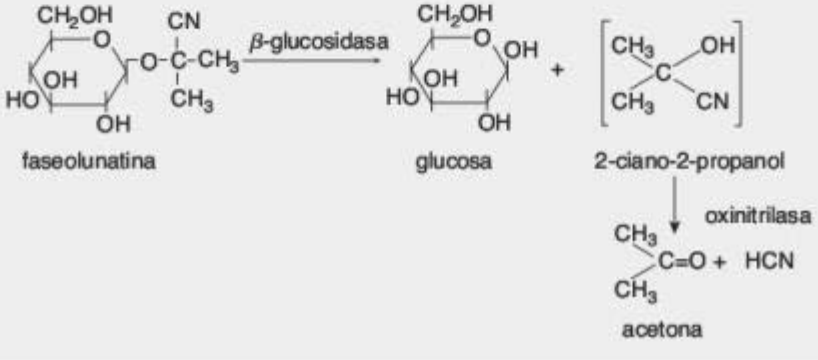
durrina

Mediante un mecanismo semejante al descrito para los S-glucósidos, las enzimas β-glucosidasas extracelulares actúan sobre los cianógenos 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 faseolunatina, 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 2.11).

CUADRO 2.4 **Glucósidos cianógenos**

Nombre	Azúcar	Aglucona	Producto final
Amigdalina	Gentiobiosa	Bencenacetonitrilo	HCN, benzaldehído
Durrina	β-D-glucopiranosa	p-hidroximandelonitrilo	HCN
Linamarina	β-D-glucopiranosa	2-metil-propanonitrilo	HCN, acetona

Figura 2.11 Producción de HCN a partir de faseolunatina del *Phaseolus lunatus*.



faseolunatina glucosa 2-ciano-2-propanol

acetona

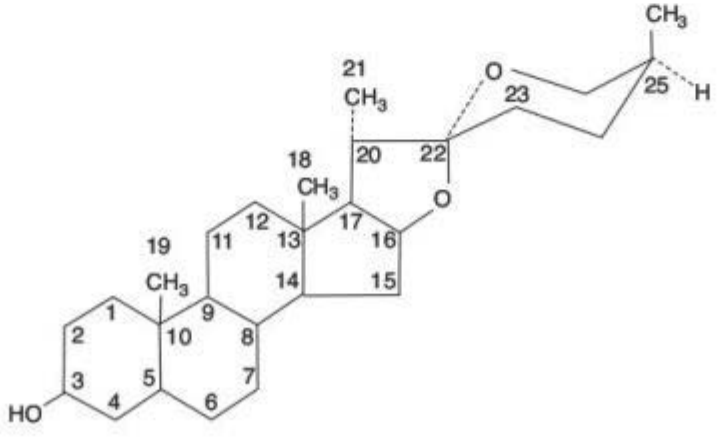
CUADRO 2.5 Producción de HCN a partir de varios alimentos

	HCN producido mg/100 g
Almendra amarga	250
Sorgo	220
Frijol (*Phaseolus lunatus*), algunas variedades	210
Frijol (*Phaseolus lunatus*), mayoría de variedades	15
Yuca	115
Tapioca	113
Linaza	53
Chícharo	3

Con una dieta variada, el ser humano consume estos compuestos en cantidades bajas y el cianuro que ingiere en estas condiciones se elimina por conversión a tiocianato mediante el ión sulfito y la enzima rodanasa con actividad de transferasa. Sin embargo, en exceso, los primeros síntomas de toxicidad se presentan cuando esta capacidad de desintoxicación se satura; el ión cianuro actúa en la cadena respiratoria en la enzima citocromo oxidasa e inhibe el proceso respiratorio: inicialmente causa palpitaciones, dolores de cabeza y de garganta y después da lugar a confusión mental, cianosis, convulsiones, coma y, por último, la muerte.

Los glucósidos cianógenos 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. Cabe indicar que la β-glucosidasa es muy termolábil, 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.

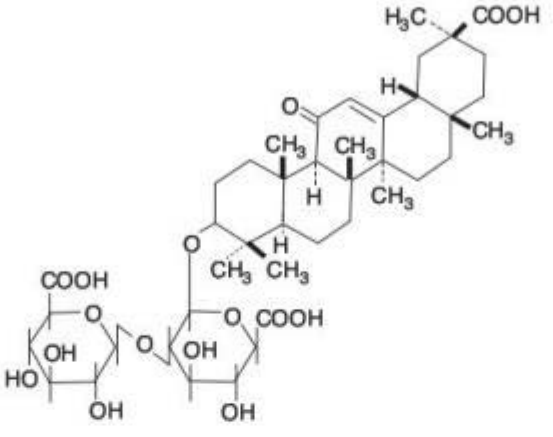
Saponinas: Son glucósidos vegetales cuyo hidrato de carbono son diferentes hexosas, pentosas y ácidos urónicos; la aglucona o la sapogenina puede ser de naturaleza esteroidal, con 27 átomos de carbono, o de origen triterpenoide de 30C. Las más estudiadas han sido las de la soya, por su supuesto efecto tóxico hemolítico sobre las células rojas o eritrocitos. Actualmente ya no se consideran dañinas, y se adicionan en bebidas por su sabor amargo y su capacidad para formar espumas.



sarsasapogenina

N-glucósidos: Los más importantes se encuentran en los nucleótidos que forman parte de los ácidos nucleicos; actualmente algunos de ellos se producen a gran escala, debido a que funcionan como potenciadores del sabor (vea el capítulo 9).

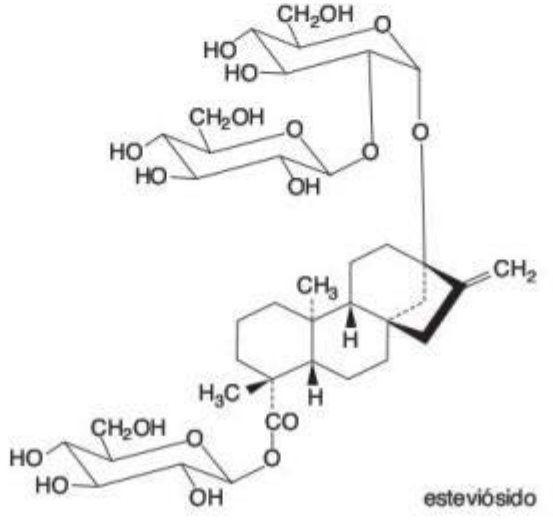
Otros glucósidos: Existen muchos otros glucósidos, como el ácido glicirrínico, el esteviósido y la osladina, que han sido aislados de la raíz de regaliz (orozuz), de la hierba del Paraguay y de los rizomas del helecho, todos ellos caracterizados por ser muy dulces.



glicirricina

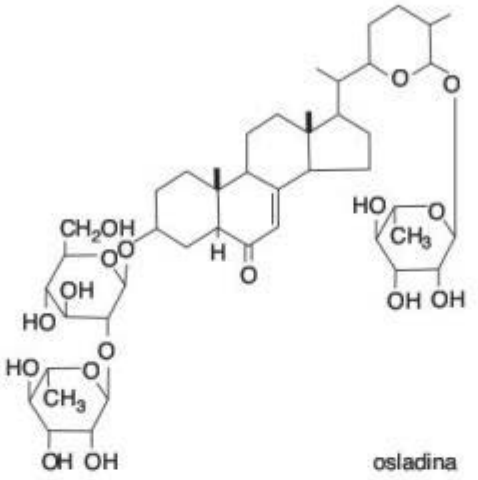
La glicirricina, o ácido glicírricico, tiene la estructura de la saponina y se encuentra en la raíz del regaliz *(Glycyrrhiza glabra)*, formada por el triterpeno ácido glicirretínico unido al ácido O-β-D-glucuronosil-(1,2)-β-D-glucurónico; su sal de amonio es un potente edulcorante, hasta 100 veces más dulce que la sacarosa (vea el capítulo 9). Cuando se consumen en altas concentraciones, tanto la forma ácida como la sal incrementan la presión sanguínea y favorecen la retención de agua y de NaCl.

Por su parte, el esteviósido es un glucósido diterpénico integrado por una molécula de esteviol a la cual se une el disacárido soforosa mediante un grupo hidroxilo del carbono número 13; se encuentra en las hojas de la planta *Stevia rebaudiana*, originaria del Paraguay, que es hasta 300 veces más dulce que la sacarosa y se emplea como aditivo (vea el capítulo 9).



esteviósido

Finalmente, la osladina es un glucósido formado por la unión de la neohesperidosa con la polipodosaponina, a la cual se une 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 300 veces mayor que el de la sacarosa.



osladina

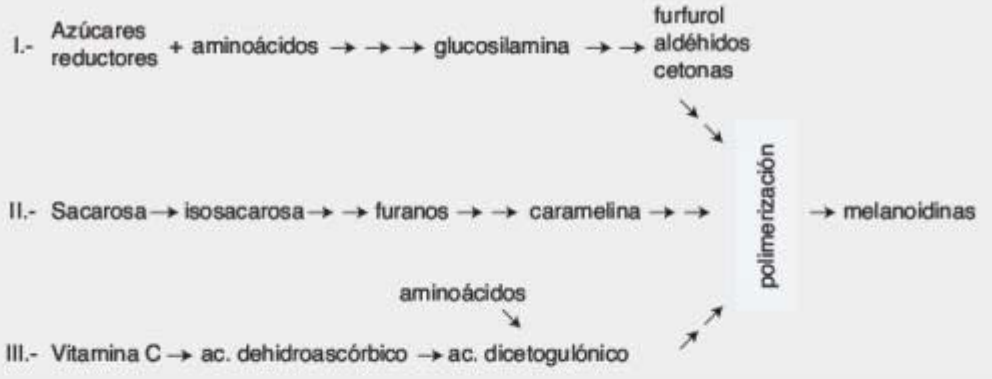
Reacciones de oscurecimiento

El color de los alimentos se debe, fundamentalmente, a los distintos pigmentos de origen animal y vegetal, y a sus derivados provenientes de las reacciones químicas en las que intervienen. Sin embargo, otras coloraciones además de estos pigmentos aparecen durante la fabricación, almacenamiento y preparación de los alimentos debido a compuestos producidos en las reacciones de oscurecimiento o pardeamiento. Se dividen en oscurecimiento enzimático y oscurecimiento no enzimático; estas últimas incluyen la caramelización, la reacción de Maillard y la oxidación del ácido ascórbico (vitamina C). En el cuadro 2.6 se muestra un resumen de los cuatro mecanismos, de los que sólo la oxidación de la vitamina C y el oscurecimiento enzimático tienen naturaleza oxidativa y se revisan en los capítulos 5 y 6, respectivamente.

Cabe recordar que la vitamina C es un derivado de la glucosa, razón por la que sigue rutas comunes con la caramelización y la reacción de Maillard, como se resume en la figura 2.12. En esta sección sólo se revisan estos dos últimos mecanismos.

Los colores generados en el oscurecimiento no enzimático van desde un ligero amarillo (como en la leche en polvo), o café oscuro (como en la cajeta y la costra del pan), lo que depende de los pigmentos que se producen y que genéricamente se conocen como melanoidinas. A pesar del cúmulo de información sobre los mecanismos químicos de la caramelización y la reacción de Maillard, aún se desconocen muchos de sus aspectos.[20]

Figura 2.12 Mecanismos de oscurecimiento no enzimático. I. reacción de Maillard, a temperatura moderada. II. Caramelización, a temperatura muy elevada. III. Degradación de ácido ascórbico por exposición al oxígeno y a la luz.



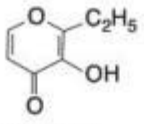
CUADRO 2.6 **Aspectos generales de las reacciones de oscurecimiento**

Mecanismo	O_2 necesario	Grupos amino necesarios	Temperatura elevada	pH óptimo	Azúcares reductores
Caramelización	No	No	Sí	Alcalino/ácido	No
Maillard	No	Sí	No	Alcalino	Sí
Oxidación	Sí	No	No	Ligeramente ácido	No
Ácido ascórbico					
Polifenol oxidasa	Sí	No	No	Ligeramente ácido	No

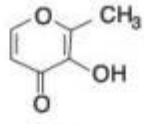
Caramelización

Esta reacción, también llamada pirólisis, ocurre cuando los azúcares, reductores o no reductores, se calientan por arriba de su punto de fusión. La reacción se efectúa tanto a pH ácidos como alcalinos y se acelera con ácidos carboxílicos y algunas sales; se presenta en los alimentos tratados térmicamente como la leche condensada y azucarada, los derivados de la panificación, las frituras y los dulces a base de leche como cajeta y natillas.[34]

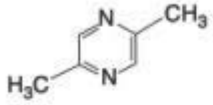
La deshidratación de los monosacáridos genera furfural y varios derivados insaturados, que se polimerizan consigo mismo o con otras sustancias semejantes para formar las melanoidinas. Durante esta transformación también se sintetiza una serie de compuestos de bajo peso molecular y muy olorosos como furanos, furanonas, lactonas, pironas, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y pirazinas, así como otros con dobles ligaduras conjugadas que igualmente absorben la energía radiante y por ello 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 igual forma se produce el maltol, el isomaltol y el etil-maltol en la elaboración del pan y forman parte fundamental de su aroma. Cabe indicar que estos compuestos se sintetizan y se usan como saborizantes.



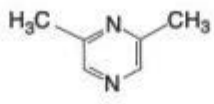
etil-maltol



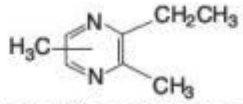
maltol



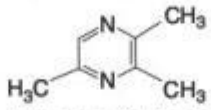
2,5-dimetilpirazina



2,6-dimetilpirazina

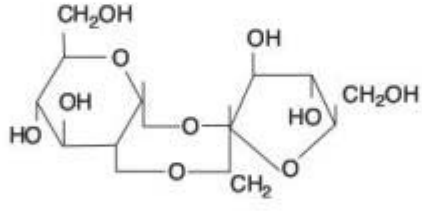


2-etil 5(6)-dimetilpirazina



2,3,5-trimetilpirazina

El calentamiento de la sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) a más de 160 °C induce su hidrólisis, deshidratación y dimerización: se sintetiza la isosacarosana de sabor amargo, cuya fórmula condensada equivale a la del disacárido menos una molécula de agua ($C_{12}H_{20}O_{10}$); 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 cuatro 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 0.45 a 4.5 nm.



isosacarosana

De manera similar, cuando se somete a temperaturas elevadas, la lactosa empieza por perder el agua de hidratación para después entrar en diversas rutas de ciclización, polimerización, 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 a la leche y sus derivados.

La caramelización se realiza comercialmente de manera controlada para fabricar caramelos, líquidos o sólidos que se utilizan como colorantes para refrescos de cola, postres y productos de confitería, entre otros (vea el capítulo 9). Se fabrican a partir de la sacarosa o de los jarabes de glucosa y de fructosa que se someten a muy alta temperatura junto con distintos compuestos para generar cuatro caramelos industriales: tipo I, con el solo calentamiento de los azúcares o en presencia de NaOH; tipo II, implica el uso de H_2S; tipo III, con NH_3 o sus sales; tipo IV, con la adición de sulfitos y amoniaco. Con esta gama de productos se cubren todas las necesidades en términos de poder tintóreo. Sin embargo, los que llevan

amoniaco, sobre todo el tipo III, ha sido cuestionado por la presencia de un derivado del imidazol que afecta el sistema inmune y también por causar deficiencias de vitamina B_6. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan un consumo máximo de 200 mg/kg de peso para los tipos III y IV.

Reacción de Maillard

Sin lugar a dudas, esta transformación es la más común en los alimentos que se someten a un proceso de calentamiento, tanto en el hogar como en la industria. La observó por vez primera el químico francés Louis Camille Maillard en 1913, pero no fue sino hasta 1953 cuando se propuso su mecanismo.[6,7,11,14,25] Para que ocurra se necesita un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre de un aminoácido o de una proteína, con lo que se producen múltiples compuestos como las melanoidinas que van desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro, además de una gran variedad de sustancias sápidas;[3] algunos de estos compuestos tienen propiedades quelantes y antioxidantes, porque eliminan los radicales libres que se producen en la oxidación de grasas.[8,47]

Esta reacción es fundamental incluso para preparar diversos alimentos, como en el horneado de los derivados de la panificación o en la cocción de un trozo de carne; de hecho, sin ella estos alimentos no tendrían el color ni el sabor que requieren. Sin embargo, en otros casos como las papas fritas, la reacción de Maillard es indeseable ya que genera sabores amargos y el oscurecimiento, que hacen a estos productos poco atractivos para el consumidor de modo que es necesario controlarla. Además, esta reacción implica la pérdida de aminoácidos indispensables, sobre todo de lisina y la generación de sustancias con potencial tóxico, como la acrilamida.

Los siguientes factores son los que principalmente influyen en la reacción de Maillard:[2]

a) A pH alcalino se incrementa la velocidad y alcanza un máximo a pH 10; sin embargo, existen muy pocos alimentos que tienen pH > 7 en forma natural (como el huevo). Por lo contrario, el mecanismo se inhibe en condiciones ácidas.

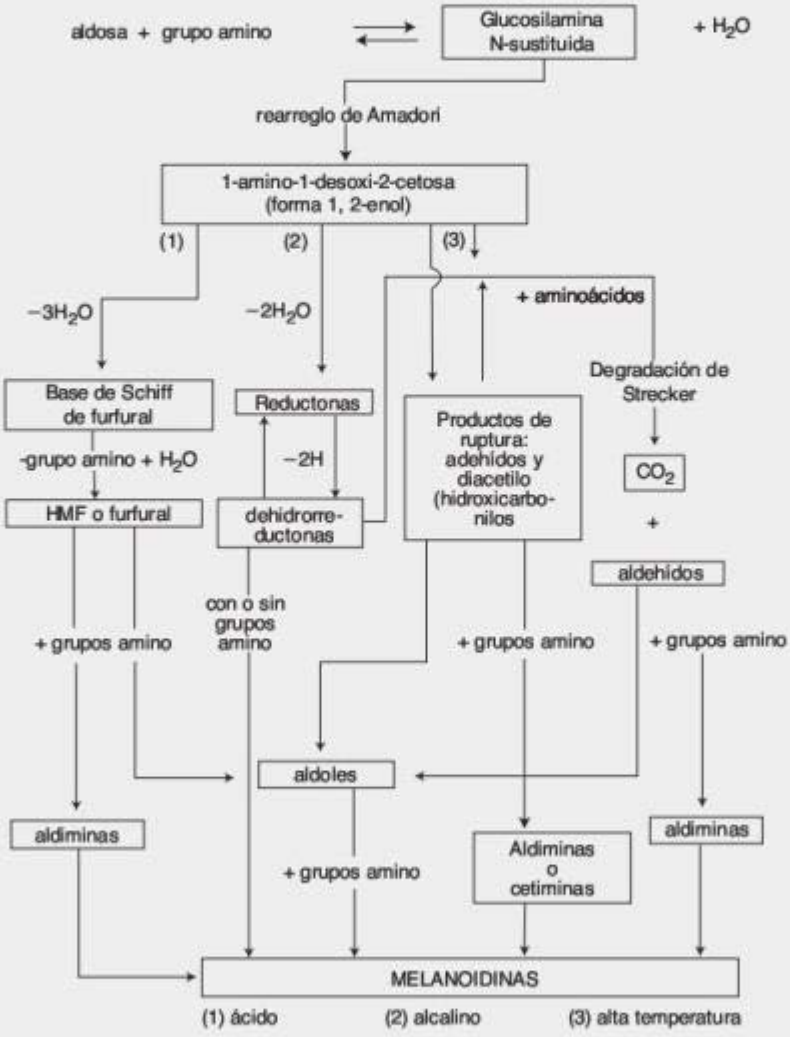
b) Las temperaturas elevadas la aceleran, pero debido a que su energía de activación (*Ea*) es baja, se observa hasta en la refrigeración. La *Ea* es de 16 a 30 Kcal/mol, y el valor de su coeficiente de temperatura, Q_{10} (en el intervalo de 0 a 70 °C), es de 2 a 3; es decir, por cada 10 °C de aumento, la velocidad se incrementa entre dos y tres veces. En el caso del jugo de manzana de 65 a 75° Brix, la *Ea* es de 16.4 a 19.3 Kcal/mol, mientras que para la pera es de 21.9 Kcal/mol. La reacción sigue una cinética de primer orden, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius.

c) La actividad del agua también influye, y así los alimentos de humedad intermedia son los más propensos; como muestra la figura 1.8, los valores de *Aa* de 0.6 a 0.9 son los que más la favorecen: una *Aa* menor no permite la movilidad de los reactantes y eso inhibe el mecanismo. Una *Aa* mayor tiene el mismo efecto: por ser producto de la propia reacción, el agua ejerce una acción inhibidora (de acuerdo con la ley de acción de masas), ya que diluye los reactantes.

d) El tipo de aminoácido es decisivo y será más reactivo en la medida en que se incremente el tamaño de su cadena y tenga más de un grupo amino; la velocidad aumenta con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo. Por esta razón la lisina posee un amino que en posición ε es el más activo, pero también interviene la arginina, la histidina y el triptófano. Los dipéptidos, como el aspartamo, también reaccionan.

e) Las pentosas interactúan más fácilmente que las hexosas, así como las aldosas más que las cetosas; los monosacáridos son más reactivos que los disacáridos. Con base en esto, la xilosa sería 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 tan estricto, ya que al freír papas la fructosa es más reactiva que la glucosa. También interviene la ribosa de los ácidos nucleicos.

Figura 2.13 Reacciones de oscurecimiento de Maillard.

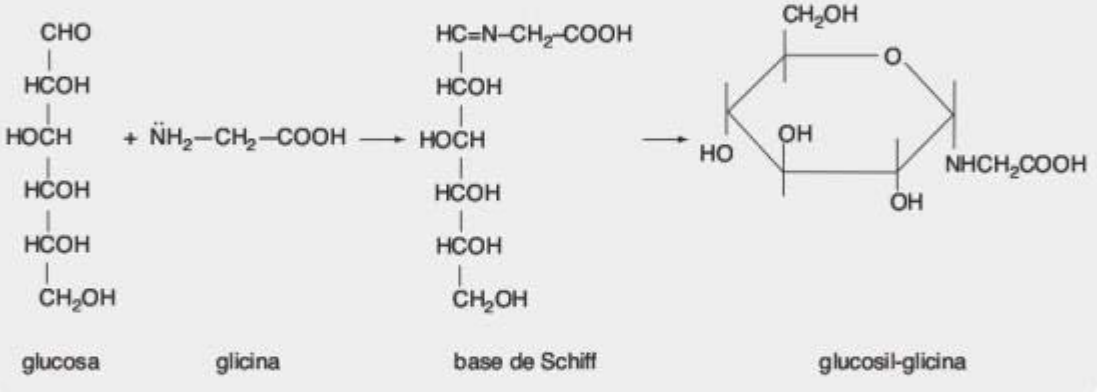


f) El cobre y el hierro catalizan la formación de las melanoidinas, lo que indica el carácter de oxidorreducción de la última etapa de este mecanismo. El oxígeno y las radiaciones electromagnéticas actúan de manera similar. La ausencia de metales, luz y oxígeno no previene el inicio de la reacción, ya que sólo favorecen la polimerización final.

En la figura 2.13 se muestra el diagrama característico de este mecanismo que se ha dividido en cuatro etapas:

1. *Condensación del azúcar reductor con el grupo amino.* Es la unión del carbonilo de un azúcar reductor con el amino libre de un aminoácido o de una proteína. Los grupos amino que intervienen en un enlace peptídico no están libres y, por lo tanto, no actúan en este mecanismo, excepto los aminoácidos que tienen dos grupos amino como la lisina, la arginina, la histidina y el triptófano. 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 la base de Schiff, que a su vez se cicla para generar una glucosilamina; en la figura 2.14 se muestra esta reacción para la glucosa y la glicina. La fructosa también puede condensarse y formar, aunque con mayor dificultad, la fructosilamina correspondiente.

Figura 2.14 Reacción entre la glucosa y la glicina.

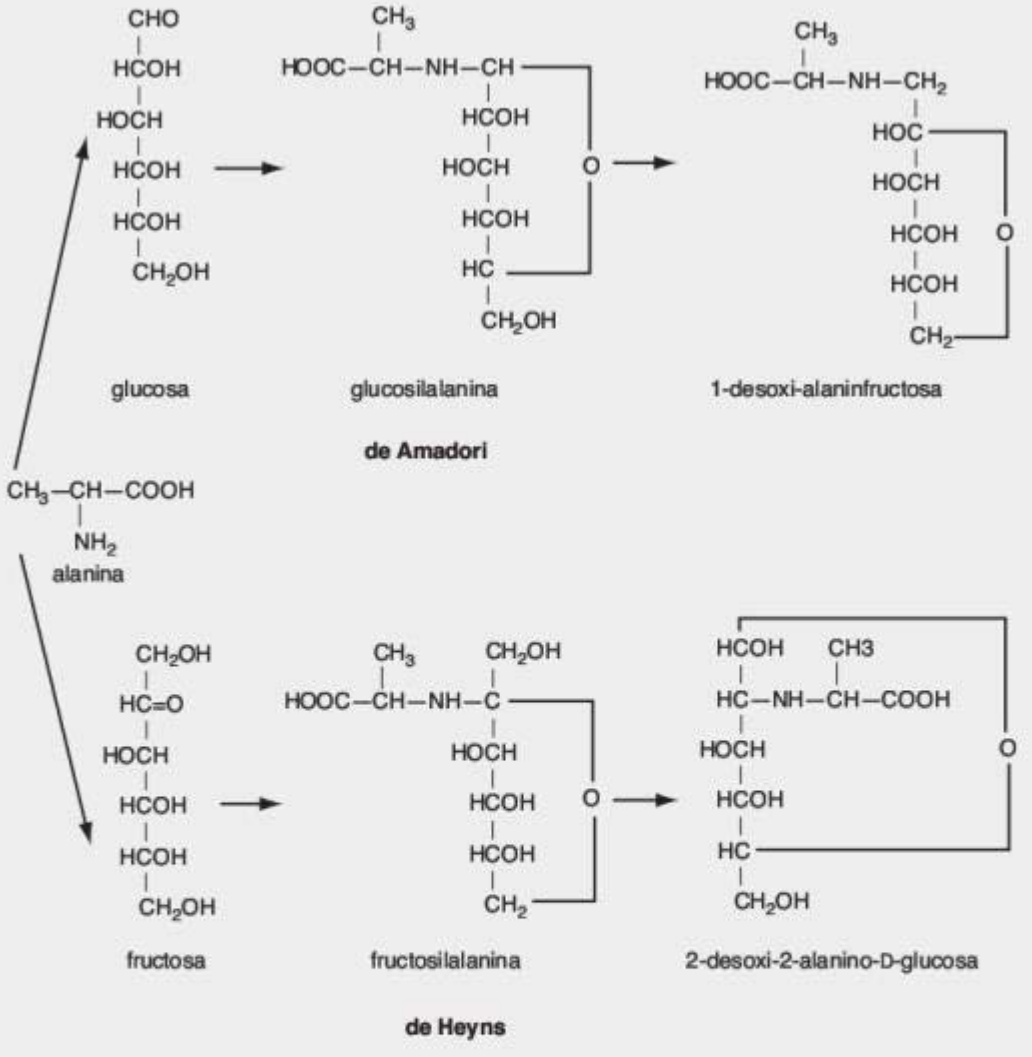


Hasta este punto no hay sustancias coloreadas ni de compuestos insaturados que absorban radiaciones, por lo que resulta imposible medir espectroscópicamente la intensidad de la reacción.

2. *Transposición de los productos de condensación.* Tanto las aldosaminas como las cetosaminas son inestables y se isomerizan: las primeras se convierten en cetosas por el mecanismo de Amadori, mientras que las segundas en aldosas por la transposición de Heyns (figura 2.15). Por ejemplo, la glucosilamina cambia a una fructosamina o 1-amino-1-desoxifructosa, mientras que las cetosilaminas lo hacen a 2-amino-2-desoxialdosa.
3. *Reacción de los productos de la transposición.* Conforme al pH, *Aa* y temperatura, los compuestos hasta aquí formados sufren otras modificaciones que dan lugar a olores, al incremento del poder reductor, a la aparición de ligeras tonalidades amarillas y al aumento de la absorción del UV.

La deshidratación de los azúcares por isomerización enólica genera furfural y sus derivados, reductonas y dehidrorreductonas, así como maltol, etilmaltol y acetil-furano del aroma del pan. También ocurre la fragmentación de los enoles que favorece la síntesis de aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes de dos a cuatro carbonos, como el gliceraldehído, el piruvaldehído, el acetol, la acetoína y el diacetilo, con un olor característico.

Figura 2.15 Transposiciones de Amadori y de Heyns.

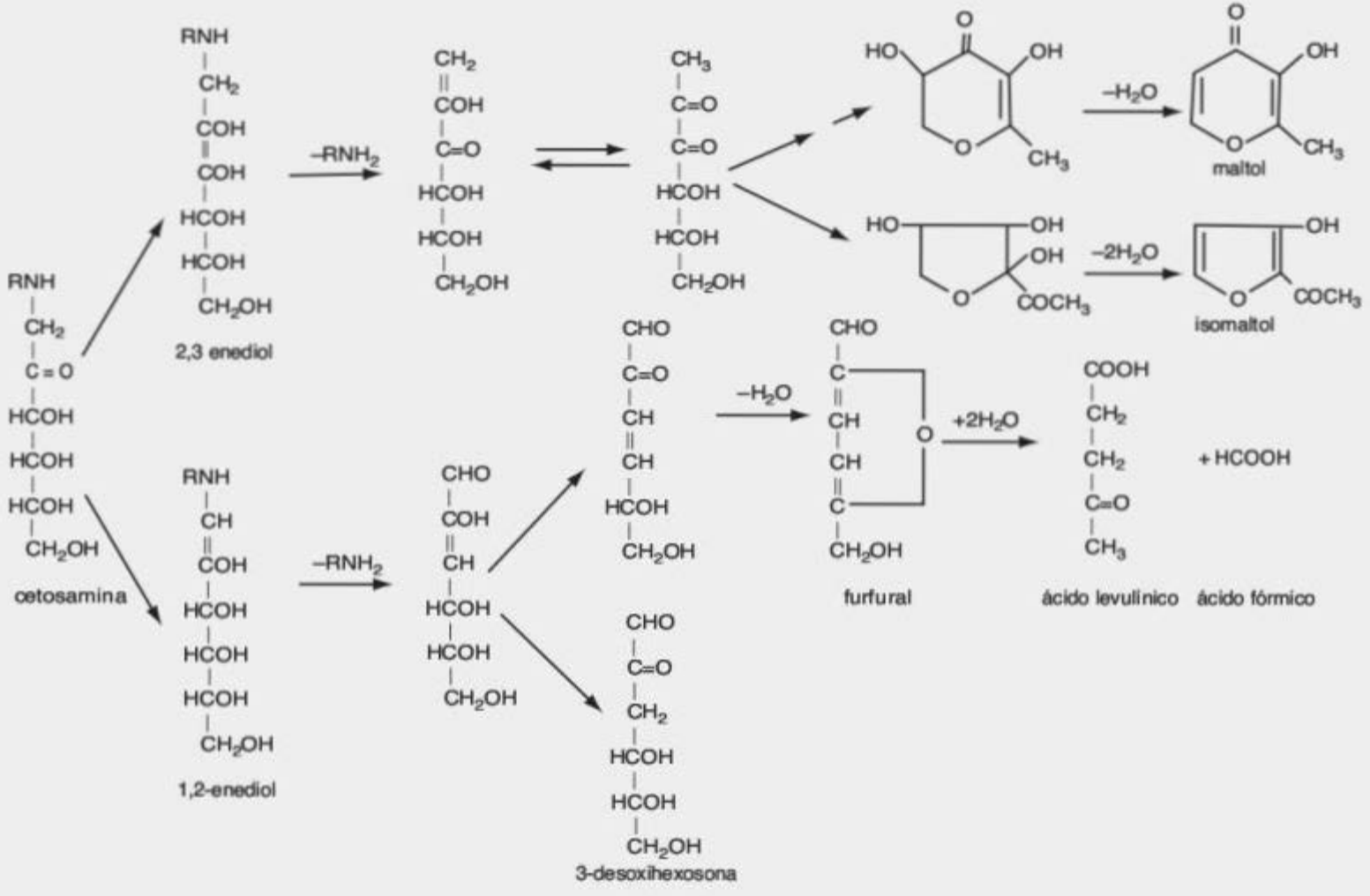


Casi todas las sustancias resultantes son insaturadas y muy reactivas, por lo que siguen, a su vez, diversas rutas químicas según las condiciones imperantes de acidez, temperatura, etcétera.

En la figura 2.16 se muestran dos mecanismos que sigue una cetosamina; mediante deshidrataciones, isomerizaciones y desaminaciones se generan otros compuestos insaturados también inestables, como las osulonas y las desoxiosulosas (3-desoxihexosona); éstos reaccionan con aminoácidos por la degradación de Strecker y producen un aldehído con un átomo de carbono menos que el aminoácido, CO_2 y nuevas sustancias carbonílicas.

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 como las pirazinas y otras moléculas con un alto poder odorífico del café y el cacao.[24] 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

Figura 2.16 Síntesis de diversos compuestos a partir de una cetosamina.



imitan determinados sabores; se sabe que el calentamiento de cierto aminoácido con glucosa produce olores muy característicos (vea el cuadro 2.7) y esto lo ha aprovechado la gastronomía molecular en la generación de olores específicos al hacer reaccionar, por ejemplo, cisteína y glucosa para aromas de pollo.

CUADRO 2.7 Aromas producidos por el calentamiento de un aminoácido con glucosa

	Aroma	
Aminoácido	**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

4. *Polimerización y formación de melanoidinas.* La fase final de la reacción de Maillard es la polimerización de un gran número de compuestos insaturados, que trae consigo la síntesis de melanoidinas con un peso molecular de 5 a 10 kD, y cuya composición no ha sido definida con claridad; sólo las de muy bajo peso molecular son solubles en agua. Su color se debe a una amplia absorción del espectro visible por parte de diversos cromóforos. En esta síntesis influye 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: a su vez, estos dímeros pueden seguir polimerizándose con otros aldehídos libres o con grupos amino.

Por espectrofotometría se ha comprobado la presencia de muchos dobles enlaces de aminoácidos y de distintos grupos heterocíclicos en las melanoidinas cuya máxima absorción es a 420 o 490 nm. El número de compuestos que se genera en la reacción de Maillard es de varios cientos e incluye a varias familias de sustancias (figura 2.17); algunos de ellos son muy reductores y pueden funcionar como antioxidantes de los lípidos insaturados que contiene el alimento, como la leche en polvo y otros productos similares.[44]

● Control de la reacción de Maillard

Como se indicó antes, los factores que influyen en la velocidad de esta reacción son el pH, la temperatura, la *Aa*, los tipos de aminoácido y de azúcar, los metales y el oxígeno; en algunos casos se busca que ocurra y se propicia, mientras que en otros se procura inhibir. Por ejemplo, en el huevo deshidratado se puede añadir ácido o eliminar la glucosa por la acción de la enzima glucosa oxidasa (vea el capítulo 5). La adición de sulfitos, metabisulfitos, bisulfitos o anhídrido sulfuroso ha sido práctica común para controlarla; sin embargo, debido a la sensibilidad de algunas personas a estos compuestos su empleo se ha restringido a 10 ppm como máximo. La optimización de las condiciones de tiempo y temperatura en los tratamientos térmicos también contribuye a reducir su efecto, como ocurre con el freído de las papas; de igual forma la reducción de los azúcares reductores de estos tubérculos se logra atemperándolos antes de su freído para convertir la glucosa en almidón y así evitar el oscurecimiento.

Figura 2.17 Compuestos que se generan durante el calentamiento de mezclas de azúcares y aminoácidos.



● Efectos dañinos de la reacción de Maillard

Además de los colores y aromas, esta reacción reduce el valor nutritivo del alimento ya que se pierden aminoácidos y vitaminas y se generan compuestos con potencial tóxico; también se reducen las propiedades funcionales de las proteínas como la solubilidad, el espumado y la emulsificación.

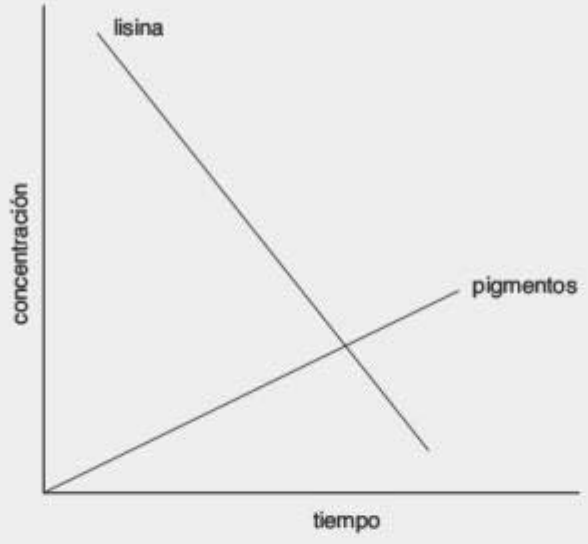
La lisina es un aminoácido indispensable; en algunos países como México cuya dieta se basa en el maíz, esta reacción tiene particular importancia, ya que cualquier disminución del aminoácido afecta el de por sí reducido valor nutritivo del cereal. La pérdida de lisina, o su conversión a una forma biológicamente 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 biológicamente indisponible y que, por ello, 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.

La tripsina sólo ataca parcialmente las proteínas que han sufrido este tipo de transformación, sobre todo en los enlaces peptídicos cercanos al sitio donde ocurre la condensación azúcar-aminoácido.

Los productos lácteos son especialmente susceptibles debido a su alto contenido de lactosa y 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;[10] este aminoácido se pierde directamente con la aparición de las melanoidinas (figura 2.18). Algunas pruebas han mostrado que las ratas pierden peso si son alimentadas con caseína adicionada de una pequeña cantidad del producto resultante del calentamiento de una mezcla de glucosa y lisina. Para restablecer el contenido original del aminoácido, en algunos países es costumbre añadir lisina a los productos que realizan esta reacción.

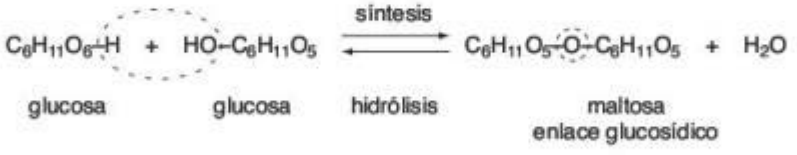
La reacción de Maillard lleva consigo la potencial síntesis de acrilamida[5] agente dañino que se describe con más detalle en el capítulo 11.

Figura 2.18 Producción de melanoidinas y pérdida de lisina en la reacción de Maillard.



Oligosacáridos

Este grupo de sustancias son el resultado de la condensación de 3 a 10 monosacáridos mediante un enlace glucosídico, es decir son *O*-glucósidos; 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, mientras que el proceso inverso corresponde a su hidrólisis:



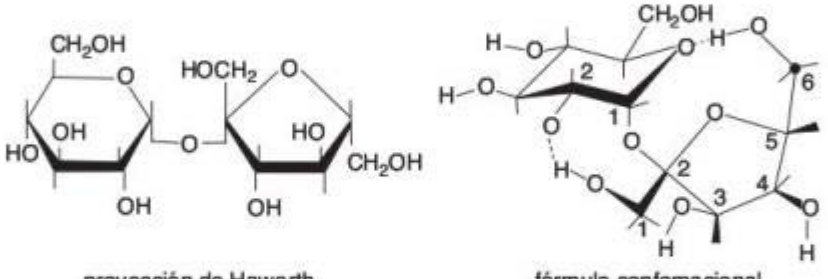
formación e hidrólisis de un enlace glucosídico

En esta reacción, uno de los azúcares elimina su OH anomérico para establecer el enlace glucosídico; al monómero que lo cede se le agrega el sufijo *-sil*. Por ejemplo, la lactosa es la *O*-β-D-galactopiranosil-(1,4)-α-D-glucopiranosa, o 4-*O*-β-D-galactopiranosil-D-glucopiranosa. Si los dos monosacáridos están unidos por sus respectivos carbonos anoméricos, se producen azúcares no reductores, como la sacarosa. Los principales disacáridos reductores de la solución de Fehling son la lactosa, la celobiosa, la isomaltosa y la maltosa. Tal como sucede con los polisacáridos, el organismo humano sólo utiliza los disacáridos después de su hidrólisis enzimática en el intestino delgado para convertirlos en sus correspondientes monosacáridos; de esta forma se absorben a través de la pared intestinal para pasar al torrente sanguíneo, que los traslada hacia donde serán aprovechados. Por otra parte, su hidrólisis química 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 (*v. gr.* celobiosa) resisten más que las de configuración α (*v. gr.* maltosa), a pesar que ambas sean disacáridos de dos glucosas.

Sacarosa

La sacarosa (β-D-fructofuranosil-α-D-glucopiranosa), comúnmente llamada "azúcar", está integrada por una glucosa cuyo carbono aldehídico se une al cetónico de la fructosa y establece un enlace glucosídico $\beta(1,2)$ y la hace no reductora por carecer de grupos aldehído o cetona libres; además, no exhibe mutarrotación. Su fructosa está como furanosa tensionada; esto 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 sus dos monosacáridos. De hecho, esta unión es de las más sensibles entre todos los disacáridos. Es muy hidrosoluble (cuadro 2.8), tiene una gran capacidad de hidratación (cuadro 2.9) y es menos higroscópica que la fructosa (figura 2.19).



Estructuras de la sacarosa

La sacarosa abunda en forma natural en casi todas las frutas, en raíces (como la remolacha, a partir de la cual se obtiene de forma comercial, junto con la caña de azúcar), en ciertos granos y en leguminosas como los chícharos.[16] Su concentración en los vegetales varía según el grado de sazón y es regida por diversas transformaciones enzimáticas. Por ejemplo, antes de alcanzar el grado de madurez necesario para su cosecha, los chícharos (guisantes) contienen un porcentaje de sacarosa que representa 95% del total de los azú-

CUADRO 2.8 **Máxima solubilidad de disacáridos**

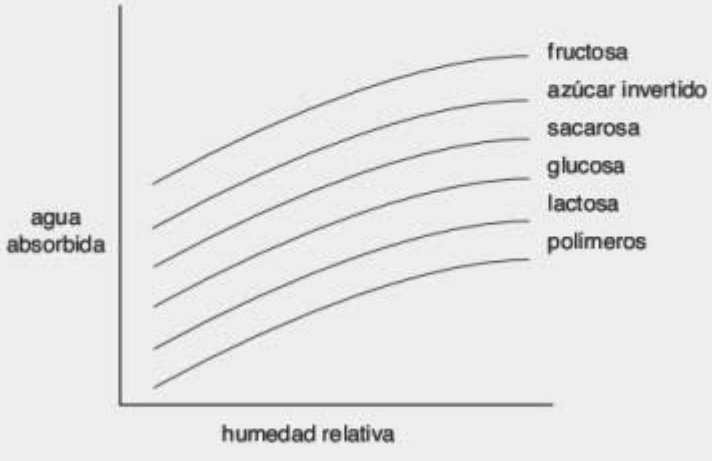
	g/100 g de agua	
°C	*Lactosa*	*Sacarosa*
0	1.9	179.2
15	6.9	197.0
25	21.6	211.4
40	32.4	238.1
80	99.6	362.1
100	57.6	487.2

CUADRO 2.9 **Hidratación de algunos azúcares (azúcar 2M, 5 °C)**

	Moles H_2O/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

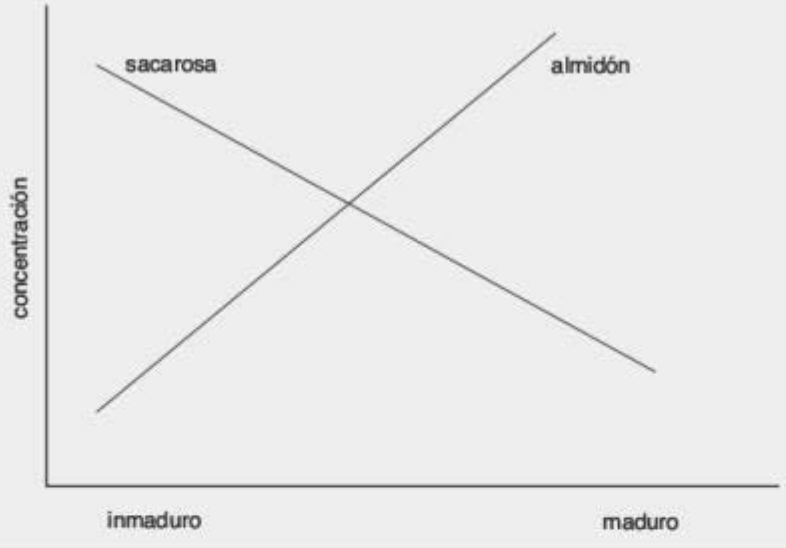
cares (9.5% del peso de la legumbre), y algunos monosacáridos como glucosa, fructosa y galactosa en baja cantidad. Como la proporción de sacarosa es mayor que la del almidón, un chícharo inmaduro tiene un sabor dulce y una textura delicada. Sin embargo, con la maduración, la sacarosa se convierte en almidón mediante una transformación enzimática que continúa aún después de haberlo cosechado y almacenado (figura 2.20). En el producto maduro la cantidad del polisacárido se incrementa de 2 a 16%, aproximadamente, debido a un proceso contrario al del plátano (figura 2.6), que hace la textura más rígida y el sabor menos dulce. El rendimiento máximo por hectárea del chícharo se logra cuando la proporción de almidón es mayor, a pesar de que las características sensoriales más adecuadas se ubican un poco antes, cuando hay una proporción de azúcares.

Figura 2.19 Absorción de agua de algunos azúcares respecto de la humedad relativa.



Cambios como el anterior se observan también en garbanzos, ejotes, habas y maíz. En el caso de la papa (patata), el almidón además da origen a la sacarosa, pero sobre todo a la glucosa que se sintetiza por acción enzimática amilolítica que se favorece a menos de 12 °C. En estas condiciones la papa es inadecuada para freír, porque los azúcares intervienen en reacciones de oscurecimiento, o se pierden por lixiviación en el lavado. Sin embargo, esta reacción de hidrólisis del almidón es reversible a temperatura ambiente, de tal forma que el atemperamiento de la papa fría, *v. gr.* a 25 °C por varias horas, induce la síntesis de almidón a partir de glucosa y en tales condiciones ya es adecuada para freírla.

Figura 2.20 Conversión de sacarosa en almidón durante la maduración de chícharos.



● Azúcar invertido

Se conoce con este nombre a la mezcla de glucosa y fructosa producida cuando la sacarosa se hidroliza, de manera química o enzimática. El adjetivo "invertido" se refiere al cambio del poder rotatorio que se observa durante la 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.

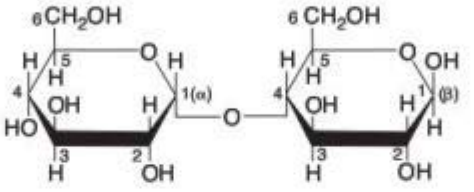
El azúcar invertido se produce naturalmente en la miel de abeja y es responsable de su alto poder endulzante; también en los jugos de frutas con pH ácido y que sufren algún tratamiento térmico se percibe un ligero aumento de la dulzura, debido a la hidrólisis de la sacarosa.

Comercialmente es fácil de producir, ya que el enlace glucosídico es muy lábil por la influencia de la fructosa; la energía de activación necesaria para lograr esta transformación es baja, de modo que se pueden emplear ácidos diluidos o invertasas. No es recomendable usar ácidos fuertes ni temperaturas elevadas, pues en estas condiciones no sólo se provoca la hidrólisis del disacárido, sino también la deshidratación de los monosacáridos y la formación de colores y olores indeseables, como sucede en la reacción de Maillard.

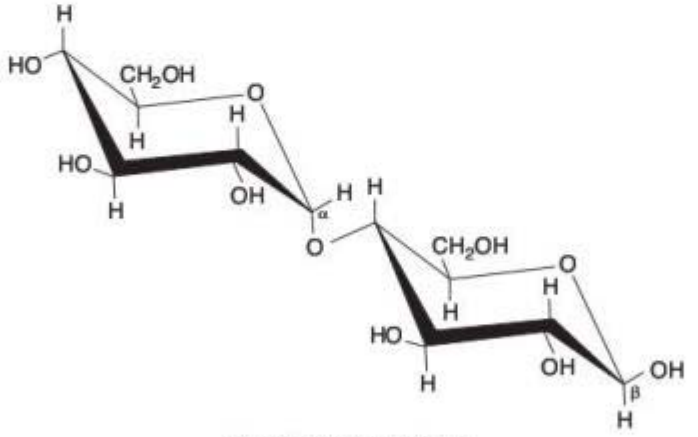
Debido a la presencia de la fructosa, el azúcar invertido es un poco más dulce que la sacarosa. Si consideramos un valor arbitrario de 100 para el poder edulcorante del disacárido, el de la fructosa es de 180 y el de la glucosa de 74; en consecuencia, el del azúcar invertido será el promedio: (180 + 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 la confitería; sin embargo, es higroscópico, lo cual puede ser una desventaja en algunos casos (figura 2.19). El empleo de azúcar invertido en la industria de alimentos es muy amplio: controla la cristalización de los azúcares, realza el sabor en productos derivados de frutas, reduce la *Aa* en los alimentos de humedad intermedia y mantiene la frescura del pan congelado.

Maltosa

La maltosa (4-*O*-β-D-glucopiranosil-α-D-glucopiranosa), integrada por dos moléculas de glucosa, es un disacárido reductor que es 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 lechada 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, es fermentable, soluble en agua y no cristaliza con facilidad. Los jarabes comerciales ricos en maltosa son fabricados de forma enzimática a partir de almidón y se emplean para fabricar whisky y cerveza; la malta germinada, materia prima para estas bebidas alcohólicas, se obtiene mediante la germinación de la cebada por el proceso llamado malteado.



proyección de Haworth

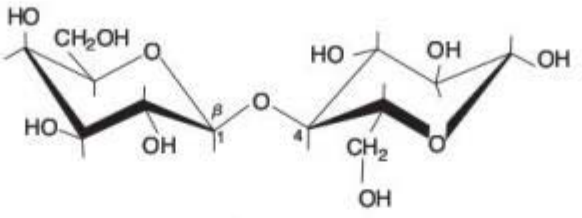


fórmula conformacional
de la maltosa

Lactosa

La lactosa (4-*O*-β-D-galactopiranosil-D-glucopiranosa) 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 $\beta(1,4)$. Debido a que el carbono anomérico de la glucosa está libre, este disacárido es reductor, existe en los isómeros α y β y, por lo tanto, presenta el fenómeno de mutarrotación. De los disacáridos de importancia, la lactosa es el menos soluble (vea el cuadro 2.8) y tan sólo presenta 25% del poder edulcorante de la sacarosa.

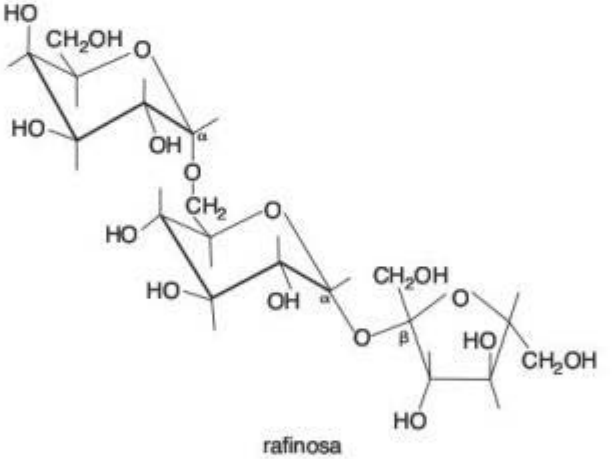
Industrialmente se obtiene del suero de la leche y se utiliza en la panificación para acelerar la reacción de Maillard, en confitería y en muchos otros productos. En el capítulo 12 se revisan más aspectos de este disacárido.



lactosa

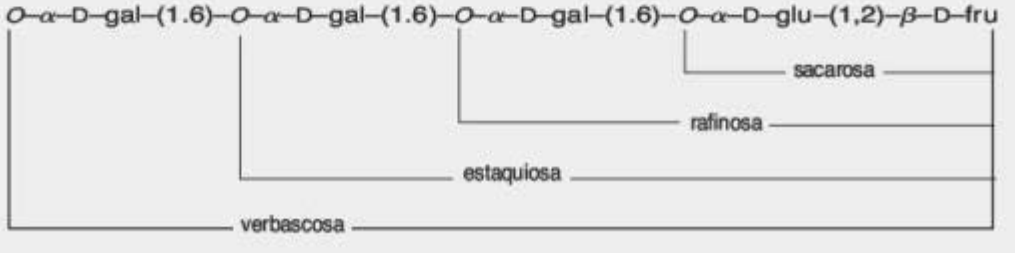
Rafinosa, estaquiosa y verbascosa

Son α-galactosacáridos que se encuentran en las leguminosas (soya, frijoles, garbanzos, cacahuates, chícharos y alubias) y en algunos cereales (figura 2.21).



rafinosa

Figura 2.21 Oligosacáridos productores de flatulencias: rafinosa, estaquiosa y verbascosa.



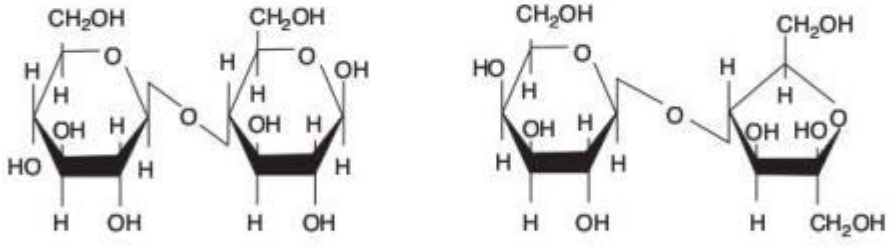
gal = galactopiranosil; glu = glucopiranosil; fru = fructofuranosa

En la soya, la concentración de los α-galactosacáridos aumenta durante la maduración de la semilla y disminuye en la germinación; representan 4-5% del total de hidratos de carbono de la harina de la oleaginosa desgrasada y descascarillada.

Debido a que estos azúcares son hidrosolubles, se pueden eliminar parcialmente de los granos y las semillas que los contienen mediante un remojado prolongado; este proceso se acelera si se hace en caliente. Por otra parte, algunos alimentos orientales a base de soya fermentada (tempe y tofu) se inoculan con hongos *Rhizopus* que consumen los oligosacáridos para crecer, de lo que resulta una reducción en la concentración final del producto de los mismos y la consecuente eliminación de los efectos adversos. Para la preparación del frijol se recomienda usar hierbas y especias carminativas que relajan el esfínter y tienen un efecto antiespasmódico en los músculos lisos y permiten la salida de gases sin problema; éstas incluyen albahaca, anís, yerbabuena, menta, canela, cilantro, cebolla, comino, epazote, manzanilla y romero.

Otros oligosacáridos

Otros oligosacáridos incluyen 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 $\beta(1,4)$, 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. La celobiosa (4-*O*-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosa), que es la unidad repetitiva de la celulosa y la neoquestosa (fructosa-glucosa-fructosa), que es un trisacárido que se localiza principalmente en los granos de los elotes.



Los fructooligosacáridos funcionan como prebióticos por ser una fuente de nutrimentos para la microflora colónica estimulando selectivamente las bacterias benéficas y favoreciendo el sistema inmunológico,[15] como se describe en el capítulo 15.

Tecnología de los azúcares

La glucosa, la fructosa, la sacarosa, la maltosa, el azúcar invertido y los jarabes de glucosa y de fructosa se emplean ampliamente en la fabricación de muchos alimentos. Esto se debe a sus diversas propiedades funcionales, muchas de las cuales derivan de su alto contenido de hidroxilos con una gran capacidad de formar puentes de hidrógeno con el agua y así retenerla para conferir viscosidad y "cuerpo". Al inmovilizar parte del agua, reducen la *Aa* y evitan el crecimiento microbiano. Además, por lo general son dulces, propician las reacciones de oscurecimiento de Maillard y de caramelización y la fermentación y fungen como fuente de carbono.

Conservación

Como se explica en el capítulo 1, los solutos de bajo peso molecular reducen la presión de vapor de agua y la actividad del agua, además de que aumentan la presión osmótica; es decir, se pueden emplear para el control microbiológico de hongos, levaduras y bacterias. Para que ocurra este efecto se requiere que estén en solución; por ello es importante la cantidad disuelta y no la total añadida. Sin embargo, en general se requiere de 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 $Aa = 0.8$, lo que implica la adición de 60-65% de sacarosa; esta cantidad se puede reducir mediante el empleo de algunos conservadores. 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 Aa y favorece el crecimiento microbiano.

Cristalización

Muchos azúcares son polimorfos, es decir, cristalizan en diferentes formas físicas. Por ejemplo, la lactosa produce los isómeros α y β, cuyos cristales tienen solubilidades y tamaños diferentes. En la elaboración de leche condensada la concentración del disacárido alcanza niveles muy cercanos a la saturación, lo que hace su cristalización relativamente sencilla. Esto, en una proporción específica, 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 en su forma β, que es más soluble en agua que la α (vea el capítulo 12). Con el control de la temperatura y la concentración se induce un determinado tipo de cristal, como se hace en la elaboración de lácteos, en la confitería y en la producción de otros alimentos 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 inhibidor 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 los azúcares amorfos y cristalinos; si la humedad no es la adecuada en los chocolates y si en su formulación sólo se empleó sacarosa, ésta se disuelve y migra a la superficie del producto para cristalizar y produce una mancha blanquecina conocida como eflorecimiento (*sugar bloom*, en inglés), que le confiere al producto una textura arenosa y una apariencia desagradable; esto puede evitarse si se emplea azúcar invertido.

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 considerablemente entre los distintos mono y disacáridos (vea el cuadro 2.9). 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 *Aa* 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 y ocasionan un problema en los derivados de la confitería por que se vuelven pegajosos.

La selección de un azúcar para un uso específico debe hacerse tomando en cuenta el grado de su higroscopia, ya que este fenómeno es indeseable en los productos deshidratados como la leche en polvo, los granulados, etc.; sin embargo, en algunos de la 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.

CUADRO 2.10 **Poder edulcorante relativo de algunos azúcares. Sacarosa = 100**

	Dulzura	
Azúcar	*En solución*	*En 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	-

Poder edulcorante

Casi todos los azúcares son dulces, pero también los hay amargos; presentan un poder edulcorante que depende de su forma química y si están en solución o como cristal, como se muestra en el cuadro 2.10. Debido a que las determinaciones de dulzura provienen de jueces o catadores y, por tanto, son subjetivas, los resultados de todo análisis sensorial están sujetos a errores propios de los individuos e incluso a su estado anímico o hasta el color del producto, que es capaz de modificar la percepción de la intensidad del dulzor.

Cuando se disuelven en agua, los azúcares presentan reacciones de mutarrotación que producen una mezcla de tautómeros con distinta dulzura, como ocurre con las soluciones de fructosa recién preparadas que son más dulces que las que se dejan reposar hasta alcanzar el equilibrio tautomérico. Su dulzura 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 ello carecen de OH— pero también son dulces, como el cloroformo, algunos aminoácidos, sales metálicas, la sacarina, los ciclamatos y otros (vea los capítulos 8 y 9).

Otros factores que influyen en el poder edulcorante de los azúcares son la temperatura y la concentración; la D-fructosa es más dulce en frío, característica que se aprovecha en la

elaboración de bebidas refrescantes que normalmente se consumen en esas condiciones; 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 tal como hacen los ácidos con la fructosa, mientras que la carboximetilcelulosa y el almidón la reducen, probablemente 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 en forma de azúcar invertido o en jarabes altos en fructosa producidos por la acción de la glucosa isomerasa (vea el capítulo 5). Debido a los problemas de salud asociados al consumo excesivo de sacarosa y de otros azúcares, actualmente se emplean muchos polioles y edulcorantes sintéticos.

Polisacáridos

Igual que con los oligosacáridos, en la categoría de *O*-glucósidos se encuentran los polisacáridos que se integran con más de los 10 monosacáridos. La mayoría se encuentra en el reino vegetal, contienen cientos o miles de residuos de azúcares y en consecuencia son de alto peso molecular, aun cuando presentan valores dispersos. Su nomenclatura se basa en la adición del sufijo *-ana* a las letras que identifiquen el nombre del azúcar que los integra; por ejemplo, los que están constituidos únicamente por glucosa se denominan glucanas, los que contienen sólo galactosa, galactanas, etc. Cuando contienen más de un monómero se hace una combinación, como galactomanana, arabinogalactana, etcétera.

En estado puro no tienen color ni sabor, no forman verdaderas soluciones como los mono y los oligosacáridos, sino más bien dispersiones de tamaño coloidal. 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 las gomas, las pectinas y la hemicelulosa. De cualquier manera, sus componentes siempre están unidos regularmente con una secuencia y estructura repetitivas, que representan polímeros con un alto grado de ordenación; estos enlaces ocurren entre el C_1 o C_2 con el C_2, C_3, C_4, C_5 o C_6 del segundo residuo, y así sucesivamente.

Por su estructura química, interactúan con las proteínas, con el agua y con otros componentes celulares vegetales a través de enlaces electrostáticos, puentes de hidrógeno, uniones hidrófobas y hasta covalentes.

De acuerdo con su función biológica, se han dividido los polisacáridos en dos grandes grupos: los responsables de la estructura celular y los de reserva energética. Entre los primeros destaca la celulosa, las pectinas, el agar, la carragenina y otras gomas del reino vegetal, que integran la fibra dietética,[12] así como la quitina y la condroitina, del reino animal. Por su parte, en los de reserva energética se incluye al almidón y la inulina para los vegetales, y al glucógeno para los animales. Cada grupo tiene características físicas y químicas distintas como se muestra en el cuadro 2.11.

Su hidrólisis química y enzimática, 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 (*v. gr.* sulfatos) que ejercen un efecto estabilizador del enlace. 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 (glucosa).

Los azúcares anhidros, como la 3,6-anhidro-galactosa, son sumamente lábiles y aceleran la hidrólisis de los polisacáridos que los contienen.

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 que contienen, 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 a veces se añaden como aditivos a otros para obtener la formulación correcta, por ejemplo al almidón, la carragenina, las pectinas y las gomas que se utilizan por sus propiedades funcionales (cuadro 2.12). Por su gran capacidad de retener agua, producen partículas coloidales muy hidratadas, razón por la que reciben el nombre de hidrocoloides. La llamada "capacidad de retención de agua" hace referencia a la cantidad de líquido que una proteína o un polisacárido retienen de manera estable y que depende de factores intrínsecos (tipo de polímero, peso molecular, linealidad, etc.) y extrínsecos (pH, fuerza iónica, temperatura, presencia de ciertos cationes, etc.); la estructura tridimensional o gel en que se atrapa el agua depende de muchos factores, entre los que la concentración del polímero es uno de los más importantes. Las carrageninas y las pectinas forman geles, mientras que otros polisacáridos sólo incrementan la viscosidad y espesan. Algunos geles son termorreversibles, pero otros no (vea el capítulo 10).[23] Sin embargo, durante el almacenamiento puede ocurrir que las macromoléculas reaccionen entre sí y pierdan su capacidad de retención de agua; esto ocasiona que la porción de agua que ya no es retenida se desprenda de la matriz del gel y emigre a la superficie. Este fenómeno se conoce como sinéresis, lo que indica exudación o liberación de agua causada por un reacomodo interno de las macromoléculas, como sucede en la retrogradación del almidón.

Celulosa

Es el principal polisacárido estructural del reino vegetal, está constituido sólo por glucosas y es el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza, que además se renueva permanentemente mediante la fotosíntesis. A diferencia de los animales monogástricos, como el hombre, los herbívoros rumiantes son los únicos capaces de aprovecharla en su metabolismo porque cuentan con las correspondientes celulasas gastrointestinales; para el organismo humano la celulosa es parte de la fibra cruda, por lo que se elimina en las heces sin haber sido aprovechada.[13]

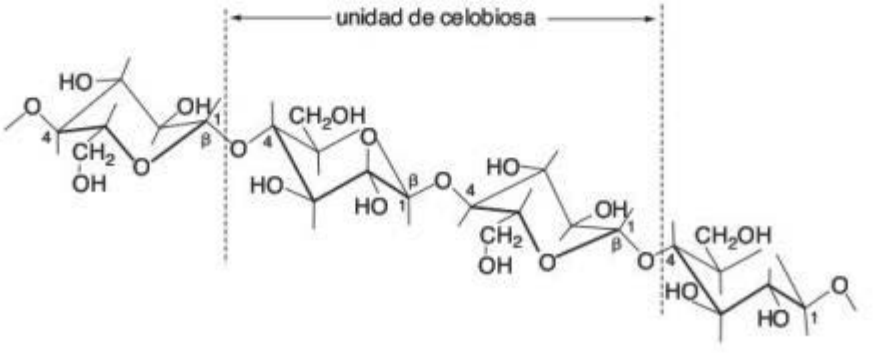
CUADRO 2.11 Características de los polisacáridos

Estructurales	De reserva energética
Forman puentes de hidrógeno intermoleculares muy fuertes	Menos puentes de hidrógeno intermoleculares y débiles
Producen fibras muy rígidas	No producen fibras
Insoluble 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 son poco viscosas

CUADRO 2.12 **Principales usos de los polisacáridos en alimentos**

- 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
- 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 las sensación de textura en la boca
- Estabilizantes de proteínas
- Mantienen las suspensiones

La celulosa forma parte de las paredes celulares de cereales, futas y verduras. Representa 1.0, 2.5 y 2.0% del arroz, el maíz y el trigo, respectivamente, y se localiza en el pericarpio y en el germen junto con las hemicelulosas y la lignina. De forma comercial se obtiene de la madera y del algodón, de los que este último es la fuente más pura. Al igual que la amilosa, la celulosa es un homopolisacárido lineal de unidades de D-glucopiranosas, con la diferencia de que sus monómeros se unen mediante enlaces glucosídicos $\beta(1,4)$; su peso molecular llega a ser 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 porque actúan entre sí de manera interna y forman las fibras.



celobiosa, unidad repetitiva de la celulosa

Se hidroliza en D-glucosas por la acción de ácidos como el sulfúrico y el clorhídrico a una temperatura de más de 100 °C, pero también mediante el empleo de celulasas microbianas (vea el capítulo 5). Como aditivo, la celulosa se emplea en forma de sus derivados, principalmente la carboximetilcelulosa (CMC) que se fabrica al hacer reaccionar en un tanque con agitación la celulosa del algodón con hidróxido de sodio y ácido monocloracético; se neutraliza y el exceso de sales se elimina mediante una extracción con alcohol-agua. En teoría es posible lograr que los tres OH libres de cada 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 se emplean más ya que tienen una buena solubilidad. La CMC actúa como aglutinante, como espesante y estabilizante y forma películas resistentes; se utiliza en tortillas de maíz por su capacidad de retención de agua, en la elaboración de rellenos de pasteles, en productos de panificación, como sustituto de grasa, en productos lácteos, helados, salsas, aderezos y muchos otros.[37]

$$\underset{\text{celulosa}}{R{-}OH} + NaOH \rightarrow R{-}ONa + H_2O$$

$$R{-}ONa + Cl{-}CH_2COONa \rightarrow \underset{\text{CMC}}{R{-}O{-}CH_2COONa} + NaCl$$

Otros derivados incluyen la metilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa; la primera se produce al propiciar la reacción de la celulosa con sosa y cloruro de metilo, mientras que en la obtención de la segunda intervienen la sosa y el óxido de propileno:

$$R{-}OH + NaOH \longrightarrow R{-}ONa$$

$$R{-}ONa + CH_3Cl \longrightarrow R{-}OCH_3 \qquad \text{metilcelulosa}$$

$$R{-}ONa + H_2C(O)CH{-}CH_3 \longrightarrow R{-}OCH_2{-}\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{C}}H{-}CH_3 \qquad \text{hidroxipropilmetilcelulosa}$$

La celulosa microcristalina (MCC) es una forma depolimerizada que se produce por hidrólisis ácida de la celulosa; el ácido ataca las partes amorfas, deja intactas las zonas cristalinas y libera 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 reacomoden durante el secado; el material de recubrimiento depende de las aplicaciones de la MCC. Es emulsificante y estabilizante de productos aireados, se aplica en aderezos, salsas y productos elaborados a base de jitomate, en productos lácteos, en la panificación y como sustituto de grasa.

Hemicelulosa

Término ambiguo que se emplea para referirse a heteropolisacáridos, parte de la fibra dietética, que se localizan en la pared celular vegetal donde actúan como agente cementante y se encuentran junto con la celulosa y las pectinas. Son solubles en álcalis, más resistentes en ácidos y presentan una estructura amorfa, aun cuando algunos desarrollan una forma fibrilar. Su composición se basa en la unión glucosídica $\beta(1,4)$ de distintos monosacáridos, sobre todo pentosas (*v. gr.* arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), ácidos urónicos (galacturónico y glucurónico) y algunos desoxi-azúcares.

El contenido de hemicelulosas cambia con la maduración de los vegetales. El trigo la contiene de 2 a 3% 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 presencia de la primera provoca que la harina del cereal absorba mayor cantidad de agua, lo que reduce el tiempo de amasado y mejora el volumen y la textura del pan. Cuando aumenta el contenido de hemicelulosas insolubles, la calidad global de los productos de la panificación tiende a reducirse.

Presenta una alta capacidad de retención de agua, aun cuando varía con el vegetal: por ejemplo, la hemicelulosa de los frijoles retiene 3.3 g de agua por gramo de polímero, mientras que la de la col 12 g y la del trigo 23 g. Esto hace que sean importantes constituyentes de la fibra dietética, ya que al retener agua forman un bolo que provoca la rápida evacuación fecal.

Almidón

Este hidrato de carbono es parte fundamental de la dieta del hombre desde la prehistoria, además de que después de la celulosa es el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial. Se encuentra en cereales, tubérculos y en algunas verduras y frutas como polisacárido de reserva energética. Su concentración varía según el estado de madurez del vegetal, como ocurre con el plátano: 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 endógenas y mediante otros sistemas enzimáticos se sintetizan la sacarosa y la fructosa que se encuentran cuando llega a la plena maduración (vea el cuadro 2.13 y la figura 2.6).

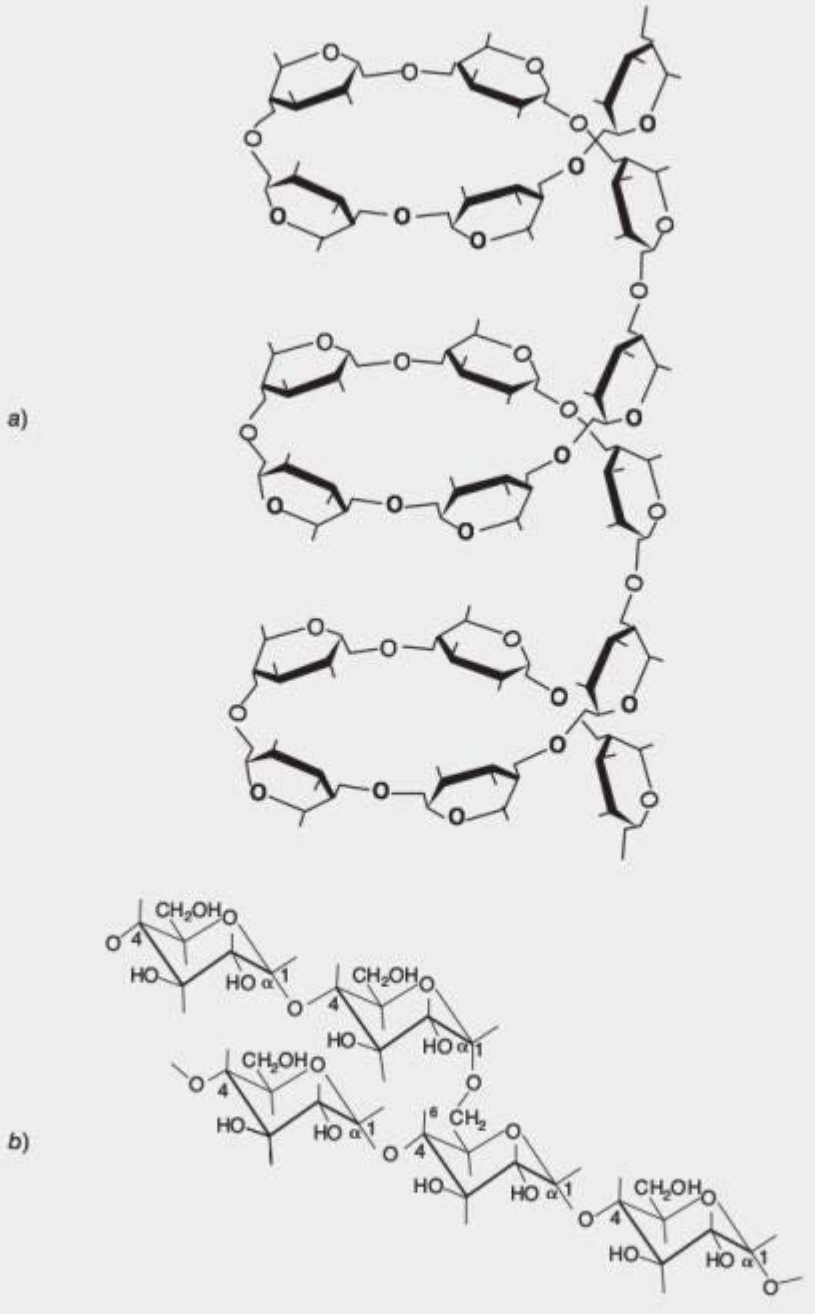
Desde el punto de vista químico, el almidón es una mezcla de dos polisacáridos, la amilosa y la amilopectina; el primero es producto de la condensación de glucosas por enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$, que establece largas cadenas lineales con 200-2 500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una α-D-(1,4)-glucana. Tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal (figura 2.22), en la que cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa.

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. 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.

CUADRO 2.13 **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 2.22 *a*) enrollamiento helicoidal de la amilosa; *b*) estructura química de la amilopectina.



En términos generales, los almidones contienen 15-30% de amilosa y el resto de amilopectina (vea el cuadro 2.14). Cereales como el maíz, el sorgo y el arroz, tienen variedades llamadas "céreas" que están constituidas casi sólo 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 las glucosas del polímero; para desarrollar adecuadamente la coloración se requiere un mínimo de 40 residuos de monosacárido, por lo que las cadenas muy cortas de amilosa producen un color rojo en lugar de azul. Aparentemente el complejo amilosa-yodo se establece por la inclusión del I_2 en la hélice, mecanismo semejante al que se observa en los monoacilglicéridos que se usan en la elaboración del pan para evitar su envejecimiento. Por otra parte, la amilopectina sólo acompleja una pequeña cantidad de yodo 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 amilopectina, pues resulta menos pegajoso.

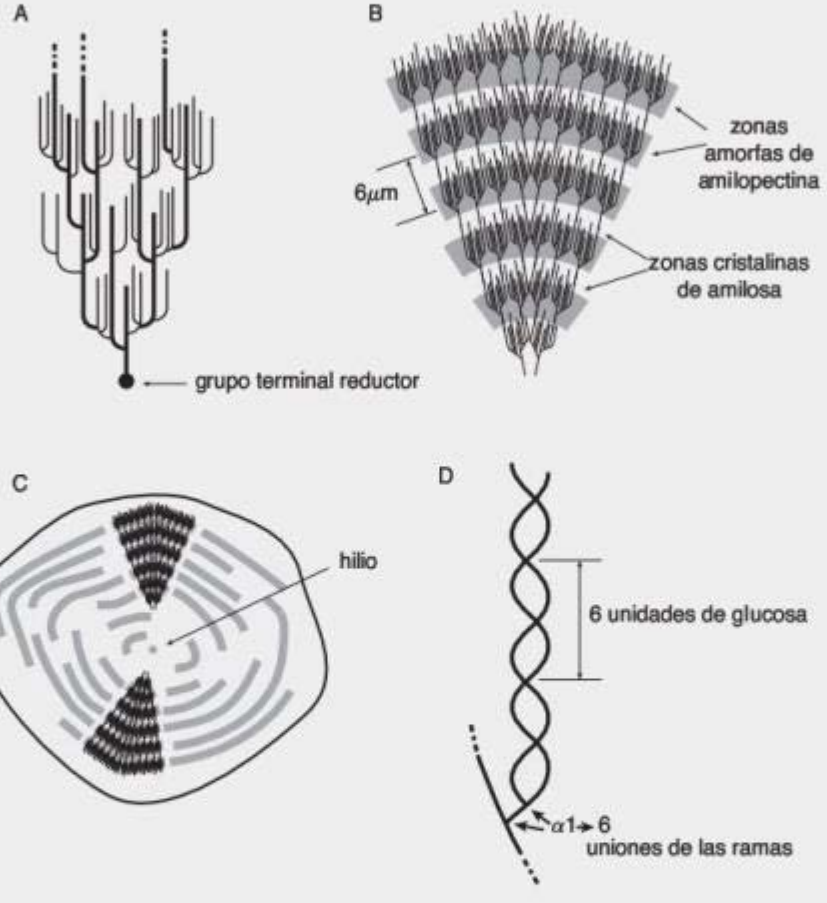
El almidón sirve de reserva energética en el reino vegetal y se encuentra en pequeños corpúsculos discretos, o gránulos, cuya estructura compacta permite almacenar mucha glucosa en una reducida partícula. El tamaño y la forma del gránulo son característicos de cada especie botánica, como se comprueba con el microscopio (cuadro 2.14). 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.

CUADRO 2.14 **Características de algunos almidones**

Tipo	Amilopectina (%)	Amilosa (%)	Temperatura de gelatinización (°C)	Tamaño del gránulo (micras)
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	80-85	15-19	62-78	2-5
Tapioca	80-84	16-20	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	73-77	22-26	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 en forma paralela a través de puentes de hidrógeno, así como zonas amorfas de amilopectina, que no tienen la posibilidad de asociarse entre sí o con la amilosa (figura 2.23). Por lo anterior, 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.

Figura 2.23 Representación de la amilosa, la amilopectina y el gránulo de almidón. *a*) Estructura de la amilopectina. *b*) La organización de las regiones amorfa y cristalina que genera las capas concéntricas y de los anillos que se observan al microscopio. *c*) La orientación de la amilopectina en un corte seccional del gránulo. *d*) La doble hélice de glucosa que da origen a la cristalinidad del gránulo.[14]



● Obtención del almidón

Como ingrediente y aditivo, el almidón es ampliamente usado en la fabricación de muchos alimentos. Por esta razón se obtiene industrialmente de diversas fuentes, principalmente el maíz.

El método llamado de molienda húmeda del almidón consiste en limpiar los granos y macerarlos 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 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 en tambor rotatorio o por aspersión.

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

● Gelatinización

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, los gránulos de almidón son insolubles en agua. Sin embargo, cuando se calientan se absorbe el líquido en las zonas intermicelares amorfas de amilopectina, 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 de amilosa. 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 esto requiere más energía.

Al llegar a cierta temperatura —normalmente cercana a 65 °C, aunque depende 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, incapacitado 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 en donde 30% de la amilosa se encuentra en solución. A este proceso se le llama gelatinización y es una transición de un estado ordenado de estructura cristalina a otro desordenado en el que se absorbe agua y calor. Es decir, la gelatinización transforma los gránulos de almidón insolubles en una solución de las moléculas constituyentes en forma individual.[18]

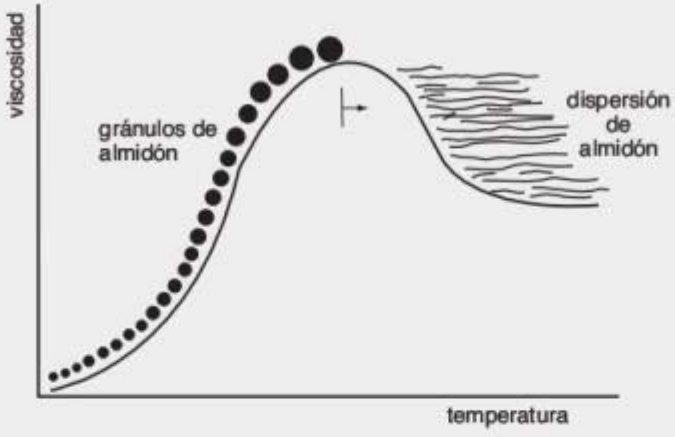
La cinética de la gelatinización del almidón de la papa presenta dos constantes de velocidad que dependen de la temperatura, reflejo de la presencia de las zonas amorfa y cristalina. Además, esta transformación sigue una cinética de pseudo-cero orden cuando se efectúa mediante la extrusión, en cuyo caso 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.

Para visualizar mejor este fenómeno, la figura 2.24 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. Esta representación simple se transforma en la curva que se obtiene del amilograma correspondiente, como se muestra en la figura 2.25.

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; en realidad es 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 promedio de 10 °C y puede llegar hasta los 14 °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.[17]

La determinación de la temperatura de gelatinización se hace con el microscopio Kofler de luz polarizada, que consta de una placa cuya temperatura se regula y sobre la cual se colocan los gránulos en agua; de esta manera es posible comprobar visualmente el momento (y en consecuencia la temperatura) en que se pierde la birrefringencia.

Figura 2.24 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.



Al final de este cambio se genera una pasta en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los restos de los gránulos, también hidratados. La solubilización y la destrucción total de dichos gránulos se consiguen 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 2.26 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.

Figura 2.25 Viscosidad de varios almidones a pH 5.0 (6.0% sólidos): *a*) maíz, *b*) papa y *c*) maíz céreo.

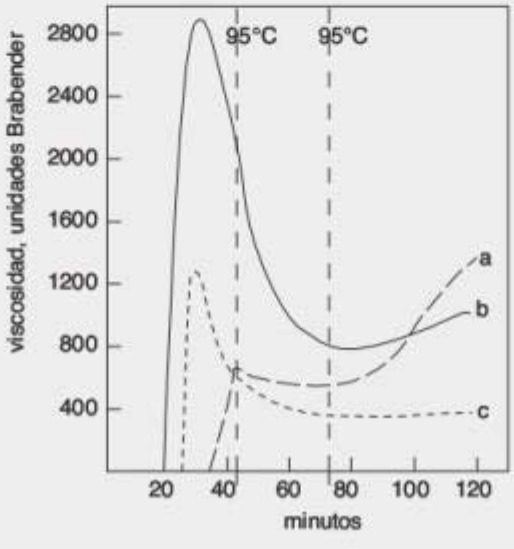
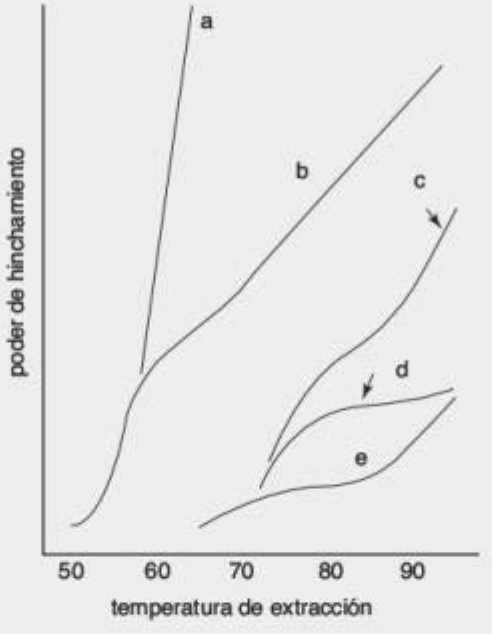


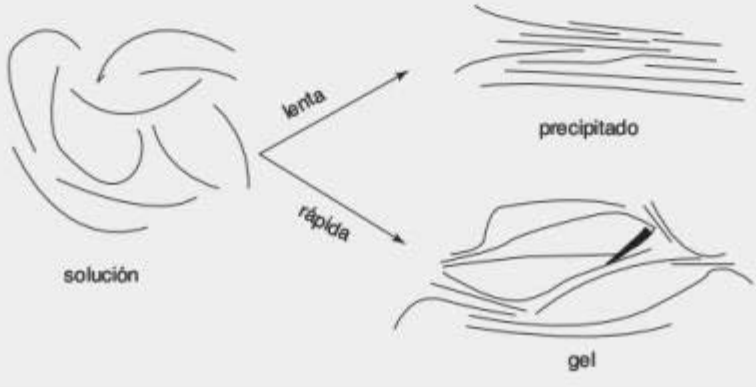
Figura 2.26 Intensidad de hinchamiento de varios almidones comerciales: *a*) papa; *b*) tapioca; *c*) sorgo céreo; *d*) sorgo céreo modificado, y *e*) maíz.



● 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; ésto se lleva a cabo por diversas rutas, según la concentración y 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 2.27). Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación,

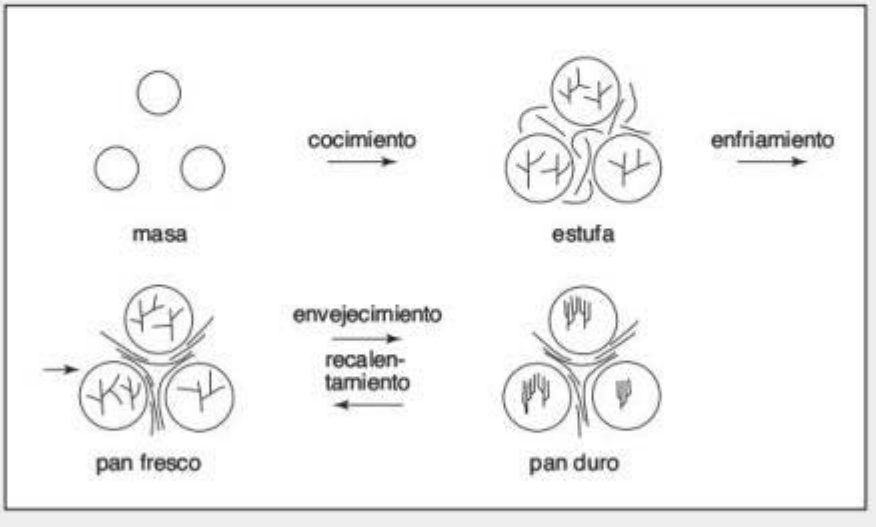
Figura 2.27 Mecanismos de retrogradación del almidón.



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 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.[19]

La retrogradación se relaciona de manera directa con el envejecimiento o endurecimiento 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 descubrió que también la amilopectina ejerce un efecto decisivo. Durante el cocimiento del pan, parte de la amilosa se difunde fuera del gránulo y retrograda al momento de su enfriamiento, de manera que los restos de gránulos (en este punto 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 2.28).

Figura 2.28 Función de las fracciones del almidón en el envejecimiento del pan sin emulsionantes.



De acuerdo con este mecanismo, los emulsionantes inhiben la retrogradación y el envejecimiento del pan, ya que interaccionan con la hélice de amilosa dentro del gránulo y evitan su difusión; esto resulta en que la amilopectina no se concentre y se exponga a la retrogradación. Este fenómeno puede hacerse reversible al calentar el pan en presencia de humedad, 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.[22] La retrogradación también está influida por la presencia de otros hidrocoloides.[1,46]

● Productos derivados del almidón

A partir del almidón se fabrica la glucosa, las dextrinas y diversos almidones modificados, materias primas con las que se producen muchos alimentos y se utilizan en otras industrias.[28] En el capítulo 5 se revisan los métodos industriales para fabricar glucosa, dextrinas y jarabes altos en fructosa, todos a partir del almidón.

En el comercio existen los almidones ricos en amilosa que funcionalmente actúan como fibra dietética y que se usan como aditivos.

Las dextrinas provienen de una hidrólisis parcial del almidón y emplean ácidos, calor y enzimas; entre ellas destacan las pirodextrinas, las dextrinas blancas y las amarillas. Las primeras 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 95-120 °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 proceso.

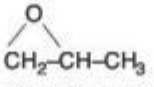
Las dextrinas amarillas se obtienen también por hidrólisis en condiciones intermedias de temperatura y con menos concentración de ácido que las anteriores.

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

Almidones modificados: Son almidones cuya estructura química se ha modificado a fin de conferirles propiedades funcionales que de otra manera no tienen. Se utilizan ampliamente en la industria dado que actúan como espesantes, estabilizadores, humectantes, aglomerantes, antihumectantes, acarreadores en el secado de pigmentos, etc.; además se diseñan para que funcionen en diferentes condiciones de pH, de sales y con distintos componentes de los alimentos. Existen diversos procesos para su fabricación, por ejemplo la gelatinización, la fluidización por ácidos, la esterificación, los enlaces cruzados y la oxidación, como se explica a continuación.

Gelatinización. Consiste en cocer y gelatinizar el almidón para después secarlo; el producto final se hincha en agua fría, forma una pasta estable, es un buen espesante y se emplea en alimentos cuyo consumo no requiere calentamiento.

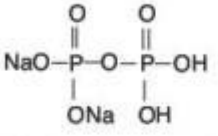
Fluidización (o hidrólisis) por ácidos. Se obtiene calentando una suspensión de almidón al 40% a <55 °C en presencia de HCl o de H_2SO_4 0.1N durante varias horas para lograr la viscosidad deseada. Como no se alcanza la temperatura de gelatinización, el ácido sólo hidroliza las regiones amorfas del gránulo y muy poco o nada las cristalinas, por lo que la amilopectina es la más afectada; se neutraliza con NaOH, se filtra, se lava y se seca. Estos almidones forman pastas que, en caliente, tienen poca viscosidad y sus geles son débiles; se usan en la industria de caramelos cuando se desean texturas gomosas.



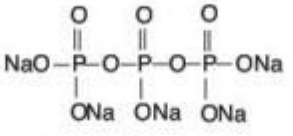
óxido de propileno

Esterificación. Se efectúa con anhídridos orgánicos e inorgánicos, o con sales ácidas de orto, piro y tripolifosfatos y con óxido de propileno que reaccionan con los OH de la glucosa

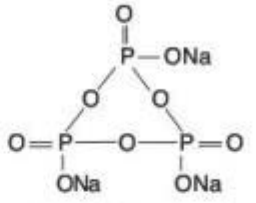
y forman uniones éster a 55-60 °C durante una hora, hasta alcanzar un grado de sustitución determinado. Este almidón tiene menor temperatura de gelatinización, se hidrata más fácilmente, sus pastas transparentes son viscosas y no presentan retrogradación; por su estabilidad a los ciclos de congelamiento-descongelamiento, se emplean en la elaboración de alimentos congelados.



pirofosfato ácido de sodio



tripolifosfato de sodio



trimetafosfato de sodio

Enlaces cruzados. Esta reacción es de esterificación, pero de dos cadenas unidas por un grupo funcional, como un éster fosfato. Una suspensión de almidón se hace reaccionar con trimetafosfato de sodio para establecer enlaces intermoleculares que refuerzan el gránulo. Sus pastas presentan alta estabilidad a la agitación y al calentamiento, incluso en medio ácido, por lo que se emplean en alimentos que requieren esterilización o pH bajo; además, son buenos espesantes y estabilizadores, no retrogradan ni gelifican, y su sinéresis es mínima.

Oxidación. El hipoclorito de sodio oxida algunos hidroxilos, produce carboxilos y provoca algo de hidrólisis. Debido a lo voluminoso de los grupos formados, se inhibe por impedimento estérico la unión de cadenas lineales y, por consiguiente, la retrogradación. Estos almidones son de una temperatura de gelatinización y viscosidad menor, pero esta última disminuye rápidamente con el calentamiento y la agitación, que generan pastas fluidas transparentes.

● Interacción del almidón con otros compuestos

El almidón es parte de uno de los cuatro macrocomponentes de los alimentos (agua, hidratos de carbono, proteínas y lípidos) y la interacción que se establece entre ellos determina en buena medida la textura y las propiedades reológicas de los alimentos. La gelatinización y la retrogradación son las dos principales reacciones a que se somete el almidón y que más influyen en esa textura.

La cantidad de agua disponible afecta la gelatinización del almidón, sobre todo en los procesos de panificación para que la masa adquiera la viscosidad adecuada antes de hornear.

La glucosa, la fructosa, la sacarosa y la lactosa ejercen un efecto competitivo con el almidón por el agua de hidratación y en consecuencia reducen la gelatinización y la viscosidad final. En este sentido, los disacáridos son más activos que los monosacáridos y, a su vez, la glucosa es más reactiva que la fructosa. El hecho de que una mezcla de almidón y sacarosa absorba menos agua que la calculada para el polímero refleja la interacción que existe y que hace que el almidón no desarrolle toda su capacidad de hidratación.

Algunas sales aceleran la velocidad de gelatinización, mientras otras la reducen. 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, se ve afectado cuando aniones como fosfatos, acetatos, cloruros, citratos, sulfatos y tartratos, y cationes como sodio y calcio, se encuentran en concentraciones altas.

La interacción entre el almidón y las proteínas da origen a muchos productos, como el pan y sus derivados, en los que se crea una red que se expande por el vapor, las burbujas de aire caliente y el CO_2 generados en el proceso de la panificación. Las proteínas de la leche

se emplean con el almidón para elaborar diferentes alimentos; 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 de las proteínas del suero, que influye en las propiedades del almidón. En los geles de almidón-leche no se produce una verdadera interacción, de manera que las micelas de caseína y los gránulos de almidón se observan por separado en el microscopio.

Los emulsionantes que contienen ácidos grasos de cadena larga forman complejos con la amilosa a través de un mecanismo 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 la temperatura de gelatinización; independientemente del tipo de emulsionante usado, 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.

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

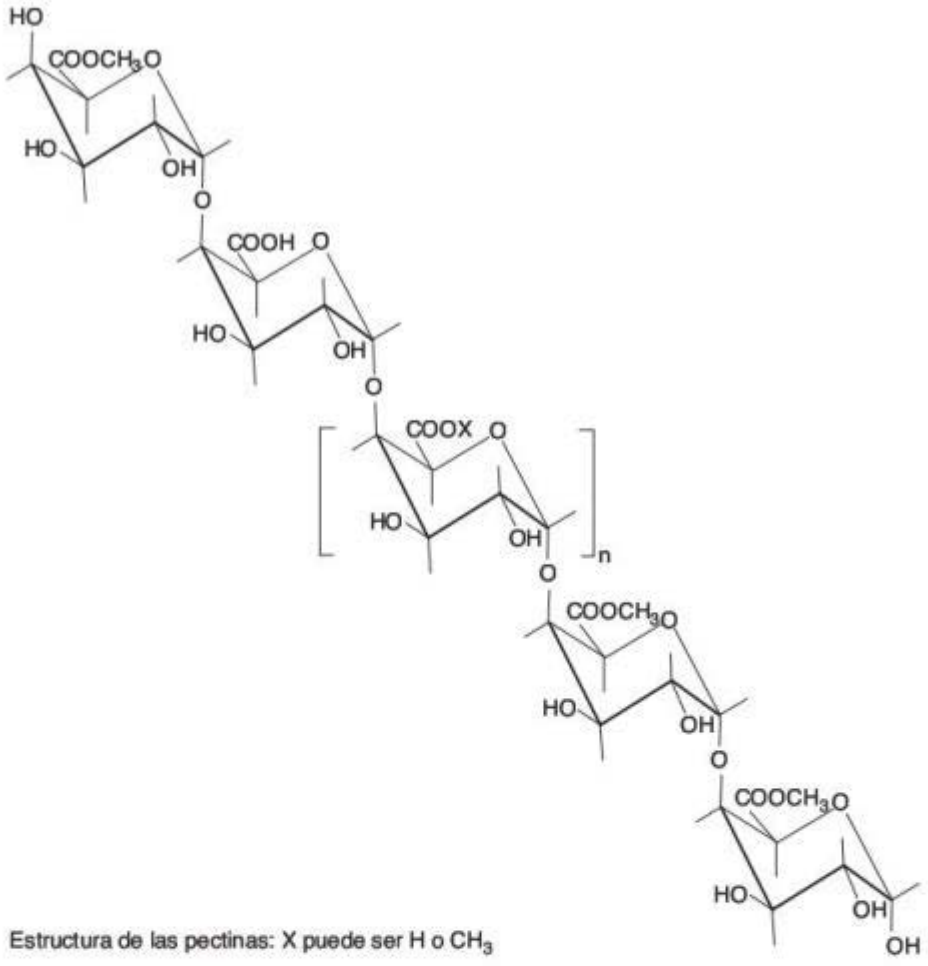
Pectinas

Es un grupo de heteropolisacáridos vegetales con una estructura básica de ácidos D-galacturónicos unidos por enlaces α-D-(1,4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos; es decir, las pectinas son ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y pueden contener 1 000 o más unidades de ácido galacturónico. Los carboxilos se protonan (*u. gr.* –COOH) a pH < 3 y están en forma ionizada ($-COO^-$) a pH > 3, o bien como éster metílico ($-COOCH_3$); en cada caso, las pectinas desarrollan diferentes capacidades de interacción con los otros constituyentes de los alimentos y forman geles. Se encuentran asociadas con otros hidratos de carbono, principalmente con hemicelulosas en las paredes celulares de los vegetales, y son responsables de la firmeza de estos productos; están presentes en los frutos maduros, especialmente en algunos tejidos suaves como en la cáscara de los cítricos (naranja, limón, toronja, lima), en las manzanas, las peras, etc.[31] Aun dentro del propio vegetal existe una distribución; las más esterificadas están en la parte más interna y las menos esterificadas en la periferia. La disolución de los componentes de esa pared celular, sobre todo de las pectinas y la hemicelulosa, resulta en el ablandamiento de frutas y verduras.

Por su parte, las protopectinas son moléculas altamente esterificadas, 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 en un proceso que ocurre durante la maduración y que trae consigo el ablandamiento del fruto.

Su grado de esterificación se puede medir mediante la titulación de los grupos carboxilo libres, antes y después de la hidrólisis del enlace metílico, o bien con su capacidad de gelificación con una determinada cantidad de sacarosa en solución a 63° Brix, para producir un gel consistente.

La principal función de las pectinas industriales es la formación de geles, como los de las mermeladas, pero también se usan en la elaboración de productos de relleno y de glaseado en la panificación, para estabilizar lácteos y en la confitería. En México se obtienen a partir de la cáscara de limones y en otros países del bagazo de la manzana.[45] 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 para eliminar sustancias solubles como azúcares, ácidos,



Estructura de las pectinas: X puede ser H o CH_3

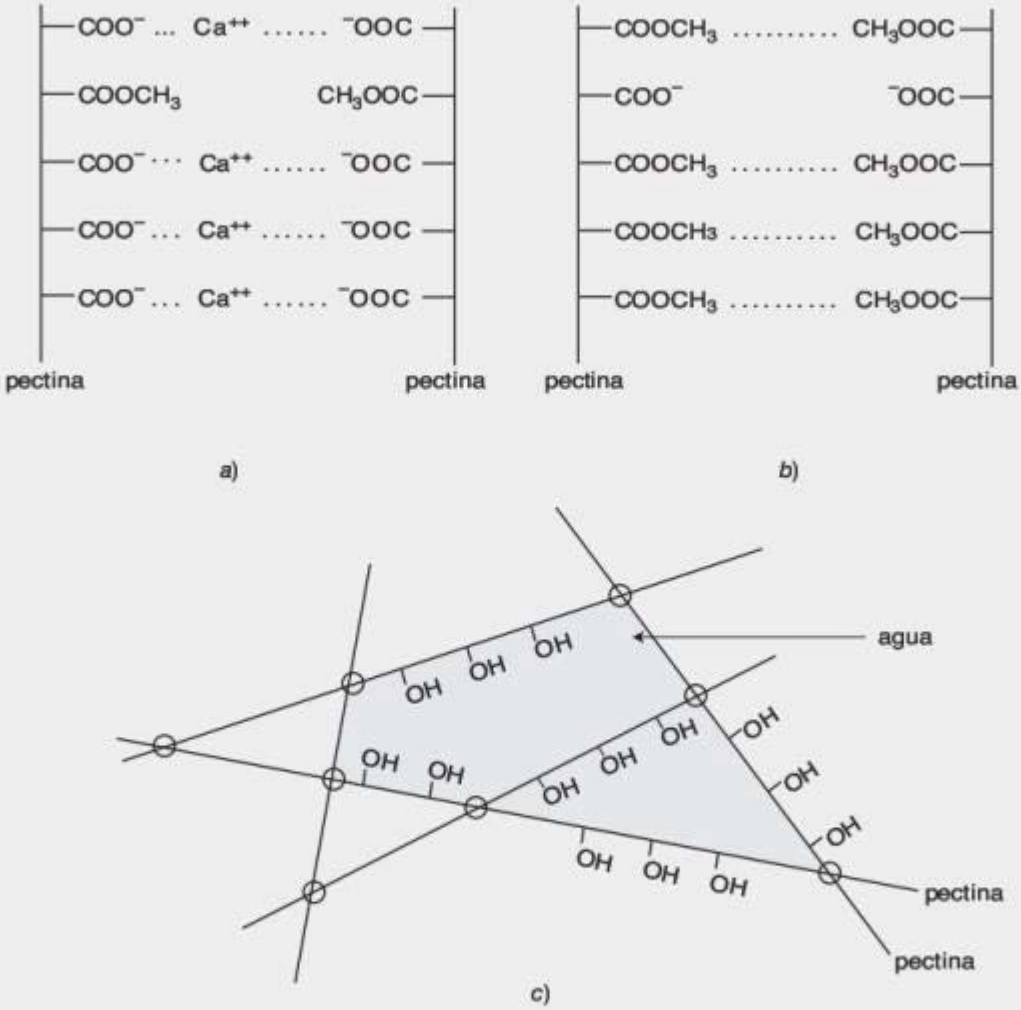
etc., y se deshidratan; luego se precipitan mediante el empleo de etanol o de isopropanol y, por último, se lavan y se secan. Una variante de su recuperación consiste en adicionar sulfato de aluminio y amonio, pero este sistema requiere un tratamiento extra con etanol acidificado con ácido clorhídrico 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 endógenas; la hidrólisis ocurre principalmente de los enlaces éster metoxílico (desmetoxilación) y glucosídico (despolimerización), que traen consigo una reducción de su calidad.

Su gelificación depende de factores intrínsecos como peso molecular y grado de esterificación, que a su vez dependen de la materia prima, de las condiciones de fabricación, etc., y de factores extrínsecos como pH, sales disueltas y presencia de azúcares. La viscosidad de sus dispersiones se incrementa a medida que aumenta el peso molecular y el grado de esterificación.

La gelificación de las pectinas de bajo metoxilo requiere de iones calcio y pH de 3 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}; se crea la estructura básica del gel en la que, 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,

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.



aun cuando una pequeña cantidad ayuda a proporcionar mayor rigidez, puesto que favorece la interacción carboxilo-calcio. Este tipo de pectina se emplea en postres y otros productos con textura de gel (destinados a los diabéticos), en los cuales el azúcar se sustituye por un edulcorante sintético.

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. Los geles se estabilizan mediante diversos enlaces débiles; los carboxilos 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, y se cree una estructura tridimensional.

El comportamiento de las pectinas es muy importante en la industrialización de frutas, en la elaboración de jaleas y mermeladas y en geles semejantes. La naranja produce un jugo cuyas partículas en suspensión son de tejido desintegrado compuesto de celulosa 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; de estas características depende que el consumidor acepte el producto, de manera que el que está clarificado no siempre es aceptado.

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 y para ello hasta se añaden enzimas comerciales (vea el capítulo 5).

Durante su tratamiento térmico, por ejemplo en el enlatado, las pectinas se pueden dañar y los vegetales pierden consistencia. Lo mismo ocurre cuando las frutas y verduras están muy maduras y se corre el riesgo que se desintegren con el calentamiento industrial. Para corregir esto se añade calcio antes de la esterilización, lo que fortalece la pared celular al formar puentes entre los grupos carboxilo de las pectinas, como sucede con los chícharos muy maduros a los que se les añade algo de calcio para que resistan la esterilización.

Glucógeno

Es el polisacárido de reserva energética animal más importante y se encuentra en el músculo y en el hígado. Es un polímero de D-glucosas altamente ramificado, como la amilopectina y está formado por cadenas de 8-12 moléculas de glucosa, unidas por enlaces α(1-4); a su vez, estas pequeñas cadenas están ligadas entre sí por enlaces α(1-6) y pueden formar estructuras de hasta 120 000 monómeros.

El glucógeno desempeña una función muy importante en la calidad de la carne. Un animal tenso, hambriento o muy ejercitado antes del sacrificio agota sus reservas de este polisacárido y del oxígeno de la mioglobina; en tales condiciones, su carne no contiene ni la glucosa ni el gas necesarios para producir de forma enzimática el ácido láctico que la suaviza de manera natural en el almacenamiento y el tejido se vuelve oscuro, firme y seco. Contrario a esto, un animal relajado conserva su glucógeno y su oxígeno y produce el ácido que, además de favorecer el ablandamiento de la carne, la protege contra patógenos y facilita la acción de otras enzimas que sintetizan compuestos responsables del aroma y el sabor.

Gomas

En sus orígenes, este término se refería a los productos de la exudación de algunas plantas y árboles; sin embargo, actualmente su uso se ha extendido a un grupo muy amplio de polisacáridos de alto peso molecular, que incluye el almidón, las pectinas y la celulosa; éstos tienen la capacidad de actuar como espesantes y gelificantes y presentan además algunas propiedades funcionales por ejemplo de emulsificación, estabilización, crioprotección, etc.[21] Las gomas naturales provienen de exudados de plantas, de semillas, de algas marinas y de origen microbiano; sin embargo, también existen algunas que son semisintéticas, derivadas de los almidones, de la celulosa y de la glucosa. En el cuadro 2.15 se muestra una relación de estas.

En esta sección sólo se estudiarán las gomas que no hayan sido revisadas antes. Todas forman parte de la fibra cruda, ya que el organismo humano está incapacitado para metabolizarlas por carecer del sistema enzimático que se necesita;[32,39] son heteropolisacáridos que pueden ser iónicos, neutros, lineales, ramificados, etc. y también se designan como hidroco-

CUADRO 2.15 Principales gomas usadas en alimentos

Exudado de plantas:
- arábiga
- tragacanto
- alerce

Semillas:
- algarrobo
- guar

Algas marinas:
- agar
- carragenina
- alginato

Microorganismos:
- xantana
- gelana
- curdlán

Semisintéticas:
- derivados del almidón
- derivados de la celulosa
- polidextrosa

loides. Su característica más importante se basa en la capacidad que tienen para interactuar con el agua, de manera que en concentraciones bajas producen soluciones viscosas; si se incrementan, llegan incluso a establecer geles.[35]

Tal como ocurre con la mayoría de los polímeros (*u. gr.* polisacáridos y proteínas), las propiedades funcionales de las gomas dependen de factores intrínsecos de la molécula, por ejemplo peso molecular, grados de ionización y de ramificación, etc., y de factores extrínsecos como pH, fuerza iónica, temperatura, concentración de los otros componentes, la interacción entre ellos, presencia de otros hidrocoloides, etc. Cada goma tiene características físicas y químicas específicas, que no se pueden sustituir fácilmente con otro polisacárido; la combinación de dos o más de ellas, genera nuevas propiedades funcionales que no desarrollan en lo individual; es el caso de la emulsificación de sistemas aceite/agua, que se logra con mezclas de gomas.

El uso de las gomas en la industria alimentaria es muy vasto: en helados, confitería, jugos de frutas, cerveza, vinos, mayonesa, quesos, mermeladas, aderezos, embutidos, productos dietéticos, etc., esto debido a sus propiedades funcionales (vea los cuadros 2.16 y 2.17).

CUADRO 2.16 Funciones y aplicación de las gomas en los alimentos

Función	Aplicación
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	Mayonesa, cerveza, bebidas
Agente espesante	Salsas, mermeladas
Texturizante y ligante	Postres
Fijador	Cosméticos

CUADRO 2.17 **Clasificación de polisacáridos por función**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Guar		+	+	+	+			+			+			+	+
Algarrobo		+	+	+			+			+					
Pectina		+													
Alginato		+													
Agar		+	+	+	+	+	+								
Carragenina		+		+											
Derivados celulósicos		+		+											
Tragacanto		+	+	+	+			+		+					
Arábiga	+		+	+	+								+		
Almidones	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+			
Xantano		+		+	+		+	+							

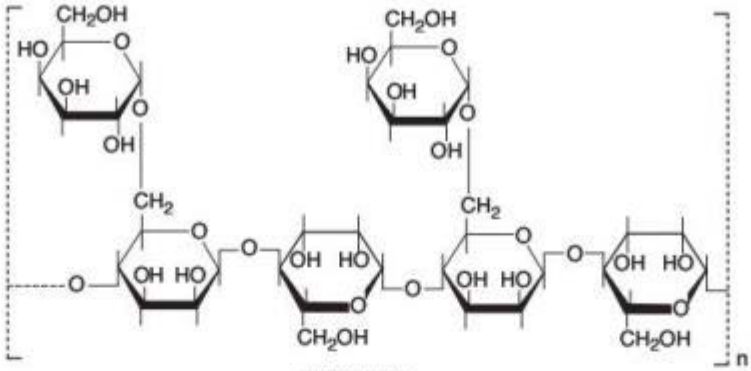
1 = Texturizante.
2 = Espesante.
3 = Gelificante.
4 = Estabilizante.
5 = Emulsificante.
6 = Enturbiante.
7 = Agente de suspensión.
8 = Adhesivo.
9 = Formador de película.
10 = Ligador de agua.
11 = Extensor.
12 = Vehículo de sabores.
13 = Crioprotector.
14 = Previene la cristalización.
15 = Floculante.

Goma arábiga. También conocido como goma acacia o mimosa, es el exudado de la corteza de los árboles *Acacia Senegal* y de 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 que se le unen residuos de L-ramnopiranosas, de L-arabinofuranosas y de ácido glucurónico; su peso molecular varía entre 300 a 800 kDa. La que producen arboles de 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 amarillo claro a rojizo.

La influencia de sus grupos ácido del ácido glucurónico hace que la viscosidad de sus dispersiones se vea afectada por los ácidos, los álcalis y los cationes añadidos. 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 cuando éstas se incrementan, desarrolla las características pseudoplásticas de la mayoría de las gomas. Se emplea en productos bajos en calorías, en helados, dulces, cereales y muchos otros.

Goma guar. Se obtiene del endospermo de la leguminosa anual *Cyamopsis tetragonolobus*; su estructura química es ramificada y la cadena principal consiste en unidades de β-D-manopiranosas unidas $\beta(1,4)$, a las que se les 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 varía de 150 000 a 1 500 000, con un promedio de 220 000. Es soluble en agua fría y su solubilidad aumenta si disminuye el peso molecular y aumenta la temperatura.[26]

Carece de grupos ionizables, lo que la hace inalterable a los cambios de pH; es estable en el intervalo de 1.0 a 10.5, pero su máxima capacidad de hidratación se alcanza a pH de 7.5-9.0. Al hidratarse en agua fría forma dispersiones coloidales viscosas con características tixotrópicas. La presencia de sales la afecta poco, debido a que está conformada por azúcares neutros. Se usa en aderezos, salsas, productos elaborados a partir de jitomate y lácteos y bebidas de frutas.[33]

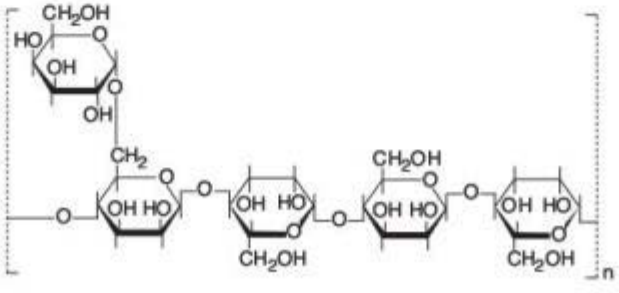


goma guar

Goma tragacanto. Es el exudado seco de varias especies de árboles de la familia de las leguminosas. Está formado por dos fracciones: una soluble en agua (llamada tragacantina) y otra insoluble (basorina); la primera contiene 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 promedio de 84 000. Sus dispersiones presentan viscosidades, por lo general superiores a las de otras gomas; la adición de ácidos, álcalis o NaCl reduce la viscosidad y sus geles son susceptibles de ataque microbiano.

Es un hidrocoloide ligeramente acídico —pH 5.0 a 6.0—, que en la naturaleza se presenta como sal de sodio, calcio y magnesio. Entres sus propiedades funcionales están su estabilidad y resistencia a los ácidos; es un emulsificante al incrementar la viscosidad y produce una textura cremosa pseudoplástica, forma películas, da cuerpo, es adhesiva, forma suspensiones y es espesante. Se usa en emulsiones, en la panificación, repostería, salsas, aderezos, helados, nieves, paletas heladas, jarabes saborizantes, confitería, fármacos, cosméticos, suspensiones, quesos untables y malteadas, entre otros.

Goma de algarrobo. Heteropolisacárido extraído del endospermo de las semillas de los árboles de algunas leguminosas. Es una galactomanana de peso molecular de 400 000 a un millón, formada por una cadena de D-manosas unidas (1,4), a la cual se le adhieren varias ramas de D-galactosas a través de enlaces (1,6) y con una relación de D-manosas a D-galactosas de 9:1. Sus soluciones son pseudoplásticas, estables en un intervalo de pH de 3 a 10 y para hidratarse requiere 85 °C; el grado de pseudoplasticidad aumenta según su concentración y peso molecular. Su hidratación disminuye de acuerdo con las sales presentes, así como con la presencia de otros componentes que puedan captar agua. Se usa en postres congelados, lácteos fermentados, queso crema, sopas, salchichas, salami, alimentos para bebé, alimentos para mascotas, productos para repostería, rellenos de pastel, etcétera.



goma de algarrobo

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 el microorganismo se separa por filtración. Está formada por 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; produce soluciones traslúcidas incluso 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. Se emplea en aderezos, salsas, derivados del jitomate, bebidas y productos lácteos, entre otros.

Agar. Extracto obtenido con agua caliente a pH ligeramente ácido de algas rojas. Es un heteropolisacárido formado por β-D-galactosa, 3,6-anhidro-α-L-galactosa, con 5 a 10% de ésteres sulfato y algo de ácido D-glucurónico. Hasta 20% de las unidades de α-D-galactosa pueden tener grupos metoxilo; a medida que éstos se incrementan se aumenta la temperatura de gelificación. Sus geles son muy resistentes mecánicamente y estables al calor. Se emplea en la confitería, en la elaboración de productos tipo gomita, en los bajos en calorías, en la industria cárnica, en la repostería, en los congelados y en los lácteos.[42]

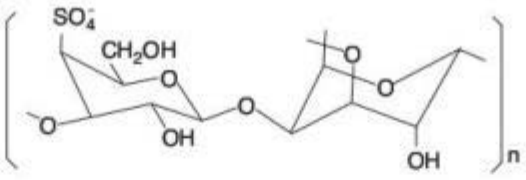
Alginato. Polisacárido que se extrae de las algas marinas café, componente estructural de las paredes celulares que se presenta como sales de sodio, calcio o potasio. Es un polímero lineal de moléculas de ácido β(1,4)-D-manosilurónico y ácido α(1,4)-L-gulosilurónico, cuya relación varía según la fuente botánica y el grado de madurez de la planta; esto influye a su vez en la viscosidad de sus soluciones. Debido a su naturaleza iónica, se ve afectado por sales de calcio y a pH <5. Se usa en la panificación, rellenos de frutas, helados, bebidas, aderezos, confitería, salsas, emulsiones, jarabes, purés, fruta congelada, alimentos dietéticos, mezclas secas, betún, productos cárnicos y otros.

Carrageninas. Es el principal heteropolisacárido sulfatado (vea el cuadro 2.18) de la pared celular de las algas marinas rojas. Existen diferentes tipos que se clasifican con las letras griegas κ, λ, ι (kappa, lambda, iota) y que se encuentran generalmente en forma combinada en la alga. Consisten en unidades de D-galactosa unidas por enlaces glucosídicos α(1,3) y β(1,4) alternadamente; se diferencian por la concentración de su 3,6-anhidro-D-galactosa, por la posición de los grupos sulfato, así como por la cantidad de estos en la molécula de D-galactosa; sus pesos moleculares varían desde un millón en estado nativo, hasta 100 000 como producto comercial.

CUADRO 2.18 **Contenido de éster sulfato en algunos polisacáridos de plantas marinas**

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

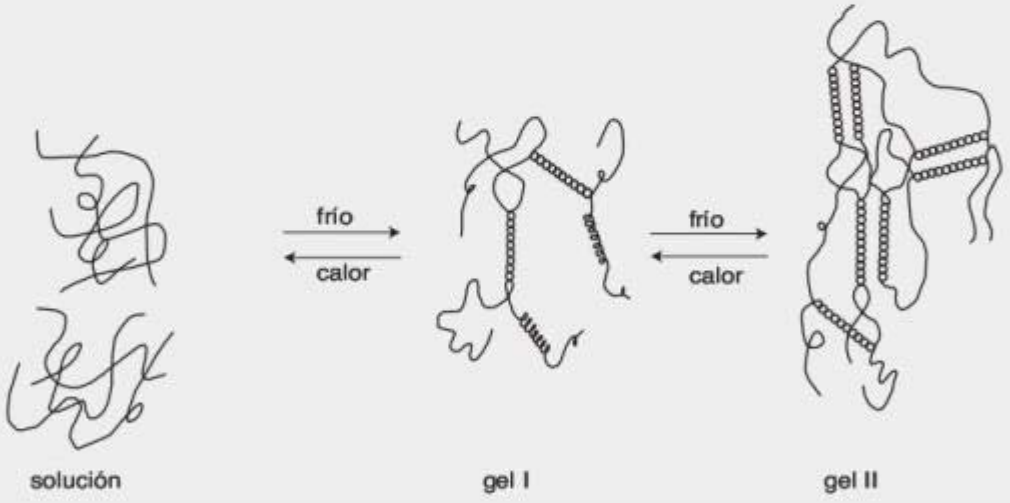
Al dispersarse en agua se hincha y requiere un ligero calentamiento para disolverse; la solución resultante presenta una viscosidad baja a más de 60 °C, pero al enfriarse establece un gel, cuya calidad y rigidez dependen de la concentración del polímero y de la cantidad de iones potasio, amonio o calcio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



carragenina

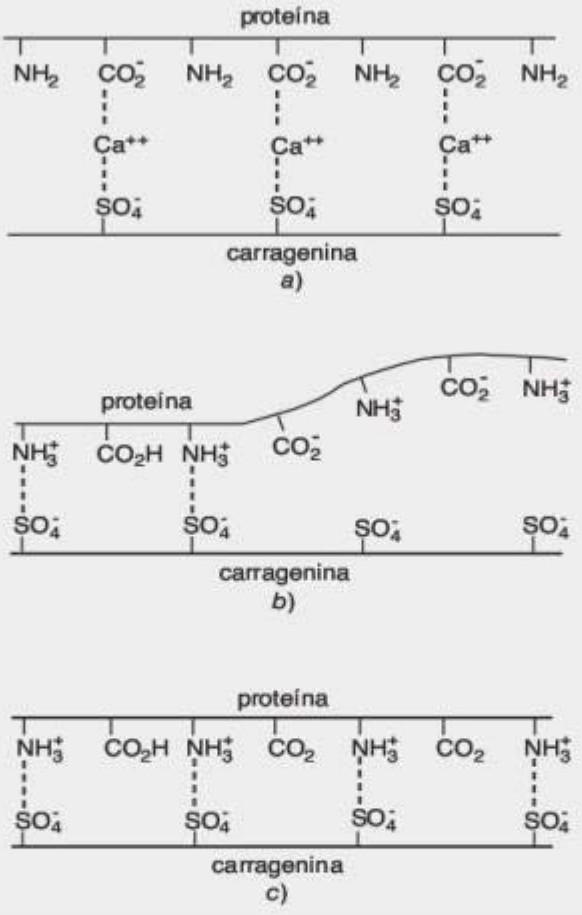
Para la gelificación, la carragenina desarrolla una estructura helicoidal que reacciona entre sí para crear una red tridimensional. A temperaturas superiores a las del punto de fusión del gel, se produce una agitación térmica que impide que se formen las hélices, por lo que la conformación del polímero 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 que 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 II; su rigidez depende de la rapidez con la que estas transiciones ocurren.

Figura 2.30 Mecanismo de gelificación de la carragenina.



Una propiedad muy importante es su reactividad con las proteínas, principalmente con las de la leche. 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 (vea el 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, 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 isoeléctrico 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 utiliza para recuperar proteínas y enzimas o para clarificar la cerveza.

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



Las carrageninas se usan 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. Debido a que gelifica sin necesidad de refrigeración se emplea para postres, como las gelatinas, en lugar de la tradicional grenetina.

Polidextrosa. Es un polisacárido sintetizado químicamente a partir de glucosa con sorbitol y ácido cítrico, que no es completamente metabolizable y produce sólo 1 Kcal/g, razón por la que también se usa como sustituto de grasa (vea el capítulo 9).

Curdlán. Heteropolisacárido bacteriano constituido por glucosas unidas $\beta(1,3)$ que forma geles termorreversibles elásticos al calentarse.

Gelana. Polisacárido bacteriano de estructura lineal que contiene moléculas de glucosa y de ramnosa, con ésteres de acetatos y glicerilos; dependiendo de su esterificación, forma diferentes tipos de geles y es un buen agente humectante.

Fructosanas

Son polímeros lineales de moléculas de D-fructosa unidas por enlaces $\beta(2,1)$, que sirven de reserva energética de vegetales como alcachofa, maguey, ajo y cebolla. En virtud de que a la fructosa también se le llama levulosa, su polisacárido se denomina levana. La inulina es la principal fructosana que se obtiene de la achicoria y que se emplea como prebiótico, igual que sus derivados, los fructooligosacáridos (vea el capítulo 15). Su hidrólisis total produce, además de fructosa, de 5 a 6% de glucosas que se ubican 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 puede usar como fuente de fructosa de alta pureza.[9]

Otros polisacáridos

La quitina es un polímero que forma parte de la estructura de los invertebrados, principalmente en los caparazones de los crustáceos y de los moluscos, igual que en varios hongos y algas. Su composición es a base de aminoazúcares, como la N-acetil-D-glucosamina, que se unen linealmente mediante enlaces $\beta(1,4)$, semejante a la celulosa y que crea una estructura fibrilar. Retiene agua y estabiliza algunas emulsiones, pero su mayor uso es como fibra dietética.

La condroitina es un hidrato de carbono que consiste en una mezcla equimolecular de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-galactosamina; se encuentra en el tejido conectivo de los animales y los grupos sulfato esterifican a los hidroxilos de los carbonos 4 o 6. Se usa como nutracéutico (vea el capítulo 15).

Hidratos de carbono y salud

La obesidad y los problemas de salud que conlleva, como la diabetes, se relacionan con un consumo excesivo de calorías provenientes de hidratos de carbono y de grasas. Los carbohidratos metabolizables como glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y almidón, generan 4 Kcal/g (17 kJ/g), contra 9 Kcal/g (38 kJ/g) de las grasas.

La glucosa representa la principal fuente de energía para el ser humano, sobre todo para el cerebro que utiliza hasta 130 g/día, equivalente a 20-30% de los hidratos de carbono recomendados para un adulto.

Cada hidrato de carbono incrementa la glucosa sanguínea de distinta manera y esto se debe tomar en cuenta para evitar picos de glucemia que son peligrosos para los diabéticos. El Índice Glucémico es una medición de este incremento y se mide con respecto a la glucosa pura a la que se le otorga un valor de referencia de 100. Ejemplos de Índices son: cacahuates 13; fructosa 23; pastas 34; mascabado 60; sacarosa 65; arroz integral 66; tortillas 69; arroz blanco 72; bolillos 82, y miel 87. Resalta que el bolillo eleva la glucosa más rápidamente que la propia sacarosa y que las pastas y el arroz integral tienen un menor índice que la referencia. En general, los alimentos ricos en hidratos de carbono simples como glucosa, sacarosa y fructosa, elevan el índice abruptamente, mientras que los productos con hidratos de carbono complejos, como las fibras, no lo hacen.

La sacarosa y la glucosa también favorecen la proliferación de bacterias bucales fermentativas, como *Streptococcus mutans* y *S. sanguis*, productoras de ácidos, como el láctico

que ataca el esmalte de los dientes e induce la caries; estos microorganismos además sintetizan dextranas (polímeros de glucosa) que les sirven de soporte, y crean un microambiente adecuado para su desarrollo. El daño dental no depende de la cantidad del azúcar consumido sino del tiempo de contacto con el diente y por eso un caramelo es menos cariogénico que un pastel, ya que el almidón del segundo se mantiene pegado a los dientes, y con ello el azúcar.

Por otra parte, algunos grupos étnicos no toleran la lactosa por la carencia de la enzima β-D-galactosidasa, llamada lactasa, del intestino delgado. Esta intolerancia produce náusea, cólicos y diarrea que suelen presentarse entre una y dos horas después de consumir un producto que la contenga.[41]

La rafinosa y estaquiosa se caracterizan por producir gases intestinales; es decir, su consumo causa flatulencia o meteorismo debido a que el intestino delgado no sintetiza la α-galactosidasa, enzima que actúa sobre ellos. Por esto, llegan al íleon y al colon, donde la flora intestinal los descompone en sus correspondientes monosacáridos, que a su vez son fermentados anaeróbicamente para generar CO_2, H_2 y CH_4. La formación de gases irrita las paredes intestinales, excita la mucosa y aumenta los movimientos peristálticos, lo que origina la imperiosa necesidad de evacuar el intestino; cuando la flatulencia es excesiva, puede incluso provocar diarrea. Los microorganismos anaeróbicos, como el *Clostridium perfringens*, realizan la fermentación. Cabe indicar que no sólo estos oligosacáridos son responsables de la producción de gases, sino que algunas pentosanas hidrolizables en ácido también ocasionan flatulencia, igual que los componentes fibrosos de la pared celular de las leguminosas.

Fibra

Con este nombre se designa a un grupo muy amplio de polisacáridos estructurales que no son aprovechados metabólicamente por los animales monogástricos, incluido el hombre, pero sí por los rumiantes y cumplen una función muy importante en el bienestar del individuo.[30,36] Se incluye a los componentes de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas, pero también las gomas y la lignina; cabe indicar que esta última no es un hidrato de carbono, sino una cadena de compuestos fenólicos como la vainillina, el aldehído siríngico y los alcoholes coniferílico, sinapílico y cumarílico.

De acuerdo con su solubilidad en agua, las fibras se dividen en solubles e insolubles.[29] Las primeras comprenden las pectinas, hemicelulosa y gomas que por puentes de hidrógeno retienen 15-20 veces su peso en agua y forman un sol (vea el capítulo 10) que produce la sensación de saciedad y también heces blandas; estimulan la secreción gástrica, aceleran el movimiento del intestino delgado y acortan el tiempo de tránsito intestinal, con lo que se reduce la posibilidad de la absorción de colesterol, glucosa y grasas. Las bacterias nativas del colon las fermentan y generan bióxido de carbono, hidrógeno, metano y ácidos grasos volátiles.

Por su parte las insolubles, celulosa y lignina, que se encuentran principalmente en las capas externas de cereales como trigo, arroz, maíz, centeno y cebada, también se hidratan, forman el bolo, incrementan el volumen fecal, dan la sensación de saciedad, disminuyen el tránsito intestinal y favorecen la evacuación, pero no son atacadas por la microflora colónica y así se eliminan en las heces.

Ambas limpian el sistema digestivo, evitan la absorción de glucosa y de colesterol y por ello previenen la diabetes y los problemas cardiovasculares al depurar el organismo y evitar

el estreñimiento; también aumentan la masticación que, a su vez, genera la saliva que limpia los dientes y reduce la caries. Algunas funcionan como prebiótico. Para México se recomienda consumir 35 g de fibra para el hombre y 30 g para la mujer, cantidades superiores a los actuales de 15 g en promedio (vea el cuadro 6.1). Una manzana o una guayaba aporta 3-4 g, las ensaladas de lechuga, pepinos y jitomates son una buena fuente, igual que el nopal, la zanahoria, el brócoli, el frijol, las habas y las lentejas. Gran parte de la fibra se pierde en el bagazo que se elimina al hacer jugos; por ejemplo, la zanahoria contiene 6.3 %, mientras que su jugo, sólo 0.8 %; de igual forma, la naranja pasa de 2% a 0.1 %. Por otra parte, un consumo excesivo de fibras causa flatulencia y diarrea, pero además inhibe la absorción de vitaminas, minerales y medicamentos.

Referencias bibliográficas

1. Ahmad, F.B. y Williams, P.A. 2001. "Effect of the galactomannans on the thermal and rheological properties of sago starch". *Food Chem.*, 49:1578-1586.
2. 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.
3. 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.
4. Barnes, S. 1995. "Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer". J. Nutrition, 125:777-783.
5. Becalski, A., B.P. Lau, D. Lewis, y S.W. Seaman, 2003. "Acrylamide in foods: occurrence, sources and modeling". En *J. Agric. and Food Chem.* 51:802-808.
6. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Berlín, cap. 4.
7. BeMiller, J.N. y Huber, K.C. 2008. "Carbohidratos". En *Química de los Alimentos*, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Chen, S.L., Yin, S.H. y Chen, C.H.S. 2005. "Relative reactivities of glucose and galactose in browning and pyruvaldehide formation in sugar/glycine model systems". *Food Chemistry*, 92(4): 597-605.
12. Cho, S.S. y M.L. Dreher, eds. 2001. *Handbook of Dietary Fiber*, Marcel Dekker, Nueva York.
13. Coffey, D.G. 1995. "Cellulose and cellulose derivatives". En *Food Polysaccharides and Their Applications*. Ed. A.M. Stephen. Marcel Dekker, Nueva York, pp. 123-153.
14. Coultate, T.P. 2002. *Food the Chemistry of its Components*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
15. Crittenden, R. 1999. En *Prebiotics a Critical Review*. Ed. Tannock, G.W., Horizon Scientific Press, Norfolk, England, pp. 141-156.
16. Edwards, W.P. 2000. *The Science of Sugar Confectionary*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
17. Fredrikson, H., Silverio, J., Anderson, R., Eliason, A.-C. and Aman, P., 1998. "The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches". *Carbohydrate Polymers*, 38:119-134.

18. 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.

19. García-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.

20. 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.

21. Gidley, M.J. 2002. "Using Nature to Tailor Hydrocolloid Systems". En *Gums and Stabilizers for the food Industry* 11. Eds. Williams, P.A. y Phillips, G.O. The Royal Society of Chemistry, Wrextham, RU, pp. 281-288.

22. Gray, J.A. y J.N. BeMiller. 2003. "Bread staling: molecular basis and control". En *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety* 2:1-21.

23. Hoefler, A.C. 2004. *Hydrocolloids*, Eagan Press, Minnessota, E.U.

24. Hofmann, P., Münch, P., Schieberle, P. 2000. "Quantitative model studies on the formation of aroma-active aldehydes and acids by Strecker type reactions". J. Agric. Food Chem. 48:434.

25. Jane, J-L. 2000. "Carbohydrates: Basic Concepts". En *Food Chemistry: Principles and Applications*. Ed. G.L. Christen. Science Technology System. West Sacramento, California.

26. 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, Wrextham, UK, pp. 289-296.

27. 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.

28. Luallen, T.E. 2002. "A Comprehensive Review of Commercial Starches and Their Potential in Foods". En *Food Additives*, ed. Branen, L.A. Marcel Dekker Inc., Nueva York.

29. Mermelstein, N. H. 2011. *Analyzing for Dietary Fiber*. Food Technol. 7:98-102.

30. Milo, L.M. 2011. *Fighting Hunger Pains*. Fiber. Food Technol. 4:67-72.

31. Nussinovitch, A. 1997. "Pectins". En *Hydocolloids Applications Gum Technology in the food and Other Industries*, Blackie Academia and Professional London, 354 págs.

32. Paeschke, T.M. y Aimutis, W.R. 2011. "Formulating for Satiety with Hydrocolloids". *Food Technol.* 3:24-35.

33. 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.

34. Pauletti, M.S. *et al.* 1999. «Color in concentrated milk proteins with high sucrose as affected by glucose replacement". J. Food Sci. 63(3):90-92.

35. Phillips, G.O. y Williams, P.A. 2000. "Handbook of Hydrocolloids". CRC Press, Boca Raton, Fl.

36. Pszczola, D.E. 2008. "Fiber´s New Visibility". *Food Technol.* 12:61-71.

37. 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.

38. Ruiz-Larrea, M.B. *et al.* 1997. "Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones". *Free Rad. Res.* 26:63-70.

39. Russin, T.A. 2010. "Getting Creative with Hydrocolloids". Food Technol. 7:58-65.

40. Shanin, H. y Ozdemir, F. 2004. "Effect of some hydrocolloids on the rheological properties of different formulated ketchups". *Food Hydrocolloids* 18(6): 1015-1033.

41. Suárez, F.L. y Savaiano, R.A. 1997. "Diet, genetics and lactose intolerance". *Food Technology*, 51:74-76.

42. 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).

43. 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 págs.

44. 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.

45. Willats, W.G.T., Knox, J.P., Mikkelsen, J.D. 2006. "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel". En *Trends Food Sci. Technol.* 17:97.

46. Wurzburg, O.B. 1972. "Starches in the food industry". En *Handbook of Food Additives*. Ed. T.E. Furia. CRC Press, Cleveland.

47. Yilmaz, Y. y Toledo, R. 2005. "Antioxidant activity of water soluble Maillard products". *Food Chem.*, 93(2): 273-278.

3

- Introducción
- Aminoácidos
- Péptidos y enlace peptídico
- Organización estructural
- Detección y cuantificación de aminoácidos, péptidos y proteínas
- Desnaturalización
- Modificaciones químicas
- Propiedades funcionales de las proteínas
- Propiedades nutrimentales
- Proteínas de algunos alimentos

Referencias bibliográficas

Proteínas

Introducción

La información estructural y metabólica de los seres vivos está almacenada en las unidades denominadas genes, que están constituidas por ácido desoxirribonucleico y se transcriben para formar diversos tipos de ácido ribonucleico; en los ribosomas se traduce para formar 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 cuales desempeñan un papel fundamental en los sistemas biológicos y abarcan todo tipo de funciones: estructura, transporte, motilidad, defensa, reconocimiento, almacenamiento y la función catalítica que realizan las enzimas.

La importancia de las proteínas en los sistemas alimenticios no es menor. Poseen propiedades nutrimentales, 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 características funcionales, ayudan a establecer la estructura y propiedades finales del alimento.

En la década de 1970 la desnutrición proteínico-calórica (o PEM, siglas de *protein-energy malnutrition*) era el principal problema nutrimental de países en desarrollo y aunque no se ha erradicado, su incidencia es menor. En ciertas regiones todavía es de primordial importancia contar con fuentes de proteínas baratas y accesibles; en otras, los problemas relacionados

con la nutrición ahora son diferentes y están vinculados con enfermedades degenerativas, cáncer y obesidad, ya que en general existe mayor conciencia sobre el cuidado de la salud y la prevención de enfermedades; por ejemplo, se dispone de más información sobre el papel de la nutrición en la respuesta inmune, en procesos inflamatorios, en el desempeño cognitivo y en el desarrollo neuronal, entre otros fenómenos biológicos. Las proteínas desempeñan un papel muy importante, siempre y cuando se consuman en los niveles apropiados y se combinen adecuadamente con otros elementos de la dieta que han sido abandonados, por ejemplo las proteínas de leguminosas y otras de origen vegetal. La combinación adecuada de proteínas con otros elementos de la dieta, así como el empleo de las nuevas herramientas moleculares como genómica y proteómica, sin duda contribuirán a enfrentar el reto del desarrollo de productos proteínicos de buena calidad, con el objetivo de explotar mejor las fuentes tradicionales y diseñar proteínas para mercados específicos. Las proteínas con actividad funcional, hormonas y enzimas son un ejemplo.

Para fines prácticos es posible definir a las proteínas alimentarias como aquellas que son fácilmente digeribles, no tóxicas, nutricionalmente adecuadas, funcionalmente útiles en los alimentos y disponibles en abundancia. Pueden emplearse como ingredientes de productos alimenticios y contribuyen a la estructura y propiedades finales del alimento por sus propiedades funcionales. Su uso como ingredientes requiere del conocimiento detallado de su comportamiento químico, de manera que los procesos de extracción, modificación, procesamiento y almacenamiento sean optimizados, con base en un profundo conocimiento de sus posibles rutas de modificación, para obtener mayores beneficios.

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 y estado de agregación, entre otros.

Aminoácidos

Las unidades más simples de la estructura química común a todas las proteínas son los aminoácidos. El código genético tiene la información para sintetizar 20 distintos α-aminoácidos, también llamados residuos, que constituyen los eslabones que conforman péptidos y se denominan proteínas cuando forman cadenas polipeptídicas de altos pesos moleculares. En la figura 3.1*a* se muestra un aminoácido representativo, la valina. Las estructuras de los 20 aminoácidos se presentan en la figura 3.2 y en el cuadro 3.1 se presentan datos relevantes de su estructura, base de su comportamiento químico.

El grupo amino está unido al carbono α, contiguo al carboxilo, de donde proviene el nombre de α-aminoácido. Al carbono α también se une 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 en el cuadro 3.1. En la proximidad del pH neutro, el grupo carboxilato pierde un protón y el grupo amino capta otro, para dar la forma *zwitterion* que se presenta en la figura 3.1*b*. Se trata de la forma en que por regla general se describirá la estructura de los aminoácidos; de éstos, los que conforman a las proteínas en los organismos presentan la forma "L" debido a que en el proceso evolutivo se seleccionó ésta y no la forma del enantiómero D. De hecho, los aminoácidos D existen en la naturaleza y algunos desempeñan funciones bioquímicas importantes, pero nunca se hallan en las pro-

CUADRO 3.1 **Propiedades de los aminoácidos presentes en las 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[a]	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	Try	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

[a] Valores aproximados para las cadenas laterales de los aminoácidos libres.
[b] Para obtener la masa del aminoácido en sí, añadir la masa de un mol de agua, 18.02 g.
[c] Promedio para un gran número de proteínas. Las proteínas individuales pueden presentar variaciones importantes respecto a estos valores.

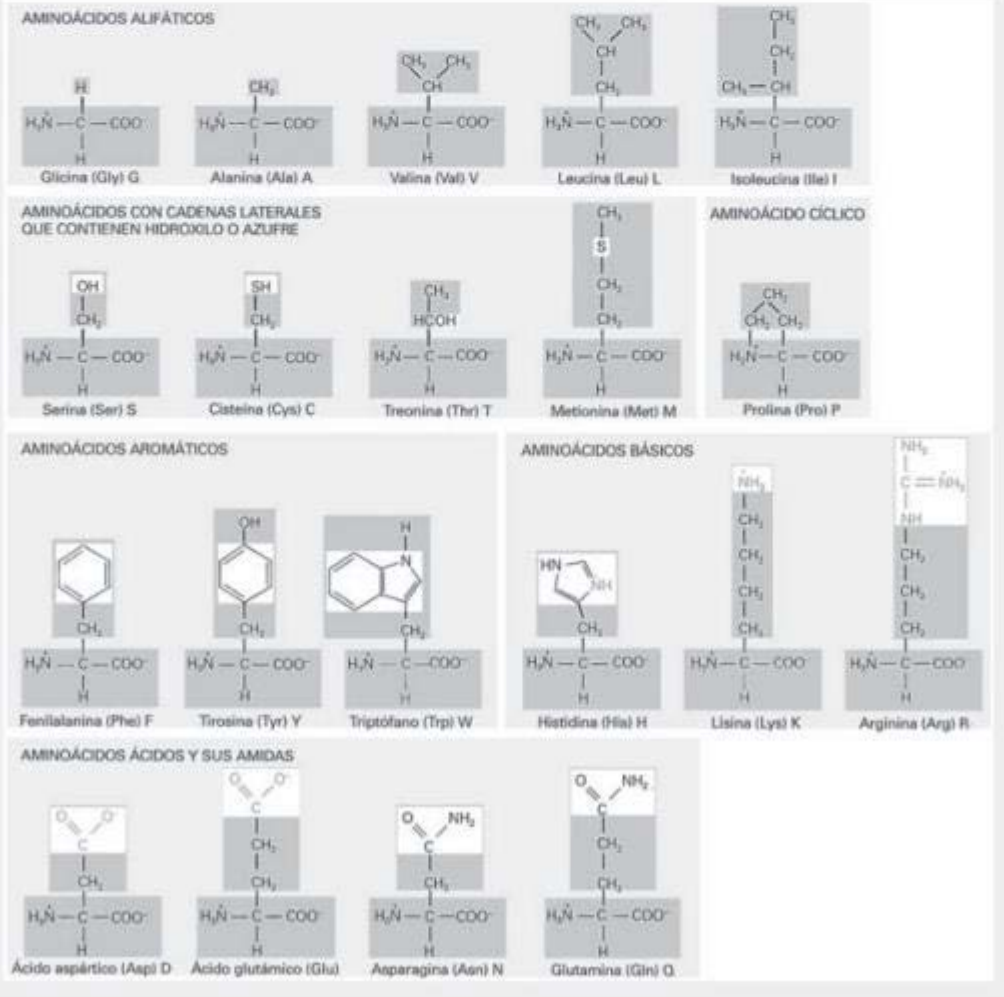
Figura 3.1 Estructura de los α-aminoácidos.[115]



a) Valina

b) Aminoácido generalizado, que forma un zwitterion a pH neutro

Figura 3.2 Aminoácidos que conforman a las proteínas.[115]



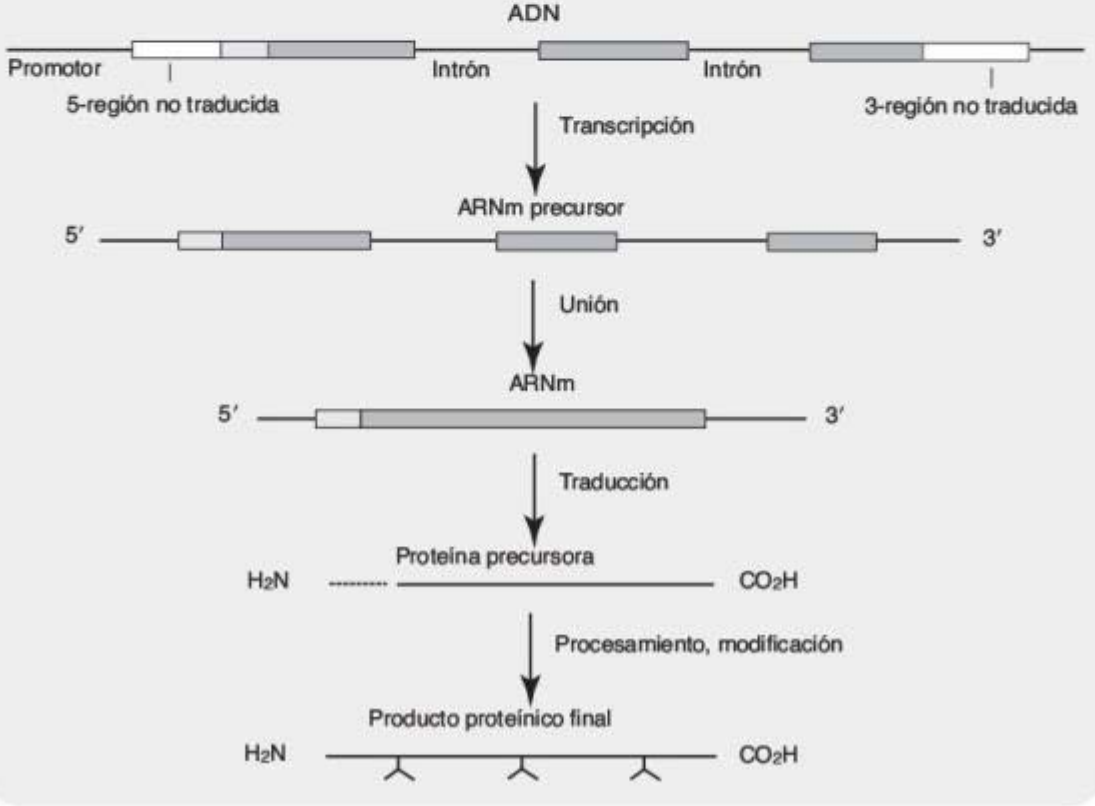
teínas en sus estructuras naturales.[83] Hay sustancias con estructura de β-aminoácido, pero no intervienen en la síntesis de proteínas. Por ejemplo, la β-alanina, precursora del ácido pantoténico, la homocisteína y la homoserina, que actúan en el metabolismo de algunos compuestos, la citrulina y la ornitina, intermediarios para la producción de la arginina. Por otra parte también, los 20 α-aminoácidos que se incorporan a las proteínas se presentan en el cuadro 3.1, donde se muestran sus estructuras y abreviaturas de tres letras.

La secuencia de una proteína se describe enlistando las abreviaturas de los aminoácidos que la componen, con una o tres letras.

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 esa proteína. La secuencia de nucleótidos comprendidos en ese gen se transcribe a una molécula de ARN que se llama mensajero (ARNm), previo procesamiento (figura 3.3). 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, de las que se han reportado hasta 200 diferentes tipos.

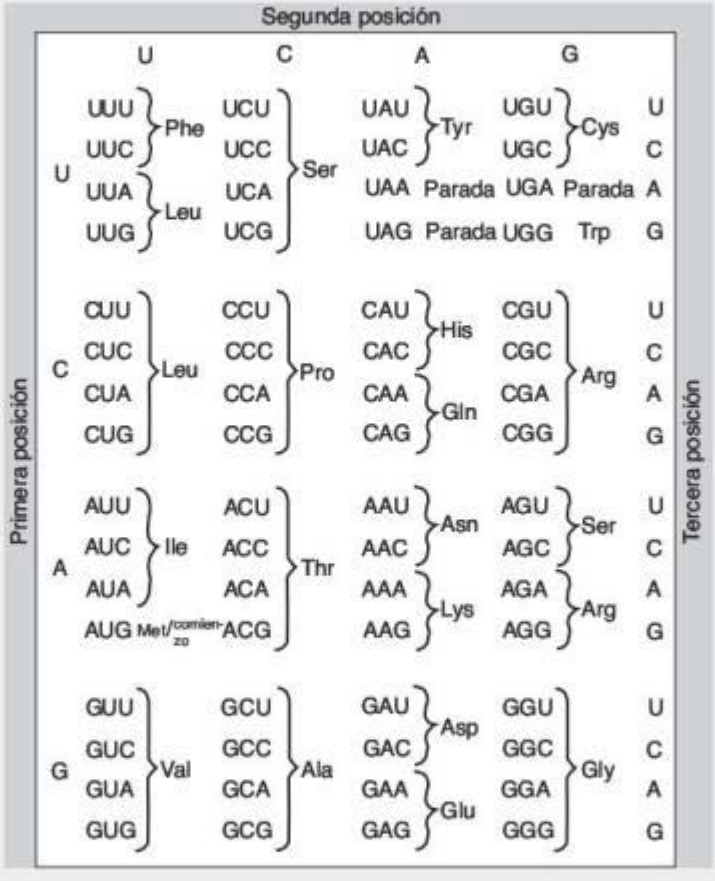
Figura 3.3 Esquema de la traducción de una proteína a partir de ADN y ARN.[31]



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.

Sólo existen cuatro nucleótidos en el ADN, cada uno corresponde a uno específico en el ARN, y existen 20 aminoácidos. Los nucleótidos se organizan en forma de tripletes, denominados codones, que se conforman para cada aminoácido, lo que permite 4^3, es decir, 64 combinaciones distintas que constituyen el código genético, como muestra la figura 3.4.

Figura 3.4 Código genético.[115]

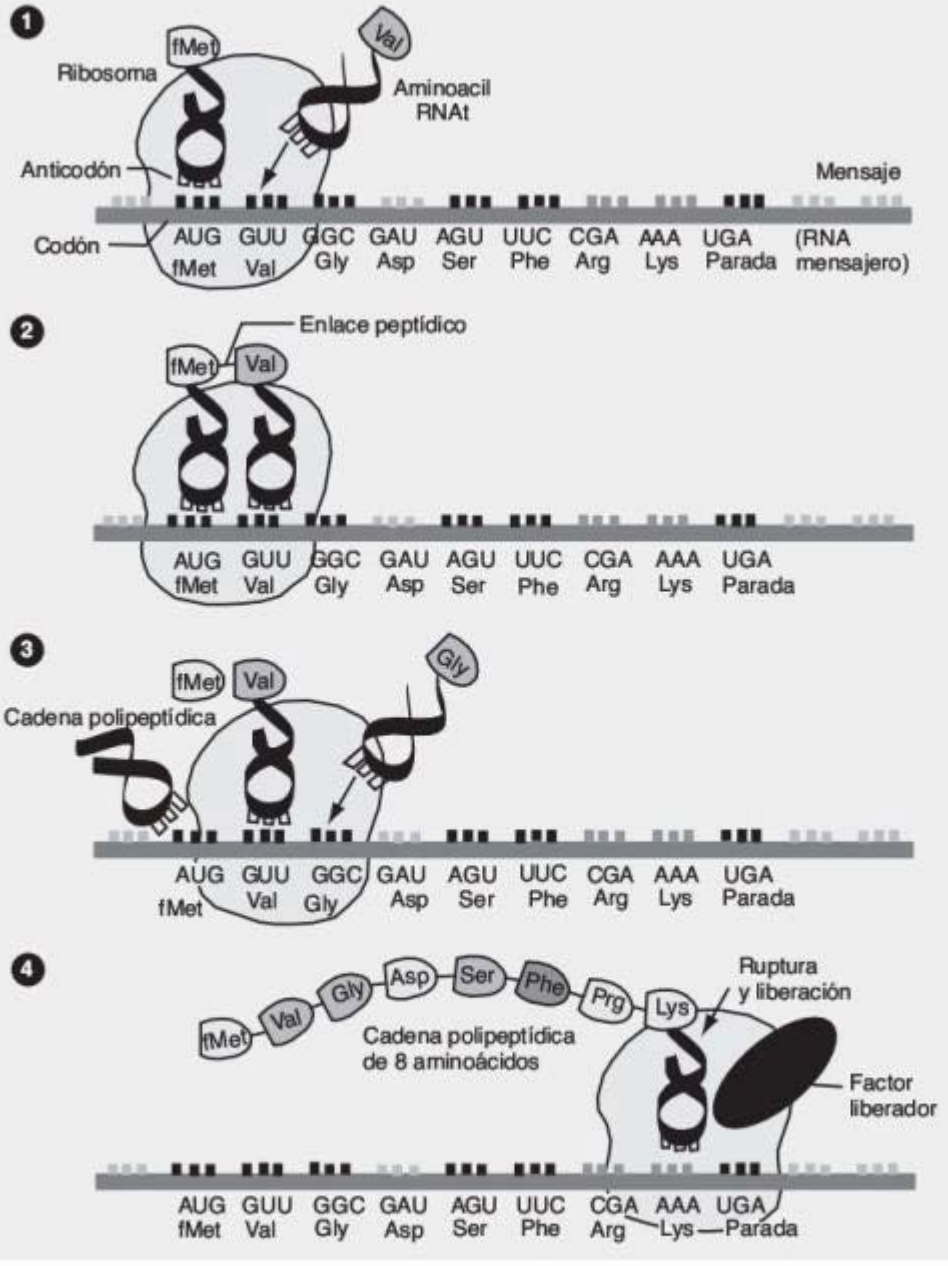


Este número es más que suficiente para codificar 20 aminoácidos, por lo que la mayoría tienen codones múltiples. Se dice que el código genético es universal debido a que prácticamente todos los organismos utilizan los mismos codones para traducir sus genomas a proteínas. Las pocas excepciones están distribuidas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

Traducción

La figura 3.5 muestra un esquema de la síntesis de un polipéptido. Cada ARN, 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 ARNm se ha unido

Figura 3.5 Traducción de un mensaje de ARN en una proteína.[115]



a un ribosoma y los aminoacil ARN_t también se unen aquí acoplando sus anticodones a los codones correspondientes en el mensaje, como muestra 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 así que el siguiente ARN_t llegue a su lugar transportando su aminoácido (paso 3).

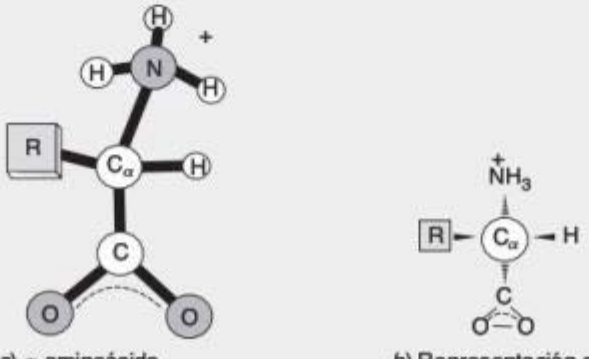
Es preciso obtener energía de la hidrólisis de ATP en cada paso del movimiento. El ribosoma se mueve a lo largo del ARN mensajero, hasta que encuentra un codón de "alto"; en este punto se libera la cadena polipéptidica. El paso 4 presenta una proteína completa, aunque demasiado corta para ser real. En todas las células de cualquier tipo de organismo la 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 después adoptar la conformación espacial más estable de acuerdo con las condiciones en que se encuentre, lo que se denomina estructura terciaria. En algunos casos es preciso formar puentes disulfuro. El plegamiento correcto puede requerir 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 "alto" adicionan una Met). También puede sufrir una fragmentación proteolítica específica para acortar la longitud de la cadena.

Estereoquímica de los α-aminoácidos

Las fórmulas representadas en 2-D (figura 3.2) no evidencian algunas 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 3.6*a* y 3.6*b*.

En la figura 3.6*b*, los triángulos sólidos representan enlaces que sobresalen de la página; en cuanto a los que están sombreados representan enlaces que se extienden hacia el fondo. 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 se denomina 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; de éstos, los 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.

Figura 3.6 Representaciones tridimensionales de los α-aminoácidos.[115]



a) α-aminoácido *b*) Representación compacta

Clasificación de los aminoácidos

La diversidad de cadenas laterales de las proteínas les permite exhibir una enorme variedad de estructuras y propiedades. Por ello algunas clasificaciones se sobreponen, debido a que hay aminoácidos que caen en una o más de ellas, como se explica a continuación (cuadro 3.2).

Un aminoácido particular es la *Gly*, 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 con facilidad.

La *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 y dan más rigidez a la cadena. *Phe, Trp y Tyr* son los *aminoácidos aromáticos* y cuentan con cadenas laterales altamente hidrofóbicas, aunque la *Tyr* resulta *más polar* que los otros por su grupo -OH. Si se puede predecir, puede pensarse que su comportamiento frente al medio acuoso en el que normalmente se encuentran las proteínas los obligan 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 podrán llevar una relación termodinámicamente favorable con el agua del medio. Así, entonces se tiene que *Cys, Ser, Thr, Asn, Gln* e incluso *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 gran 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 está 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 y forma 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 acomodos, puesto que se trata de una estructura cooperativa, de la que resultan algunos aminoácidos hidrofóbicos en la superficie y otros cargados y polares en el interior; ambos deben relacionarse de una u otra manera con el agua.

Reactividad química

Cada aminoácido presenta una reactividad de acuerdo con 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* a pasar del agua a un disolvente de naturaleza hidrocarbonada. Los aminoácidos más hidrófobos, como *Ile*, normalmente se encuentran 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 an-

tes. 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. Los aminoácidos con cadenas laterales que contienen hidroxilo o azufre, como *Ser, Cys, Thr y Met*, son más hidrofílicos que sus análogos alifáticos, a pesar de que *Met* es hasta cierto punto hidrofóbica por su anillo aromático. El tioéter de Met es propenso a transformaciones de oxidorreducción. En este grupo puede destacarse *Cys* en dos aspectos. Primero, la cadena lateral puede ionizarse a pH elevado; segundo, 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 no está codificada por el ADN. La presencia de estos enlaces disulfuro entre los residuos de *Cys* en las proteínas suele desempeñar un papel importante para estabilizar la estructura terciaria. *Phe*, junto con los aminoácidos alifáticos *Val, Leu e Ile*, resultan ser los aminoácidos más hidrofóbicos. *Tyr y Trp* también presentan un carácter hidrofóbico 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 hidrofílicos 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 mencionadas de todos los aminoácidos, así como su carácter de aminoácidos indispensables o no para la vida de los seres humanos. Se denomina indispensables a aquellos que el organismo no sintetiza, de modo que debe adquirirlos de la dieta.

Propiedades ácido-base

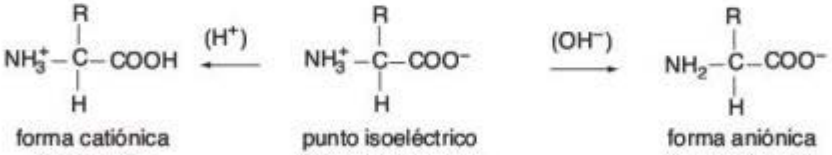
Los aminoácidos libres presentan características que se deben principalmente a su naturaleza iónica anfotérica ácido-base. Anfótero (del griego *anfi*, ambos) es un término apropiado, de modo que a estos compuestos también se les conoce como sustancias anfifílicas, anfolitos o electrolitos anfóteros. 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.

CUADRO 3.2 **Clasificación de los aminoácidos con base en diferentes características[118]**

	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	
Triptófano		X			X	
Tirosina	X					X
Valina		X			X	

[a] Indispensable para niños, pero no para adultos.

Su carácter anfotérico les confiere la capacidad de recibir y donar electrones, así como alcanzar un punto isoeléctrico (pI) cuando presentan el mismo número de cargas positivas que negativas, por lo que su carga neta es cero. Los aminoácidos pueden tener, por lo tanto, tres estados que dependen del pH: a pH < pI se encuentran en forma protonada o catiónica; en el pI su carga es cero, y a pH > pI adquieren una carga negativa o aniónica. Es decir, no existe un pH en el que estos anfolitos estén completamente libres 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.



(Ec. 1)

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

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

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

$$\text{Aminoácido} \rightleftharpoons \text{base}^- + H^+; K = \frac{[\text{base}^-][H^+]}{[\text{aminoácido}]} \qquad \text{(Ec. 3)}$$

Los valores del pK de las distintas funciones ionizables de los aminoácidos se muestran 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 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 pH < pK toma la forma NH_3^+ y a pH > pK, aparece como NH_2.

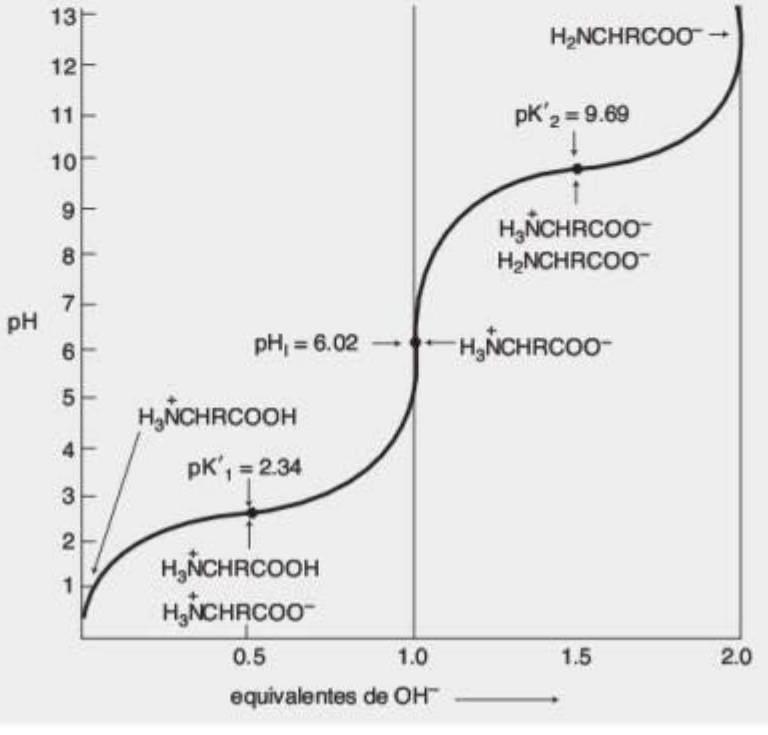
Además de los carboxilos y los aminos, otros grupos también ejercen una influencia en el comportamiento ácido-base de los aminoácidos: el imidazol de la histidina, el ε-amino de la lisina, el β-carboxilo del ácido aspártico, el sulfhidrilo de la cisteína, el γ-carboxilo del ácido glutámico, el guanidino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

$$pI = \frac{pK\ amino + pK\ ácido}{2} \qquad \text{(Ec. 4)}$$

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, 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 muy simple, que 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.[187]



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 $-H_3N^+$ disponible en un extremo del dipéptido, y un grupo $-COO^-$ sin reaccionar 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 citó en apartados 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 polipéptidos conservan un

Figura 3.8 Formación de un péptido.[115]

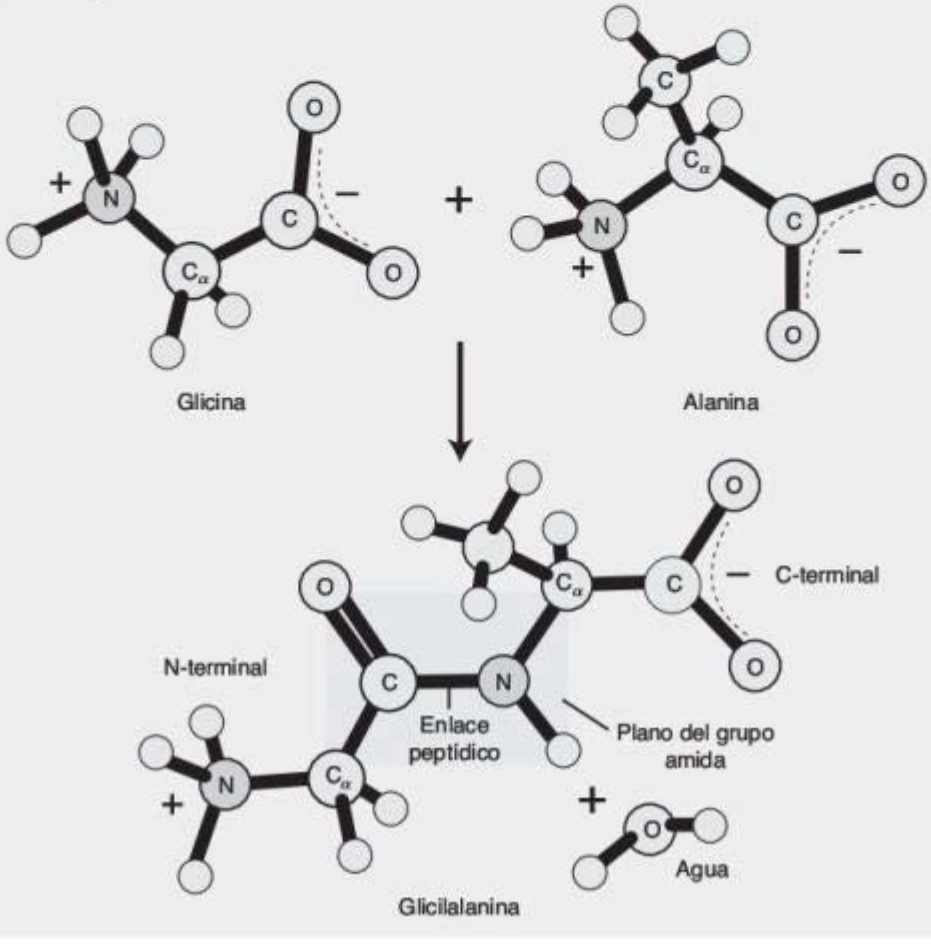
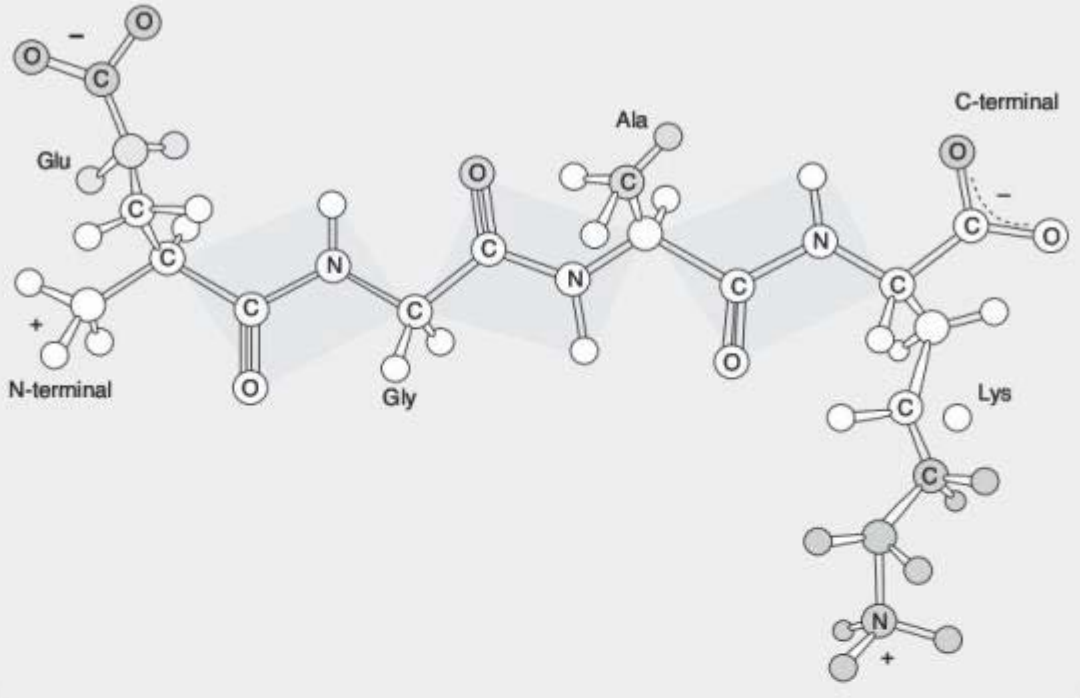


Figura 3.9 Estructura de un tetrapéptido.[115]



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 las abreviaturas de los aminoácidos, de tres letras o una letra, convencionalmente con N-terminal a la izquierda y C-terminal a la derecha.[115]

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. En la figura 3.10 se muestran las estructuras de algunos de los péptidos de mayor importancia en alimentos.

Otro péptido es el glutatión (γ-glutamilcisteíl-glicina), 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 (figura 3.11). Se encuentra en papas, 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 utilizado como saborizante en aplicaciones cárnicas.

Figura 3.10 Estructuras de carnosina, homocarnosina y anserina.

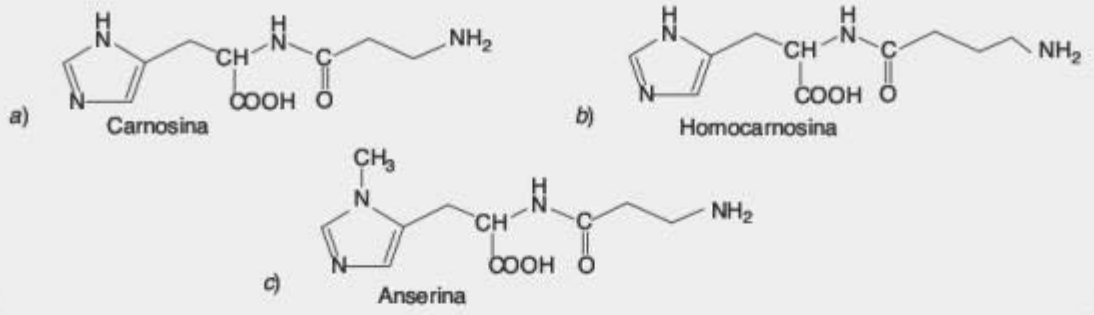
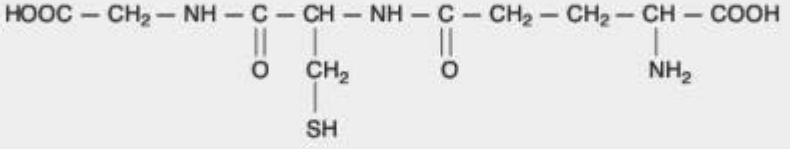


Figura 3.11 Estructura del glutatión.

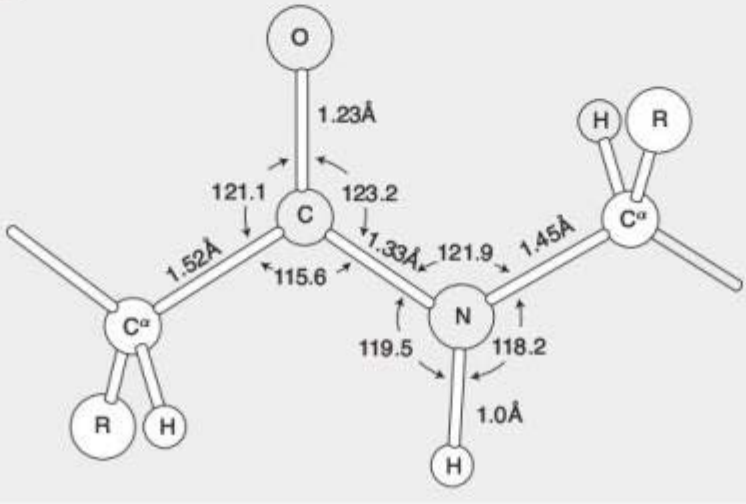


Desde luego existen muchos más péptidos en la naturaleza; algunos cumplen la función biológica de hormona, como ocurre con la oxitocina y la vasopresina.

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.[149]



El enlace C–N de las proteínas resulta más corto que el de otros compuestos orgánicos e inorgánicos semejantes, lo que además provoca que la unión peptídica no pueda rotar con libertad y limita su movimiento en la cadena polipeptídica. De hecho, los átomos O, C, N y H son casi coplanares. El enlace peptídico puede considerarse un híbrido de resonancia de dos formas (figura 3.13*a*):

El grupo de átomos alrededor del enlace peptídico puede darse en dos configuraciones posibles: *trans* y *cis*. Normalmente adoptan la configuración *trans*, porque la *cis* es poco estable, sobre todo cuando se trata de aminoácidos con R voluminosas (figura 3.13*b*).

La cadena polipeptídica en cada residuo tiene un potente donador para formar puentes de hidrógeno (–NH–) e importante aceptor de H: (–CO–), crucial para la estructuración tridimensional de las proteínas (figura 3.14). 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.

Los seis átomos son coplanares (figura 3.14), es decir, se localizan en un solo plano que le da rigidez y estabilidad a la estructura debido a la resonancia y limita las posiblidades de rotación o de flexión. Por lo tanto, el número de formas estructurales que pueden adquirirse es reducido. Esas 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 mayor estabilidad, los polipéptidos requieren coplanaridad de los seis átomos que integran el enlace peptídico, mientras que para inducir una máxima interacción por puentes de hidrógeno entre ellos se requiere colinearidad.[198]

Figura 3.13 Formas coplanares en resonancia y formas *cis* y *trans* del enlace peptídico.

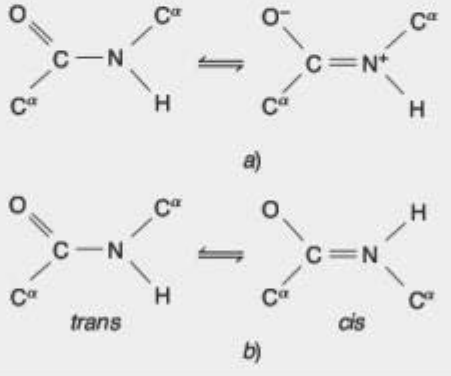
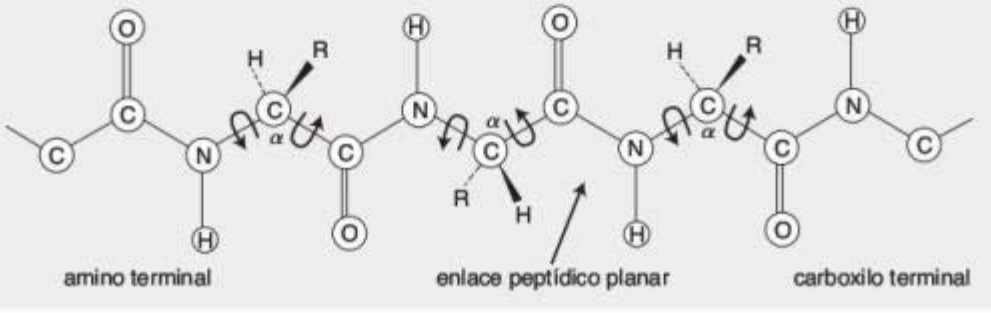
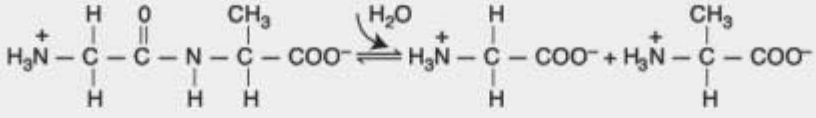


Figura 3.14 Enlaces peptídicos que muestran que sólo el C α tiene posibilidad de rotación.



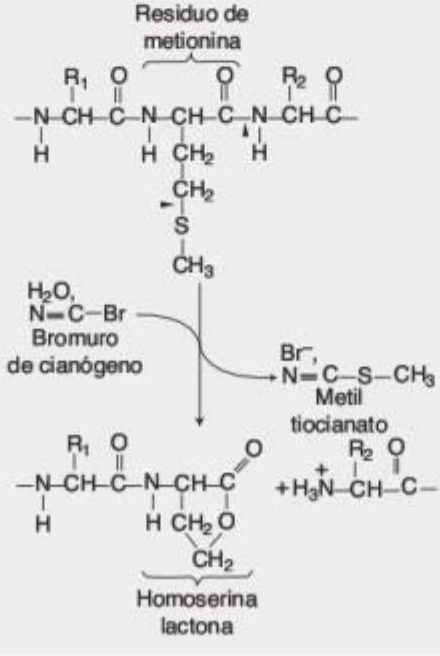
La formación de un enlace peptídico en un entorno acuoso no está favorecido termodinámicamente, debido a que el cambio de energía libre de esta reacción a temperatura ambiente en solución acuosa es de aproximadamente +10kJ/mol. En realidad la reacción favorecida en estas condiciones es la hidrólisis del enlace peptídico (figura 3.15).

Figura 3.15 Hidrólisis del enlace peptídico.



El equlibrio 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 con rapidez cuando están presentes catalizadores. La hidrólisis peptídica puede catalizarse de distintas maneras. Un método general, que fragmenta todos los enlaces peptídicos, consiste en calentarlos en un ácido mineral fuerte (por lo general HCl 6 M). Se logra una catálisis más específica mediante *enzimas proteolíticas* o *proteasas*. Muchas de estas enzimas son específicas en relación con los enlaces que hidrolizan. Una reacción no enzimática que rompe un enlace peptídico específico utiliza el reactivo bromuro de cianógeno (BrC≡N) que rompe específicamente el enlace peptídico en el lado del carboxilo de los residuos de Met (figura 3.16).

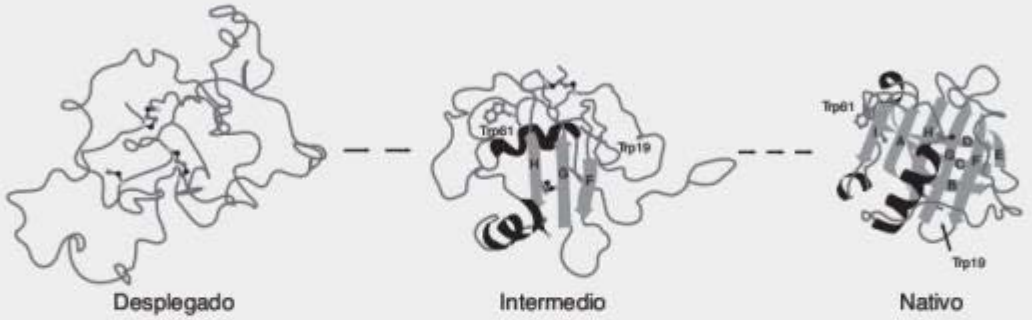
Figura 3.16 Hidrólisis peptídica con bromuro de cianógeno.[115]



Organización estructural

La conformación asumida por las proteínas nativas define sus propiedades inmunológicas, enzimáticas u hormonales. Sus propiedades dependen principalmente de la conformación tridimensional, estabilizada por un delicado balance fisicoquímico en su molécula, sensible a cambios en su entorno (figura 3.17).

Figura 3.17 Ruta del doblamiento de la β-lactoglobulina.[98]



Fuente: Nature Structural Biology. Kuwata *et al.* (2001).

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 3.3. Los enlaces covalentes son responsables del enlace peptídico, de menor longitud y los de mayor energía. Los puentes salinos o iónicos, también llamadas interacciones electrostáticas, se crean por atracción coulómbica 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.

CUADRO 3.3 **Enlaces químicos encontrados en las proteínas y sus fuerzas de unión**

Tipo	Mecanismo	Energía (kcal/mol)	Distancia de interacción (Å)	Grupos que interaccionan
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 coulómbica entre grupos con cargas opuestas	10-20	2-3	NH_3^+, $-COO^-$, $-NH^+$
Puentes de hidrógeno	El hidrógeno es compartido entre dos átomos electronegativos	2.10	2-3	N–H···O=C, N–H···OH
Fuerzas de Van der Waals	Inducción mutua de momentos dipolo en grupos apolares	1-3	3-5	Grupos apolares

Las fuerzas atractivas de Van der Waals se establecen por la inducción de un momento dipolo entre grupos eléctricamente apolares.[85,122]

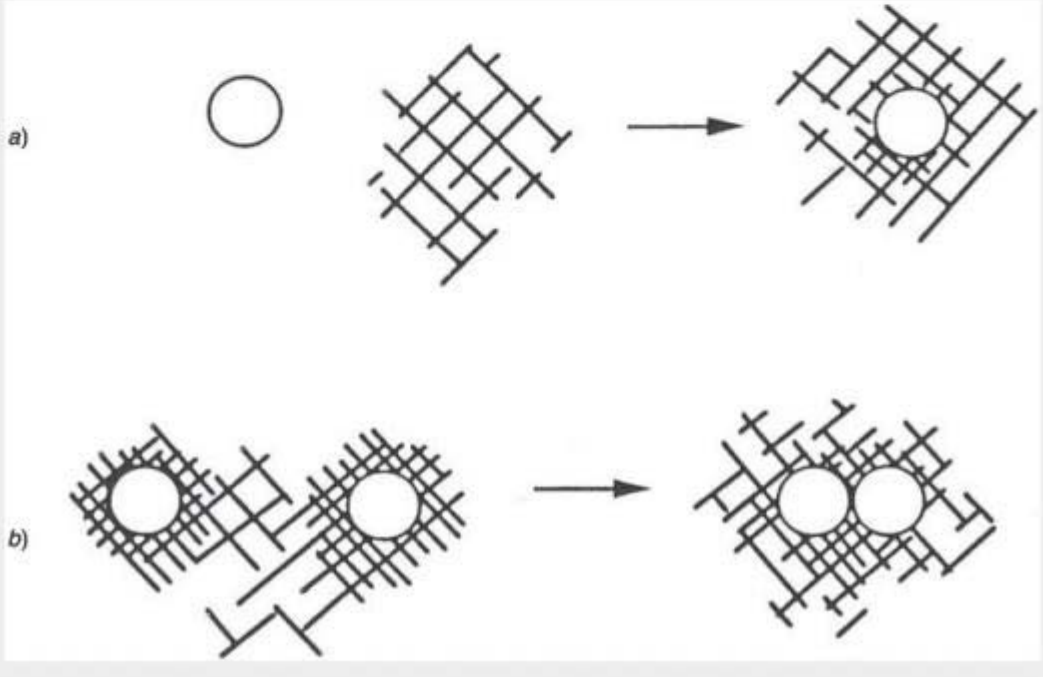
En el cuadro 3.4 se observa que, de las uniones covalentes, el enlace peptídico C–N es el más fuerte, comparado con el enlace disulfuro S–S, pues requiere menos energía para su hidrólisis. Este último puede romperse sin causar necesariamente una pérdida de la conformación del polímero y, por lo tanto, de su funcionalidad (figura 3.18).

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 entre ellas para minimizar la superficie expuesta hacia el agua. En la figura 3.18 se esquematiza la interacción en un medio acuoso de materiales hidrofóbicos, se describe la hidratación hidrofóbica y la asociación de las zonas hidrofóbicas en agua.

CUADRO 3.4 **Energía de rompimiento de enlaces covalentes en proteínas**

Enlace	Energía (kcal/mol)
S–S	84
O–H	110
C–S	120
C–C	151
C–N	189

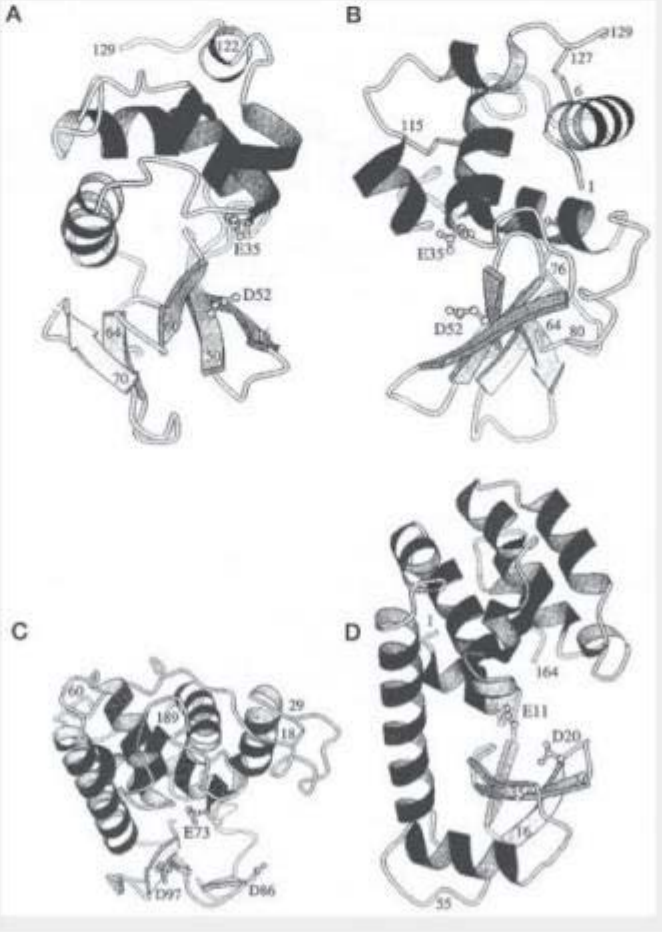
Figura 3.18 Esquema de la hidratación *a*) y asociación *b*) hidrofóbicas.[35]



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. Algunos de estos cambios se llaman conservadores: conservan la naturaleza de la cadena lateral, por ejemplo un cambio de *Asp* por *Glu*, donde se mantiene la carga negativa. Otros, los cambios no conservadores (por ejemplo *Asp* por *Ala*) pueden tener consecuencias más graves. Existen relaciones genéticas cercanas entre especies, de manera que distintas proteínas presentan zonas altamente conservadas de aminoácidos, como la α-lactoalbúmina de la leche y la lisozima del huevo de diferentes especies de aves, que presentan estructuras primarias muy semejantes, que sólo varían en unos cuantos residuos (figura. 3.19). A las diferentes zonas de una proteína se les llama dominios y se definen como regiones de una secuencia polipeptídica que se pliegan en estructura terciaria de manera independiente.

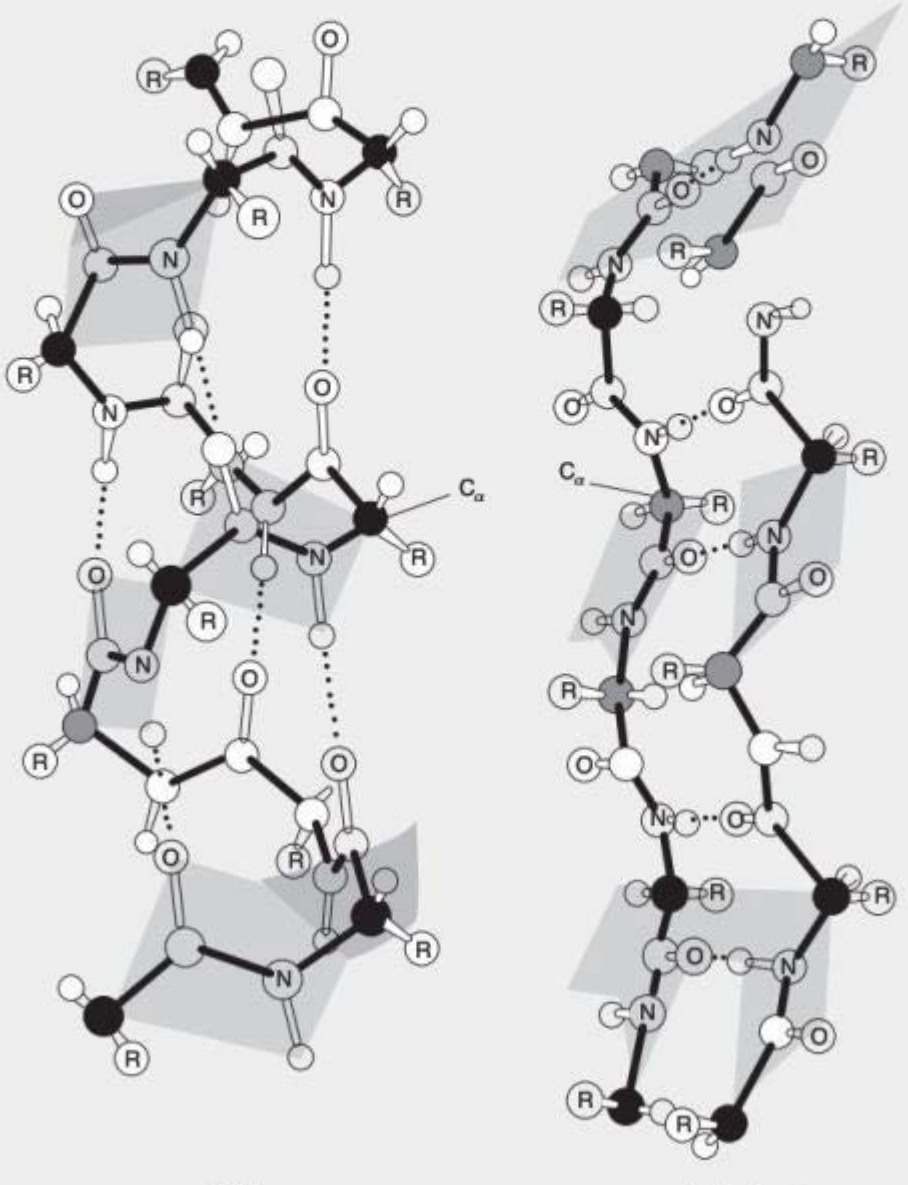
Figura 3.19 Estructuras estimadas de lisozimas tipo c, g y v. *a*) Lisozima de pollo con vista al sitio activo. *b*) Resalte de los cuatro puentes disulfuro. *c*) Lisozima de ganso. *d*) Lisozima T4 de huevo.[128]



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 3.20*a*).

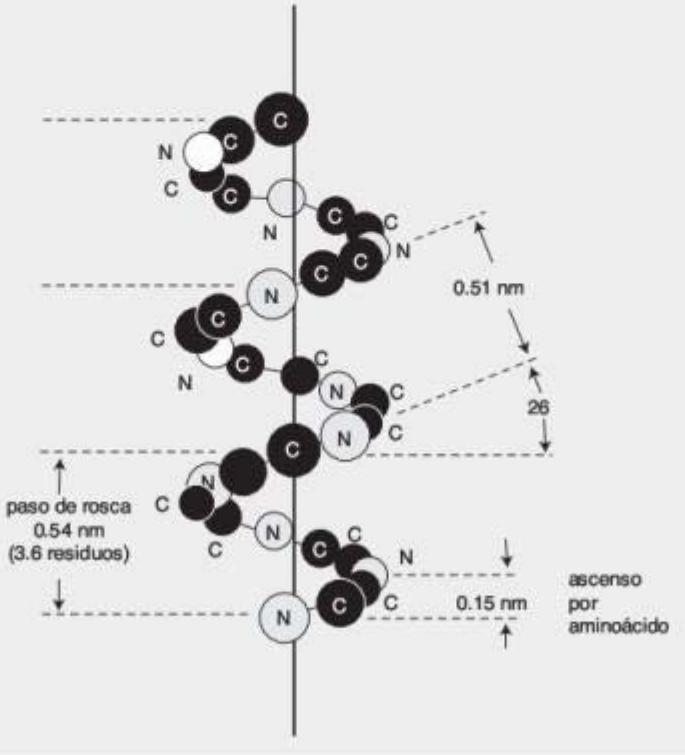
Figura 3.20 *a*) α-Hélice y *b*) lámina-β de la estructura secundaria de las proteínas.[115]



a) Hélice α *b*) Lámina β

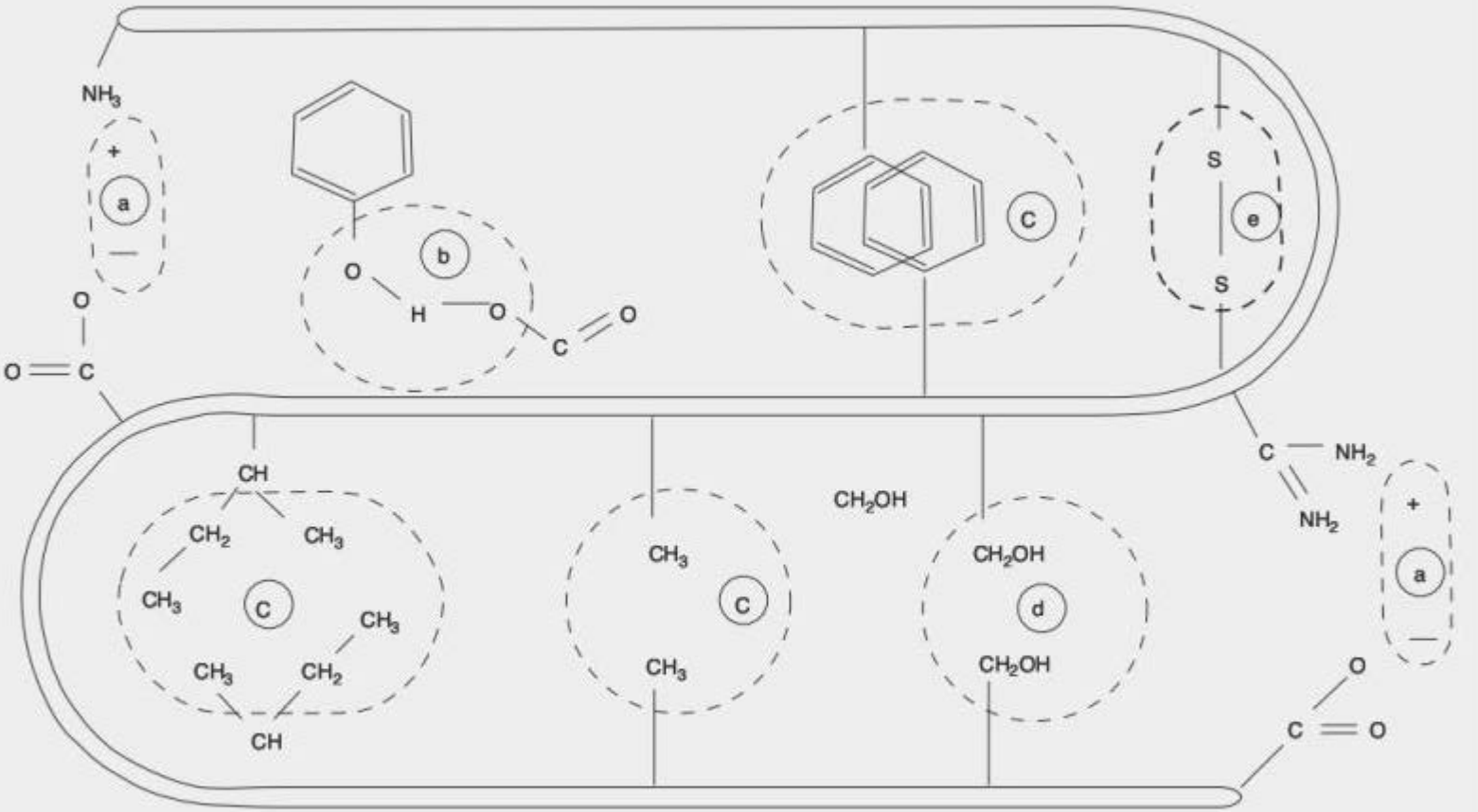
La inmensa mayoría de estos polímeros produce α-hélices, en las que una vuelta completa consta de 3.6 aminoácidos, y sus cadenas laterales R quedan orientadas de forma perpendicular hacia el exterior del eje central (figura 3.20*a*), presentan el menor grado de energía libre, y es la forma más estable 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, 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 (cuadro 3.4). Los puentes de hidrógeno son paralelos al eje de la hélice y, debido a su gran número, contribuyen de manera importante a la estabilización de la estructura, a pesar que en forma individual su energía es muy baja (figura 3.20*a*). En la figura 3.21 se describen las dimensiones de la α-hélice, específicamente las longitudes de un giro y de la longitud ocupada por un aminoácido.

Figura 3.21 Dimensiones medias de la α-hélice.



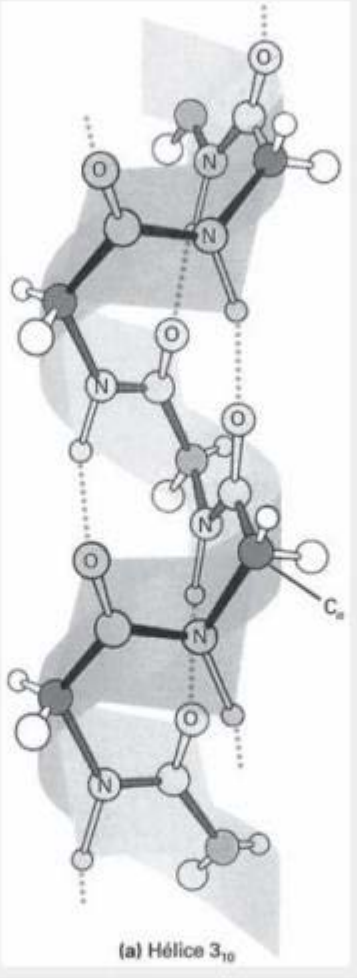
Cuantas más interacciones de esta naturaleza existan, más estable es la estructura y trae como consecuencia que esos grupos hidrofílicos no estén disponibles para reaccionar con las moléculas de agua, lo que vuelve al polímero poco soluble en este disolvente. La presencia de *Ala, Leu, Phe, Tyr, Trp, Cys, Met, His, Asn, Glu* y *Val* favorece las hélices, mientras que la *Pro* y la *hidroxi Pro*, las evitan, igual que la *Ser, Thr, Lys, Ile* y los ácidos *Glu* y *Asp* (figura 3.22).

Figura 3.22 Enlaces que estabilizan la estructura secundaria y terciaria de las proteínas; *a*) interacción electrostática; *b*) puentes de hidrógeno; *c*) interacción hidrofóbica; *d*) interacción dipolo-dipolo, y *e*) enlace disulfuro.



Existen dos hélices polipeptídicas que definidas posteriormente. La hélice 3_{10} se observa en algunas proteínas, pero no es tan común como la α-hélice (figura 3.23).

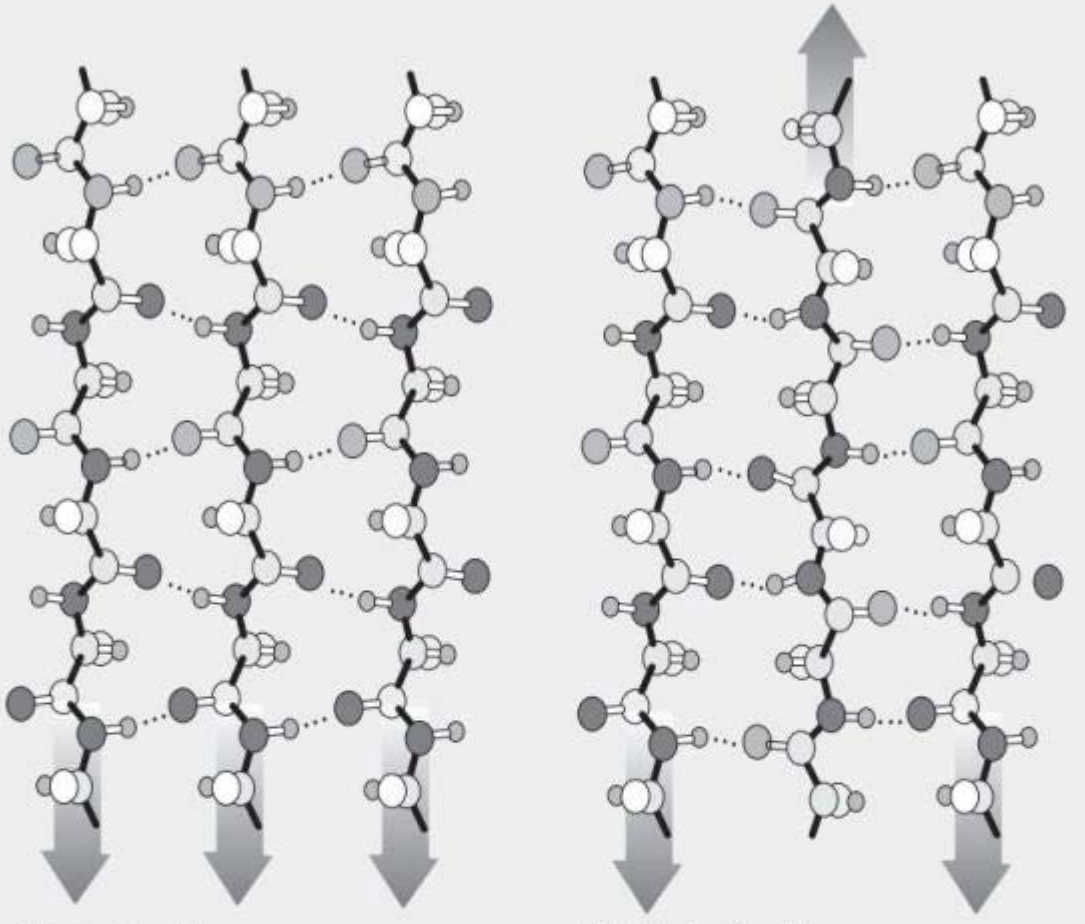
Figura 3.23 Estructura de la hélice 3_{10}.[115]



(a) Hélice 3_{10}

Otro tipo de estructura secundaria es la conformación β (figura 3.20*b*) 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 3.24). Todas las uniones peptídicas contribuyen a la estabilización y las cadenas laterales R se localizan por encima y por debajo de los planos de la lámina

Figura 3.24 Estructura de conformación β de las proteínas: *a*) paralela y *b*) antiparalela.[115]



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.

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 y 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 con libertad, como son los puentes de hidrógeno, ésta adquiere varias conformaciones al azar, que 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 puede verse en el cuadro 3.5. Asimismo existen zonas de las proteínas que no contienen una forma estructurada y se describen como zonas aperiódicas.

CUADRO 3.5 **Contenido de estructura secundaria en diferentes proteínas.[36]**

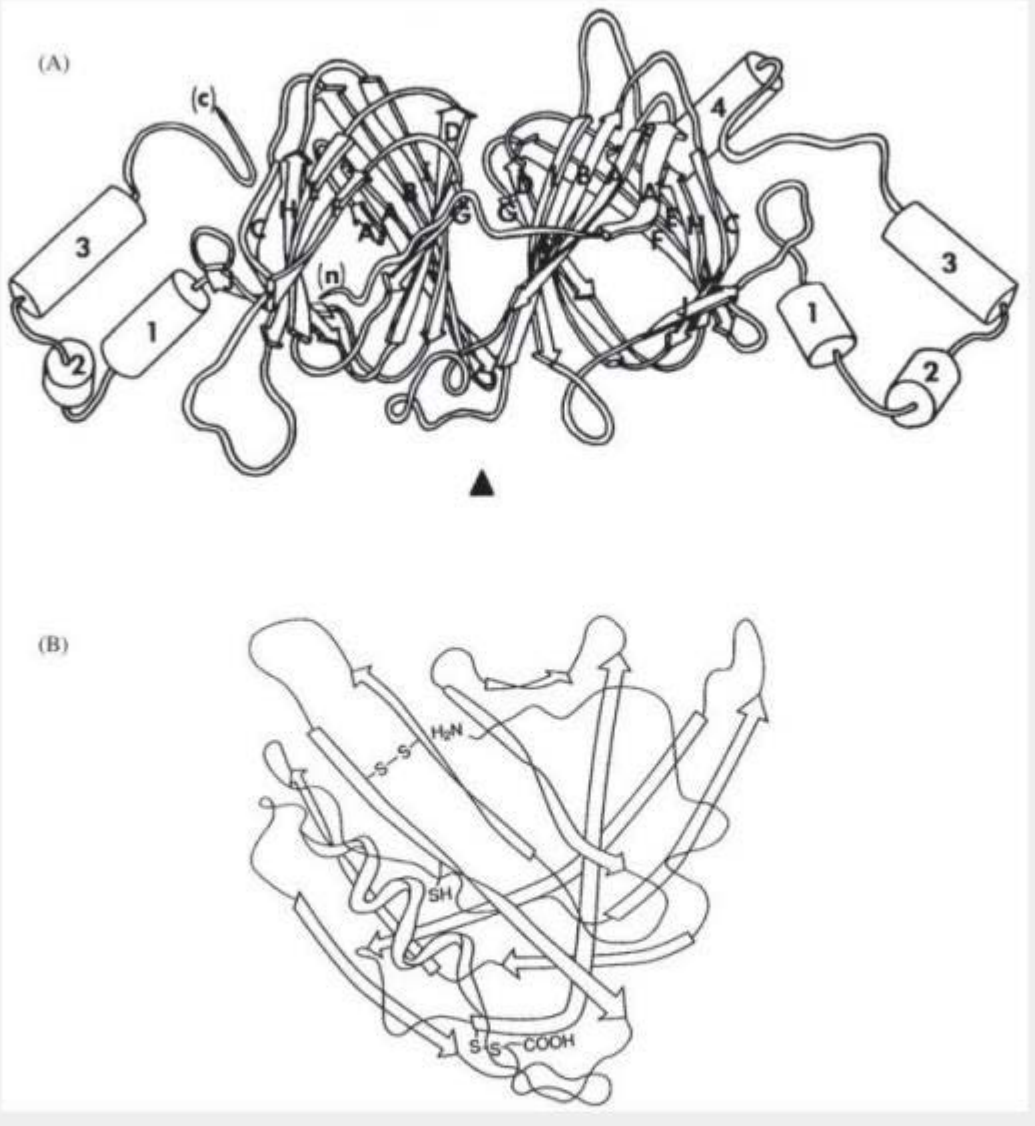
Proteína	α-Hélice (Porcentaje)	Lámina β (Porcentaje)	Giros β (Porcentaje)	Aperiodicidad (Porcentaje)
Deoxihemoglobina	85.7	0	8.8	5.5
Albúmina sérica bovina	67.0	0	0	33.0
Quimotripsinógeno	11.0	49.4	21.2	18.4
Inmunoglobulina G	2.5	67.2	17.8	12.5
Insulina (dímero)	60.8	14.7	10.8	15.7
Inhibidor de tripsina 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-lactoalbúmina	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
Faseolina	10.5	50.5	11.5	27.5

Los valores representan el número total de residuos de aminoácidos.

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 3.25.

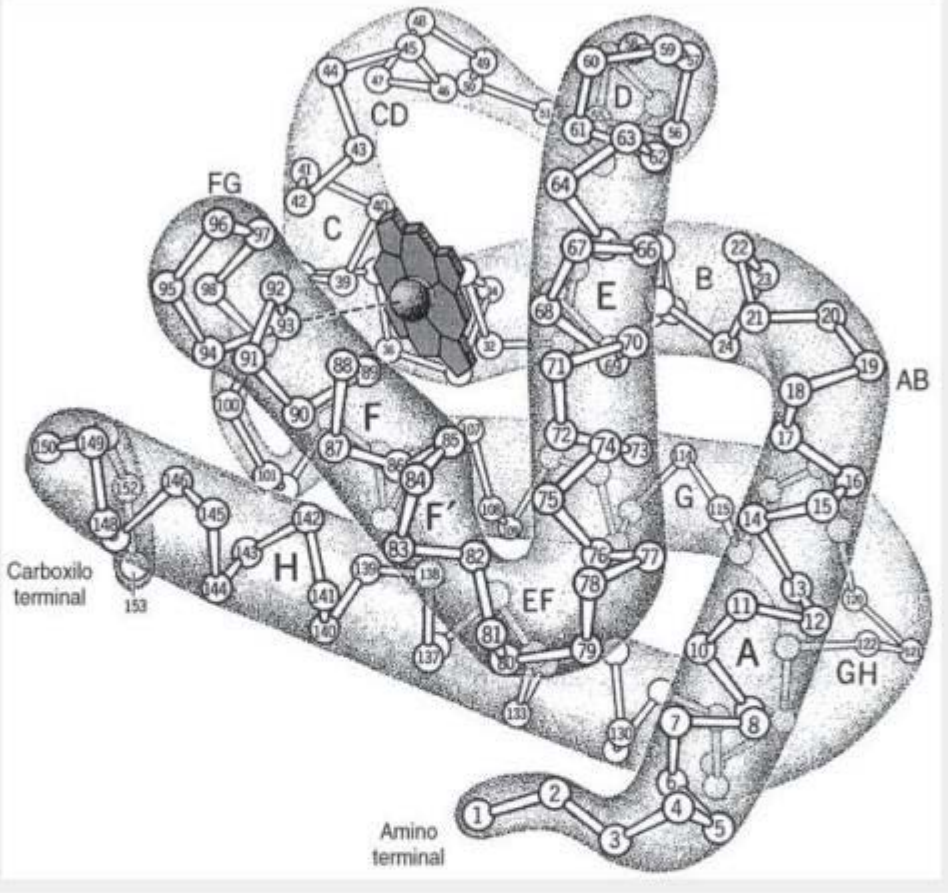
Figura 3.25 *a*) Estructuras terciarias de la faseolina y *b*) la β-lactoglobulina. Las flechas representan las placas β, y los cilindros a las α-hélices.[105,137]



A diferencia de las proteínas fibrosas, que presentan una estructuración lineal, las globulares tienen sus cadenas compactas con un alto grado de organización (figura 3.26).

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 esta manera, 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

Figura 3.26 Representación esquemática de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de la mioglobina. Los puntos oscuros representan los átomos de carbono de los aminoácidos. El grupo hemo se localiza en la parte central superior de la molécula.[115]



hidrofóbicos y a la exclusión del agua en las zonas más íntimas de las moléculas.[3] Esta orientación y localización de los aminoácidos en áreas definidas provoca microambientes hidrofílicos e hidrofóbicos, que permiten desarrollar muchas actividades biológicas de las proteínas.

La estructura terciaria de proteínas que contienen una sola cadena polipeptídica se compone de dominios. En la mayoría de las proteínas de una sola cadena, los dominios se pliegan de manera independiente y después interactúan con otros, formando una estructura terciaria única para la proteína en cuestión. Podría pensarse que son una especie de "miniproteínas" y que todas juntas forman una sola proteína más grande. La estabilidad de cada dominio es independiente de los otros. El número de dominios en una proteína por lo general depende de su peso molecular.

Cuando se trata de proteínas pequeñas, la estructura terciaria les permite adoptar una forma aproximadamente esférica, compacta y con superficie irregular. Si las proteínas consisten de más de 200 residuos, normalmente presentan dos, tres o más unidades estructurales llamadas dominios. Aunque no existe una definición rigurosa de dominio, se trata de las diferentes zonas de una molécula de proteína que interactúan entre ellas, pero en menor grado que los elementos estructurales al interior del dominio mismo.[31] En la figura 3.17 se visualizan los dominios de la lactoglobulina.

Cada dominio podría ser considerado como una estructura "suprasecundaria", y en ocasiones se encuentra lo que en inglés se denomina *protein motif*. Se trata, por ejemplo, de acomodos de hélices y cintas. Los dominios pueden tener o no funciones específicas. Por lo tanto, una proteína multidominio podría tener varias funciones, determinadas cada una por dominios distintos.[146]

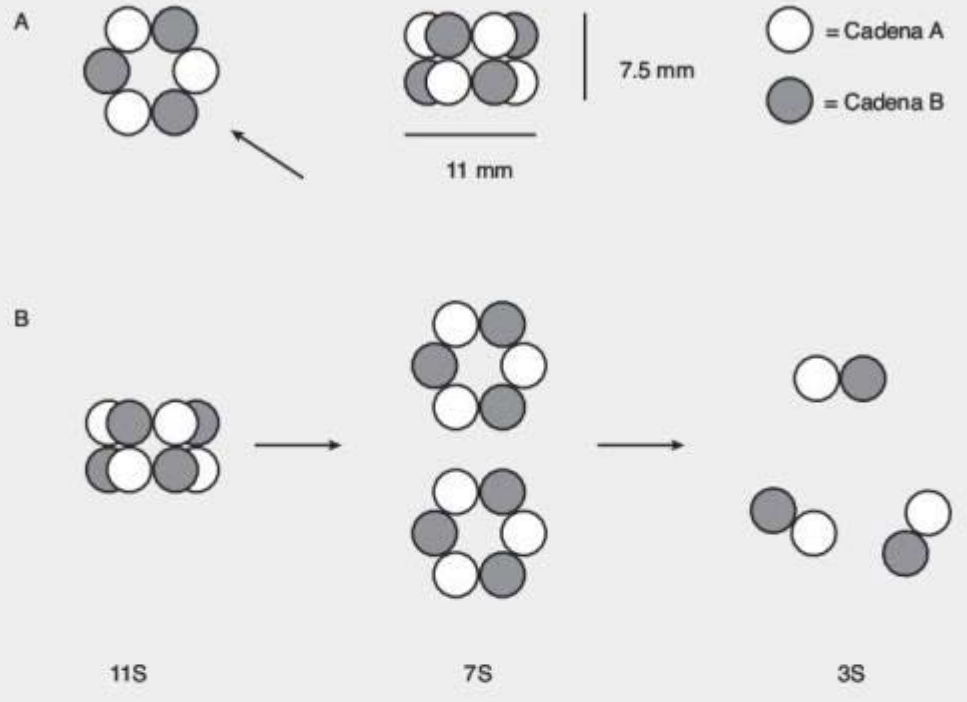
El concepto de dominio se puede extender al concepto de epítope, que es la zona de la proteína reconocida por los anticuerpos en el evento de una alergia. La desnaturalización que sufren las proteínas alimentarias cuando son procesadas podrían cambiar la estructura terciaria, modificar su estructura tridimensional y por lo tanto si un epítope es desnaturalizado, se eliminaría la porción alergénica.[184]

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 hidrofóbicas 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, etc. Cualquiera de estos complejos constituye 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 rango de pH entre 5 y 8, y como un octámero en el rango de pH de 3 a 5, y como un monómero arriba del pH 8, las unidades monoméricas de este complejo son idénticas. La hemoglobina es un tetrámero formado de dos diferentes cadenas polipeptídicas y se les distingue como cadenas α y β.

Muchas proteínas alimentarias, en especial proteínas de cereales, existen como oligómeros de diferentes polipéptidos. Estas proteínas contienen típicamente más de 35% de residuos de aminoácidos hidrofóbicos (*Ile, Leu, Trp, Tyr, Val, Phe* y *Pro*). Además contienen de 6 a 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-conglicina y glicina, contienen arriba de 41 y 39% de residuos hidrofóbicos, respectivamente. La β-conglicinina es una proteína trimérica formada por 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 las cuales 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 3.27).

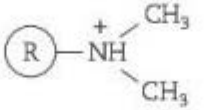
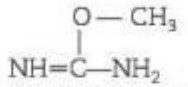
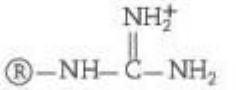
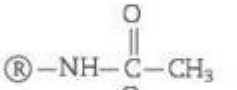
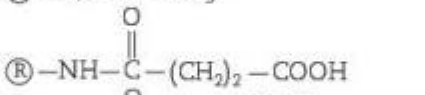
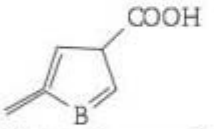
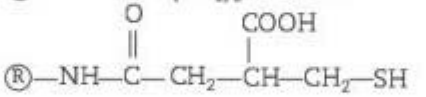
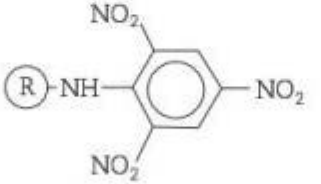
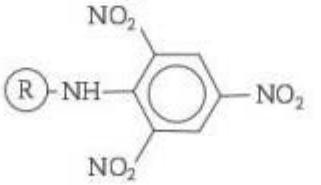
Figura 3.27 Ilustración de las variantes de asociación y disociación de las subunidades A y B de glicina (soya).[123]



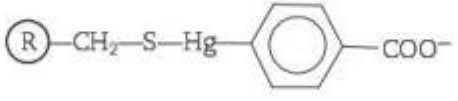
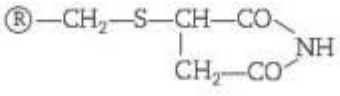
Detección y cuantificación de aminoácidos, péptidos y proteínas

Los grupos amino y carboxilo en los aminoácidos libres, así como las cadenas laterales que contienen grupos sulfhidrilo, fenólico, hidroxilo, tioéter, imidazol y guanidino en las proteínas, son capaces de reaccionar químicamente con otras moléculas orgánicas. La inestabilidad química de péptidos y proteínas ha sido revisada exhaustivamente,[154] y las reacciones típicas de las cadenas laterales se presentan en el cuadro 3.6. Algunas de estas reacciones se utilizan en la industria alimentaria para modificar las propiedades de hidrofobicidad e hidrofilicidad 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 3.6. Por ejemplo, las reacciones de los aminoácidos con la ninhidrina, el o-ftalaldehído, o con fluorescamina se utilizan regularmente en la cuantificación de aminoácidos.

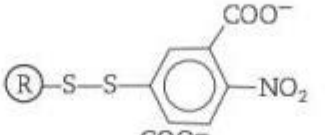
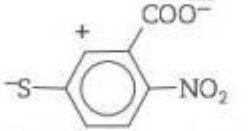
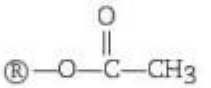
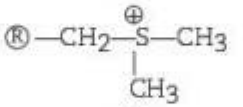
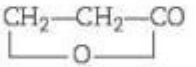
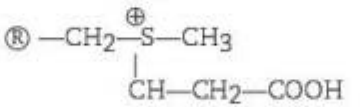
CUADRO 3.6 **Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas[28]**

Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto	Comentarios
A. Grupos amino			
1. Alquilación reductiva	$HCHO, NaBH_4$ (formaldehído)		Útil para marcaje radiactivo de proteínas
2. Guanidación	 (O-metilisourea) pH 10.6, 4C por 4 días		Convierte la cadena lateral de lisina en homoarginina
3. Acetilación	Anhídrido acético		Elimina carga (+)
4. Succinilación	Anhídrido succínico		Introduce carga (–) en los residuos de lisina
5. Tiolación	 (Ácido tioparacónico)		Elimina carga (+) e inicia grupo tiol en los residuos de lisina
6. Arilación	1-Fluoro-2,4-dinitro-benceno (FDNB)		Usado para la determinación de grupos amino
	Ácido 2,4,6-trinitro-benceno sulfónico (TNBS)		El coeficiente de extinción es 1.1×10^4 M^{-1} cm^{-1} a 367 nm; usado para determinar residuos de lisina reactiva en proteínas

CUADRO 3.6 Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas[28]

Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto	Comentarios
7. Desaminación	1.5 M $NaNO_2$ en ácido acético, 0C	$R—OH + N_2 + H_2O$	
B. Grupos carboxilo			
1. Esterificación	Metanol acidificado	$®—COOCH_3 + H_2O$	Hidrólisis del éster sucede a pH > 6.0
2. Reducción	Borohidruro en tetrahidrofurano, ácido trifluoroacético	$®—CH_2OH$	
3. Descarboxilación	Ácido, álcali, tratamiento térmico	$R—CH_2—NH_2$	Sucede sólo con aminoácidos, no con proteínas
C. Grupo sulfhídrido	Ácido perfórmico	$®—CH_2—SO_3H$	
1. Oxidación	$CH_2—CH_2$ \ / NH (etilenimina)	$®—CH_2—S—(CH_2)_2—NH_3^+$	Introduce grupo amino
2. Bloqueo	ácido yodoacético	$®—CH_2—S—CH_2—COOH$	Introduce grupo amino
	CH — CO ‖ O CH — CO (Anhídrido maleico)	$®—CH_2—S—CH_2—COOH$ | $CH_2—COOH$	Introduce dos cargas negativas por cada grupo SH bloqueado
	p-mercuribenzoato		El coeficiente de extinción de este derivado a 250 mm (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
	N-Etilmaleimida		

CUADRO 3.6 **Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas[28]**

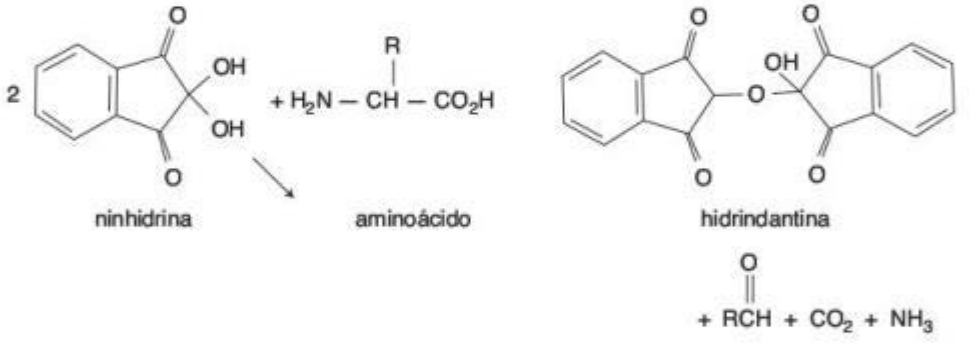
Tipo de reacción	Reactivos y condiciones	Producto	Comentarios
	5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB)		Se libera una mol de tionitrobenzoato; la E_{412} de tionitrobenzoato es 13,600 M^{-1} cm^{-1}; esta reacción se usa para determinar grupos SH en proteínas
		 (Tionitrobenzoato)	
D. Serina y treonina			
1. Esterificación	$CH_3—COCl$		
E. Metionina			
1. Haluros de alquilo	CH_3I		
2. β-Propiolactona			

Fuente: Damodaran, 1996 en Fennema.

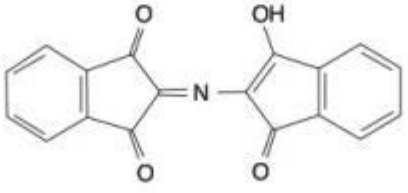
Reacciones químicas de los grupos funcionales de las proteínas y métodos de tinción

Reacción con ninhidrina

El aminoácido reacciona con un exceso de ninhidrina (Ec. 5), que causa una desaminación oxidativa y la producción de amoniaco, el aldehído correspondiente que tiene un átomo menos de carbono que el aminoácido original, CO_2 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 en capa fina (TLC), así como para la determinación colorimétrica de aminoácidos utilizada en los analizadores de aminoácidos que requieren primero la hidrólisis de la proteína hasta aminoácidos libres, los cuales son separados utilizando cromatografía de intercambio iónico/hidrofóbica. Los eluídos 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 puede ser utilizado más adelante.



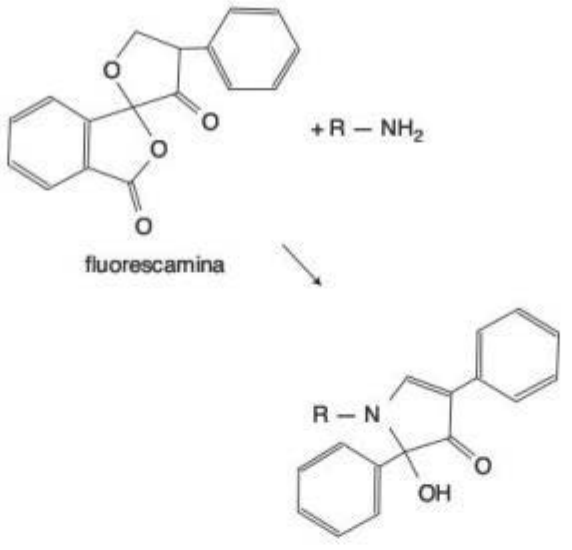
(Ec. 5)



(Ec. 6)

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), lo que permite cuantificarlos de manera más sensible y sin las desventajas de la ninhidrina. El grupo amino que ha reaccionado se puede recuperar con alto rendimiento por hidrólisis ácida y se puede identificar 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 pueden ser analizados directamente.

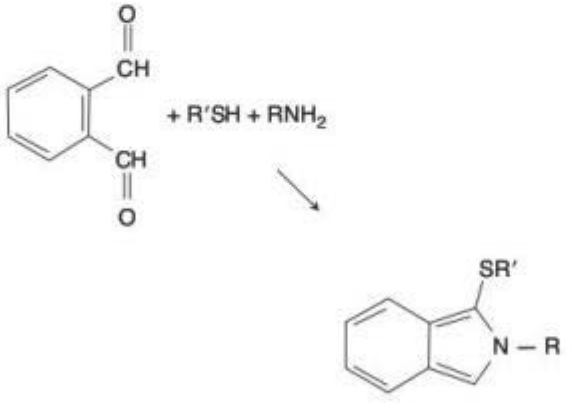


(Ec. 7)

Reacción con O-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, la fluorescamina y el O-ftalaldehído no son específicos para proteínas porque reaccionan con otros grupos amino.



(Ec. 8)

Métodos de tinción

Uno de los métodos más útilizados en el laboratorio para identificar proteínas utiliza la tinción, lo que permite identificarlas entre otros componentes del alimento.

Uno de los reactivos que comúnmente se utiliza para teñirlas 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, e involucra los grupos básicos de las proteínas, por lo que el colorante no se unirá de igual 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 Comassie R250 se utiliza sobre todo para la tinción de proteínas en geles, con lo que las proteínas quedan fijas e insolubles en el gel. Es posible detectar aproximadamente 0.1 μg de proteína en geles de poliacrilamida.

El más sensible de los reactivos para teñir proteínas fijadas en un gel o en un *blot* es la tinción de plata, que 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.

Cuantificación de proteínas

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

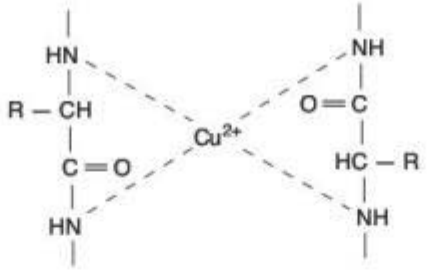
Absorbancia a 280 nm

Las proteínas son fácilmente detectadas y cuantificadas por sus propiedades de absorbancia en la región artomática de UV a 280 nm, 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, siempre que no haya sustancias que también absorban a esa longitud de onda. Es necesario conocer el coeficiente de absorción molar para poder calcular su concentración. Son los aminoácidos aromáticos *Tyr, Trp* y *Phe*, los que contienen dobles ligaduras que absorben en ultravioleta con $\lambda_{máx}$ de 274.5, 278 y 260 nm, respectivamente. Hay que considerar también que, por su estructura química, todos los aminoácidos 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, ya que 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.[31] 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 utilizarse 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.

En un método idealizado, las cuantificaciones de proteínas tomarían 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.[174] Con esta consideración por lo general se utiliza una proteína como la albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) 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 cuantificar 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, de lo que resulta un compuesto de color entre púrpura y violeta que absorbe a 540 nm,

probablemente obtenido por el acomplejamiento del Cu^{+2} con dos enlaces peptídidos adyacentes (Ec. 9).



(Ec. 9)

En condiciones alcalinas el ion cúprico (Cu^{+2}) tiende a oxidar la cadena peptídica que se reduce a Cu^{+}. Dado que el grupo –NH del enlace peptídico está involucrado en la reacción, los residuos de *Pro* no participan y las proteínas con alto contenido de ella producen respuestas bajas. La desventaja de la técnica de biuret es su baja sensibilidad, pues se requieren 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 asimismo con la reacción. El desarrollo de color es diferente para cada proteína, y los lípidos e hidratos de carbono interfieren al formar complejos con el ion 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 fosfomolíbdico-túngstico (Ec. 10).

$$3H_2O \cdot P_2O_5 \cdot 13WO_3 \cdot 5MoO_3 \cdot 10H_2O$$
$$3H_2O \cdot P_2O_5 \cdot 14WO_3 \cdot 4MoO_3 \cdot 10H_2O \qquad \text{(Ec. 10)}$$

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, debido a que son la *Tyr, Trp, His* y *Asn* los residuos que participan en la reacción y la *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 μg/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 y producen un color azul o inhiben 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 5.3 y proteínas de leguminosas factores de 5.41 a 6.25 (vea el cuadro 3.24).[48,189] 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.

Caracterización de proteínas

Las proteínas de los sistemas alimentarios se distinguen por propiedades como su peso molecular, su punto isoléctrico, su secuencia de proteínas y propiedades estructurales, que requieren de técnicas específicas para su análisis. Aquí no se hará una revisión exhaustiva, pero se ilustran los ejemplos más representativos.

Tras la extracción con los solventes adecuados de acuerdo con su naturaleza, se puede tener una idea de cuántas proteínas están presentes en algún producto por medio de técnicas como electroforesis. Posteriormente se puede intentar su separación empleando técnicas cromatográficas, como filtración en gel o HPLC (High Performance Liquid Cromatography). Las proteínas presentes en el gel pueden ser eluídas, directamente o tras algún paso de purificación, e identificadas mediante las técnicas de secuenciación. Sus características estructurales pueden ser analizadas mediante técnicas como calorimetría diferencial, dicroísmo circular y espectroscopía de infrarrojo.[171]

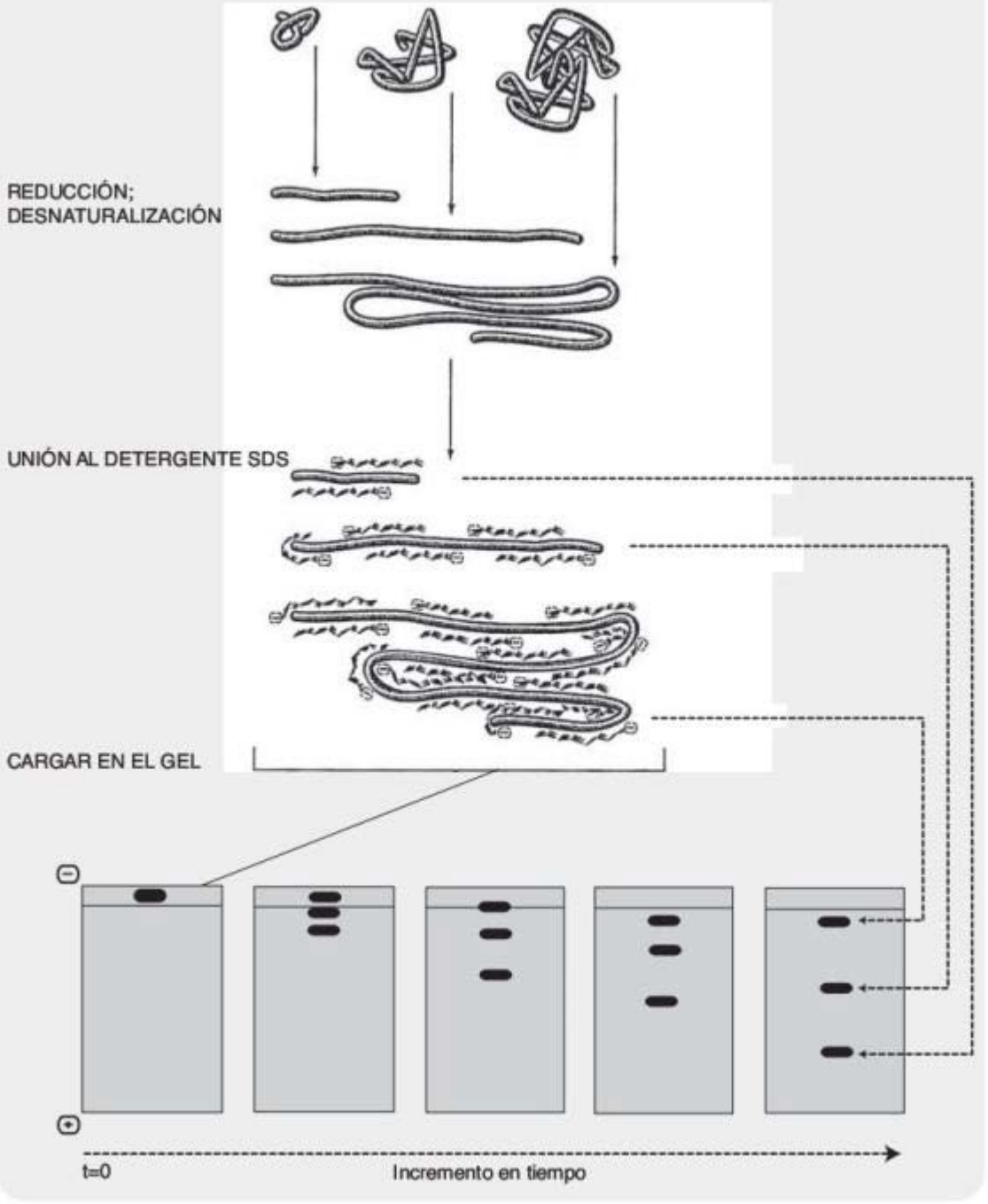
Determinación de peso molecular

El peso molecular de las proteínas es muy variable, pero puede considerarse que va de un mínimo de, aproximadamente, 3550 daltones, para el caso del glucagon, hasta varios cientos de miles o incluso millones de daltones en algunas fracciones de soya o gluteninas del trigo. Actualmente son la electroforesis y la filtración en gel los métodos más aplicados para el estudio del peso molecular, si bien las técnicas que involucran espectrometría de masas pueden proporcionar valores más exactos. Variantes de estas metodologías, como el isoelectroenfoque, pueden permitir la determinación del punto isoeléctrico.

Electroforesis

Esta metodología permite separar a las proteínas por sus diferencias en peso o en carga. Como ya se discutió, las proteínas son anfolitos debido a las cargas de algunas de sus cadenas laterales, y cuando se someten a un campo eléctrico pueden migrar hacia el polo de carga contraria a su carga neta; deben estar disueltas en un amortiguador con un pH determinado. La velocidad de migración está dada en función de la carga neta e influida 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. Se les denomina 1D o 2D-PAGE (siglas de *polyacrilamide gel electrophoresis*). Pueden realizarse electroforesis en condiciones nativas, en las que las proteínas migran conservando su diversidad y propiedades físicas, en especial su punto isoeléctrico y peso molecular, o bien en condiciones desnaturalizantes donde se anula el efecto de forma y carga de la proteína y sólo se separan por peso molecular. Para lograrlo, se utilizan tiol-reductores fuertes como mercaptoetanol y ditiotreitol (DTT) y un detergente desnaturalizante fuerte: el dodecil sulfato de sodio (SDS) (figura 3.28).

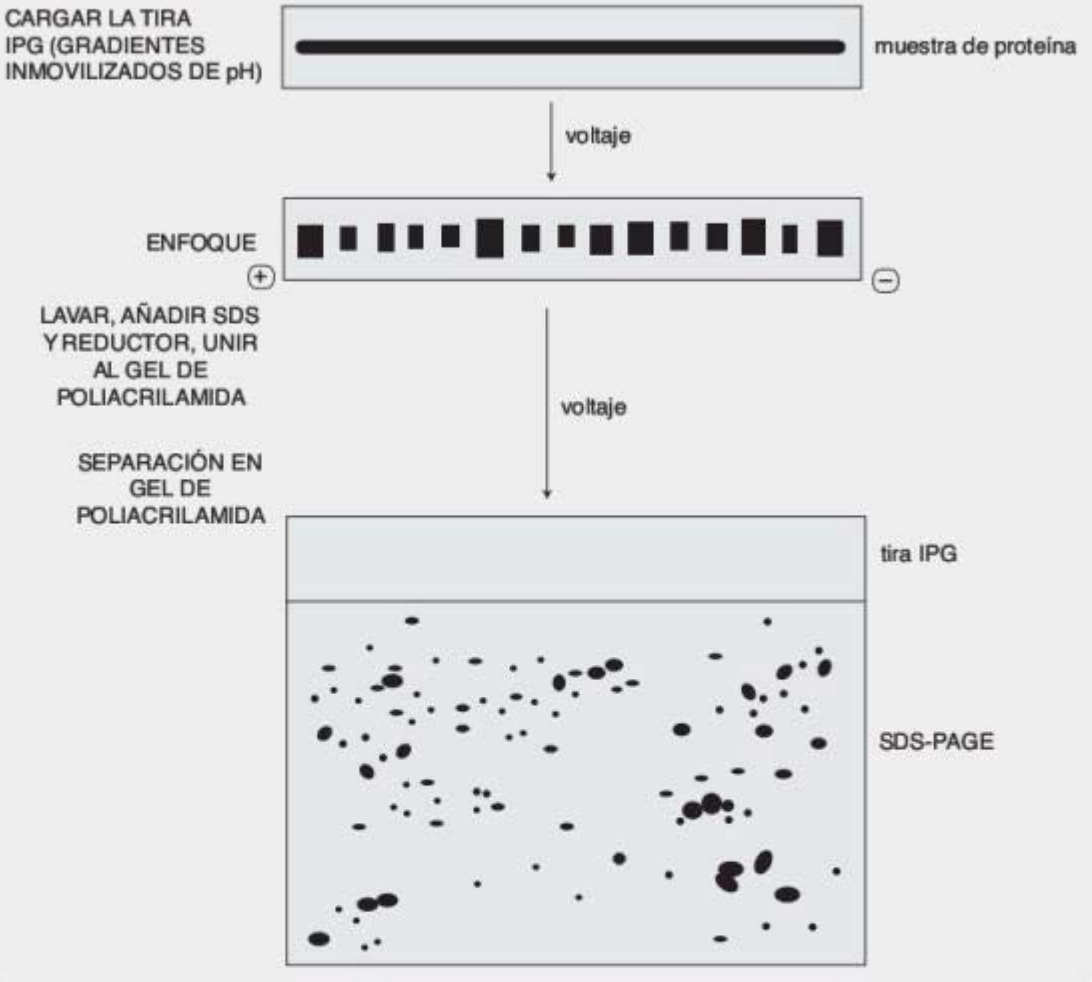
Figura 3.28 Esquema de la electroforesis desnaturalizante en poliacrilamida (SDS-PAGE) en una dimensión (1D).[109]



Es posible utilizarla en una sola o en dos dimensiones (2D).

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 3.29). Esta podero-

Figura 3.29 Esquema de la electroforesis desnaturalizante en poliacrilamida (SDS-PAGE) en dos dimensiones (2D).[109]



sa técnica se ha convertido en un sinónimo de Proteómica y el mejor método para la resolución de mezclas complejas de proteínas.

Una vez realizadas las separaciones, pueden ser eluídas del gel y sometidas a otras técnicas de análisis, como las técnicas de espectrometría de masas.

Una técnica destructiva que permite detectar también las proteínas presentes en una muestra es la electroforesis capilar, que se realiza en un equipo que genera un campo eléctrico continuo, y las moléculas se disuelven en un fluido semiconductor (disolución amortiguadora). Esta técnica adquiere cada vez más relevancia en el campo de las proteínas alimentarias, debido a que permite detectar adulteraciones por sustitución de proteínas: leche de vaca en leche de oveja, proteínas lácteas en productos lácteos, carne de res en sustitución de la de carnero, por ejemplo;[124] otras aplicaciones incluyen la distinción entre variedades silvestres y transgénicas, e incluso modificaciones en las proteínas por procesos térmicos mal llevados, como glicosilación.[22] Una gran ventaja es que es un método robusto, automatizado, que permite trabajar con pequeños volúmenes de muestra.

La estructura y modificación de proteínas de un producto determinado puede también evaluarse por técnicas como el análisis de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), como ocurre con las modificaciones de caseína por el tratamiento térmico, que conducen a glicosilación,[16,135] ya que permiten llevar a cabo análisis estructurales de las proteínas. La información obtenida puede servir para diseñar procesos, o incluso para la selección de ganado con fenotipos específicos.[157]

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 para separar las moléculas del aminoácido por su afinidad. El paso previo es la hidrólisis de la proteína a sus aminoácidos constituyentes, en condiciones muy drásticas, 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 se destruye el *Trp* por completo, probablemente por su reacción con el cloro y también un porcentaje de la *Ser* y la *Thr*, además *Asn* y *Glu* se desamidan generando *Asp* y *Glu*, respectivamente. No se produce un alto grado de racemización, a excepción de la *L-Cys*.[84] Sin embargo la *Cys* se oxida y se destruye, por lo que debe determinarse en una hidrólisis separada, con ácido perfórmico que la convierte en ácido cisteico. La hidrólisis en medio alcalino se realiza 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 por lo general son de poliestireno sulfonado. Este tipo de resina separa los aminácidos de dos maneras:

a) Sus cargas negativas dejan pasar los aminoácidos ácidos y retener los básicos; el pH del amortiguador eluyente se aumenta durante la elución para facilitar la separación.
b) 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 aún mejor. Los aminoácidos que salen de la columna se detectan con cualquiera de los tres reactivos mencionados antes. Actualmente se dispone de un 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 se puede analizar. Algunos aminoácidos presentan problemas cuando reaccionan con los compuestos utilizados para la detección; en particular la *Pro*, dado que es un aminoácido cíclico que suele reaccionar de manera diferente, o no reacciona en absoluto. Las reacciones de degradación de los aminoácidos citadas antes, pueden evitarse utilizando una hidrólisis enzimática, con una mezcla de enzimas proteolíticas, en lugar de la hidrólisis ácida. Sin embargo, este método también pre-

senta inconvenientes, porque a veces es difícil lograr una hidrólisis completa y las mismas enzimas deben eliminarse antes del análisis.

En términos de proteínas de interés en alimentos, y por su valor y calidad nutrimental, conocer la composición de aminoácidos es importante y se evalúa con parámetros conocidos como cuenta química, que relaciona el contenido de aminoácidos indispensables y no indispensables y que es diferente para niños y adultos. El cuadro 3.7 presenta un ejemplo, en el que se compara la cuenta química de una proteína vegetal proveniente de ajonjolí con el patrón general de referencia para niños y adultos.

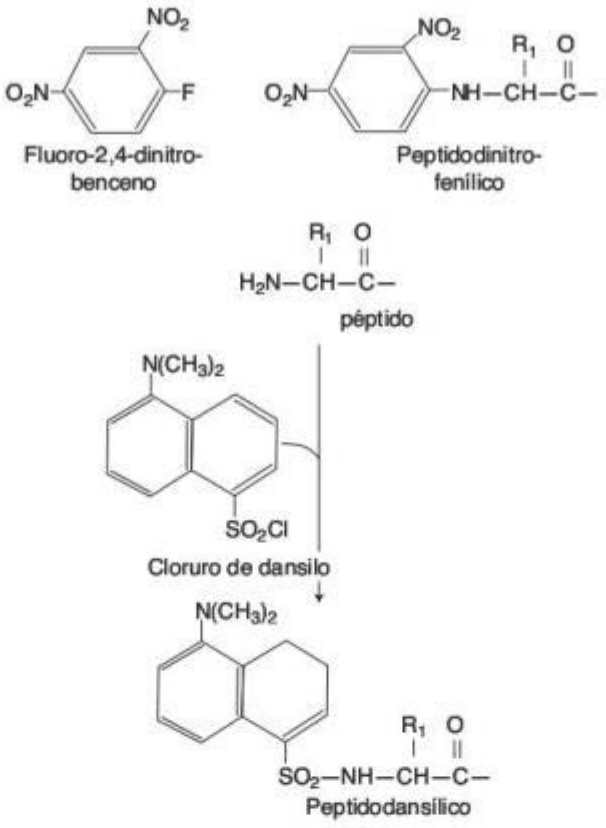
CUADRO 3.7 **Comparación de la cuenta química de una proteína vegetal proveniente de ajonjolí con el patrón general de referencia para niños y adultos**[48]

Aminoácido esencial	Contenido en ajonjolí ($mg_{aa}/g_{proteína}$)[a]	Patrón general ($mg_{aa}/g_{proteína}$)[b]	Cuenta química general (%)[c]	Requerimiento de adultos ($mg_{aa}/g_{proteína}$)[b]	Cuenta química para adultos (%)[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, datos originales.
[b] Fuente: FAO/WHO/UNU, 1985.
[c] Calculada con respecto al patrón.
[d] Calculada con respecto al requerimiento de adultos.

Determinación de amino y carboxilo terminales y secuenciación

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-dinitrobenceno (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 demetilaminonaftilsulfonilo, se obtiene en condiciones fuertemente alcalinas, con la ventaja de que es altamente fluorescente.[115, 31]



(Ec. 11)

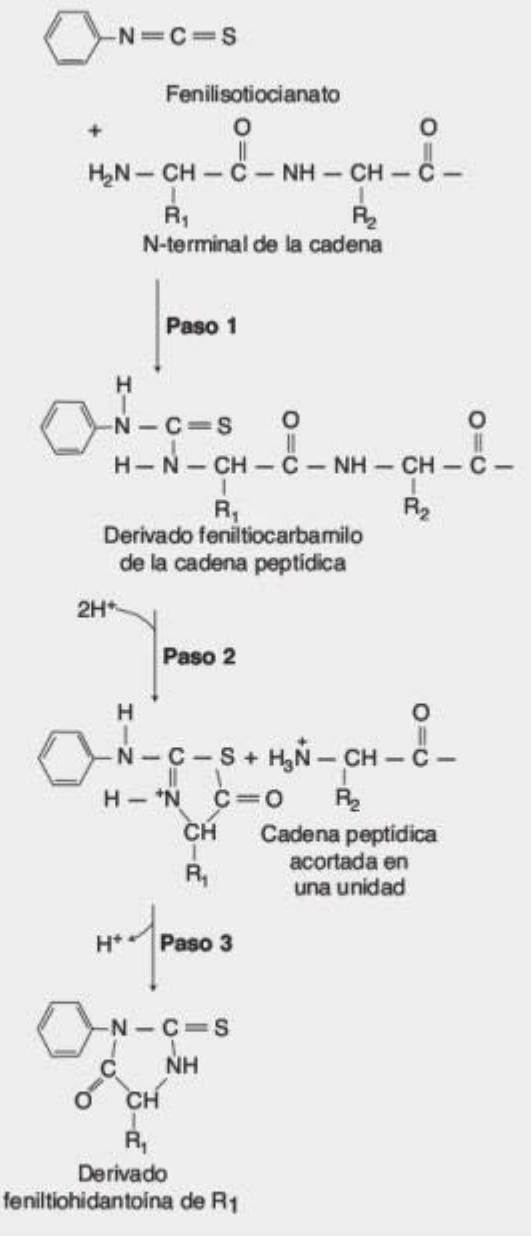
Pehr Edman descubrió una secuencia de reacciones que permiten identificar los N-terminales y que al realizarse repetidamente permiten identificar la secuencia completa de los polipéptidos en cuestión (figura 3.30). El reactivo utilizado por Edman es el fenilsiotiocianato, que reacciona con el amino terminal para producir el feniltiocarbamilo del péptido.

Posteriormente se trata con un ácido anhidro fuerte que rompe el enlace peptídico entre los aminoácidos 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, sino que además 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 todos en una proteína. Es el caso de una proteína desconocida que ha sido expresada, por ejemplo, por una célula modificada. Es posible someter a las proteínas a una hidrólisis con enzimas proteolíticas altamente específicas, para luego identificar los aminoterminales de los péptidos generados, e ir armando el "rompecabezas" al compararlos con bases de datos que cuenten con información de proteínas cuya secuencia ha sido ya elucidada. Este procedimiento se ha automatizado.

Es importante identificar la secuencia de los aminoácidos; para ello existen los dos métodos siguientes:

a) *Forma directa*. Consiste en realizar la secuenciación de la cadena polipeptídica en equipos automatizados, llamados secuenciadores de proteínas. Éstas se hidrolizan con proteasas específicas, se generan péptidos de 10 a 20 aminoácidos que pueden identificarse y secuenciarse. Los resultados se alimentan en bases de datos que contengan la información de digestiones enzimáticas provenientes de proteínas cuya secuencia haya sido elucidada.

Figura 3.30 Degradación de Edman.[115]



b) *Análisis.* Se realiza con espectrometría de masas de los péptidos generados y sus masas moleculares respectivas, acoplado a otras técnicas. Destacan el MALDI-TOF.MS *(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight-Mass Spectrometer)* o la ionización por electro-espray acoplada a masas.[113] Los resultados que se obtienen deben compararse contra bases de datos que contienen información sobre proteínas previamente secuenciadas y permitirán identificar las muestras desconocidas.

Una amplia gama de información se encuentra en las bases de datos públicas en línea que mantienen las instituciones como el Swiss Institute of Bioinformatics (SIB) y el European Bioinformatics Institute (EBI). A continuación se enlistan las tres más importantes:

- ExPASy Bioinformatics Reasource portal: http://expasy.org/tools/
- El European Molecular Biology Lab (EMBL) cuenta también con una base que se comparte con UniProt: EMBL-EBI: http://www.ebi.ac.uk/Databases
- UniProtKB: http://www.uniprot Cuenta con dos secciones: UniProtKB/Swiss-Prot y UniProtKB/TrEMBL-EBI. http://www.ebi.ac.uk/Databases/ es una base de datos que apoya a las dos más importantes fuentes de información sobre secuencias de proteínas.

En estos sitios en línea es posible aprovechar la información de la secuencia de proteínas, y tienen la posibilidad de compararlas con las secuencias del banco de datos, así como la relación que guardan con sus genes. Existen otros bancos de datos que permiten relacionar estructura con función y con secuencias de proteínas alergénicas como la base Structural Database for Allergenic Proteins (http://fermi.utmb.edu/SDAP/sdap_ver.html) y otras revisadas por Gendel y Jenkins.[63]

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 trae como consecuencia pérdidas en las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no en la primaria; lo cual significa 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 esa estructura con el solvente acuoso y en algunos casos 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. Cuando éstas cambian, ocurren modificaciones conformacionales. Éstos son cambios térmicos, químicos o efectos mecánicos inducidos por calentamiento o enfriamiento, o 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-placa plegada, por lo general la desnaturalización se considera una pérdida de la estructura ordenada. Es común relacionar la desnaturalización con daños a la proteína, debido a 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 la funcionalidad, como cuando se aumenta la digestibilidad, o bien para aumentar sus propiedades de espumado y emulsificación por el desdoblamiento de las moléculas que favorece la estabilización en interfases cuando se logra la exposición de sitios hidrofóbicos que interactúan con la fase orgánica o hidrofóbica de una emulsión.

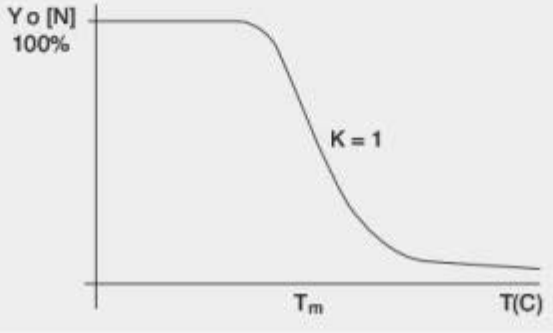
Termodinámica de la desnaturalización

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 su realización de forma reversible, para lo cual se requiere que, una vez eliminado el agente desnaturalizante, la proteína pueda regresar a su confirmación 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, debido a que los cambios en conformación modifican la orientación de los distintos grupos funcionales de las proteínas, lo que resulta en 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.

En vista de lo anterior, 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 la pérdida de la estructura nativa globular 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 incrementa 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 las formas nativa y desnaturalizada (figura 3.31).

Figura 3.31 Gráfica 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 Tm = temperatura de *melting*.



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 el cambio de temperatura, y en el eje de las X se muestra una concentración de un agente desnaturalizante o pH. La medición de actividad tiene dos estadios: Y_N y Y_D. De forma general, a medida que aumenta la temperatura o la concentración del agente desnaturalizante, y mientras éstas se encuentran en valores bajos, los valores de Y se mantienen constantes hasta alcanzar un valor crítico a partir del que los valores presentados por la característica Y disminuyen súbitamente pasando de Y_N a Y_D con una característica particular; esto ocurre en un intervalo corto de valores de X, es decir, de valores de temperatura, o en su caso, de concentración del agente desnaturalizante. El abrupto cambio indica que el proceso de transición es cooperativo, dado que sólo a partir de una cierta cantidad de calor aplicado en una termodesnaturalización se alcanza la transición térmica, cuando se logra 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; de hecho, se considera que en solución se encuentran constantemente en transición $N \rightleftharpoons D$, pero 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, de la transición entre las moléculas en estado Nativo (N) y desnaturalizado (D). Se describe de la siguiente manera:

$$[N] \rightleftharpoons [D] \qquad \text{(Ec. 12)}$$

Con una constante de equilibrio:

$$K_D = [D] / [N] \qquad \text{(Ec. 13)}$$

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

$$Y = Y_N f_N + Y_D f_D \qquad \text{(Ec. 14)}$$

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:

$$f_N + f_D = 1 \qquad \text{(Ec. 15)}$$

y su constante de equilibrio sería:

$$K = f_D / f_N \qquad \text{(Ec. 16)}$$

de donde se deduce que

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

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

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

Entonces,

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

Tm, temperatura de fusión, o de *melting*, es la temperatura en la que la mitad de las moléculas se encuentran desnaturalizadas [D] y la otra mitad en estado nativo [N]. A altas temperaturas $K >> 0$ y a bajas temperaturas $K << 1$ si $Y \approx Y_N$.

Si $Y = Y_N f_N + Y_D f_D$, entonces de la combinación de las ecuaciones 14 y 15[194] resulta la fracción desnaturalizada como:

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

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

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

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

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

Es posible graficar $-RT \ln K$ contra la concentración del agente desnaturalizante en la región de la transición conformacional, lo que da como 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.

Desnaturalización por cambios de temperatura

Para la desnaturalización térmica se presenta el caso específico que se analiza a continuación, a partir de la ecuación 22.

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

y la ecuación

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \qquad \text{(Ec. 23)}$$

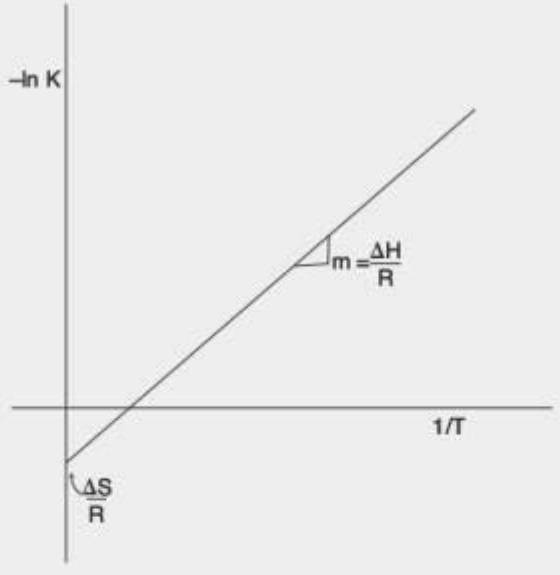
entonces

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

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

La aplicación de calor es uno de los agentes desnaturalizantes que se utilizan con mayor frecuencia en alimentos, debido a 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

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



que también se afectan las propiedades funcionales del alimento, es importante realizar un análisis de los procesos termodinámicos involucrados.

Como mencionamos antes, calentar una proteína ya calentada propicia 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. Al afectarse los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van der Waals, y las interacciones electrostáticas, que por naturaleza son impulsadas por la entalpía ΔH —lo que implica que son exotérmicas—, 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. 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 relacionado con su naturaleza, también se desordenan al elevarse la temperatura si sobrepasan valores de 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 a medida que se eleva la temperatura por arriba de los 60 y 70 °C; las otras interacciones no covalentes se debilitan y la entropía conformacional disminuye al desordenarse 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 $K_D = 1$.[36]

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: la carboxipeptidasa A que no puede almacenarse a temperaturas de congelación pues corre el riesgo de desactivarse, y la estabilidad de la mioglobina es máxima a 30 °C. En este último caso, cuando su temperatura disminuye se desestabiliza, igual que si se baja de cero grados y se desnaturaliza por frío. Así pues, la frecuencia de las distintas interacciones no covalentes es la que define la temperatura de mayor estabilidad, por lo que las proteínas con mayor cantidad de interacciones hidrofóbicas se conservan mejor a temperatura ambiente que en refrigeración, como sucede con la glicinina de soya.[123,79]

De lo anterior se deduce que un factor más, involucrado en la termodesnaturalización, es el contenido y tipo de aminoácidos predominante en las proteínas; de éstas, las proteínas que poseen altos contenidos de aminoácidos hidrofóbicos como *Val*, *Leu*, *Ile* y *Phe* resultan por lo general más estables.[206]

La naturaleza también se ayuda de este tipo de estrategias para lograr mayor estabilidad térmica. El cuadro 3.8 muestra el contenido diferencial de *Lys* y *Arg* de la gliceraldehído-3-fosfatodeshidrogenasa, enzima que está constituida por 321 a 331 residuos, según la especie de la que se obtenga.

En el cuadro 3.8 se observa que en las diferentes especies no cambia radicalmente el número total de cargas positivas, y por ello 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 la 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, incluidas sales y posibles inhibidores o inactivadores de las proteínas. Además, el crecimiento de los cristales de hielo causa daño físico a los tejidos y se fuga el contenido celular donde comúnmente se hallan proteasas que dañan a otras proteínas celulares. Este proceso ya no es una desnaturalización en el sentido estricto del término, pues en él se involucra la hidrólisis de enlaces peptídicos.[80]

Una aplicación práctica de la desnturalización térmica se maneja durante el procesamiento de alimentos; en las verduras que serán congeladas es necesario lograr la desactivación de enzimas como lipoxidasas y lipoxigenasas. Asimismo en la leche se utiliza la degradación de una enzima 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

CUADRO 3.8 **Composición de aminoácidos básicos *Lys* y *Arg* de la enzima gliceraldehído-3- fosfato deshidrogenasa**

Aa	Langosta	Levadura	*E. coli*	*Bacillus cereus*	*B. stearo-thermophilus*	*Thermus aquaticus*	*Thermus thermophilus*
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. Klibanov. Massachusetts Institute of Technology.

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, con lo que disminuyen las temperaturas de desnaturalización (Td). La estrategia para proteger de la desnaturalización térmica a una proteína en medio acuoso, por lo general recurre a la adición de azúcares que pueden actuar como protectores, o bien por la adición de concentraciones moderadas de cloruro de sodio.[33,61] 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 causante de la estabilización frente a la temperatura.[121] Conocer el comportamiento del agua en las proteínas que se diseñan por ingeniería de proteínas o por ingeniería genética es muy importante para lograr el comportamiento esperado respecto de su termoestabilidad en medio acuoso o en condiciones de deshidratación. Se sabe que aminoácidos como la lisina y la arginina permiten escudar los puentes de hidrógeno del esqueleto polipeptídico, de manera 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.[65]

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, el tratamiento alcalino se aplica con mayor frecuencia. Se utiliza para elevar la concentración de proteína y requiere una solubilización alcalina a valores de pH cercanos a 10.[111] Con este proceso se busca modificar las estructuras originales de las proteínas para aumentar su potencial tecnológico y mejorar sus propiedades funcionales, aunque en estas condiciones es frecuente encontrar 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.

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 de hasta 12 moles/L, que aunado a su pequeño tamaño molecular les permite penetrar fácilmente en las moléculas proteínicas.

Las interacciones que se ven más 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

Figura 3.33 Estructuras de cloruro de guanidinio y urea.

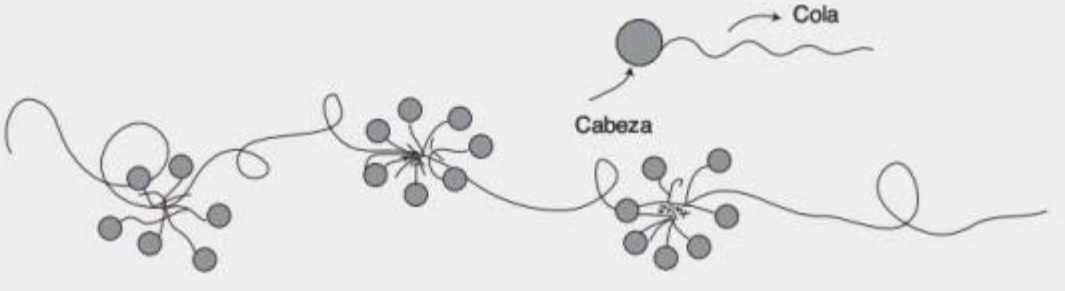


agente desnaturalizante es el único que logra formar cadena al azar, que se estabiliza en su nuevo estado desnaturalizado con los puentes de hidrógeno formados con la propia urea, en lugar de los antiguos puentes intramoleculares. Los puentes disulfuro no se ven afectados con estas sustancias.

Desnaturalización con detergentes

En el laboratorio es frecuente utilizar detergentes para el estudio de proteínas desnaturalizadas, gracias a la capacidad de sus moléculas amfifílicas, como el dodecil sulfato de sodio (SDS) ($CH_3(CH_2)_{11}OSO_3^-Na^+$), que si se encuentra en concentraciones por debajo de la concentración micelar crítica, sólo 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, a la manera en que interactúan también las proteínas con los lípidos (figura 3.34).

Figura 3.34 Esquema de una cadena proteínica abierta que muestra 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.



Desnaturalización con solventes 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. Existen 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 solventes 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, como sigue:

$$F = (q_1 \cdot q_2)/\epsilon\, r^2, \qquad \text{(Ec. 25)}$$

donde q es la carga de una partícula, r la distancia entre las partículas y ϵ 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 las positivas provienen de *Lys, His* y *Arg*, y las negativas de *Asp* y *Glu*— tiene más dificultades para lograrse en agua que 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 agitación térmica a la que están sujetas 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.[197] Los cambios de ϵ al cambiar

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.
Ac. Fórmico	58.5		

de solvente a la proteína en cuestión, necesariamente modifican 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.

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 es indispensable para las funciones catalíticas de las enzimas y 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 los estudios acerca del comportamiento y actividad enzimática en solventes orgánicos, contrario a lo esperado hasta entonces.

La remoción del agua distorsiona drásticamente la conformacíon 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 sea 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 reemplazarse 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 el 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 estos procesos al ser no polares, ya que no hay incentivo para que el agua esencial, que mantiene la conformación interna de la enzima, se particione hacia el solvente, por lo que permanece asociada a ésta. 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 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, dado que pueden particionar el agua esencial para el funcionamiento de la enzima hacia el solvente.[93] Actualmente el campo de investigación de la actividad enzimática en solventes orgánicos es muy amplio gracias a las nuevas ventajas descubiertas en la década de 1980, que permitieron recuperar a las enzimas de las reacciones en las que participan, porque esencialmente son 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 realizadas 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.

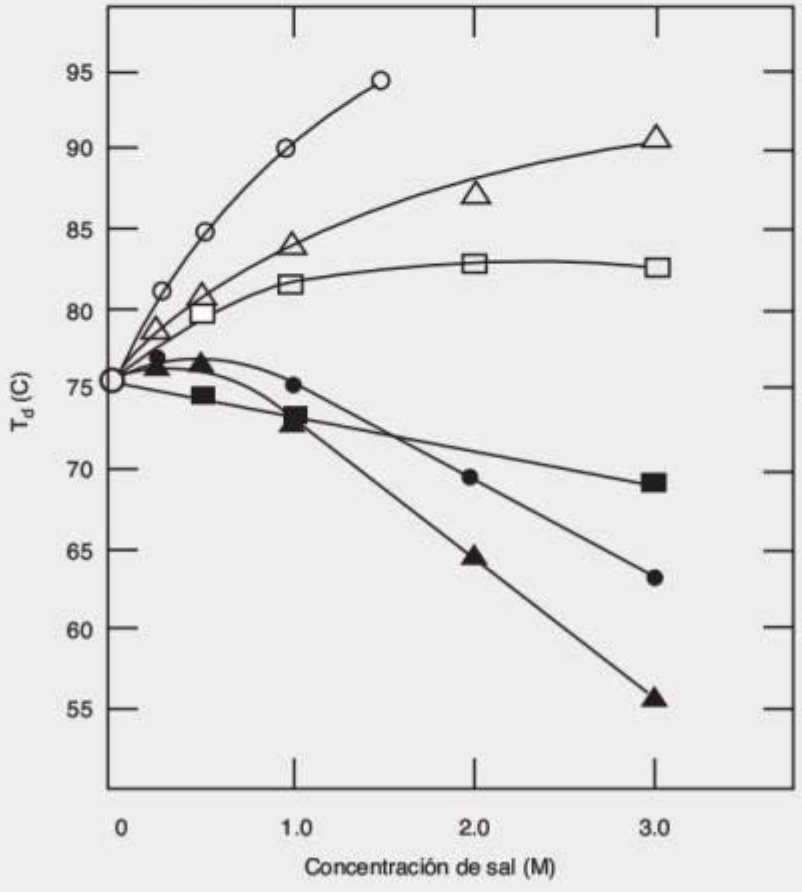
Efecto de la adición de sales en la solubilidad de las proteínas

La definición de una sal indica que es un electrolito fuerte, que se disocia con facilidad en agua donde es altamente soluble, y que no cambia notablemente 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 que 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, dado que según las series liotrópicas o caotrópicas de Hofmeister, sales como Na_2SO_4 y NaF mejoran la estabilidad estructural de las proteínas, mientras que sales como NaSCN y $NaClO_4$ la debilitan.[36,54] El mecanismo que ejercen tiene que ver más con 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 notablemente influida no sólo por la concentración, sino por la clase de iones presentes y, de hecho, son los aniones los que tienen 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).

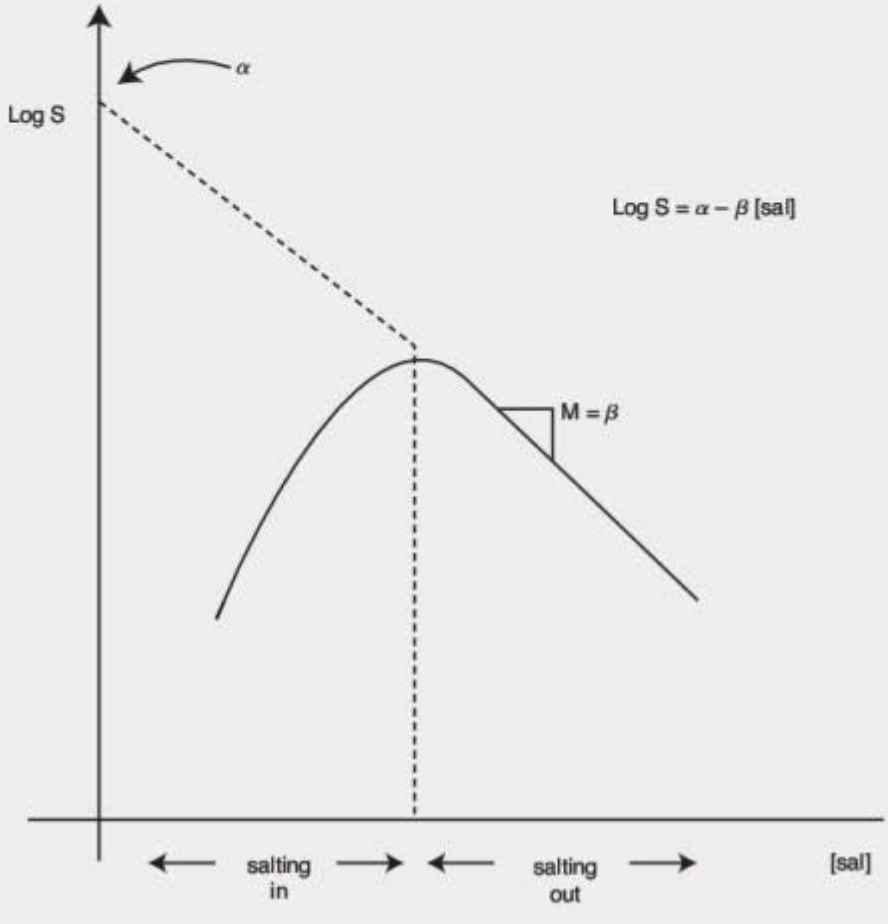
Al estudiar el efecto de la adición de diferentes sales de sodio, Damodaran[33] encontró que son los iones SO_4^{-2} los que más elevan la temperatura de desnaturalización de la β-lactoglobulina a pH 7.0, comparados con los iones $Cl^- > Br^- > ClO_4^- > SCN^-$ (figura 3.35). Lo anterior coincide con las series caotrópicas de Hofmeister donde los siguientes aniones

Figura 3.35 Efecto de varias sales de sodio en la temperatura de desnaturalización de la β-lactoglobulina.[33]



presentan diferentes capacidades para desestabilizar la estructura de macromoléculas como las proteínas o el ADN: $Cl_3CCOO^- > SCN^- > ClO_4^- > I^- > Br^- > Cl^- > SO4^{-2} > F^-$. 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 matriz de las proteínas 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.

Figura 3.36 Efectos de la concentración de sales en la solubilidad de las proteínas.



El efecto neto en la solubilidad de las proteínas dependerá de la naturaleza de la proteína y de la sal utilizada (figura 3.36), de lo que se obtiene 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 precipita otro tipo de proteínas. Las sales de iones divalentes como Mg Cl_2 y $(NH_4)_2SO_4$ son los más utilizados.

$$\text{Log } S = \alpha - \beta\,[\text{sal}] \qquad \text{(Ec. 26)}$$

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.[178]

Inactivación mecánica

Las proteínas, sobre todo las 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 adsorbe y estabiliza las burbujas de aire formadas. Para evitar este tipo de desnaturalización es necesario utilizar antiespumantes.

Proteólisis

En términos estrictos, a la proteólisis no se le considera desnaturalización, debido a que se fragmenta con ella el esqueleto polipeptídico y por ello no se trata de un cambio de conformación, sino un rompimiento irreversible de enlaces covalentes de la proteína. Asimismo, 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 que 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 manera 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 minutos, la catalasa que perdura 30 horas, o bien la lactato deshidrogenasa que permanece en el organismo por unos cuatro días.[36]

Modificaciones químicas

El procesamiento de los alimentos con frecuencia induce cambios en las proteínas a través de las operaciones que involucran la aplicación de calor para cocer, evaporar, secar, pasteurizar o esterilizar, o bien en las operaciones de fermentación, irradiación, etc. La presencia de otros componentes en los alimentos, como los lípidos que hayan sufrido reacciones de rancidez, o la presencia de azúcares reductores, complica las reacciones, igual que cuando involucra 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 y para evitar las reacciones de alergenicidad como ocurre con algunas proteínas de soya y de leche. No se pueden separar los efectos benéficos de los dañinos, por lo que debe establecerse un compromiso para minimizar las pérdidas de valor nutrimental y la presencia de sustancias tóxicas, a fin de lograr una conservación adecuada del alimento y obtener buenas características sensoriales. A pesar de sufrir desnaturalización, las proteínas sufren sólo daños ligeros en su valor nutrimental durante los tratamientos ácidos o alcalinos, a menos que éstos sean muy drásticos. Sólo se afecta su valor nutrimental si se disminuye el contenido de aminoácidos indispensables.

Tratamientos térmicos moderados

Por lo general, 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 polifenoloxidasa para evitar un oscurecimiento no deseable, como ocurre con los champiñones, las papas, etc., y en el escaldado se inactivan las lipoxigenasas. También con la pasteurización se inactivan las lipasas de la leche. Otras moléculas de origen proteínico que es deseable inactivar son las toxinas microbianas como las de *Clostridium botulinum* y *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.

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 la superficie de los alimentos; los aminoácidos sufren pirólisis y se convierten en mutágenos, de acuerdo con 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).

Los imidoaazarenos son otros mutágenos indeseables en los alimentos (figura 3.38). Provienen de la condensación de creatinina, azúcares y aminoácidos a temperaturas de entre 190 y 200 °C. Forman parte de ellos los productos derivados de la imidazoquinolina, son potentes mutágenos en sus formas metiladas y dimetiladas (IQ, MeIQ y MeIQx). La formación de estos productos se puede moderar 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 3.37 Estructura de las carbolinas.

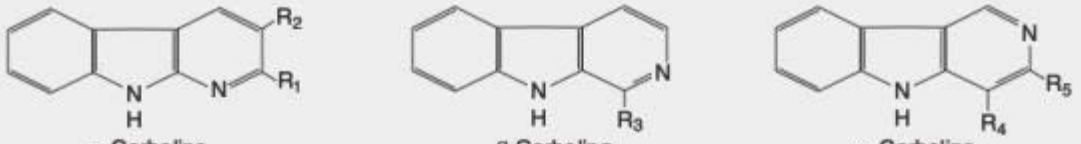
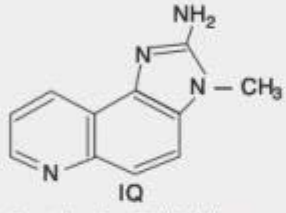
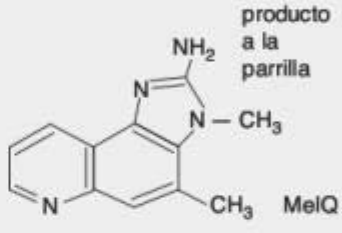


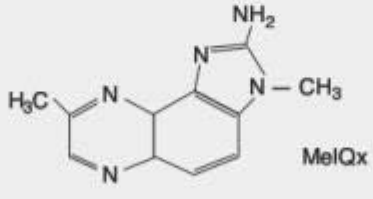
Figura 3.38 Aminoimidoaazarenos formados a temperaturas de 190-200 °C a partir de *Gly*, *Thr*, *Ala* o *Lys* en condensaciones con creatinina y azúcares en pescado a la parrilla.



2-amino-3-mtelilimidazo quinolina



2-amino-3,4-dimetil imidazoquinolina



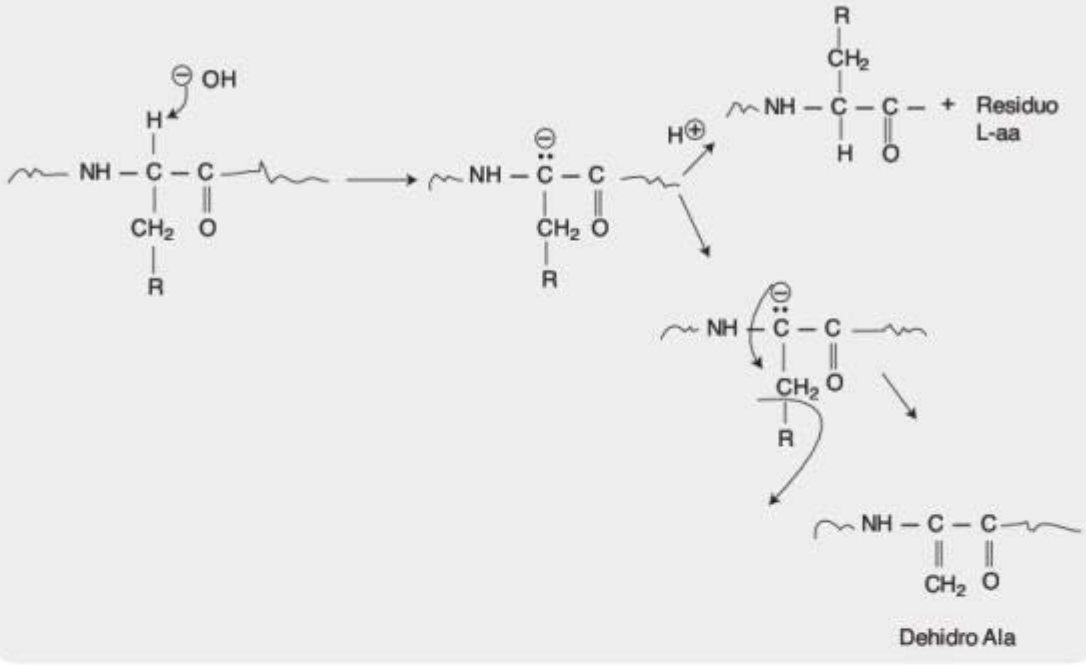
2-amino-3,8-dimetil imidazoquinolina

Racemización y formación de aminoácidos modificados

Es frecuente en los tratamientos alcalinos de acuerdo con el mecanismo que se describe en la figura 3.39.

La racemización resulta más frecuente en las proteínas (>10x) que en los aminoácidos libres sometidos al mismo tratamiento, debido a que las fuerzas intramoleculares facilitan la reacción al disminuir la E_a necesaria para la reacción, y los que más sufren la racemización son los aminoácidos cuya cadena lateral facilita por atracción electrónica la eliminación alcalina del protón antes descrito.

Figura 3.39 Racemización y β-eliminación en tratamientos alcalinos.



La racemización puede propiciar 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. Los tratamientos alcalinos también se utilizan en la producción de texturizados de proteína vegetal, y si se aúnan a un tratamiento térmico, se destruyen aminoácidos como *Arg, Ser, Thr* y *Lys*.

La consecuencia directa de la racemización es una disminución del valor nutrimental, dado que los D-aminoácido 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.

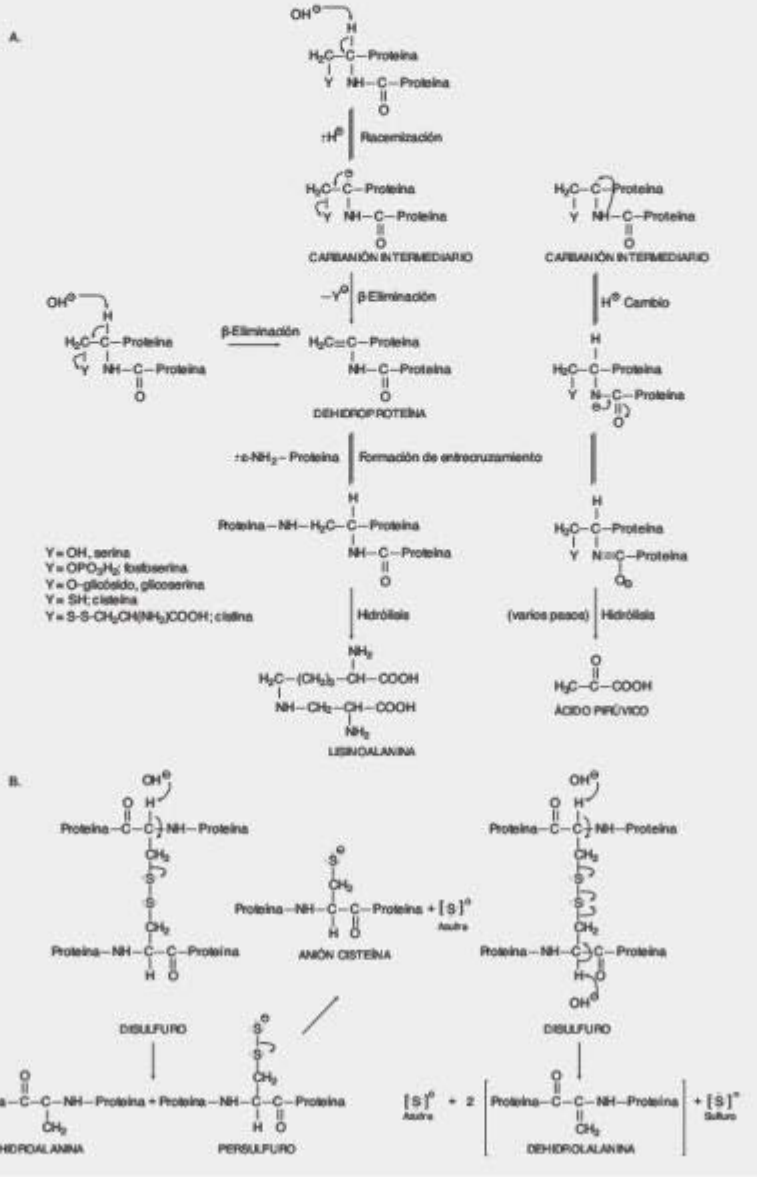
Además, la ornitina y la DHA se convierten en intermediarios de reacciones de entrecruzamiento.

CUADRO 3.10 **Disminución de valor nutrimental de leche: Pérdida de *Lys*[46]**

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 decremada (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 decremada no almacenada.

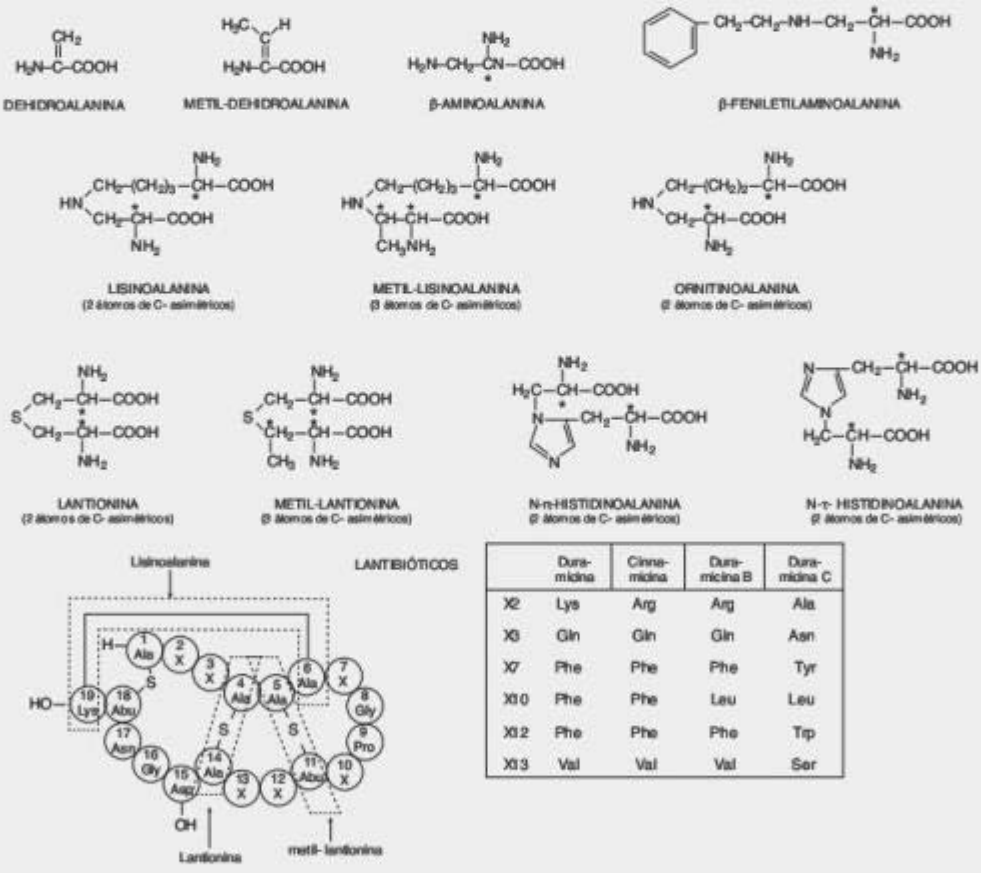
Figura 3.40 *a*) Transformación de la cadena lateral reactiva de una proteína a una cadena LAL vía eliminación y formación de un entrecruzamiento. Un ion OH^- abstrae un protón de un grupo C–H del aminoácido, para formar un carbanión que pierde su asimetría original. El carbanión puede así combinarse con un protón para regenerar el aminoácido original, que ahora es racémico, y/o sufrir una reacción de eliminación para formar una dehidroproteína. También es posible una eliminación de un solo paso, como se muestra en el lado izquierdo. La dehidroproteína puede hidrolizarse a ácido pirúvico y/o reaccionar con el NH_3 para formar la β-aminoalanina, con el grupo NH_2 de la feniletilamina para formar feniletilaminoalanina, con el ε-NH_2 de la lisina para formar LAL, con el grupo δ-NH_2 de la ornitita para formar ornitinoalanina, con el grupo NH de la histidina para formar HAL, y con el grupo SH de la cisteína para formar LAN. La adición de esos grupos a la metildehidroalanina derivada de la treonina produce compuestos metilo análogos (vea la figura 3.41) para las estructuras. *b*) Mecanismos de transformación de la cistina de una proteína a dehidrolalanina catalizados por OH^-.[59]



Entrecruzamientos

Pueden considerarse 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 (*v. gr.* el colágeno, la queratina y la elastina, que contienen ϵ-N-aspartil lisina y ϵ-N-glutamil lisina). En las proteínas que han sido tratadas con álcalis, pueden formarse puentes similares a los enlaces peptídicos no naturales, lo que diminuye su valor nutricio al formarse la DHA, que es el intermediario que reacciona tanto con *Lys* como con ornitina y *Cys* para dar lisinoalanina (LAL), ornitinoalanina y lantionina, respectivamente (figuras 3.40 y 3.41).

Figura 3.41 Estructuras de los dehidro-aminoácidos y aminoácidos entrecruzados presentes en alimentos, tejidos corporales y lantibióticos. Las estructuras de los lantibióticos fueron adaptadas de Zimmerman.[205]



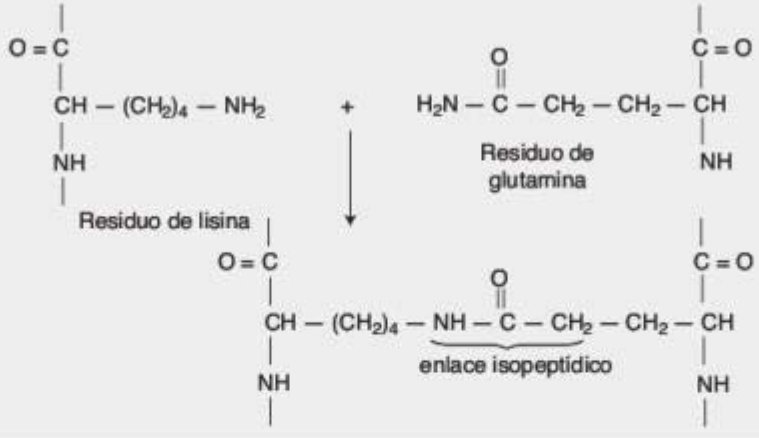
LANTIBIÓTICOS

	Duramicina	Cinnamicina	Duramicina B	Duramicina C
X2	Lys	Arg	Arg	Ala
X3	Gln	Gln	Gln	Asn
X7	Phe	Phe	Phe	Tyr
X10	Phe	Phe	Leu	Leu
X12	Phe	Phe	Phe	Trp
X13	Val	Val	Val	Ser

Además de perderse el valor nutricio 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), LAL es 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 durante procesos de esterilización, es a través de entrecruzamientos artificiales, donde existe también la formación de ϵ-N aspartil lisina y ϵ-N glutamil lisina (figura 3.42).

Figura 3.42 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.

CUADRO 3.11 **Valores de LAL en alimentos[181]**

Alimento	LAL (μg/g proteína)
Papas fritas	390
Pretzels	500
Harina de 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

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 de las tortillas, a pesar del proceso de nixtamalización previo a su elaboración, consistente en una cocción fuertemente alcalina, los valores son de los más bajos entre los ejemplos reportados, como se aprecia en el cuadro 3.11.

Las radiaciones ionizantes son capaces de formar indirectamente entrecruzamientos que dañan el valor nutricio de las proteínas. Un mecanismo lo constituye la producción de radicales libres de ·OH provenientes de la ionización del agua, que pueden inducir la formación de entrecruzamientos en las proteínas de acuerdo con el siguiente esquema simplificado:

$$\mathbf{P + \cdot OH \rightarrow P\cdot + H_2O} \qquad \text{(Ec. 27)}$$

$$\mathbf{P\cdot + P\cdot \rightarrow P - P} \qquad \text{(Ec. 28)}$$

Otra forma de entrecruzamientos no naturales es la causada por el intercambio S–S que ocurre por calentamientos moderados (70-90 °C), causantes también de polimerización de las moléculas proteínicas, pero no daña el valor nutricio de los aminoácidos indispensables.

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* oxidado. En el caso de *Cys* y cistina, también se forma 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 sistina mono o sisulfóxido y cistina disulfona (figura 3.43).

El caso de *Trp* ha sido estudiado aplicando en el laboratorio dimetilsulfóxido (DMSO), ácido perfórmico 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, que en contacto con las proteínas pueden producir N-formil kinurenina y kinurenina, así como otros compuestos, todos sin el valor nutricio de *Trp*, que es un aminoácido difícil de proporcionar en la dieta mexicana tradicional basada en maíz y frijol (figura 3.44).

Otra fuente de agentes oxidantes son los lípidos peroxidados en alimentos en proceso de enranciamiento. Cuando se aplica peróxido de hidrógeno y peroxidasa a *Tyr* se oxida produciendo ditirosina, que se encuentra en proteínas al natural como la keratina, la elastina y el colágeno.

Figura 3.43 Diferentes formas de oxidación de la cisteína.

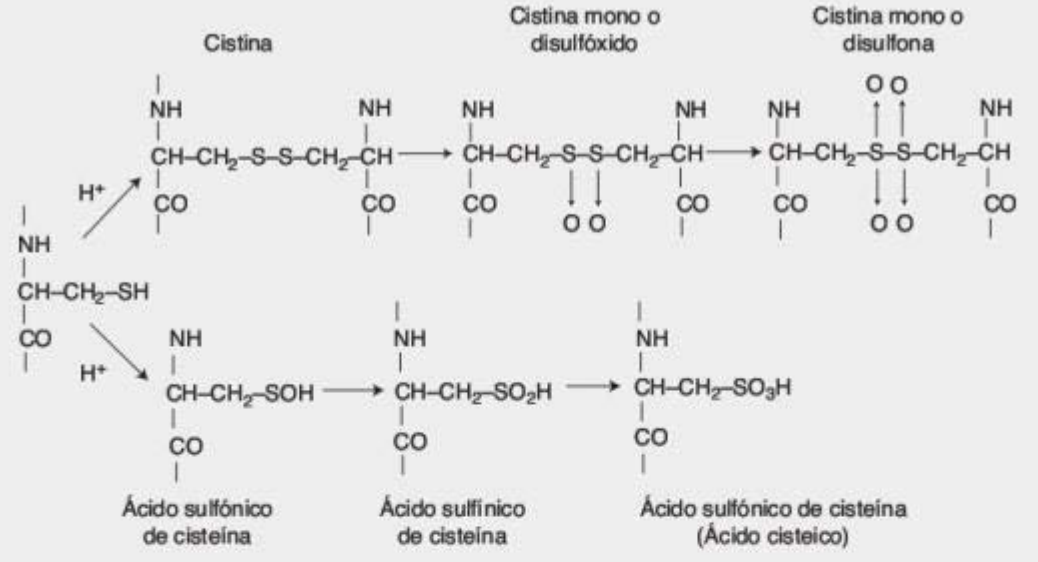
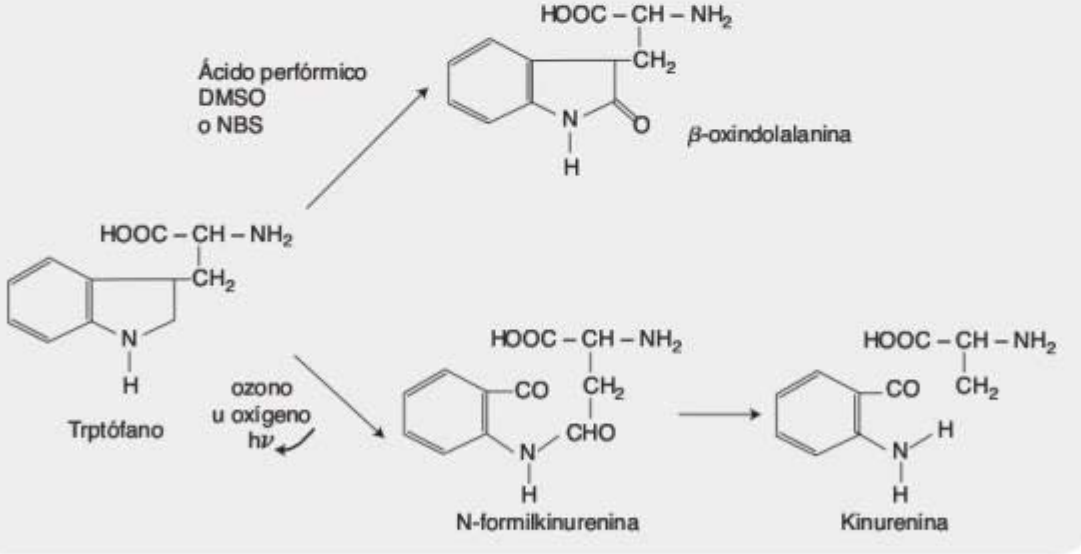


Figura 3.44 Formación de kinureninas a partir de *Trp*.



Reacciones con nitritos

Las N-nitrosaminas, consideradas entre los cancerígenos más importantes, se forman por la reacción entre nitritos y aminas secundarias, y en 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 adicionar nitritos para evitar el crecimiento de *C. botulinum* y la consecuente producción de su toxina, así como para obtener el color rosado característico de las carnes curadas y los embutidos. Los nitritos producen ácido nitroso que reacciona fácilmente 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.[36] 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.[110] Las glicosilaminas producidas en las reacciones de Maillard (productos de Amadori y de Heyns) reaccionan con facilidad con los nitritos. En un esfuerzo por minimizar la producción de la N-nitrosamina al cocinar, asar a la parrilla o al fuego los embutidos, se añaden ácidos ascórbico y eritóbico para controlar la reacción.

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 sulfonatada de *Cys* involucrada en el S–S.

$$\text{P-S-S-P} + SO_3^{-2} \qquad \text{P-S-}SO_3^{-2} + \text{P-S} \qquad \text{(Ec. 29)}$$

Los puentes disulfuro se restauran en las condiciones ácidas del estómago; además, la *Cys* sufonatada no pierde su valor nutricio, aunque sí cambian las propiedades funcionales por la pérdida de estructura con la ruptura del S–S.[36]

Reacciones carbonil amino

Más conocidas como reacciones de oscurecimiento no enzimático o reacciones de Maillard, éstas se presentan en los alimentos sometidos a altas temperaturas (como el horneado), y que tienen un alto contenido de proteínas y carbohidratos, de manera 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, con frecuencia el ε-amino de *Lys*. Esto trae consigo una disminución en el valor nutricio 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 cetosamina, es decir de los compuestos de Amadori y el rearreglo de Heyns a aldosamina, *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, que termina con la descomposición del aminoácido en un grupo aldehído, amoniaco y dióxido de carbono.[36] Cada aldehído da un aroma específico, según el aminoácido que lo origina.

Otra fuente alternativa de grupos aldehído, en sustitución de los azúcares, proviene del enranciamiento de los lípidos. El aldehído difuncional malonaldehído es uno de los más importantes, debido a que es capaz de entrecruzar a las proteínas causando insolubilización, pérdida de digestibilidad y, consecuentemente, una disminución de la biodisponibilidad.

$$PROT - NH2 + OHC - CH2 - CHO \rightarrow PROT - N = CH - CH2 - CH = N - PROT \quad \text{(Ec. 30)}$$

El malonaldehído es uno de los indicadores de rancidez que más se utiliza 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.

Formación de acrilamida en altas temperaturas

En general, se consideraba que los niveles de toxicidad de los compuestos obtenidos se mantenían bajos mientras formaran parte de una dieta variada. Sin embargo, en 2002 investigadores suecos encontraron niveles significativos de acrilamida, compuesto altamente neurotóxico, teratógeno y mutágeno en productos ricos en carbohidratos, por ejemplo, papas a la francesa o fritas, botanas, pan y pan tostado, entre otros (cuadro 3.12), como resultado de los procesos térmicos realizados a altas temperaturas.

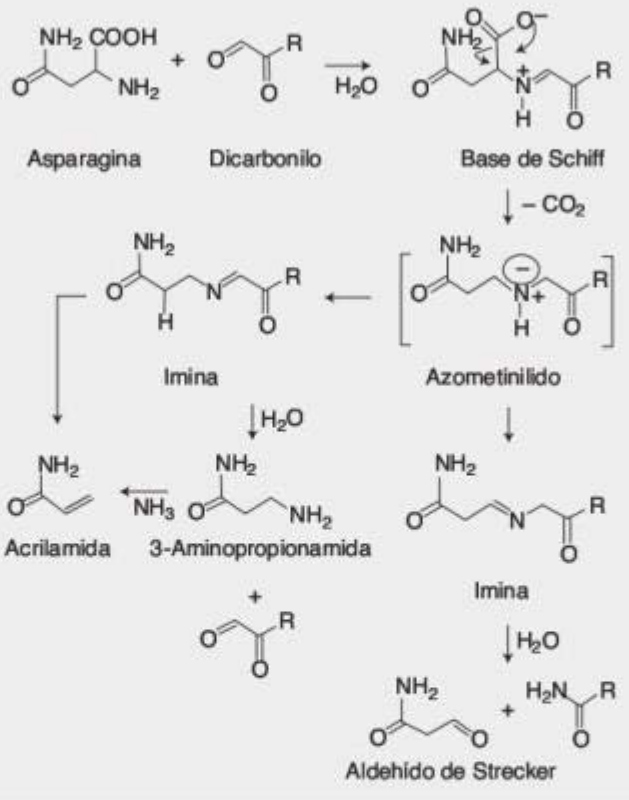
CUADRO 3.12 **Contenido de acrilamida[43]**

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	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.

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 la acrilamida (figura 3.45).[177]

Figura 3.45 Mecanismo de formación de la acrilamida.



Existen evidencias de que una disminución en los niveles de *Asn* permite reducir la formación de acrilamida, así como investigaciones tendientes a producir por ingeniería genética variedades de papas bajas en aminoácido. Asimismo, se ha encontrado que en los procesos tradicionales donde se fermenta la masa para el leudado se reducen de forma significativa los niveles de *Asn* disponibles para la posterior reacción química en el horneado, gracias a la fermentación y a que la levadura consume el aminoácido.[58,28] 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 se generan niveles altos de acrilamida en el pan. Los niveles medios de exposición[43] se encuentran por debajo de 1 μg/kg de peso/día en adultos (con valores que van de 0.28 a 0.71 μg/kg de peso/día) y cerca de 1.5 veces más para el caso de niños y adolescentes, dependiendo del estudio y la categoría de edad considerada. Actualmente, dada la importancia 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 la exposición de los sujetos (μg/kg de peso), en ciertos segmentos de la población. En el caso de niños pequeños, la exposición puede ser muy alta, debido a que los niños de áreas urbanas tienen ante sí una enorme disponibilidad

de producto procesado, como las papas fritas. Los efectos potenciales en niños deben ser analizados con especial cuidado, por su bajo peso y el potencial mutagénico de la acrilamida. Una dieta balanceada sigue siendo la mejor arma para lograr una buena nutrición.

Pérdida de aminoácidos por fraccionación

Los aislados proteínicos son productos importantes en la industria alimenticia que por lo general se obtienen 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, etc., con el propósito de concentrarlas para obtener un producto con más de 90% de proteína a partir de fuentes como la soya *(Glycine max)*[37] que domina el mercado de este tipo de aditivos alimentarios, aunque también existen aislados comerciales de proteína de chícharo *(Pisum sativum)* y algunos experimentales de otras oleaginosas como el ajonjolí *(Sesamum indicum)*.[111] 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, dado que las proteínas pueden estar más desplegadas, lo que facilita su buena funcionalidad en interfases. Pero a la vez un aislado proteínico puede perder aminoácidos indispensables, por lo que no siempre se pueden utilizar 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 se puede descartar la formación potencial de sustancias tóxicas a causa de los tratamientos químicos de los aminoácidos, como se revisa en otros apartados de este capítulo.

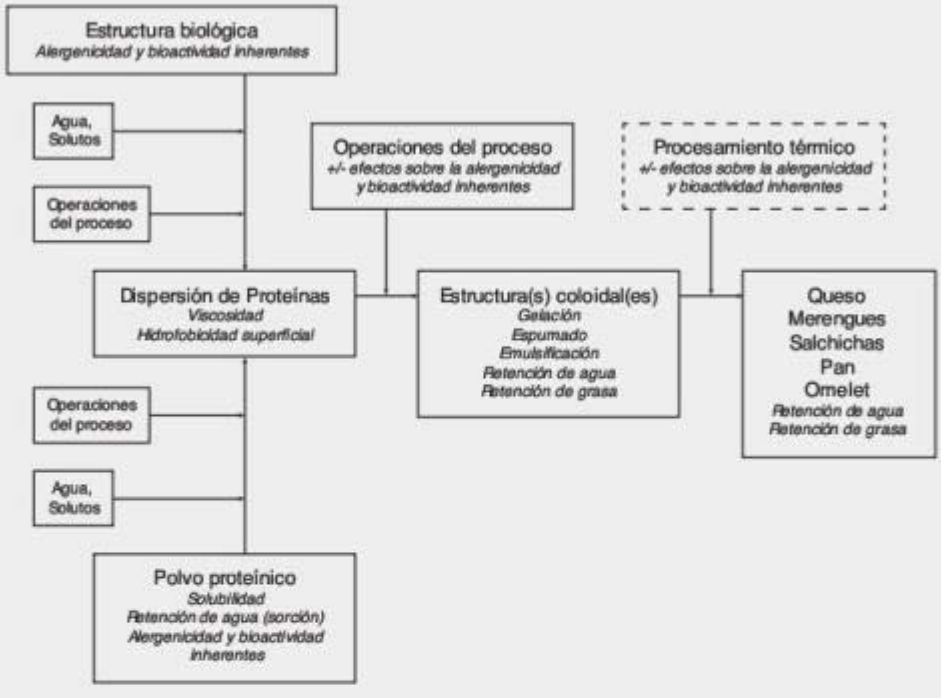
Propiedades funcionales de las proteínas

Definición de funcionalidad y clasificación

La funcionalidad de una sustancia en tecnología de alimentos se define como toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización.[37,56] Este comportamiento depende de sus propiedades físicas y químicas, las que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Como ejemplo se pueden citar los productos de panadería, en los que la viscosidad y la capacidad de formar pastas se relacionan con las propiedades de las proteínas del gluten de trigo. Asimismo, las características de textura y suculencia de los productos cárnicos son dependientes de las proteínas musculares (actina, miosina, actinomiosina 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.

Es importante destacar que con el procesamiento de la materia prima se modifica la estructura nativa de las proteínas y se adquieren nuevas propiedades que llevan a la formación del alimento; su valor nutrimental, la disponibilidad de componentes bioactivos o su potencial alergénico, pueden verse modificados, tal como se ilustra en la figura 3.46.

Figura 3.46 Procesos involucrados en la manufactura de un alimento con estructuras coloidales de base proteínica. Las proteínas forman dispersiones que se convierten en estructuras coloidales, que a su vez sufren una transformación final (que puede o no involucrar procesos térmicos) para llegar al producto alimenticio. Las propiedades funcionales y efectos sobre la alergenicidad y la bioactividad están listados bajos los encabezados correspondientes.[57]



Las características sensoriales resultan más importantes para el consumidor que el valor nutrimental, que frecuentemente se altera para lograr buenas cualidades organolépticas; entre ellas están textura, sabor, color y apariencia, que a su vez son resultado de interacciones complejas entre los ingredientes. Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en alimentos, aunque por lo general se incorporan en mezclas complejas. El papel funcional de varias proteínas en diferentes alimentos se enlista en el cuadro 3.13.

Los sistemas alimentarios son complejos y en ellos ocurren diversos fenómenos simultáneamente. Por ejemplo, los atributos sensoriales de un pastel dependen de que ocurra gelificación, espumado y emulsificación de los ingredientes utilizados, aunque sería ideal que un solo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes. Así, la clara de huevo es capaz de generar gelificación, emulsificación, espumado, absorción de agua y coagulación por calor, lo que la hace una proteína deseable en muchos alimentos. De otra manera, se debe preparar una mezcla compleja de proteínas o carbohidratos para lograr la funcionalidad deseada. Por ello, la industria alimentaria permanentemente busca proteínas alternativas que puedan competir con las que dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. Esta búsqueda se orienta más hacia las proteínas vegetales.[88,147]

CUADRO 3.13 **Papel de las proteínas en sistemas alimentarios[91]**

Función	Propiedad física/química	Alimento	Tipo de proteína
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.

La forma más común de comercializar estas fuentes proteínicas es la producción de aislados 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, chícharo, ajonjolí y almendras.[167,111]

Las razones que determinan la funcionalidad de una proteína no están del todo comprendidas y hasta ahora no se ha podido predecir su comportamiento en sistemas modelo. A partir de la composición y de su secuencia de aminoácidos se pueden deducir (con ciertas limitaciones) las propiedades fisicoquímicas[174] como hidrofobicidad, hidrofilicidad, tamaño, forma, carga neta y distribución de la carga, actividad superficial y viscosidad,[37] lo que a su vez determina las propiedades funcionales como espumado, gelificación, formación de películas o estructuras vítreas, capacidad para ligar agua o aceite, emulsificación, etc. La consideración de otros parámetros, como la relación hidrofobicidad/hidrofilicidad, 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: *a*) las propiedades hidrodinámicas, y *b*) las propiedades de la proteína relacionadas con su superficie. Las propiedades funcionales (por ejemplo, viscosidad, gela-

ción y texturización) se relacionan con las primeras, que dependen del tamaño, la forma y la flexibilidad moleculares. Por otra parte, humectabilidad, dispersabilidad, solubilidad, espumado, emulsificación y unión a sabores son propiedades que se relacionan con las de la superficie de la proteína.[37] Aunque existen diversos métodos de clasificación,[17,90,140,141] sólo se presenta a continuación la propuesta de Cheftel, *et al.*,[24] quienes consideran tres grandes grupos.

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 vidrioso 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.[34]

Además de las propiedades anteriores, la gelación, la coagulación, la emulsificación y el espumado también dependen 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. Asimismo, 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 la 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 de 90 a 95%. Si hay una mayor concentración de aminoácidos cargados, la capacidad de hidratación es mayor y se puede calcular usando la siguiente ecuación empírica:[97]

$$a = f\,C + 0.2\,f\,N \qquad \text{(Ec. 31)}$$

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.

La mayoría de las proteínas cuentan con una monocapa de agua con 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 éstas para ligar agua y presentan menor capacidad de hidratación en su punto isoeléctrico, en el que predominan las interacciones proteína-proteína. Por encima y por debajo del punto isoeléctrico 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.[198] A medida que la temperatura se incrementa, dis-

minuyen los hidrógenos unidos y la hidratación de los grupos iónicos. 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 debe señalarse 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 necesariamente existe una correlación entre la capacidad de ligar agua y la solubilidad.[2] 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 de agua es más importante que la capacidad de ligarla, lo que se traduce en 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 de 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.[168,193,199]

Solubilidad

La solubilidad de la proteína afecta especialmente en los casos de hinchamiento, espumado, emulsificación y gelificación.[89,193,76] 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 su hidrofobicidad y naturaleza iónica.[75]

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: $\Delta g = \Sigma \Delta g_{residuo}/n$, donde $\Delta g_{residuo}$ 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:

$$\sigma = (n^+ + n^-) / n \qquad \text{(Ec. 32)}$$

donde n^+ y n^- son el número total de residuos cargados positiva o negativamente, y donde n es el número total de residuos.

Bigelow[34] ha propuesto 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 hidrofilicidad superficiales y no las de toda la proteína, ya que sólo la superficie que está en contacto con el agua ejerce las propiedades funcionales.

Clasificación de las proteínas a partir de su solubilidad

Las cuatro categorías en que se clasifican las proteínas, de acuerdo con sus características de solubilidad son:

a) *Albúminas*. Se solubilizan en agua a pH 6.6 (albúmina sérica, ovoalbúmina y α-lactoalbúmina).
b) *Globulinas*. Son solubles en soluciones salinas diluidas a pH 7.0 (glicinina, faseolina y β-lactoglobulina).

c) *Glutelinas*. Son solubles en soluciones ácidas (pH 2) y alcalinas (pH 12) (glutelinas de trigo).
d) *Prolaminas*. Son solubles en etanol al 70% (zeína, gluten de maíz y gliadinas del trigo).

Cabe aclarar que prolaminas y 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.[170]

A continuación se detallan algunos efectos.

Solubilidad y pH

En los valores de pH superiores e inferiores al pH isoeléctrico, las proteínas tienen una carga neta positiva o negativa, respectivamente. En el punto isoeléctrico 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 isoeléctrico, porque no existe 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 hidrofilicidad 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 pasa en la producción de aislados de soya o de otras leguminosas. La proteína se recupera del extracto por precipitación isoeléctrica en el rango de pH de 4.5-4.8. El comportamiento ante el pH cambia si la proteína se trata térmicamente, a consecuencia de la desnaturalización debido al cambio de hidrofobicidad superficial por el desplegamiento, lo que acarrea un incremento en las interacciones proteína-proteína.[100]

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 y hasta por 10 minutos se desarrolla un perfil de solubilidad en forma de "U" con un mínimo de solubilidad a pH de 4.5 (figura 3.47).

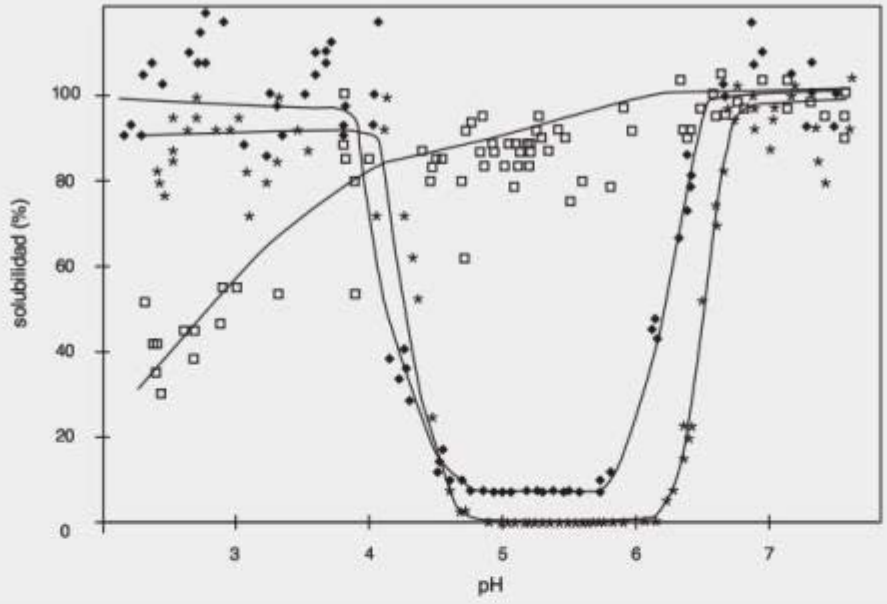
Solubilidad y fuerza iónica

La fuerza iónica de una solución salina se representa en la siguiente ecuación:

$$\mu = 0.5 \Sigma C_i Z_i^2 \qquad \text{(Ec. 33)}$$

donde C_i es la concentración de un ion, y Z_i 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 la contienen. El primer comportamiento es típico de las proteínas de soya[100] y el segundo lo presenta la β-lactoglobulina. El descenso en la solubilidad se debe a que se incrementan las interacciones hidrofóbicas, en tanto la causa de la mayor solubilidad es un descenso en la actividad iónica de la molécula. El efecto depende no sólo de la concentración de las sales cuando $\mu = 1$, sino de su tipo: 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

Figura 3.47 Perfiles de solubilidad respecto del pH para glicina después de incubaciones a 0.6 mg/mL por 16 h a 20 °C: I = (□) 0.5, (♦) 0.2 y (*) 0.03.[101]



el comportamiento descrito para las series de Hofmeister descritas antes en el apartado de desnaturalización de proteínas. Una variante de la ecuación revisada en el apartado anterior se presenta enseguida para poder comparar solubilidades distintas en soluciones distintas: la solubilidad de las proteínas en soluciones salinas sigue la siguiente relación:

$$\log(S/S_0) = \beta - K_s C_s \qquad \text{(Ec. 34)}$$

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 por lo general se incrementa sometiéndola a una temperatura de 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 superiores a los 40 °C. El aumento de la energía térmica causa desplegamiento de las proteínas (desnaturalización), debido a que los grupos no polares son expuestos, se da la agregación y precipitación de la proteínas y por lo tanto la solubilidad disminuye.[101]

Solubilidad y solventes orgánicos

La adición de solventes orgánicos, como el etanol o la acetona, incrementa las fuerzas electrostáticas intra e intermoleculares, tanto repulsivas como atractivas, como se explica antes en el apartado de desnaturalización. Las interacciones electrostáticas 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 electrostáticas 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 (en inglés PSI, siglas de *Protein Solubility Index*) o Índice de Dispersabilidad de la Proteína (en inglés PDI, *Protein Dispersibility Index*), porcentaje de proteína soluble presente en la muestra proteínica. El PSI de aislados proteínicos comerciales varía de 25 a 80%.[36]

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 anfifílicas en la interfase, como las proteínas, que pueden realizar 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.

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 y 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.[38]

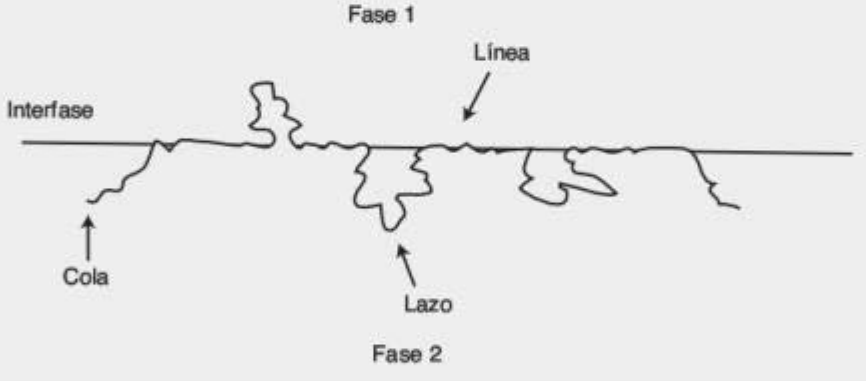
Las proteínas presentan en su superficie activa tres atributos deseables: *a*) capacidad para adsorberse rápidamente en una interfase; *b*) capacidad para desplegarse rápidamente y reorientarse en una interfase, y *c*) capacidad para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas, incluso en la interfase. Un ejemplo del primero es la formación de espuma y emulsión estables durante el batido, o la homogeneización debida a la adsorción espontánea y rápida de las proteínas a la nueva interfase, lo que depende principalmente 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 3.48). El número de segmentos peptídicos (componentes de una proteína) anclados en la interfase depende, en parte, de la flexibilidad de la molécula: las que son 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 3.48 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 3.49). 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 disminuye la tensión interfacial.

Figura 3.49 Distintas configuraciones de un polipéptido flexible en interfase.[36]



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-sulfhidrilo pueden aumentar las propiedades viscoelásticas. Se requiere de un balance adecuado de las fuerzas de atracción, repulsión e hidratación para formar películas viscoelásticas estables.

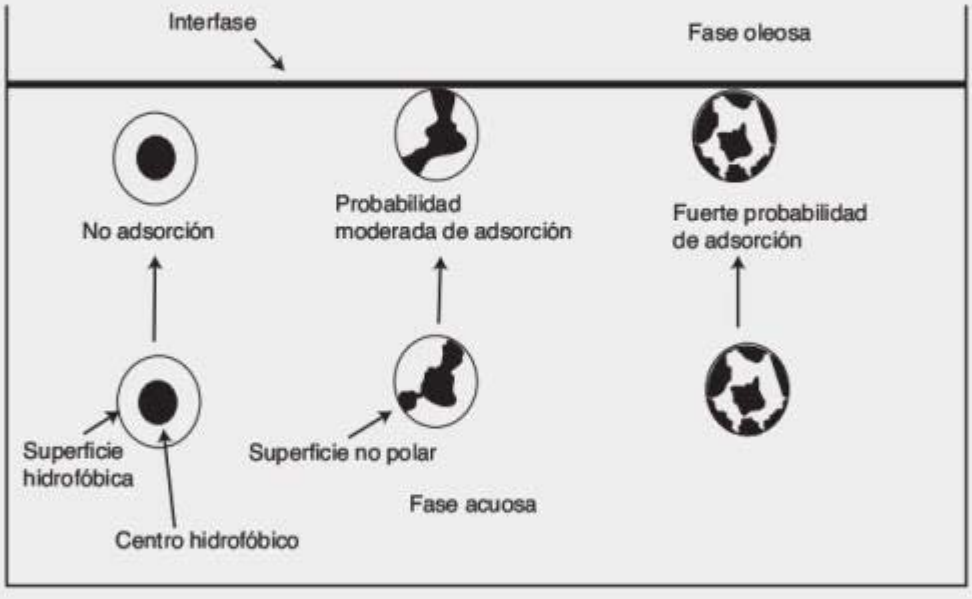
Si bien los principios básicos involucrados en la formación y estabilidad de emulsiones y espumas son muy similares, difiere la energética de los dos tipos de interfases, por lo que una proteína que es un buen agente emulsificante puede no ser un buen agente espumante, aunque el fenómeno no es del todo comprendido.

Propiedades emulsificantes

Para formular una emulsión se requiere: aceite, agua, un emulsificante y energía, por lo general mecánica. Las proteínas son las preferidas como surfactantes para formular emulsio-

nes alimenticias (aceite-agua), debido a que su superficie es activa y favorece la resistencia a la coalescencia (figura 3.50).[132] No pueden utilizarse en emulsiones agua/aceite, debido a que no son solubles en el aceite. Una gran cantidad de alimentos procesados y naturales son emulsiones, por ejemplo 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 que tras la homogeneización se reemplazan por una película de caseína y proteínas de suero, más resistentes que las naturales, por lo que la leche homogeneizada es más estable al cremado que la leche cruda.

Figura 3.50 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.[34]



Dependencia de la probabilidad de adsorción de una proteína del número de regiones hidrofóbicas en su superficie

Métodos para determinar las propiedades emulsificantes

Las propiedades emulsificantes de las proteínas se pueden evaluar por diversos métodos, entre ellos la determinar la distribución del tamaño de las gotas de aceite formadas, la actividad emulsificante, la capacidad emulsificante y la estabilidad de emulsión. Debe destacarse la complejidad de interacciones que conducen a una determinada actividad funcional, por lo que no es fácil elaborar una lista de valores y compararlos.[57] En el cuadro 3.14 se concentran los métodos comúnmente usados en el estudio de las emulsiones.

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

CUADRO 3.14 Métodos para determinar las propiedades emulsificantes

Propiedad	Técnicas
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.

de luz (aunque no es muy confiable), microscopía electrónica, métodos de dispersión de luz o contadores de tamaño de partícula (contador Coulter).[138]

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. Por lo general, la carga de proteína está en el rango de 1-3 mg/m^2 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 estabilizar la emulsión.[158]

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 cuando la fase apolar dispersa está entre 0.65 y 0.85.[117]

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 incluso si se encuentran almacenadas en condiciones ambientales. Para evaluar la capacidad estabilizadora 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.[32]

Factores que influyen en la emulsificación

Las emulsiones estabilizadas por proteínas se ven afectadas por las propias características moleculares de la proteína y 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.

La solubilidad incide en las propiedades emulsificantes, pero no se requiere 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.

Hidrofobicidad. Las propiedades emulsificantes de las proteínas tienen una baja correlación con la hidrofobicidad superficial de las proteínas. Se ha relacionado con su capacidad para reducir la tensión superficial en las interfases aceite-agua, así como para incrementar el índice de actividad emulsificante; 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.[87,143] A pesar de que presentan un buen IAE, lo que se considera más importante es conocer su flexibilidad molecular, debido a que la proteína debe ser capaz de hacer contacto con las dos fases, aceite y agua, y modificar su conformación rápidamente para quedar colocada en la interfase. Si se desnaturaliza parcialmente, 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.[143,42]

Propiedades espumantes. Las espumas consisten en una fase continua acuosa y una fase dispersa gaseosa (aire), por ejemplo: 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, con frecuencia llamada lamela. En la mayoría de estos productos, las proteínas son los principales agentes con actividad superficial que ayudan en la formación y estabilización de la fase gaseosa dispersa. Por lo general, las espumas estabilizadas por proteínas se forman por burbujeo, batido o agitación de una solución proteínica.

Las propiedades espumantes se evalúan 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.[89,91]

$$\text{Sobrerrendimiento} = \frac{\text{Volumen de espuma} - \text{Volumen del líquido inicial}}{\text{Volumen del líquido inicial}} \times 100 \qquad \text{(Ec. 35)}$$

El poder espumante, FP, se expresa como:

$$\text{FP} = \frac{\text{Volumen del gas incorporado}}{\text{Volumen del líquido}} \times 100 \qquad \text{(Ec. 36)}$$

El poder espumante por lo general aumenta con la concentración de proteína hasta un valor máximo. Esto se ve afectado por el método que se utilice para formar la espuma. Sólo se pueden comparar las propiedades espumantes de diversas proteínas si se comparan concentraciones iguales de proteína, tal como se ilustran en el cuadro 3.15.

CUADRO 3.15 **Comparación del poder espumante de proteínas en solución[142]**

Tipo de proteína	Poder espumante a una concentración de proteína al 0.5% (w/v)
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 35.

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 50% de líquido de una espuma o para la reducción de 50% del volumen de la espuma. Estos métodos son empíricos y no aportan información fundamental sobre los factores que afectan la estabilidad de la espuma; su medición más directa es la reducción del área interfacial de la espuma en función del tiempo. Los métodos han sido descritos por Yu[201] y Zhu.[203,204]

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 isoeléctrico de la proteína que en cualquier otro pH, si no hay insolubilización. La clara de huevo posee buenas propiedades espumantes en un pH de 8-9 y su punto isoeléctrico es en el pH de 4-5. En el pH isoeléctrico, o cerca de éste, la reducida presencia de interacciones de repulsión promueve interacciones favorables proteína-proteína y la formación de una película viscosa en la interfase, lo que favorece la capacidad de espumado y la estabilidad de la espuma. Si la proteína es poco soluble en su pI, como la mayoría de las proteínas en alimentos, entonces sólo la fracción soluble de la proteína se verá involucrada en la formación de la espuma, y aunque la cantidad que se haya formado sea baja, la estabilidad será alta. La fracción insoluble no contribuye a la capacidad de espumado, pero 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 de 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 a medida que se incrementa la concentración de NaCl. Este comportamiento se atribuye por lo general 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 *salted-out* de una solución salina dada, generalmente presentan mejores propiedades espumantes, mientras que las que son *salted-in*, 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., debido a que favorecen el entrecruzamiento de las moléculas de proteína en la formación de la película con mejores propiedades viscoelásticas.[203]

Azúcares. La adición de sacarosa, lactosa y soluciones azucaradas puede 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. Asimismo, la adición de azúcar incrementa la estabilidad al aumentar la viscosidad del líquido en la lamela.

Lípidos. Cuando se presentan en una concentración mayor al 0.5%, los lípidos, especialmente los fosfolípidos, 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 y compiten 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, lo que se logra con un tamaño menor de burbuja y mayor viscosidad. Al aumentar la viscosidad se facilita la formación de multicapas cohesivas de la película de proteína en la interfase.[21] 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 a 5%, y los aislados de ajonjolí de 2 a 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/m^2.

Temperatura. Una desnaturalización parcial de las proteínas puede favorecer las propiedades espumantes hasta cierto punto, ya que si se sobrecalientan pueden perderse si ocurren reacciones proteína-proteína vía intercambio de disulfuro, o su reversión a sulfhidrilos.[125] 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 la capacidad de espumado y de gelificación, por lo que son ingredientes adecuados para la aplicación en estos alimentos.

Unión de sabores

Las proteínas son inodoras pero pueden unir compuestos de sabor, y por ello afectar las propiedades sensoriales de los alimentos. Varias proteínas, en especial las de oleaginosas y los concentrados proteínicos de suero, presentan sabores indeseables, lo que 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 atribuye a la presencia del hexanal. La afinidad de esta unión es tan fuerte que resiste la extracción con solventes.

La propiedad de ligar sabores que poseen las proteínas tiene aspectos deseables, porque se pueden utilizar como acarreadores de sabor o modificadores del sabor en alimentos procesados. Esto es especialmente 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 con el tipo de proteína y los cambios que sufra durante el procesamiento del alimento.[36]

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, interacciones que normalmente no son covalentes. Las proteínas en polvo se ligan a los sabores mediante interacciones de Van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. El atrapamiento fisico 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 interactuar con las proteínas vía puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. 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 al 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 por lo general 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.[173] 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 re-

laciona con las propiedades de *salting-in* y *salting-out*, debido a que las sales que promueven la solubilización desestabilizan las interacciones hidrofóbicas y bajan la unión al sabor; lo contrario ocurre con las sales que producen *salting-out*. El pH afecta la unión del sabor porque tiene efectos sobre la conformación, lo que favorece la unión al sabor a valores de pH alcalinos más que a ácidos, ya que la proteína tiende a desnaturalizarse con mayor facilidad que en los primeros.

Viscosidad

La aceptación de alimentos líquidos y semisólidos en la población, incluso de productos tipo salsas, sopas, bebidas, etc., depende de la viscosidad y consistencia del producto. La primera 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[99] el esfuerzo de cizalla es directamente proporcional a la velocidad de corte, es decir, la fuerza por unidad de área, F/A, es directamente proporcional al gradiente de velocidad entre las capas del líquido, dv/dr, expresada como:

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dr} \qquad \text{(Ec. 37)}$$

La constante de proporcionalidad h 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 incrementa significativamente la viscosidad aun en bajas concentraciones, aunque depende de sus propiedades moleculares como 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, incluidas las de proteínas, no presentan conducta newtoniana, en especial 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 a la siguiente ecuación de Lapanje.[103]

$$\frac{F}{A} = m\left(\frac{dv}{dr}\right)^n \qquad \text{(Ec. 38)}$$

donde m es el coeficiente de consistencia y n 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 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 las proteínas de suero y de soya que recobran su viscosidad 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 pro-

teínas. 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*.[12]

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.

Gelación

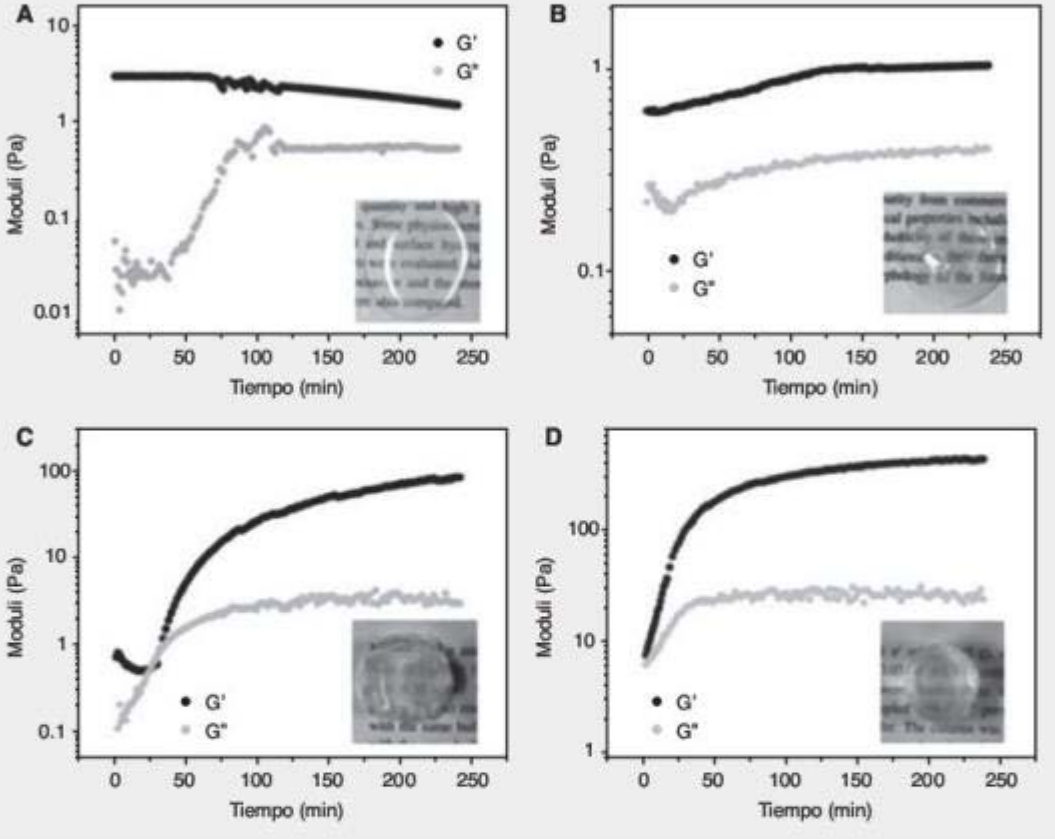
Un gel es una fase intermedia entre un sólido y un líquido. Técnicamente, se define como "un sistema sustancialmente diluido, el cual no muestra flujo en estado estacionario".[55] Se logra al entrecruzar el polímero mediante uniones, covalentes o no covalentes, para formar una red capaz de atrapar agua 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.[54,182] 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.[35,161,202,153]

Las interacciones involucradas en la formación de la red son principalmente puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, 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 con los geles de gelatina. Por lo general son resistentes a elevadas temperaturas e irreversibles, como los geles de clara de huevo. Las proteínas que contienen grupos de cisteína y cistinas polimerizan vía interacciones sulfhidrilo-disulfuro y son térmicamente irreversibles. Ovoalbúmina, β-lactoblobulinas y geles de proteínas de suero forman geles de este tipo.[131,119,125]

Las proteínas forman dos tipos de geles principales: 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 y forman agregados insolubles que se asocian al azar formando geles tipo coágulo, irreversibles. Estas proteínas forman el gel aun cuando se esté calentando la solución, porque la velocidad de agregación y formación de red es mayor que la de desnaturalizacíon. La red que se obtiene es desordenada y dispersa la luz, lo que da una apariencia opaca. En contraste, 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 (figura 3.51).

Figura 3.51 Perfil reológico y apariencia de hidrogeles de glicinina preparados de diferente manera. *a*) Glicinina. *b*) Glicinina precalentada a 95 °C. *c*) Glicinina con sulfato de dextrana (DS). *d*) Glicina con DS y precalentada a 95 °C. En todos los casos 6% p/v de glicina se incubó a pH 7 y 45 °C con transaminasa glutámica (20 U por gramos de glicinina). La adición de DS se hizo en una proporción p:p 1:30 DS:glicinina.[71]



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, debido a 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). 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, que frecuentemente son permanentes, es decir, que la agregación es irreversible tras prepararlos por calentamiento y posterior enfriamiento. La fuerza de los geles por lo general disminuye a medida que son sometidos a calor nuevamente, y de hecho se conocen algunos ejemplos de geles "fundidos".[30]

Los sistemas alimentarios en los que más se utilizan la capacidad de agregación y gelificación son los productos lácteos, pues en los quesos 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.[54]

Propiedades nutrimentales

Las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, dado 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.[114]

De los 20 aminoácidos de origen proteínico, son ocho los considerados como indispensables para los adultos debido a que deben ser suministrados por la dieta porque su velocidad de síntesis en el organismo humano es despreciable. Éstos son: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Los niños requieren además histidina. El resto de los aminoácidos son denominados no indispensables porque el organismo puede sintetizarlos eficazmente a partir de los indispensables, éstos son: glicina, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, cisteína, prolina, tirosina y serina.

Los factores que determinan el valor nutrimental de fuentes proteínicas son el contenido proteínico y la calidad de la proteína. Sus valores indican que éstas cubran los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos, así como garantizan un crecimiento y mantenimiento adecuado del individuo. 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 relativo 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 por una mala digestión o 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 antinutrimentales que también la reduzcan, así como el tamaño y el área superficial de la proteína y el procesamiento al que haya sido sometida previamente.[24,114]

En general se reconoce que las proteínas de origen animal son de mejor calidad y mayor biodisponibilidad que las de origen vegetal, sin embargo se afirma que a pesar de ser ligeramente deficientes en metionina, las provenientes de leguminosas tienen una calidad aceptable.[114,126] Las proteínas de oleaginosas presentan bajos niveles de metionina y lisina, y las de los cereales son bajas en lisina, triptófano y treonina. Las deficiencias en aminoácidos de una fuente proteínica pueden corregirse mediante dos estrategias: administrando en la dieta proteínas cuya composición de aminoácidos sea complementaria, o suplementándola con aminoácidos libres. Si se opta por la segunda es necesario controlar la adición del L-aminoácido libre debido a que una suplementación excesiva puede producir un antagonismo aminoacídico o incluso producir efectos tóxicos.[24]

Evaluación de la calidad proteínica en términos nutrimentales

Al evaluar la calidad de una proteína, el primer objetivo es determinar su valor nutricio potencial, para lo cual se otorga una calificación. Se puede construir un registro de las proteínas y, en caso de que la proteína o el alimento sufran cambios en el valor nutricio a través del proceso y almacenamiento, será más fácil detectar el cambio en su calificación. Un segundo objetivo es que se pueda predecir la contribución nutricia al alimento por parte de la proteína, o mezcla de proteínas alimenticias.[127] Para cubrir estos objetivos se han desarrollado diversos métodos para evaluar la calidad nutrimental de las proteínas alimenticias.

La medición más exacta de la calidad de fuentes proteínicas para uso humano se obtiene mediante estudios clínicos realizados en sujetos, en los que se mide el crecimiento u otros indicadores metabólicos. Por problemas de ética y de economía, ha sido necesario desarrollar otro tipo de técnicas, como bioensayos en ratas de laboratorio, métodos químicos, métodos enzimáticos y métodos microbiológicos.[24,18,159]

A continuación se describen algunas pruebas frecuentes.

a) **Balance de nitrógeno (NB).** Se evalúa el N retenido. Con dietas altas en proteína, se determina el N excretado en suero o heces. Se calcula el balance en función del consumo de proteína.

b) **Determinación de crecimiento.** Alimentación de ratas de laboratorio durante 28 días.

c) **Cuenta química.** Contenido de aminoácidos indispensables y su comparación con patrones de referencia establecidos por instituciones internacionales (vea el apartado Análisis de los aminoácidos de las proteínas).

d) **Digestibilidad *in vitro*.** Se utilizan proteasas.

e) **Métodos microbiológicos.** Evalúan el crecimiento de microorganismos cuyos requerimientos de aminoácidos indispensables son similares a los del ser humano.

f) **Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER).** Evalúa ganancia de peso por gramo de proteína consumido. Se alimentan ratas jóvenes en un estudio de 28 días con dietas con 10% fijo de proteínas, avalado por la American Official Analytical Chemists (AOAC).[5] Aún se cuestiona su pertinencia,[73] porque los valores obtenidos no son directamente proporcionales a la calidad, ya que no considera la contribución de la proteína al mantenimiento del organismo.[18,159]

g) **Relación Neta de la Proteína (NPR).** La duración original era de 10 días, aunque actualmente se recomienda extenderlo a 14. Incluye un lote alimentado con dieta libre de N (grupo metabólico) cuya pérdida de peso indica la proteína requerida para sostener el metabolismo basal. El valor de NPR se expresa 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. Es más preciso que el PER, aunque ha caído en desuso por cuestiones de ética de experimentación animal.

h) **R-NPR (Porcentaje de la Relación Neta de la Proteína).** Calcula el porcentaje del NPR de la proteína de prueba con respecto al de la caseína, y se encuentra una mayor reproducibilidad en los resultados.[74] Se ha sugerido calcularlo usando una dieta de caseína suplementada con Met por los requerimientos de aminoácidos azufrados de las ratas que no son cubiertos por una dieta con 10% de proteína proveniente de caseína.[160]

i) **CRNPR (Corrected Relative Net Protein Ratio).** Intenta corregir la subestimación de la calidad de proteínas de prueba debido a la diferencia en el requerimiento de ami-

noácidos 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.[160,159]

j) **Utilización Neta de la Proteína (NPU).** Evalúa el N corporal en función del ingerido.[20]

k) **Valor Relativo de la Proteína (RPV)** o **Valor Relativo del Nitrógeno (RNV).** En ambos métodos se estima la pendiente de la curva de crecimiento en respuesta a la administración de diferentes niveles de proteína. No se considera apropiado como método de rutina por su dificultad experimental y por requerir la aplicación de métodos estadísticos complejos.[74]

l) **Digestibilidad Verdadera (DV).** Se determina la cantidad de N absorbida con respecto a la ingerida, al administrar una dieta con 10% de proteína y descontando el N excretado por un grupo metabólico. La técnica ha sido adoptada por la AOAC. Es un indicador de la biodisponibilidad de los aminoácidos.[118]

m) **Digestibilidad *in vitro*.** Se determina 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. A pesar de su utilidad,[15] su uso es limitado porque 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.[44,163]

n) **Cuenta Química (CQ).** 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 publicado en 1985 por FAO/WHO/UNU,[48] aquel que presente el menor cociente se conoce como aminoácido limitante y es el que determina el valor de la CQ.[24] Se considera válido para niños y adultos, mientras que para lactantes debe utilizarse otro patrón basado en la composición de la leche materna (cuadro 3.7).

o) **Cuenta Química con Digestibilidad Verdadera (PDCAAS).** Es el método más utilizado actualmente ya que considera los requerimientos de aminoácidos y su digestibilidad. El Comité de Proteínas Vegetales del Codex Alimentarius y la FAO/WHO/UNU 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.[28,159,127]

La ingesta diaria de proteína debe ser adecuada a la edad y estado fisiológico de las personas. Un consumo elevado de proteína puede ser negativo porque su degradación provoca una carga excesiva de N al organismo.[130]

Se ha formulado la hipótesis de que el tipo de proteína dietaria puede regular la secreción de insulina y de glucagon: las de origen animal son más efectivas y liberan insulina, mientras que las vegetales liberan glucagón.[185] Estudios en islotes pancreáticos incubados con el patrón de aminoácidos similar al del consumo de proteína de soya han demostrado que la secreción de insulina es 36% menor que los incubados con el patrón de aminoácidos provenientes de la caseína.[133,8] Un mejor conocimiento del rol de las proteínas de origen vegetal ha llevado a estudiar los factores de transcripción, como las proteínas de unión al elemento de respuesta a esteroles SREBP-1 y SREBP-2, involucrados en la regulación de los genes lipogénicos y su relación con las proteínas de la dieta. Con esto se revalora actualmente el papel de las proteínas de leguminosas en una dieta saludable.[185]

Las fuentes con altos niveles de aminoácidos ramificados, en particular de Leu, al no ser metabolizadas en hígado sino en músculo, se canalizan a síntesis de proteínas y producción de energía.[306] Por tanto, el consumo de proteínas ricas en aminoácidos ramificados e indispensables, o con altos niveles de leucina, puede ser benéfico para la salud; éste sería el caso de las proteínas de suero lácteo y resultan de importancia en la nutrición de deportistas y ancianos.[47]

Por otra parte, los efectos de péptidos y proteínas en la salud van mas allá de satisfacer el estado nutrimental. Es bien conocido el efecto de alergia e hipersensibilidad, siendo una de las más importantes 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, de soya o productos proteínicos 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.[134]

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, después 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 y 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.[62] En el mercado se busca la incorporación de nuevas fuentes de proteína, y su introducción depende de aspectos de inocuidad y el costo/beneficio de la explotación de las mismas, sobre todo a nivel regional.

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 3.16). En las sociedades industrializadas y en las poblaciones de países con economías emergentes, es ahora frecuente que el consumo de proteínas rebase los requerimientos nutrimentales y energéticos[95] dado que se basa en proteínas animales, las cuales contienen una alta calidad nutrimental y por lo general están asociadas a grasas saturadas cuyo consumo se recomienda con restricciones.

CUADRO 3.16 **Suministro diario de proteína en diferentes regiones del mundo[49]**

	Cantidad de suministro de proteínas (g/persona/día)						
	Proteína total	Proteína de origen animal			Proteína de origen vegetal		
Región	2007	2007	1980	1961	2007	1980	1961
Europa Occidental	66.46	65.6	66.65	49.49	0.86	0.9	1.08
Europa Oriental	50.39	49.25	51.32	36.04	1.14	1.98	2.2
América del Norte	74.66	71.71	65.78	62.62	2.95	1.86	2.31
Latinoamérica	38.54	31.86	27.17	22.52	6.68	5.66	6.14
África	20.16	13.41	12.42	10.55	6.75	5.78	5.54
Asia	28.79	23.39	10.74	7.24	5.4	5.74	9.24
Promedio mundial	35.03	29.81	23.44	19.62	5.22	5.03	6.82

Los productos animales que aportan proteínas son el huevo, la leche y la carne de diversas especies. Todos 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 hoy en dìa su abundancia en la dieta es muy cuestionada. En civilizaciones antiguas y en algunos grupos actuales existen corrientes que objetan el consumo de algunas o de todas las fuentes de proteína de origen animal.[191] La principal objeción se debe a la grasa saturada que normalmente los acompaña, y a los enormes cambios en el patrón de vida de las poblaciones primitivas de cazadores que realizaban una enorme actividad física, a la vida sedentaria actual, por lo que la presencia de lípidos en estos productos constituyen hoy en día un riesgo para el sistema cardiovascular.[104] Los hallazgos recientes sobre el papel de las proteínas vegetales con respecto a las de origen animal mencionados, contribuyen a revalorar las proteínas tradicionalmente consumidas por las poblaciones amerindias y de África del Norte: garbanzo, habas, lentejas, frijoles, espirulina y amaranto, entre otros. Además, en los casos de la leche y el huevo se han presentado problemas sanitarios y toxicológicos como la *Salmonella* en huevo[116] y la encefalopatía espongiforme bovina (BSE),[156] así como la presencia residual de hormonas en la carne de animales criados con técnicas modernas.[150] Algunos estudios relacionan el consumo de productos de origen animal con la incidencia de cáncer,[23] en tanto que otros los señalan como elementos de prevención.[102] No obstante, las proteínas presentes en estos sistemas constituyen, sin duda, garantía de calidad nutrimental y sus propiedades funcionales pueden ser ampliamente explotadas. Además, ofrecen excelentes modelos de estudio para investigación básica y aplicada.

Proteínas del huevo

El huevo de gallina forma parte de la alimentación humana desde hace miles de años, y recientemente se emplean sus subproductos procesados como ingredientes por sus diversas propiedades: emulsificantes, espumantes, gelificantes, antioxidantes, aromáticas, colorantes. Debe señalarse que las proteínas del huevo, en particular las de la clara, son consideradas alergenos importantes.[77]

La composición varía si se considera el huevo fresco o el almacenado, ya que hay transferencia de agua de la clara a la yema durante el almacenamiento. Recién puesto está constituido por 10.5% de cáscara, que no siempre se aprovecha, en tanto la parte comestible está formada por 36% de yema, y el resto corresponde a la clara.[4] Los lípidos y proteínas que contiene le otorgan un alto valor nutritivo, debido a que su perfil de aminoácidos es similar al de las proteínas de suero de leche. La composición global se ilustra en el cuadro 3.17.

CUADRO 3.17 **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

La clara es una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa compuesta por al menos 13 proteínas glicosiladas, algunas de las cuales presentan actividades biológicas: enzimas, como lisozima, glicosidasa, catalasa, peptidasa y esterasa; inhibidores, como el ovonihibidor y el inhibidor de papaína y ficina, o algunos anticuerpos, que ayudan a proteger el desarrollo del embrión al prevenir ataques microbianos.[40] Las principales propiedades se presentan en el cuadro 3.18.

Además de las características señaladas en el cuadro 3.18, la ovalbúmina se puede clasificar en tres fracciones: A_1, A_2 y A_3, de acuerdo con su patrón de fosforilación y glicosilación. Asimismo, la presencia de cuatro grupos sulfhidrilo la hacen muy reactiva y fácilmente desnaturalizable. Durante el almacenamiento, por un mecanismo de intercambio de disulfuros y sulfhidrilos 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 huevo.[172]

La conalbúmina, también llamada ovotransferrina, tiene manosa y glucosamina, numerosos enlaces disulfuro (13 por molécula) y presenta la característica de ligar o quelatar el hierro y otros iones metálicos, con aluminio, cobre y zinc.[183] Esta acción secuestradora inhibe el crecimiento de microorganismos que requieren de esos elementos para su desarrollo, en particular en el caso de virus, aunque recientemente se han identificado péptidos dentro de la secuencia que explican la actividad antimicrobiana en forma análoga a la lactoferrina.[66]

El ovomucoide tiene un elevado porcentaje de carbohidratos (hexosaminas, 14%; hexosas, 7% ácido siálico, 0.7%), que llega a representar hasta 25% de la proteína y que contribuyen a su estabilización térmica. Contiene ocho enlaces disulfuro por molécula, pero no tiene triptófano o tirosina.[69]

CUADRO 3.18 **Proteínas del albumen de huevo[40]**

Fracción	Porcentaje de 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, 4SH, 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
Ovoglucoproteína	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 ovomucina presenta aproximadamente 30% de carbohidratos, similares a los que se encuentran en el ovomucoide y, junto con la lisozima, 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 resulta 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, debido a que existen cuatro enlaces disulfuro intramoleculares. La lisozima (figura 3.19) 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-acetilmurámico y la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa de los mucopolisacáridos de la pared celular, aunque también se han identificado decapéptidos en algunos dominios con actividad bactericida independiente a la de la muramidasa.[139]

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 una mayor estabilidad a la desnaturalización. El complejo se disocia durante los tratamientos térmicos comunes que recibe el huevo cuando se va a consumir. Ésta es la razón por la que no se recomienda el consumo de huevo crudo. Pertenece 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.[82] 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.[40]

Las proteínas de la clara de huevo son muy sensibles a los diversos factores que promueven la desnaturalización, en especial pH y tratamientos térmicos, y muestran alta capacidad para asociarse y formar geles con distintas propiedades reológicas, comportamiento que depende de la presencia de otras moléculas, como el tipo de azúcar presente.[180] También se agregan o coagulan según las condiciones de pH, temperatura y sales, que influyen en este proceso y de cuyas variaciones dependerá la rigidez de los geles.[9]

Uno de los usos más extendidos de las proteínas de la clara es la formación de espumas, que se logra tras la desnaturalización de los polipéptidos y la formación de una interfase aire/líquido relativamente estable propia de este estado de dispersión.[107] La ovoalbúmina es responsable de la cantidad de espuma producida, mientras que la ovomucina actúa como su agente estabilizador; 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 hincha y la estructua se mantiene si las proteínas no han sufrido daño. 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 realiza un tratamiento con la glucosa oxidasa para eliminar la glucosa.

En la naturaleza, las proteínas de la yema sirven principalmente como fuente de nitrógeno para el embrión, aunque su ingesta por humanos ha sido cuestionada por su alto

contenido lipídico, que siempre está asociado a lipoproteínas de alta o baja densidad. Cuando se centrifuga, se separan dos fases conocidas como plasma y gránulos. La composición proteínica global con base en peso seco es: 68% de proteínas de baja densidad (LDL), 16% de proteínas de alta densidad (HDL), 10% de proteínas globulares, conocidas como levitinas, 4% de fosfoproteínas, conocidas como fosfovitinas, además de algunas proteínas menores.[4] Estas proteínas pueden auxiliar en la función emulsificante con la lecitina.[19] Se cree que las proteínas de la yema podrían tener una actividad antitrombótica, al inhibir la agregación plaquetaria y la formación de fibrina.[26]

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 nutrimentales y fisiológicas. Proviene de los músculos esqueléticos de diversos animales y se caracteriza por su estructura fibrosa y su textura, si bien es un sistema complejo, en el que hay también lípidos[190] y micronutrientes biodisponibles, particularmente fierro, ácido fólico, selenio y zinc[13] (vea el cuadro 3.19). La composición de las fibras de los diferentes músculos esqueléticos afecta de manera importante 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.[162] El contenido proteínico de estos tejidos es alto, cercano al 70% de la materia seca (cuadro 3.19), independientemente del tipo de animal del que provengan (porcinos, vacunos, ovinos, etc.).

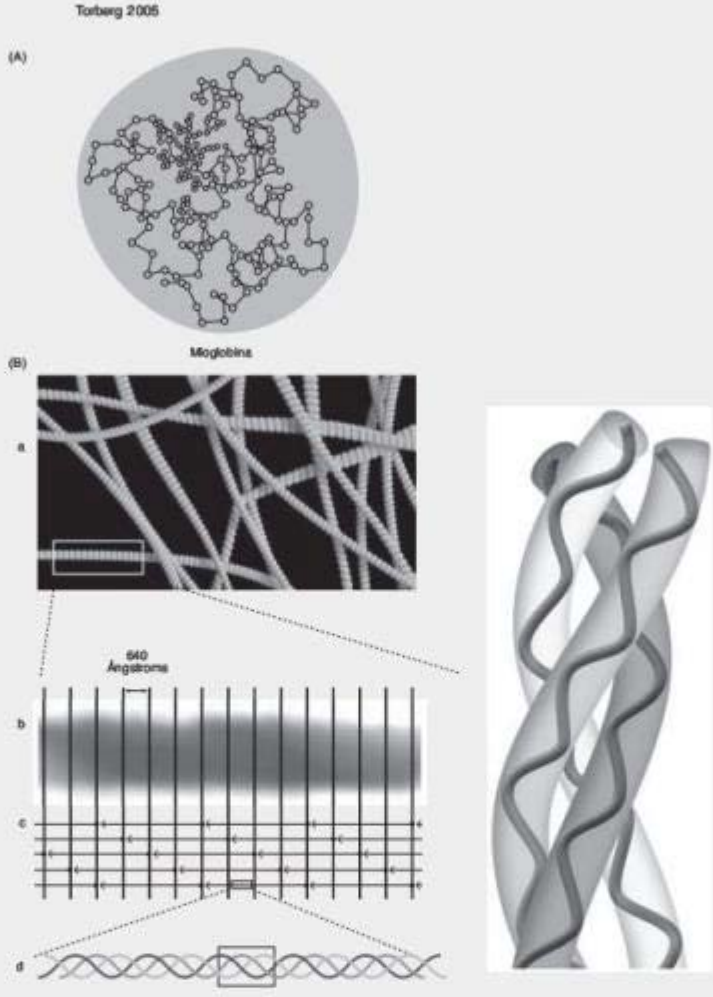
En la figura 3.52 se esquematiza a los músculos, compuestos de una estructura ordenada de fascículos, fibras, fibrillas y filamentos, rodeadas de tejido conjuntivo denominado endomisio. Los fascículos agrupan varias fibras, que corresponden a las unidades celulares: son multinucleadas y extremadamente 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 por lo general las pequeñas corresponden a carne dura.

Los tipos de proteína presentes se han clasificado en tres grandes grupos, de acuerdo con su función biológica y su solubilidad: proteínas contráctiles o miofibrilares, proteínas sarcoplásmicas o solubles y proteínas del estroma o insolubles. En el cuadro 3.20 se muestran las concentraciones de estas proteínas en orden descendente, de acuerdo con su abundancia.

CUADRO 3.19 **Análisis químico representativo de carnes**

Componente	Porcentaje
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

Figura 3.52 Ejemplos de las proteínas de la carne. *a*) Globular: mioglobina. *b*) Fibrosa: fibrilla que compone al colágeno *a*) de la molécula de tropocolágena *e*).[186]



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. Son solubles en soluciones salinas concentradas. De entre ellas, la miosina se caracteriza por tener 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 molécula 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.

CUADRO 3.20 **Distribución de las proteínas en el tejido muscular**

Tipos 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 actina presenta dos fracciones: la G (actina globular) y la F (actina fibrosa); la primera tiene un peso molecular de 46 000 Dalton 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, complejo que al disociarse 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 la relajación muscular.

Proteínas sarcoplásmicas o solubles. También se conocen con el nombre genérico de miogeno; son principalmente globulinas y albúminas. Se caracterizan por ser buenos agentes emulsificantes y retener una gran cantidad de agua, lo que evita pérdidas de humedad durante el proceso de cocción de los distintos productos cárnicos; también tienen la capacidad de coagular y formar geles cuya textura es muy deseable en diversos alimentos.

Proteínas del estroma o insolubles. 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. La proteína más importante es el colágeno, 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 triptófano. Su monómero, llamado tropocolágeno, es una molécula de forma cilíndrica de 2 800 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 (figura 3.52).

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, de las cuales la tercera es la más comercial y la más económica; 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.

La suavidad de la carne es una sensación que se debe básicamente a factores físicos y bioquímicos de las proteínas miofibrilares (del tejido muscular) y la colágena (del tejido conectivo). Los tratamientos térmicos afectan de manera distinta a cada una de estas fracciones; así, 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.[162]

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 12% y que contienen sal, fosfatos y algunos otros ingredientes de sabor.[199] 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. 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.

Gelatina

La gelatina es una proteína derivada de la hidrólisis selectiva del colágeno, el componente orgánico más abundante en huesos y piel de mamíferos, que tiene aplicaciones en alimentos, farmacia y adhesivos[152,207] 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 años recientes se han hecho esfuerzos para diferenciarlos, por el riesgo de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE, por sus siglas en inglés), a partir del análisis de la composición de péptidos y aminoácidos.[131]

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 periodo predeterminado; se lava con agua fría y se genera un producto con un punto isoeléctrico de 6-9. En el proceso alcalino, los huesos desmineralizados se suspenden en una solución de sosa por un periodo de 60 días, en tanto las pieles se remojan por periodos menores. Periódicamente se cambia la solución de remojo y al final se lava por completo para eliminar toda la sosa residual. El punto isoeléctrico del producto está entre 4.8 y 5.2. Después de cualesquiera 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 (figura 3.23) 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 con frecuencia se encuentran microorganismos con actividad proteolítica que la deterioran.[39] 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 isoeléctrico de la gelatina, etc. 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, que se observa con facilidad cuando el producto se enfría.[166] Es importante recordar que por su bajo contenido de aminoácidos indispensable, su calidad nutrimental es baja.

Proteínas de pescado: surimi, hidrolizados de pescado

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% albúminas y de 2 a 4% queratinas y colágena. 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.

Además del consumo directo de las especies de alto valor comercial como el camarón, las pesquerías atrapan la llamada fauna de acompañamiento, que por no tener un buen valor comercial se procesa para aprovecharla en forma de harinas, que ciertamente presentan un buen valor nutrimental. Las principales limitantes para su aplicación son el sabor, la inestabilidad de su grasa 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, como muestra la figura 3.53.

Su producción se ha generalizado, debido a que facilita la formación de geles y ha dado lugar a una amplia gama de productos imitación de angulas y camarones, aptos para consumo humano. El proceso es sencillo, puesto que implica el corte de la carne en pequeños trozos, 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,[83] basados en la solubilidad de las proteínas a pH extremos, tanto ácidos como alcalinos, han permitido incrementar los rendimientos de extracción. 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, cuya funcionalidad debe ser mejorada.

Figura 3.53 Proceso convencional para la obtención de surimi.[96]



Proteínas lácteas

Composición y propiedades fisicoquímicas

La leche de bovino es la que más se consume en Occidente y su nivel de proteínas está entre 3 y 3.5%, de acuerdo con la raza y alimentación del ganado productor. También se consumen las de cabra y oveja. 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 una clasificación de estas proteínas, que se presenta en el cuadro 3.21.[51] Ésta toma en cuenta los conocimientos genómicos, proteómicos y las propiedades inmunológicas de las mismas.

El papel de las proteínas en la tecnología de productos lácteos se analiza en el capítulo 12. A continuación se consideran algunos ejemplos de la aplicación como ingredientes, funcionalidad y bioactividad de este grupo de proteínas. Es importante recalcar que la leche ha sido considerada un alergeno importante y, como en el caso de la carne, su consumo se desalentó durante algún tiempo por su contenido de grasa saturada, tema resuelto aparen-

CUADRO 3.21 Clasificación de las proteínas de leche de bovino y algunas de sus propiedades

Proteína (abreviatura sugerida)	Composición de leche desgrasada (g/L)	Variantes genéticas[1]	Peso molecular[2]	Punto isoiónico[3]	Punto isoeléctrico[4]	A[1]% 1 cm[5]	H[05] Promedio (kcal/res.)
α_{s1}-Caseína (α_{s1}-CN)	12-15	B	23 615	4.92-5.05	4.44-4.76	10.05	1 170
		C	23 542	5.00-5.35	...	10.03	1 170
α_{s2}-Caseína (α_{s2}-CN)	3-4	A	25 226	...	...	...	1 111
β-Caseína (β-CN)	9-11	A1	24 023	5.41	...	...	1 322
		A2	23 983	5.30	483-5.07	4.6-4.7	1 335
		B	24 092	5.53	---	4.7	1 326
κ-Caseína (κ-CN)	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
β-Lactoglobulina (β-LG)	2-4	A	19 363	5.35	5.13	9.6	1 211
		B	18 277	5.41	5.13	10.0, 9.6	1 217
α-Lactoalbúmina (α-LA)	0.6-1.7	B	14 178	---	4.2-4.5	20.1-20.9	1 120
Albúmina sérica (SA)	0.4	A	66 399	5.13	4.7-4.9	6.3-6.9	1 120
Inmunoglobulina G1 (IgG1)	0.3-0.6	...	161 000	---	5.5-6.8	13.6	...
Inmunoglobulina G2(IgG2)	0.05	...	150 000	---	7.5-8.3	13.6	...
Inmunoglobulina A7 (IgA)	0.01	...	385 000-417 000	...		12.1	...
Inmunoglobulina M(IgM)	0.09	...	1 000 000	...	...	12.1	...
Componente de secreción (SC)	0.02-01	...	63 750	7.48	...	15.5	...
Lactoferrina (LF)	0.02-0.1	...	76 110	8.95	8.81	9.91	1 053

Fuente: Modificado de Farrell.[51]

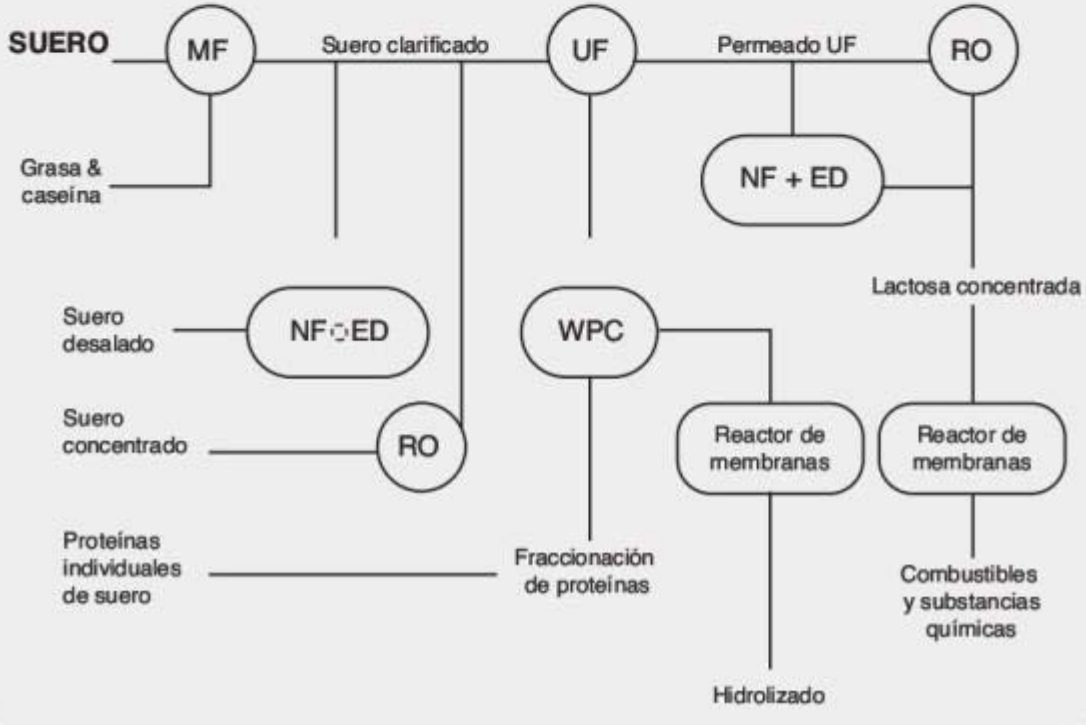
[1] Variantes principales.
[2] Calculado como peso de la fórmula (3 lugares decimales) a partir de la composición. Todos los grupos ácidos están protonados; todos los grupos básicos no están protonados. En caso de conocerse se consideran los principales enlaces disulfuro; κ-CN no tiene disulfuros, pero su piroglutámico N-terminal está incluido. Las inmunoglobulinas representan un intervalo.
[3] Eigel *et al.*, 1984.[86]
[4] Absorbancia de una solución al 1% medida con un paso de luz de 1 cm a 280 nm, a menos que 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.[14]

temente por la introducción al mercado de productos semidescremados o descremados. Por otra parte, se ha reconsiderado su papel funcional y se pretende extraer componentes funcionales a partir de las diferentes fracciones.[112,196]

Las técnicas de fraccionamiento 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,[67] y no genera respuestas inmunes a nivel gastrointestinal en niños autistas, a diferencia de otras proteínas lácteas o de la gliadina.[86] De la misma manera, se propone fraccionar las proteínas de suero mediante el uso de membranas y métodos específicos de filtración y diálisis, como las que se muestran en la figura 3.54. Una aplicación consiste en separar las proteínas más ricas en aminoácidos ramificados, en virtud de su relación con el metabolismo proteínico y su posible efecto en el desarrollo de masa muscular.[47]

La formación de películas comestibles y biodegradables basadas en proteínas lácteas contribuiría a utilizar los residuos generados por la industria láctea, y a disminuir la cantidad de envases sintéticos. Se han elaborado preparaciones con caseinatos y con proteínas de suero[165] que compiten con otros elaborados con proteínas vegetales. Los resultados hasta ahora obtenidos no compiten aún con las películas de polivinilo, pero se han registrado resultados interesantes empleando soluciones de proteína al 2.5% en combinación con glicerol.

Figura 3.54 Aplicación de tratamientos con membranas utilizados en el procesamiento de suero Clave: WPC = Proteínas de suero concentradas, UF = ultrafiltración, MF = microfiltración, RO = ósmosis inversa, NF = nanofiltración, ED = electrodiálisis.[25]



Proteínas vegetales

Las plantas constituyen una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, y se explotan las propiedades funcionales y los beneficios nutrimentales de cada grupo de proteínas. Las proteínas vegetales se obtienen, sobre todo, de semillas de leguminosas, cereales, oleaginosas y, en baja proporción, de hojas verdes (cuadro 3.22). Existe una gran variabilidad de niveles de proteína incluso 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 de su resistencia al procesamiento y de la presencia de compuestos antinutrimentales en la fuente vegetal de interés.

CUADRO 3.22 **Suministro de proteínas de origen vegetal en el mundo[49]**

	Suministro global (gamos de proteína vegetal por persona por día)		
	2007	1980	1961
Soya	1.39	1.28	1.22
Frijoles	1.43	1.60	1.82
Guisantes	0.52	0.51	1.00
Otras leguminosas	1.88	1.64	2.78
Total	5.22	5.03	6.82

El alto número de proteínas vegetales ha llevado a diferentes esquemas de clasificación. Inicialmente se agruparon en términos de su solubilidad con el procedimiento de Osborne, como se describió antes, o según su función: estructurales o metabólicas, de defensa, resistencia a estrés o de almacenamiento. Los criterios más recientes son de tipo genómico, y se basan en el genoma de *Arabidopsis thaliana*, para definir familias en términos de sus relaciones estructurales y evolutivas. Esta labor no ha sido simple debido a que el número de familias, secuencias y motivos es muy elevado.[195]

La función biológica en el grano de las principales proteínas vegetales que se explotan de manera comercial es formar parte del endospermo de la semilla, que propociona los nutrimentos necesarios para la germinación y el desarrollo de la planta, procesos durante los cuales se modifican los niveles de las diferentes proteínas.

Por otro lado, los grupos proteínicos preponderantes varían de acuerdo con el tipo de plantas del que se trate: en el caso de los cereales dominan las glutelinas, y 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 optan por regímenes alimentarios libres de productos animales. Actualmente se revisa el papel de las proteínas vegetales en el metabolismo, debido a que durante décadas se favoreció más el consumo de proteínas de origen animal como leche, carne y huevos, por contar con buenas cantidades de aminoácidos indispensables, desplazando el consumo de proteínas tradicionales que incluían a los frijoles y las leguminosas, frecuentes en las dietas amerindias, mediterráneas y orientales. Además, actualmente se considera el gasto energético total que requiere la producción de una unidad de proteína animal, por ejemplo un litro de leche o un kilo de pollo, carne de res o de cerdo (que son alimentados con granos de soya y maíz)

con respecto al costo de producir proteínas de origen vegetal que se consideraban de "baja" calidad nutrimental.[168]

A pesar de la gran cantidad de plantas utilizables para alimentación, en el mercado hay pocas variedades que se explotan ampliamente, como se aprecia en el cuadro 3.23. 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, aunque también se comercializan chícharo, canola y ajonjolí.[50]

CUADRO 3.23 **Producción mundial de cereales y granos 2010[50]**

Tipo de grano	Toneladas métricas (millones)
Cereales	
Maíz	844.4
Arroz	672.0
Cebada	123.4
Sorgo	55.6
Leguminosas	
Soya	261.5
Frijoles secos	23.2
Garbanzos	10.9
Chícharos secos	10.2
Lentejas	4.5
Haba	4.3
Oleaginosas	
Algodón	68.2
Colza	59
Girasol	30.5
Ajonjolí	3.8

En muchos alimentos importantes, como el pan y la tortilla, la estructura de las redes proteínicas resulta fundamental para las propiedades del producto. A continuación se describen los casos más importantes.

Proteínas de cereales

Los cereales de mayor consumo son: trigo, avena, sorgo, cebada, maíz, arroz, mijo y centeno (cuadro 3.23). Las proteínas de reserva más abundantes en los cereales se denominan glutelinas, con una proporción aproximada del 12%, y en menor cantidad existen las albúminas y globulinas, que sólo representan aproximadamente 15% del total, y cuyo peso molecular promedio es de 12 000 Da. Los cereales, particularmente los provenientes del grano entero y que se conocen como integrales, además de las proteínas, poseen una amplia gama de nutrimentos de interés: fibra, antioxidantes fenólicos, almidones, etcétera.

CUADRO 3.24 Contenido proteínico de las principales semillas cultivadas[189]

Cultivo	Factor de conversión	Proteína total (%)
	Cereales	
Cebada	N × 5.83	10.5
Maíz	N × 6.25	9.42
Mijo		
Avena	N × 5.83	16.89
Arroz	N × 5.95	7.94
Sorgo	N × 6.25	11.3
Trigo	N × 5.83	13.68
	Pseudocereales	
Amaranto	N × 5.85	13.56
Trigo sarraceno	N × 6.25	13.25
Quinoa	N × 6.25	14.12
	Leguminosas	
Garbanzo	N × 6.25	19.3
Haba	N × 6.25	26.12
Lenteja	N × 6.25	25.8
Frijol	N × 6.25	21.6
Chícharo	N × 6.25	24.55
Cacahuate	N × 5.46	25.8
Soya	N × 5.71	34.54
	Oleaginosas	
Algodón	N × 5.3	32.59
Ajonjolí	N × 5.3	17.73
Girasol	N × 5.3	20.78

Trigo

Este cereal se usa sobre todo en panificación, donde se involucra una fermentación para obtener el esponjamiento de la masa, característica que sólo el centeno comparte parcialmente con el trigo; los demás cereales no la tienen. Para fabricar el pan se mezcla la harina de trigo con todos los ingredientes necesarios como agua, azúcar, mantequilla, sal y levadura. Se prepara la masa y se deja reposar para que los azúcares, al fermentar, produzcan el anhídrido carbónico por el que aumenta el volumen, y por último se cuece.

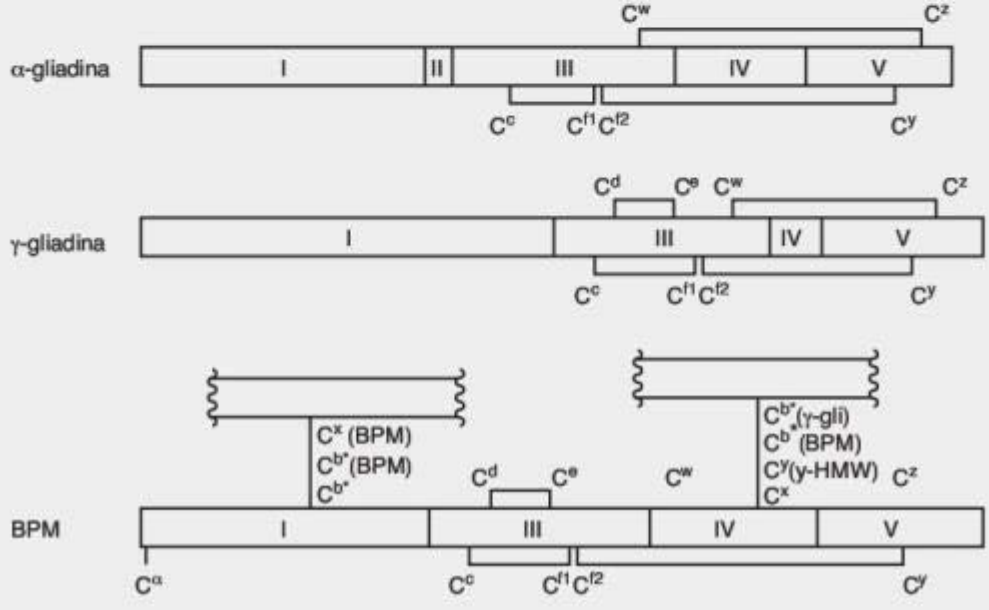
Esta capacidad de esponjamiento se debe principalmente a sus proteínas, pero también influyen otros constituyentes como el almidón y los lípidos.[152] Las glutelinas del trigo reciben el nombre de gluteninas; las prolaminas, a su vez, el de gliadinas, y ambas suman 85% de la fracción proteínica. Éstas, junto con los lípidos y el agua forman el llamado gluten, responsable de las propiedades de cohesividad y de viscoelasticidad de la masa de pa-

nificación. Las gliadinas, que son solubles en etanol al 70% representan 50% del total de las proteínas; son heterogéneas dado que contienen 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 Dalton, 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 responsables de la expansión de la masa durante la cocción del pan.[10] 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 se colapsa en lugar de esponjarse.

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), le confieren una gran estabilidad y permiten la asociación para formar polímeros de un peso molecular de varios millones (figura 3.55). 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.

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

Figura 3.55 Representación esquemática de las estructuras disulfuro de las α-gliadinas, γ-gliadinas y subunidades de bajo peso molecular (BPM).[94]



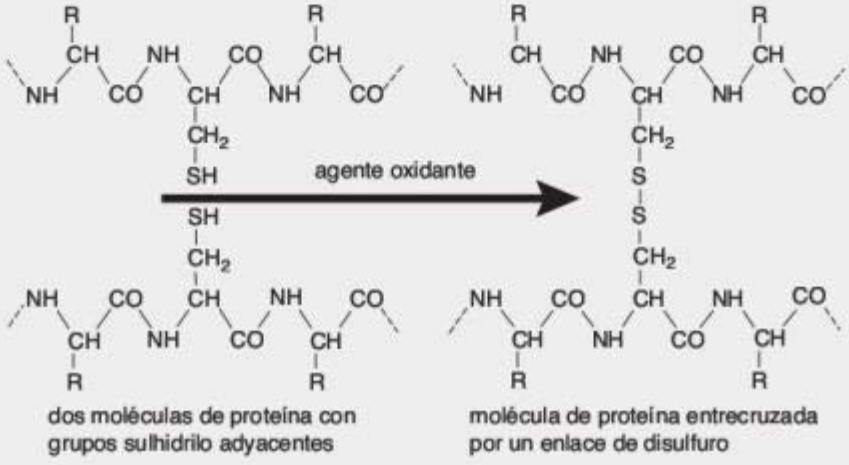
de la Gln fácilmente establezca puentes de hidrógeno inter e intramoleculares. Su baja concentración de aminoácidos ionizables y el alto porcentaje de hidrofóbicos lo hace poco soluble a pH neutro. Además el gluten es rico en residuos de cisteína que permite formar enlaces disulfuro intra e intermoleculares. 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 3.56).

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, dado que 85% de este aminoácido se localiza en las albúminas y las globulinas.

Las proteínas del gluten pueden causar en algunas personas la llamada enfermedad celiaca, que se caracteriza por una mala absorción intestinal que acarrea problemas nutrimentales. Al parecer la gliadina, la fracción que provoca atrofia de las vellosidades del intestino delgado, provoca que algunos nutrimentos (por ejemplo, vitaminas) no se absorban adecuadamente y que se presente desnutrición y avitaminosis. Ésta es una enfermedad hereditaria.[136] Estos efectos pueden ser atenuados al modificar las proteínas de la dieta.

Figura 3.56 Acción de agentes oxidantes sobre harina de trigo en la formación de enlaces disulfuro intermoleculares entre proteínas adyacentes.



Proteínas del maíz

El maíz representa para muchos países, como México, el principal alimento de gran parte de la población, sobre todo la de escasos recursos económicos; se consume en formas muy variadas: como tortillas, tamales, atole, pinole, etc., y es una de las bases del reconocimiento de la cocina mexicana como patrimonio intangible de la humanidad.[188]

El maíz es deficiente en lisina y en triptófano y la relación de concentraciones de leucina/isoleucina es muy elevada. Estos factores, aunados a su estructura terciaria rígida, hacen que su calidad nutrimental sea reducida.

En México, antes de consumirse, el maíz se somete a un proceso térmico-alcalino fuerte conocido como nixtamalización (del náhuatl *nextli*, cenizas o cenizas de cal, y *tamalli*, masa de maíz) (cuadro 3.57). 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 11-13. El tiempo de cocimiento, que fluctúa entre 20 y 40 minutos, depende de las variedades de maíz, pues las 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 periodo 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, con el propósito de 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.

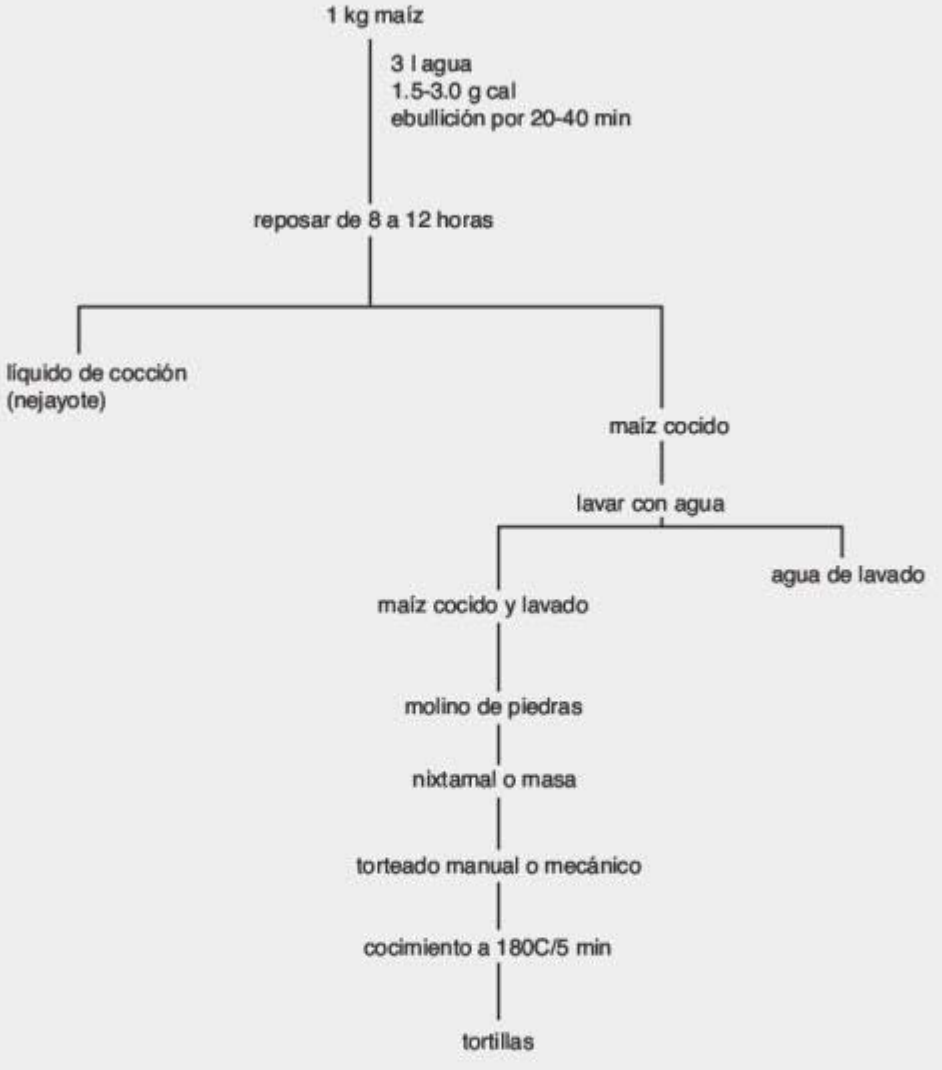
CUADRO 3.25 **Cambios de composición en el maíz durante la nixtamalización**

	Sin tratar	Nixtamalización
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 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. Al final, esta masa sirve para preparar una gran cantidad de alimentos, entre los que destaca la tortilla (figura 3.57); para cuya fabricación se requiere un cocimiento a 170-190 °C durante 4-5 minutos en planchas metálicas o de barro. Como se observa, el maíz se somete a tratamientos muy drásticos, poco comunes en la industria alimenticia: primero el térmico-alcalino, seguido del calentamiento en el molino y, por último, el de la cocción final en la plancha. Para ser aceptada, la tortilla debe reunir ciertas características de aroma y sabor. Además debe contar con buena flexibilidad y una textura adecuadas que permitan doblarla y enrollarla para comerla sin que se rompa. 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 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 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, inte-

Figura 3.57 Elaboración de tortillas a partir de maíz; las condiciones indicadas varían de acuerdo con el tipo de maíz que se nixtamalice.



ractúan mediante los iones divalentes calcio o magnesio y crean una estructura continua; algo semejante a lo que ocurre en la gelificación de las pectinas de bajo metoxilo.

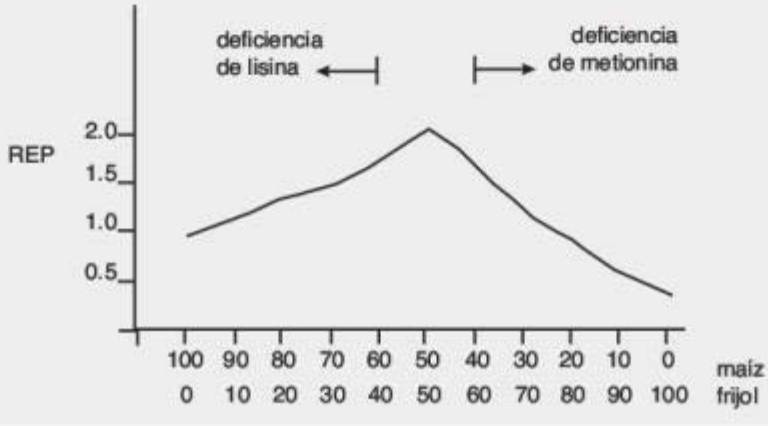
Durante las distintas etapas del proceso de nixtamalización, y debido a los múltiples factores involucrados, puede ocurrir una gran variedad de reacciones físicas y químicas. Los parámetros más importantes a controlar son: los tiempos de remojo, la concentración de álcali, la velocidad de incremento de temperatura, etc. La composición química de cada variedad de maíz, como el contenido de carbohidratos, proteínas y algunos otros componentes, también debe considerarse, pues todo eso repercute en las características de la masa y 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 triptófano), cuyo procesamiento debe ser diferente.[120]

Algunos de los cambios que ocurren durante la nixtamalización ya han sido estudiados: se gelatiniza el almidón, se hidroliza la hemicelulosa del pericarpio y se modifican 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 transformaciones como éstas: la biodisponibilidad de la lisina de la glutelina se incrementa considerablemente, así como la del triptófano; lo mismo ocurre con la niacina, que en principio se encuentra en forma no disponible biológicamente; la modificación de la leucina hace que la relación de este aminoácido con la isoleucina mejore considerablemente y se incremente el aprovechamiento de ambos; la gelatinización del almidón propicia que éste sea utilizado por el organismo humano. Por lo anterior, algunos autores consideran que fue precisamente la nixtamalización del maíz lo que hizo que florecieran las culturas precolombinas. En especial es importante la liberación de la niacina: en pueblos como el antiguo Egipto, donde se consumía solamente cocido sin adición de álcalis, se desarrollaba la pelagra, enfermedad mortal causada por la deficiencia de niacina; en cambio, los maíces nixtamalizados no la provocan ya que la niacina se hace disponible, así como el triptófano (precursor de esta vitamina).

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-alcalinas 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 revisó 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 con tanta facilidad 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 adecuadamente, de tal forma que con el consumo de ambos en una proporción de 50% cada uno se obtienen los mejores resultados (figura. 3.58).

Figura 3.58 Valores de la relación de eficiencia proteínico (REP) de diferentes mezclas de maíz y de frijol.



Se ha propuesto la fortificación de las tortillas con harina de soya, lo que incrementa la utilización biológica y el índice PDCAAS de las tortillas elaboradas, con efectos notables si la dieta se mantiene por más de una generación en animales de laboratorio.

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 diferentes 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, hipoalergénicos 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, originario de México. Existen múltiples variedades de amaranto, de las cuales la más común en México es *Amaranthus hypochondriacus*. Su consumo data de la época precolombina, 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 aún se cultiva en pequeñas parcelas. La semilla se obtiene de la planta madura, que alcanza más de dos metros de altura a los ocho meses. La composición promedio del grano 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 es su alto contenido de lisina, que va de 5 a 6.2 g/100 g de proteína. Su patrón de aminoácidos y su biodisponibilidad 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. Igual que muchos productos de origen vegetal, el amaranto contiene compuestos indeseables que deben eliminarse para incrementar su calidad nutritiva; entre ellos 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" (tradicionalmente en comal de barro o en planchas metálicas, o de manera industrial con aire caliente) con miel o piloncillo; también se ha empleado para fabricar otros productos típicos como galletas, atoles o pinole, así como algunos productos procesados entre ellos bebidas proteínicas y suplementos alimenticios.

La evaluación de diversas variedades y extractos proteínicos de amaranto indica que sus aislados proteínicos pueden ser de interés como ingredientes en alimentos, en especial para mejorar las propiedades de las masas de panificación con albúminas provenientes de este pseudocereal,175 sobre todo por sus capacidades de espumado e independientemente de sus propiedades nutrimentales.

Proteínas de leguminosas

Las leguminosas comprenden cerca de 20 000 especies y tienen gran importancia tradicional en la dieta tanto de Oriente como de Occidente. Las familias correspondientes son leguminosas y fabáceas, y las principales especies que se explotan son frijol (*Phaeolus vulgaris*), chícharo (*Pisum sativum*), lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*), cacahuate (*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.[64] Son importantes en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza, debido a que la gran mayoría tiene la capacidad de asociación con bacterias simbióticas que contribuyen a fijar nitrógeno atmosférico, por lo que su producción puede realizarse con menor cantidad de fertilizantes que la que usan los cereales, por ejemplo.[68] 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 proteínicos, especies explotadas tradicionalmente como comestibles, como el chícharo.[70]

Proteínas de la soya

Hoy en día la soya constituye la leguminosa de mayor valor económico. Además de ser de gran importancia en la dieta oriental, se ha incrementado el área de cultivo a países como los Estados Unidos de Norteamérica y América Latina.[192] Las proteínas de la soya han cobrado especial importancia por poseer diversos efectos fisiológicos, entre ellos la capacidad de reducir el colesterol sanguíneo, reducir la grasa corporal e incluso la FDA ha aprobado la reivindicación de que su consumo previene enfermedades coronarias.[53] Otros posibles beneficios son el alivio de síntomas de osteoartritis.[7] El rápido crecimiento del mercado ha generado una enorme gama de productos, en busca de mejorar su funcionalidad y reducir defectos, como el sabor "a verde" o "afrijolado" y la generación de flatulencia por su contenido de oligosacáridos no digeribles; 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-conglicinina o glicinina para mejorar la capacidad de gelificación, emulsificación y espumado.[187] Las propiedades nutrimentales y digestibilidad de las proteínas de soya pueden ser mejoradas por procesos que destruyen los factores antinutrimentales, como el inhibidor de tripsina, y liberan péptidos que se asimilan mejor.[78]

Las principales proteínas de almacenamiento en soya son la β-conglicinina (7S), deficiente en aminoácidos azufrados, y la glicinina (11S), rica en los mismos. 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 Dalton. 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.[123] Numerosos estudios tratan de identificar la relación entre estructura y funcionalidad de las proteínas de soya.

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 las taumatinas, la mabinlina, la pentadina, la brazeína, la curculina y la monelina. Además, aunque la miraculina no tiene sabor es capaz de modificar la percepción de dulzor y de amargor. 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, salvo en el caso de la taumatina,[52] que se comercializa como Talina. Ésta se extrae de los frutos de la planta marantácea africana *Thaumatococcus danielli*. Cuentan con cinco grupos de tripépti-

dos idénticos a los que se encuentran en la monelina, por lo que se consideran 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 oscila entre 1 600 y 2 700 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.

La monelina es un complejo proteínico de peso molecular de aproximadamente 11 000 Dalton, 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 unas 2 500 veces el de la sacarosa y la sensación de dulzura puede durar hasta 60 minutos. Actualmente no tiene una aplicación comercial.

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 Dalton. Aunque de forma pura no tiene sabor dulce, transforma la percepción de los compuestos ácidos en muy dulces, lo que 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 rápidamente, 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.

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 relevantes para el campo de los 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, como se muestran a continuación.

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. Por lo general cada cepa produce una bacteriocina específica con un espectro de acción reducido y 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*, y se pueden destacar también las que aparecen en el cuadro 3.26.

CUADRO 3.26 Péptidos microbianos útiles en bioconservación[128]

Bacteriocina	Microorganismo productor
Clase I	
Nisina	*Lactococcus lactis*
Lactocina S	*Lactobacillus sake*
Lacticina 481	*Lactococcus lactis*
Clase II	
Pediocina	*Pediococcus acidilactici*
Sakacina	*Lactobacillus sake*
Enterocina A	*Enterococcus faecium*
Lactococcina G	*Lactobacillus sake*
Plantaricina EF	*Lactobacillus plantarum*
Clase III	
Helveticina	*Lactobacillus helveticum*

De acuerdo con el grupo al que pertenecen, pueden contener aminoácidos modificados, por lo que también se denominan lantibióticos (figura 3.41). 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.[128]

Péptidos y regulación del apetito

Se ha demostrado que una familia de receptores hipotalámicos de péptidos regula la sensación de saciedad y la ingesta alimentaria.[167] 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.[364] 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 y fisiólogos, así como para la introducción al mercado de formulaciones alimentarias que los contengan para atender los problemas de salud relacionados con la obesidad.

Péptidos bioactivos

Se denomina actividad biológica a la que ejercen las proteínas más allá de sus propiedades nutrimentales o funcionales. En particular los denominados péptidos bioactivos tienen 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 pero son resistentes a la actividad de peptidasas y realizan 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.[29] También se pueden generar péptidos con actividad inmunomoduladora[179] a partir de hidrólisis con tripsina de proteínas de leche, soya y arroz: su función es estimular aniones superóxido (ROS) que desencadenan la respuesta inmune y sustancias

vasoactivas.[155] 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 además conduce a sinergia con antioxidantes como BHT. Por otra parte, los hidrolizados trípticos de caseína que generan caseinofosfopéptidos tienen actividad antioxidante tanto hidrofílica como lipofílica, puesto que secuestran iones metálicos y hacen *quenching* (amortiguamiento) con especies ROS. También se pueden formar estos péptidos durante la fermentación de los productos lácteos, lo que aún debe ser explorado a detalle[176] incluso para la reducción de alergenicidad de β-lactoglobulina y estimulación de respuesta inmune tras fermentación, por ejemplo, con *Bifidobacterium lactis*.[144] La principal limitante para la aplicación de los péptidos bioactivos es la falta de métodos de separación cromatográfica a gran escala.[92]

Proteínas microbianas

En la década de 1970 se consideró que la capacidad de los microorganismos para crecer en diversos sustratos, en especial los residuos agroindustriales e incluso el petróleo, 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 (cuadro 3.27).

Existen pocos productos explotados a nivel comercial en Estados Unidos, y en Europa el de mayor éxito es la llamada micoproteína que se texturiza a partir de *Fusarium graminearum*, el estadío 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™.

En Brasil se ha realizado el análisis de aislados proteínicos obtenidos de *Saccharomyces cerevisiae*, tanto en términos nutrimentales 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.[200]

CUADRO 3.27 **Composición de proteína unicelular de diferentes orígenes[151]**

	Porcentaje en función de peso		
Componente	**Alga**	**Hongo**	**Bacteria**
Proteína verdadera	40-60	30-70	50-83
Nitrógeno total (proteína + ácidos nucleicos)	45-65	35-50	60-80
Lisina	4.6-7.0	6.5-7.8	4.3-5.8
Metionina	1.4-2.6	1.5-1.8	2.2-3.0
Lípidos	5-10	5-13	8-10

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.[27]

Es interesante hacer notar que la composición de aminoácidos de proteínas fungales es muy similar a la de los estándares proteínicos sugeridos por la FAO, salvo por deficiencia en aminoácidos sulfurados.[151]

Un caso de interés para México sería el del alga azul-verde espirulina (*Spirulina máxima*) que crece naturalmente en el lago de Texcoco, México, aunque ya no se cultiva de forma comercial. Su composición en la forma de deshidratado es de 65% de proteína, 8% de lípidos, 15% de hidratos de carbono, 6% de cenizas y 6% de humedad. Aún se produce en Chile.[6] Es interesante que en 2008 la FAO la declaró importante para combatir el hambre y la mala nutrición en África.[72]

Referencias bibliográficas

1. Agboola, S., Ng, D. y Mills, D. 2005. "Characterization and functional properties of Australian rice protein isolates". *J. Cereal Sci.* 41:283-290.
2. Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W. y Rao, R. M. 1999. "Solubilized wheat protein isolate: Functional properties and potential food applications". *J. Agric. Food Chem.* 47:1340-1345.
3. Anfinsen, C. B. y Seberaga, H. A. 1975. "Experimental and theoretical aspects of protein folding". *Adv Prot Chem.* 29:205-300.
4. Anton, M. 2007. "Composition and structure of hen egg yolk". *En: Rainer Huopalahti, R.*, López-Fandiño R., Anton, M. y Schade, R. (Eds.). *Bioactive egg compounds*. Ed. Springer-Verlag-Berlin-Heidelberg. Nueva York.
5. AOAC, 1990. "Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists". 15ª ed. Virginia. pp. 342, 1095, 1096, 1105, 1106.
6. Aquasolar. 2012. Disponible en: www.aquasolar.cl.
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*, 11(7-8): 567-575.
8. Ascencio, C., Torres, N., Isoard-Acosta, F., Gómez-Pérez, F., Hernández-Pando, R., Tovar, A. 2004. "Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP – 1 mRNA and reduces fatty liver in rats". *J. Nutr.* 134:522-529.
9. 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):1254-1257.
10. Belitz, H. D., Grosch, W. y Schieberle, P. 2004. *Food Chemistry*. 3ª ed. revisada, Ed. Springer-Verlag, Berlín-Heidelberg-Nueva York. pp. 679-697.
11. Bernal, J., Mendiola, J. A., Ibáñez, E. y Cifuentes, A. 2011. "Advanced analysis of nutraceuticals". *J. Pharmaceut Biomed Anal*, 55(4):758-774.
12. 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". *J. Agric. Food Chem.* 51:6488-6494.
13. 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 Sci.* 70(3):529-534.
14. Bigelow, C. C. 1967. "On the average hydrophobicity of proteins and the relation between it and protein structure". *J. Theor. Biol.* 16:187-211.
15. Bodwell, C. E., Carpenter, K. J. y McDonough, F. E. 1989. "A collaborative study of methods of protein evaluation: Introductory paper". *Plant Foods Hum. Nutr.* 39:3.
16. Bourais, I., Amine, A., Moscone, D. y Palleschi, G. 2006. "Investigation of glycated protein assay for assessing heat treatment effect in food samples and protein-sugar models". *Food Chem.* 96:485-490.
17. Bourgeois, C. M. y Le Roux, P. 1986. *Proteínas animales*. 1ª ed., Ed. El Manual Moderno. México, D. F.

18. Boutrif, E. 1999. "Recent Developments in Protein Quality Evaluation". Disponible en: http://www.fao.org/docrep/u590t07htm.

19. Burley, R. W., Evans, A. J. y Pearson, J. A. 1993. "Molecular aspects of the synthesis and deposition of hens' egg yolk with special reference to low density lipoprotein". *Poult. Sci.* 72(5): 850-5.

20. Campbell, J. A. 1963. "Methodology of Protein Evaluation. A. Critical Appraisal of Methods for Evaluation of Protein in foods". Nutrition Document R.6/Add.1, Reunión en Ginebra en agosto.

21. Carrera-Sánchez, C. y Rodríguez-Patino, J. M. 2005. "Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution". *Food Hydrocolloid*. 19:407-416.

22. Castro-Puyana, M., García-Cañas, V., Simó, C. y Cifuentes, A. 2012. "Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics". *Electrophoresis*. 33:147-167.

23. Chao, A., Thun, M. J., Connell, C. J., McCullough, M. L., Jacobs, E. J., Flanders, D., Rodríguez, C., Sinha, R. y Calle, E. E. 2005. "Meat Consumption and Risk of Colorectal Cancer". *JAMA-J Am Med Assoc.* 293(2):172-182.

24. Cheftel, J. C., Cuq, J. L. y Lorient, D. 1989. *Proteínas alimentarias*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 346 pp.

25. Cheryan, M. 1998. "Ultrafiltration and Microfiltration Handbook". Technomic Publishing Company, Lancaster, PA. p. 527. *En:* Arzu Akpinar-Bayizit, Tulay Ozcan y Lutfiye Yilmaz-Ersan (Eds.) (2009). Membrane processes in production of functional whey components, *Mljekarstvo* 59(4):282-288.

26. Cho, H. J., Ham, H. S., Lee, D. S. y Park, H. J. 2003. "Effects of proteins from hen egg yolk on human platelet aggregation and blood coagulation". *Biol Pharm Bull.* 26(10):388-92.

27. Christensen, H. R., Larsen, L. C. y Frokiaer, H. 2003. "The oral immunogenicity of Bio-Protein, a bacterial single-cell protein is affected by its particulate nature". *Brit J. Nutr.* 90(1):169-178.

28. CIAA, 2006. "The CIAA Acrylamide 'Toolbox'". Confederation of the Food and drink industries of the EU. Disponible en: http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Acrylamide/UCM194530.pdf.

29. Clare, D. A. y Swaisgood, H. E. 2000. "Bioactive milk peptides: a prospectus". *J. Dairy Sci.* 83:1187-1195.

30. Clark, A. 1998. "Gellation of globular proteins". *En:* Hill, S. E., Mitchell, J. R. y Leward, D. (Eds.). Functional properties of food macromolecules. *Elsevier Appl Sci.* Londres. pp. 77-142.

31. Creighton, T. E. 1993. *Proteins. Structure and Molecular Properties*. 2ª ed, Ed. W. H. Freeman and Company. Nueva York. 507 pp.

32. Dagorn-Scaviner, C., Gueguen J. Y. y Lefebvre, J. 1987. "Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique". *J. Agric. Food Chem.* 26(3):716.

33. Damodaran, S. 1989. "Influence of protein conformation and its adaptability under Chaotropic conditions". *Int J. Biol. Macromol.* 11:2-8.

34. Damodaran, S. 1990. "Interfaces, protein films and foams". *Adv Food Nutr. Res.* 34:1-79.

35. Damodaran, S. 1994. "Structure-Function Relationship of Food Proteins". *En:* Hettiarachchy N. (Ed.) *Protein functionality in food systems*. Ed. Marcel Dekker, E.U.

36. Damodaran, S. 1996. *En:* Fennema, O. (Ed.). *Food Chemistry*. Ed. Marcel Dekker. E.U. pp. 321-429.

37. Damodaran, S. y Paraf, A. 1997. *Food proteins and their applications*. Ed. Marcel Dekker. E.U. pp. 1-24.

38. Dauphas, S., Mouhous-Riou, N., Metro, B., Mackie, A. R., Wilde, P. J., Anton, M. y Riaublanc, A. 2005. "The supramolecular organization of β-casein: Effect on interfacial properties". *Food Hydrocolloid*. 19:387-393.

39. De Clerck, E. y De Vos, P. 2002. "Study of the bacterial load in a gelatin production process focussed on Bacillus and related endospore forming genera". *Syst Appl Microbiol*. 25(4): 611-617.

40. Desert, C., Guerin-Dubiard, C., Nau, F., Jan, G., Val, F. y Mallard, J. 2001. "Comparison of different electrophoretic separations of hen egg white proteins". *J. Agric. Food Chem.* 49(10):4553-4561.

41. Dickerson, R. E., y Geis, I. 1969. "The structure and action of proteins". *En:* Tornberg, E., 2005. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Sci.* 70:493-508.

42. Dickinson, E. y Matsummura, 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.

43. Dybing, E., Farmer, P. B., Andersen, M., Fennell, T. R., Lalljie, S. P., Müller, D. J., Olin, S., Petersen, B. J., Schlatter, J., Scholz, G., Scimeca, J. A., Slimani, N., Törnqvist, M., Tuijtelaars, S. y Verger, P. 2005. "Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food". *Food Chem. Toxicol.* 43:365-410.

44. 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.* 39:13-21.

45. Eigel, W. N., Butler, J. E., Ernstrom, C. A., Farrell Jr., H. M., Harwalkar, V. R., Jenness, R. y Whitney R. M. 1984. "Nomenclature of proteins of cow's milk: 5th revision". *J. Dairy Sci.* 67:1599-1631.

46. El, S. N. y Kavas, A. 1997. "Available Lysin in dried milk after processing". *Int. J. Food Sci. Nutr.* 48(2):109-111.

47. Etzel, M. 2004. "Manufacture and use of dairy protein fractions". *J. Nutr.* 134:996-1002.

48. 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, Ginebra, Suiza. pp. 121-123.

49. FAO, 2007. Base de datos estadísticos FAOSTAT-Suministro Alimentario, 2007-1961. Disponible en: http://faostat.fao.org/site/609/DesktopDefault.aspx?PageID=609#ancor.

50. FAO, 2010. Base de datos estadísticos FAOSTAT-Producción-Cultivos. Disponible en: http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=es#ancor.

51. 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. y Swaisgood, H. E. 2004. "Nomenclature of proteins of Cow's milk: Sixth Revision". *J. Dairy Sci.* 87:1641-1674.

52. Faus, I. 2000. "Recent developments in the characterization and biotechnological production of sweet tasting proteins". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53(2): 145-151.

53. FDA 1999. Disponible en: http://www.fda.govTalk paper 20 octubre, 1999.

54. Fennema, Owen. R. 1996. *En:* Fennema O. (Ed.). "Food Chemistry. 3ª ed. Marcel Dekker", E.U. 1067 pp.

55. Ferry, J. D. 1961. "Viscoelastic Properties of Polymers", Willey Nueva York. p. 391.

56. Fligner, K. L. y Mangino, M. E. 1991. "Relationship of Composition to Protein Functionality". *En:* Parris y Barford (Eds.). *Interaccions of Food Proteins*, ACS Symp. Ser. E.U. 300 p.

57. Foegeding, A. y Davis, J. 2011. "Food protein functionality: A comprehensive approach". *Food Hydrocolloid, 25*:1853-1864.

58. Fredriksson, H., Tallving, J., Resén, J. y Aman, P. 2004. "Fermentation reduces free Asparagine in dough and acrylamide content in bread". *Cereal Chem.* 81(5):650-653.

59. Friedman, M. 1999. "Chemistry, biochemistry, nutrition, and microbiology of lysinoalanine, lanthionine, and histidinoalanine in food and other proteins". *J. Agric. Food Chem.* 47(4):1295-1319.

60. Friedman, M. 2003. "Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide". A review. *J. Agric. Food Chem.* 51:4504-4526.

61. 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.

62. Gamvros, R. y Blekas, G. 2000. "Legal aspects and specifications of Biopolymers used in foods". *En:* Doxastakis, G. y Klossenglou, V. Novel macromolecules in food systems. Elsevier. pp. 419-439.

63. Gendel, S. y Jenkins J. A. 2006. "Review Allergen sequence databases". *Mol Nutr. Food Res.* 50:633-637.

64. 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.* 137:1228-1235.

65. Ghosh, T. y Garde, S. y García, A. E. 2003. "Role of backbone hydration and salt-bridge formation in stability of *a*-Helix in solution". *Biophys J.* 85:3187-3193.

66. Giansanti F., Massucci M. T., Giardi M. F., Nozza F., Pulsinelli E., Nicolini C. 2005. "Antiviral activity of ovotransferrin derived peptides". *Biochem Biophys Res. Commun.* 331:69-73.

67. Goeptar, A., Koeman, J., van Boekel, M. y Alink, G. 1997. "Impact on digestion on the antimutagenic activity of the milk protein casein". *Nutrition Res.* 17(8):1363-1379.

68. Graham, P. y Vance, C. 2003. "Legumes: important and constraints to greater use". *Plant Physiol.* 131:872-877.

69. 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): 66-70.

70. Gueguen, J. y Cerletti, P. 1994. "Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin". *En* Hudson, B. J. F. (Ed.). New and developing sources of food proteins. 1ª ed. Chapman y Hall Great Britain. pp. 145-183.

71. Guo, J., Zhang, Y. y Yang, X. Q. 2012. "A novel enzyme cross-linked gelation method for preparing food globular protein-based transparent hydrogel". *Food Hydrocolloid.* 26:277-285.

72. Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C. y Hasan, M. R. 2008. "A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular. Núm. 1034. Roma, FAO. 33 pp.

73. 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 Efficency Ratio: AACC/ASTM Collaborative Study. *JAOAC.* 67(1): 225.

74. 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. *JAOAC.* 67(2): 255.

75. Hayase, F., Kato, H. y Fujimaki, M. 1973. "Racemization of amino acid residues in Proteins during roasting".. *Agric. Biol. Chem.* 37:191-192.

76. Hettiarachchy, N. S., Griffin, V. K. y Gnanasambandam, R. 1996. "Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ". *Cereal Chem.* 73(3):364-367.

77. Hoffman, D. R. 1983. "Immunochemical identification of the allergens in egg white". *J. Allergy Clin. Immunol.* 71:481.

78. Hong, K. J., Lee, C. H. y Kim, S. W. 2004. "Aspergillus oryzae GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals". *J. Med. Food.* 7(4):430-435.

79. Huang, L., Mills, C. E. N., Carter, J. M. y Morgan, M. R. A. 1998. "Analysis of thermal stability of soya globulins using monoclonal antibodies". *Biochim. Biophys.* Acta. 1388:215-226.

80. Huang, T., Nicodemus, J., Zarka, D. G., Thomashow. M. F., Wisniewski, M. y 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. 50(3):333-44.

81. Hultin, H. y Kelleher, S. 2001. "Process for isolating protein from a muscle source and protein composition US PATENT 6288216".

82. 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. y Kulomaa, M. S. 2005. "Design and construction of highly stable, protease-resistant chimeric avidins". *J. Biol. Chem.* 18:280(11): 10228-33.

83. Jackson, T. A. 1971. "Preferential polymerization and adsorption of L-optical isomers of amino acids relative to D-optical isomers on Kaolinite templates". *Chem. Geol.* 7(4): 295-306.

84. Jacobson, S. J. 1974. "Mechanism of cystine racemization in strong acid". *J. Org. Chem.* 39:1074 pp.

85. Jones, R. T. 1964. "The structure of proteins". *En* Schultz H.W. y Anglemeier A. F. (Eds.). Symposium on Foods. *Proteins and their Reactions.* The Avi Publishing, Westport, Conn.

86. 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):605-610.

87. 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.

88. 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 Chem.* 82:361-366.

89. Kinsella, J. E. 1976. "Functional properties of food proteins: A review". CRC Crit. Rev. *Food Sci. Nutr.* 7:219-280.

90. Kinsella, J. E. 1979. "Chemical Modification for Improving Functional Properties of Plant and Yeast Proteins". *Am Chem Ser.* 92:37-63.

91. Kinsella, J. E., Damodaran, S. y German, J. B. 1985. "Physicochemical and functional Properties of oilseed proteins with emphasis on soy proteins". *En:* Altshul, A. M. y Wilcke, H. L. (Eds.). *New Protein Foods: Seed Storage Proteins*, Academic Press. Londres. pp. 107-179.

92. Kitts, D. D. y Weller, K. 2003. "Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioproceses used in isolation and recovery". *Curr Pharmaceut Design.* 9(16): 1309-1323.

93. Klibanov, A. M. 1986. "Enzymes that work in organic solvents". *Chem Tech.* 6:354-359.

94. Köhler, P., Belitz, H. D. y Wieser, H. 1993. "Disulphide bonds in wheat gluten: further cystine peptides frpm high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) subunits of glutenin and from γ-gliadina". *Z Lebensm Unters Forsch.* 196:239-247.

95. 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. y Bazzarre, T. 2001. "AHA Scientific Statement: AHA Dietary Guidelines. Revision 2000". A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heat Association. *J. Nutr.* 131:132-146.

96. Kristinsson, H. G. y Rasco, B. A. 2000. "Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties". Crit. Rev. *Food Sci. Nutr.* 40(1):43-81.

97. Kunts, I. D. 1971. "Hydration of macromolecules. III. Hydration of polypeptides". *J. Am. Chem. Soc.* 93:514-516.

98. Kuwata, K., Shastry, R., Cheng, H., Hoshino, M., Batt, C., Goto, Y. y Roder, H. 2001. "Structural and kinetic characterization of early folding events in β-lactoglobulin". *Nat. Struct. Biol.* 8:151-155.

99. Lachance, P. A. y 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.

100. Lakemond, C. M. M., De Jongh H. H. J., Hessing, M., Gruppen, H. y Voragen, A. G. J. 2000 a. "Heat denaturation of soy glicinin: Influence of pH and ionic stength on molecular structure". *J. Agric. and Food Chem.* 48(6): 1991-1995.

101. Lakemond, C. M. M., De Jongh, H. H. J., Hessing, M., Gruppen, H. y Voragen, A. G. J. 2000 b. "Soy Glicinin: Influence of pH and ionic stength on solubility and molecular structure at ambient temperatures". *J. Agric. Food Chem.* 48(6):1985-1990.

102. Lanou, A. y Svenson, B. 2011. "Reduced cancer risk in vegetarians: an analysis of recent reports", *Cancer Manag Res.* 3:1-8.

103. Lapanje, S. 1978. *Physicochemical Aspects of Protein Denaturation.* Wiley-Intercience. Nueva York.

104. Larsen, C. 2003. "Animal Source Foods and Human Health during Evolution". *J. Nutr.* pp. 3893-3897.

105. 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 3A resolution". *EMBO J*, 9:9-15.

106. Layman, D. 2003. "The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis". *J. Nutr.* 133:261-267.

107. Lechevalier, V., Croguennee, T., Pezennee, S., Guérin-Dubiard, C., Pasco, M. y Nau, E. 2003. "Ovalbumin, ovotransferrin, lysozyme: Three model proteins for structural modifications at the air-water interface". *Agric. Food Chem.* 51(21):6354-6361.

108. Li, Can-Peng, Enomoto, H., Hayashi, Y., Zhao, H. y Aoki, T. 2010. "Recent advances in phosphorylation of food proteins: A review". *Food Sci. Technol.* 43:1295-1300.

109. Liebler, D. C. 2002. *Introduction to Proteomics*. 1ª ed. Humana Press. Totowa, Nueva Jersey. E.U. 198 pp.

110. Lijinsky, W. 1999. "N-Nitroso compounds in the diet". *Mutat Res.* 443:129-139.

111. López, G., Flores, I., Gálvez, A., Quirasco, M. y Farrés, A. 2003. "Development of a liquid nutrional suplement using a *Sesamun indicum* L. protein isolate". LWT *Food Sci. Technol.* 36:67-74.

112. Maijala, K. 2000. "Cow milk and human development and well being". *Livestock Prod Sci.* 65 (1-2):1-18.

113. Mamone, G., Picariello, G., Caira, S., Addeo, F. y Ferranti, P. 2009. "Analysis of food proteins and peptides by mass spectrometry–based techniques". *J. Chromat. A.* 1216:7130-7142.

114. Mataix, J. y Carazo, E. 1995. *Nutrición para Educadores*. Editores Díaz De Santos. S.A. España. p. 2.

115. Mathews, C. K. y Van Holde K. E. 2001. *Bioquímica*. 2ª ed. Editorial McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U., España. 1283 pp.

116. 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): 201-207.

117. McClemens, D. J. 1999. *Food emulsions: principles, practice and techniques*. Washington: CRC Press.

118. McDonough, F. E., Steinke, F. H., Sarwarg, G., Eggum, B. O., Bressani, R., Huth, P. J., Barbeau, W. E., Michell, G. V. y Phillips, J. G. 1990. "*In vivo* rat assay for true protein digestibility: Collaborative study". *JAOAC.* 73 (5): 801.

119. Meng, G-T., Ching, K-M. y Ma, C-Y. 2002. "Termal aggregation of globulin from an indigenous Chinese legume, *Phaseoulus angularis* (red bean)". *Food Chem.* 79: 93-103.

120. Milan-Carrillo, J., Gutiérrez-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.* 59(1):35-44.

121. 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.

122. Miller, G. A. y Lachance, P. A. 1973. "Proteins: chemistry and nutrition". *Food Prod Develop.* 7(12):23.

123. Mills, C. E. N., Marigheto, N. A., Wellner, N., Fairhurst, S. A., Jenkins, L. A., Mann, R. y Beltón, 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.

124. Miralles, B., Krause, I., Ramos, M. y Amigo, L. 2006. "Comparison of capillary electrophoresis and isoelectric focusing for analysis of casein/caseinate addition in processed cheeses". *Int. Dairy J.* 15:1448-1453.

125. Molina Ortiz, S. E., Wagner, R. J. 2002. "Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties". *Food Res. Int.* 35(6): 511-518.

126. 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". *J. Nutr.* 133:2733-2740.

127. Moughan, P. J. 2005. "Dietary protein quality in humans—an overview". *J. AOAC INT.* 88(3):874-876.

128. Naidu, A. S. 2000. *Natural food antimicrobial systems.* CRC Press. E.U. 818 pp.

129. Nakamura, R., Sugiyama, H. y Sato, Y. 1978. "Factors contributing to the heat-induced aggregation of ovalbumin". *Agr. Biol. Chem.* 42:819.

130. National Research Council (NRC). "Food and Nutrition Board". 1989. Recommended dietary allowances, 10ª ed. National Academy Press, Washington, D.C.

131. Nemati, M., Oveisi, M. R., Abdollahi, H. y Sabzevari, O. 2004. "Differentiation of bovine and porcine gelatins using principal component analysis". *J. Pharm. Biomed. Anal.* 18(3):485-92.

132. Nio, N., Motoki, M. y Takinami, K. 1986. "Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase". *J. Agric. Biol. Chem.* 50:851-855.

133. Noriega-López, L., Tovar, A., González-Granillo, M., Hernández-Pando, R., Escalante, B., Santillán-Doherty, P. y Torres, N. 2007. "Pancreatic Insulin Secretion in Rats Fed a Soy Protein High Fat Diet Depends on the Interaction between the Amino Acid Pattern and Isoflavones". *J. Biol. Chem.* 282:20657-20666.

134. 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.

135. Oliver, C., Kher, A., McNaughton, D. y Augustin, MA. 2009. "Use of FTIR and mass spectrometry for characterization of glycated caseins". *J. Dairy Res.* 76:105-110.

136. 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.* 108(9):1261-1266.

137. Papiz, M. Z., Sawyer, L., Eliopoulos, E. E., Nort, A. C. T., Findlay, J. B. C., Sivaprasadarao, R., Jones, T. A., Newcomer, M. E. y Kraulis, P. J. 1986. "The structure of β-lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-bindig protein". *Nature.* 324:383-385.

138. Pearce, K. N. y Kinsella J. E. 1978. "Emulsiying properties of proteins. Evaluation of a turbidimetric technique". *J. Agric. Food Chem.* 26:716-722.

139. Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Klauser, S., Hunziker, P. y von Fellenberg, R. 1997. "Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme". *J. Appl. Microbiol.* 82(3):372-378.

140. Phillips, R. D. y Beauchat, L. R. 1985. "Enzyme modification of proteins". *En:* New Protein Foods 4, *Food Sci. Technol.* A Ser. of Monogr. Academic Press. Nueva York. pp. 275-298.

141. Pomeranz, Y. 1985. "Proteins General". *En:* Functional Properties of Food Components; *Food Sci. Technol,* A Ser. of Monogr. Academic Press. Nueva York. pp. 155-187.

142. 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.

143. 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.

144. Prioult, G., Pecquet, S. y 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.

145. Protein Structures and Structural Bioinformatics Guide – Structure - Protein Folds. Revisado el 7 de marzo de 2012. Disponible en: http://www.proteinstructures.com/Structure/Structure/protein-fold.html.

146. Protein Structures and Structural Bioinformatics Guide – Structure - Protein domains. Revisado el 7 de marzo de 2012. Disponible en: http://www.proteinstructures.com/Structure/Structure/protein-domains.html.

147. Pszczola, D. E. 2004. "Ingredients". *Food Tech.* 58(2):56-69.

148. Quinn, J. R. y Paton, D. 1979. "A practical measurement of water hydration capacity of protein materials". *Cereal Chem.* 56(1):38.

149. Ramachandran, G. N., Kolaskar, A. S., Ramakrishnan, C. y Sasisekharan, V. 1974. "The mean geometry of the peptide unit from crystal structure data". *Biochim. Biophys.* Acta 359:298-302.

150. Ramos, F., Silveira, I., Silva, J. M., Barbosa, J., Cruz, C., Martins, J., Neves, C. y Alves, C. 2004. "Proposed guidelines for clenbuterol food poisoning". *Am. J. Med.* 117(5):362.

151. Rawindra, A. R. 2000. "Value-added food: single cell protein". *Biotechnol Adv.* 18:459-479.

152. Regand, A. y Goff, H. D. 2002. "Effect of biopolymers on structure and ice recrystallization in dynamically frozen ice cream model systems". *J. Dairy Sci.* 85(11):2722-2732.

153. Renkema, J. M. S., Catriona, M. M., Lakemond, H., De Jongh, H. J., Gruppen, H. y Vliet, T. V. 2000. "The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins". *J. Biotechnol.* 79: 223-230.

154. Reubsaet, J. L. E., Beijnen, J. H., Bult, A., Van Maanen, R. J., Marchal, J. A. D. y Underberg, W. J. M. 1998. "Analytical techniques used to study the degradation of proteins and peptides: Chemical unstability". *J. Pharmaceut Biomedical Anal.* 17:955-978.

155. Ringseis, R., Matthes, B., Lehman, V., Becker, K., Schops, R., 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: 89-97.

156. Roma, A. A. y Prayson, R. A. 2005. "Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: How safe is eating beef?" *Cleve Clin J. Med.* 72(3):185-186, 189-190, 192-194.

157. Rutten, M., Bovenhius, J., Heck, J. A. y Van Arendonk, J. A. M. 2011. "Predicting bovine milk protein composition based on Fourier transform infrared spectra". *J. Dairy Sci.* 94(11):5683-5690.

158. Saito, M., Chikuni, K., Monma, M. y Shimizu, M. 1993. "Emulsifying and oil binding properties of bovine serum albumin and its enzymatic hydrolyzate". *Biosci Biotech. Biochem.* 57(6):952-956.

159. Sarwar, G. y McDonough, F. E. 1990. "Evaluation of Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method for Assessing Protein Quality of Foods". *JAOAC.* 73(3):347.

160. Sarwar, G. y McLaughlan, J. M. 1981. "Relative Net Protein Ratio Method for Evaluating Protein Quality". *Nutr. Report Int.* 23(6):1157.

161. Sathe, S. K. y Sze, K. W. C. 1997. "Thermal aggregation of almond protein isolate". *Food Chem.* 59(1):95-99.

162. 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.* 69:17-25.

163. Schaafsma, G. 2000. "The protein digestibility-Corrected Amino Acid Score". *J. Nutr.* 130:1865-1867.

164. Schechter, Y., Tsubery, H., Mironchik, M., Rubinstein, M. y Fridkin, M. 2005. "Reversible pegylation of peptide YY $_{3-36}$ prolongs its inhibition of food intake in mice". *FEBS Lett.* 579:2439-2444.

165. 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.* 38:605-610.

166. Schrieber, R. y Seybold, U. 1993. "Gelatine production, the six steps to maximum safety". *Dev. Biol. Stand.*80:195-198.

167. 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.* 404:661-671.

168. SCIENCE Special section on Food Security. "News: What it takes to make that meal". 327:809 (12 de febrero de 2010). Disponible en: www.sciencemag.org.

169. Shewry, P. R., Franklin J., Parmar, S., Smith S. J. y Miflin B. J. 1983. "The effects of sulphur starvation on the amino acid and protein compositions of barley grain". *J. Cereal Sci.* 1:21-31.

170. Shewry, P. R. 1996. "Assembly and post-translation modification of wheat gluten proteins Gluten'96—Proceedings of the Sixth International Wheat Gluten Workshop RACI", North Melbourne, Australia. pp. 121-128.

171. Shewry, P. R., Lockhart, G. L. y Minn, St. Paul .2003. Wheat gluten protein analysis: *American Association of Cereal Chem* (AACC). 198 pp.

172. Shinohara, H., Iwasaki, T., Miyazaki, Y., Matsuo, K., Aoki, T., Matsumoto, M., Oka, T., Kurisaki, J., Mizumachi, K., Kusakabe, T., Koga, K. y Sugimoto, Y. 2005. "Thermostabilized ovalbumin that occurs naturally during development accumulates in embryonic tissues". *Biochim Biophys.* Acta 1723(1-3): 106-13.

173. Shuh, H. J., Bae, S. H., y Noh, D. O. (2000). "Debittering of corn gluten hydrolysate with active carbon". *J. Sci. Food Agric.* 80:614-618.

174. Siebert, K. 2003. "Modeling protein functional properties from amino acid composition". *J. Agric. Food Chem.* 51:7792-7797.

175. Silva-Sánchez, C., González-Castañeda, J., de León-Rodríguez, A. y Barba de la Rosa, A. P. 2004. "Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two Mexican varieties". *Plant Foods Hum. Nutr.* 59(4):169-74.

176. Smacchi, E. y Gobbetti, M. 2000. "Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzymes". *Food Microbiol.* 17:129-141.

177. Stadler, H. H., Robert, F., Reidiker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J. y Blank, I. 2004. "In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction". *J. Agric. Food Chem.* 52:5550-5558.

178. Stryer, L. 1988. *Biochemistry*. 3ª ed. W. H. Freeman and Company. Nueva York. E.U. p. 1089.

179. Stuknyte, M., De Noni, I., Guglielmetti, S., Minuzzo, M. y Mora, M. 2011. "Potential immunomodulatory activity of bovine casein hydrolysates produced after digestion with proteinases of lactic acid bacteria". *Int. Dairy J.* 21(10):763-769.

180. Sun, Y., Hayakawa, S. e 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):1293-1299.

181. Swaisgood, H. y Catignan, G. 1991. "Protein digestibility: *In vitro* methods of assessment". *Adv. Food Nutr. Res.* 35:185-236.

182. Tay, S. L., Guo, Q. X. y Perera, O. 2004. "Aggregation profile of 11 S, 7S and 2S coagulated with GDL". *Food Chem.* 91(3):457-462.

183. 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.* 316(4): 1124-1131.

184. Thomas, K., Herouet-Guicheney, C., Ladics, G., Bannon, G., Cockburn, Crevel, R., Fitzpatrick, J., Mills, C., Privalle, L. y Vieths, S. 2007. "Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins: International Workshop Report". *Food Chem. Toxicol.* 45:1116–1122.

185. Torres, N. y Tovar, A. 2007. "The role of dietary protein on lipotoxicity". *Nutr. Rev.* 65:S64–S68.

186. Tornberg, E. 2005. "Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products". *Meat Sci.* 70:493-508.

187. Tsumura, K., Saito, T., Tsuge, K., Ashida, H., Kugimiya, W., e Intuye, K. 2005. "Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis". *LWT.* 38:255-261.

188. UNESCO. 2010. "La cocina tradicional mexicana, cultura comunitaria, ancestral y viva". Disponible en: http://www.unesco.org/culture/ich/index.php?lg=es&pg=00011&RL=00400.

189. USDA. 2010. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Food groups: 12, 16.

190. Valsta, L., Tapanainen, H. y Mansito, S. 2005. "Meat fats in nutrition: A review". *Meat Sci.* 70(3):525-530.

191. Van Winckel, M., Vande Velde, S., De Bruyne, R. y Van Biervliet, S. 2011. "Clinical practice vegetarian infant and child nutrition". *Eur. J. Pediatr.* 170(12):1489-94.

192. 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.* 131:840-865.

193. Vani, B. y Zayas, J. F. 1995. "Wheat germ protein flour solubility and water retention". *J. Food Sci.* 60:845-848.

194. Vázquez, R. 2002. *Termodinámica biológica*. AGT Editor, S.A. México. pp. 75-76.

195. Veeramachaneni, V. y Makaowski, W. 2004. "Visualizing Sequence Similarity of Protein Families. *Genome Res.* 14:1160-1169.

196. 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. Nutr.* 42(4): 353-375.

197. Weber, G. 1992. *Protein interactions*. Chapman and Hall. Great Britain. pp. 158-159.

198. Wetlaufer, D. B. 1973. "Simposium: Protein Interactions in Biosynthesis. Protein Structure and Stability. Conventional Wisdom and New Perspectives". *J. Food Sci.* 38:740.

199. Xiong Youling, L. 2005. "Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats". *Food Res. Int.* 38:281-287.

200. Yamada, E. A. y Sgarbieri, V. C. 2005. "Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: Preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties". *J. Agric. Food Chem.* 53(10):3931-3936.

201. 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.

202. Zayas, J. F. 1997. *Functionality of proteins*. Ed. Springer-Verlag. Cap. 6. Gelling properties of proteins. E.U.

203. Zhu, H. y 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.

204. Zhu, H. y 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.

205. Zimmermann, N., Freund, S., Fredenhagen, A. y Jung, G. 1993. "Solution structures of the lantibiotics duramycin B and C". *Eur. J. Biochem.* 216:419-428.

206. Zuber, H. 1998. "Temperature adaptation of lactate dehydrogenase. Structural, functional and genetic aspects". *Biophys. Chem.* pp. 171-179.

207. Zwiorek, K., Kloeckner, J., Wagner, E. y Coester, C. 2005. "Gelatin nanoparticles as a new and simple gene delivery system". *J. Pharm. Sci.* 7(4):22-8.

4

- Introducción
- Clasificación
- Análisis físicos y químicos
- Manufactura de grasas y aceites
- Procesos de modificación de grasas y aceites
- Sistemas grasos en alimentos
- Deterioro de los lípidos
- Determinación de la oxidación
- Aspectos nutricionales

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Lípidos

Introducción

La palabra lípido (del griego *lipos*, grasa), originalmente se definía como "sustancia insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo". Esa acepción abarca las grasas, los aceites, los terpenos, las vitaminas A, D, E y K y pigmentos como los carotenoides. En la actualidad se considera que los lípidos forman un grupo muy amplio de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, que también contienen fósforo y nitrógeno. Así pues, la concepción de lípidos implica una gran variedad de sustancias que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y que cumplen diferentes funciones.

La relevancia de estos compuestos se resume en el cuadro 4.1, y su presencia en los alimentos se divide en tres aspectos: calidad, nutrición y biológico. Por ser los más abundantes, las grasas y los aceites participan directamente en la textura y lubricación de los alimentos; otros lípidos son pigmentos, hormonas o vitaminas, algunos forman parte de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de nutrimentos, etc. También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales debido a que, por ser malos conductores del calor, su tejido adiposo mantiene estable la temperatura del organismo.[2]

En este capítulo se estudian principalmente las grasas y los aceites y, dada su importancia, las vitaminas y los pigmentos se revisan por separado.

CUADRO 4.1 **Contribución de los lípidos en tres atributos de los alimentos[21]**

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 carbonílos.

Nutrición
- Fuente de energía importante mediante la β-oxidación.
- Vehículo de vitaminas liposolubles.
- Ácidos grasos indispensables, omega 3 y 6.
- Promueven la síntesis de micelas y bilis.
- Facilitan la absorción de las vitaminas liposolubles.

Biológico
- Fuente de vitaminas A, D, E y K.
- El colesterol es precursor de la vitamina D_3, de corticosteroides y ácidos biliares.
- El ácido linoleico es componente de las acilglucoceramidas de la piel.
- El inositol favorece la transmisión de señales nerviosas.
- El ácido araquidónico es precursor de eicosanoides y lipoxinas.
- El ácido docosahexaenoico 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.

Clasificación

La cantidad de sustancias consideradas como lípidos es muy amplia, por lo que la manera más común de clasificarlas es en función de su estructura química, como muestra el cuadro 4.2.

CUADRO 4.2 **Clasificación de los lípidos**

1. Lípidos simples. Ésteres de ácidos grasos y alcoholes.
   - Grasas y aceites. Ésteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos.
   - Ceras. Ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos.
2. Lípidos compuestos. Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.
   - Fosfolípidos. Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinado con una base de nitrógeno.
   - Glucolípidos o cerebrósidos. Compuestos de hidratos de carbono, ácidos grasos y esfingosinol.
   - Lipoproteínas. Integradas por lípidos y proteínas.
3. Lípidos asociados o derivados.
   - Ácidos grasos libres (derivados de los lípidos simples).
   - Pigmentos.
   - Vitaminas liposolubles.
   - Esteroles.
   - Hidrocarburos.

Los lípidos *simples* abarcan las grasas y los aceites y, por lo tanto, son los más abundantes e importantes para el tecnólogo de alimentos; los *compuestos* están integrados por una parte lipídica y otra que no lo es, unidas de forma covalente, como los fosfolípidos y los glucolípidos; también incluyen las lipoproteínas, aunque están unidas por enlaces hidrófobos y electrostáticos; por su parte, los lípidos *asociados* o *derivados* son todos los que no se ubican en ninguna de las subdivisiones anteriores.[6,9,30]

También se dividen en saponificables e insaponificables. La saponificación es una reacción de esterificación que se usa para fabricar jabones y en los análisis de lípidos; 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, fosfolípidos y ácidos grasos libres, mientras que los *insaponificables* son básicamente esteroles, vitaminas, hidrocarburos y pigmentos. Cabe indicar que la fracción insaponificable del aceite de aguacate tiene aplicación en la industria de cosméticos debido a sus propiedades emolientes.

Los lípidos polares incluyen a los ácidos grasos libres; los fosfolípidos y los glucolípidos se orientan de manera espontánea con el grupo polar hacia el agua y forman puentes de hidrógeno, pues en su molécula contienen una parte hidrófila y otra hidrófoba; por su parte, los no polares (grasas, aceites, ceras, colesterol, hidrocarburos, vitaminas y pigmentos) permanecen asociados y no se orientan hacia la interfase acuosa; es decir, son totalmente insolubles en agua.

Por otra parte, las grasas y los aceites se han clasificado en función de su origen y contenido de ácidos grasos; así tenemos que se les divide en: grasas animales (sebo, manteca de cerdo, huevo); aceites marinos (peces); 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).

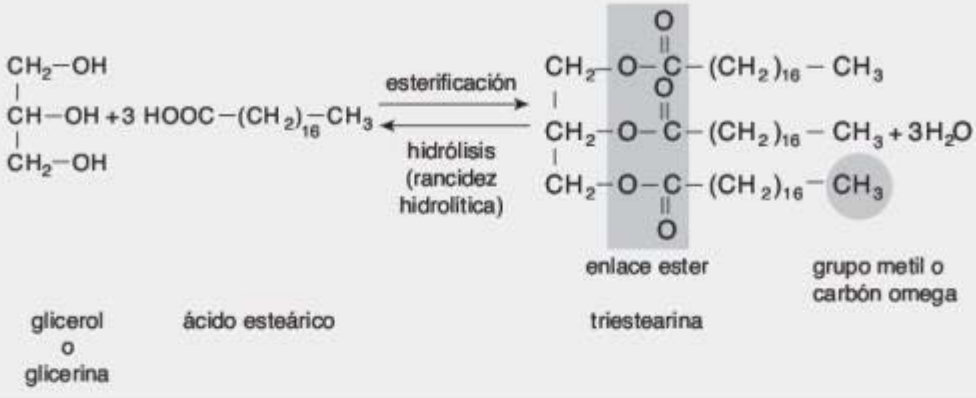
No hay una distinción clara entre grasas y aceites, aunque se considera que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a temperatura ambiente, mientras que los aceites son líquidos. Sus principales fuentes son las semillas oleaginosas y los tejidos animales, terrestres y marinos, ya que prácticamente no están presentes en las frutas y verduras, salvo por algunas excepciones como el aguacate, las aceitunas y las nueces. Las grasas y aceites desempeñan muchas funciones en los alimentos, además de que son una fuente energética importante para el hombre.

Ácidos grasos

En forma pura, las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos, comúnmente llamados triglicéridos, que a su vez son ésteres de ácidos grasos con glicerol; por consiguiente, esos ácidos representan un gran porcentaje de la composición de los triacilglicéridos y, en consecuencia, de las grasas y los aceites. Las grasas y los aceites poseen 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, etc., que se deben principalmente a sus ácidos grasos. En la figura 4.1 se muestra la formación de un triacilglicerol (triestearina) mediante una esterificación de tres ácidos esteáricos con el glicerol, así como el proceso inverso, su hidrólisis, que da origen a la rancidez hidrolítica que revisaremos más adelante.

La mayoría de estos ácidos son monocarboxílicos, de cadena alifática con número par de átomos de carbono; sin embargo, existen ácidos cíclicos, ramificados, hidroxilados y con un número non de átomos de carbono. Se han identificado más de 400 en la leche, en algunos vegetales y en ciertos microorganismos. Aun cuando son muchos, la mayor parte se encuentra en muy bajas concentraciones e influyen poco en las características físicas y químicas de los productos que los contienen.

Figura 4.1 Formación de un triacilglicérido y su hidrólisis.



El número de ácidos grasos más comunes de los alimentos es muy reducido (cuadros 4.3 y 4.4); por lo general están esterificados e integran los triacilglicéridos; cuando se presentan en estado libre es porque ocurrió una hidrólisis del enlace éster. Todos son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal, con un número par de átomos de carbono, ya que su metabolismo funciona mediante moléculas de carbono pares, como la acetilcoenzima A. Los aceites vegetales tienen sólo de 6 a 7 ácidos grasos, mientras que en el pescado se pueden encontrar 25 o más y diferentes a los de los animales terrestres que contienen cadenas que van de 12 a 26 C, aunque la mayoría son de 16 a 20 C.

Diversos factores determinan la composición de ácidos grasos de las grasas y los aceites. Por ejemplo, la yema de huevo incrementa su contenido en linoleico a medida que la dieta de las aves es más rica en ácidos poliinsaturados, característica que se ha aprovechado para ofrecer 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, por ejemplo los hexainsaturados, mediante una dieta pobre y de acuerdo con la temperatura del agua y de otros factores ambientales.

De forma industrial, los ácidos grasos se producen a partir de la hidrólisis de grasas y se utilizan en la elaboración de aditivos para la industria alimentaria. Los de 16 a 18 C, 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.

● 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 4 a 8 carbonos son líquidos a 25 °C, mientras que los de 10 C en adelante son sólidos (cuadro 4.3), y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular.

CUADRO 4.3 **Ácidos grasos saturados**

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
Butírico	Butanoico	$CH_3(CH_2)_2COOH$	5.9
Caproico	Hexanoico	$CH_3(CH_2)_4COOH$	3.4
Caprílico	Octanoico	$CH_3(CH_2)_6COOH$	16.7
Cáprico	Decanoico	$CH_3(CH_2)_8COOH$	31.6
Láurico*	Dodecanoico	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	44.2
Mirístico*	Tetradecanoico	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	54.4
Palmítico*	Hexadecanoico	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	63.0
Esteárico*	Octadecanoico	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	69.4
Araquídico	Eicosanoico	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	76.0
Behénico	Docosanoico	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	79.9
Lignocérico	Tetracosanoico	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	84.2
Cerótico	Hexacosanoico	$CH_3(CH_2)_{24}COOH$	87.7

* Ácidos grasos saturados más comunes en alimentos.

Su nomenclatura se basa en el empleo de nombres comunes como butírico, cáprico, etc., o añadiendo el sufijo *-oico* a la raíz griega que indica el tamaño de la cadena de átomos de carbono.[33,34] Su numeración comienza a partir del grupo carboxilo cuyo carbono corresponde al número 1:

$$\underset{8\ \ 7\ \ 6\ \ 5\ \ 4\ \ 3\ \ 2\ \ 1}{CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH}$$

$CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH$ ácido butírico

$CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH$ ácido caproico

$CH_3{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH$ ácido caprílico

Entre los más comunes está el ácido láurico, que abunda en los aceites de palmiste (semilla de la palma) y de coco; el palmítico, que se encuentra en la palma, en el cacao y en la manteca de cerdo, y el esteárico en el cacao y en los aceites hidrogenados (cuadro 4.5). La grasa de la leche o grasa butírica (de donde deriva la mantequilla) contiene ácido butírico, cuya presencia se emplea para identificar y cuantificar la grasa láctea en los productos o su adulteración.

Los de cadena corta (menos de 10 C) contribuyen al aroma y al sabor de la leche y de los derivados lácteos; en ocasiones puede ser dañina, como en la leche fluida, mientras que en otras es muy deseable, como en los quesos (vea la sección Lipólisis o rancidez hidrolítica).

Los saturados son mucho más estables a la oxidación que los insaturados; sin embargo, en condiciones de temperatura muy alta (más de 180 °C) pueden sufrir reacciones oxidativas, como sucede en el freído o en presencia de oxígeno.

● Ácidos grasos insaturados

Son cadenas lineales de 16 o más carbonos (vea el cuadro 4.4) y debido a sus insaturaciones estos ácidos grasos tienen una gran reactividad química que se refleja en tres mecanismos: *saturación*, como ocurre en la hidrogenación; *oxidación*, que sucede en las reacciones de rancidez, e *isomerización*, descrita más adelante (vea la sección Hidrogenación).

Los ácidos grasos insaturados se encuentran más en los peces y las oleaginosas y menos en las grasas de animales terrestres. Su temperatura de fusión disminuye al aumentar el número de dobles ligaduras y siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los de una insaturación se llaman monoenoicos o monoinsaturados; a los de más de una se les denomina polienoicos o poliinsaturados (o PUFA, del inglés *Polyunsaturated Fatty Acids*); 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 y el número de las dobles ligaduras y se añade el sufijo *-enoico*. En forma natural, los poliinsaturados tienen dos o más dobles ligaduras 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 ese metileno de por medio, como sucede con el ácido linoleico conjugado (o CLA, siglas en inglés de *Conjugated Linoleic Acid*). Cabe indicar que las ligaduras conjugadas son químicamente más reactivas que las no conjugadas.

$-CH=CH-CH=CH-$ sistema de dobles ligaduras conjugadas

$-CH=CH-CH_2-CH=CH-$ sistema de dobles ligaduras no conjugadas

Como vimos antes, el conteo de los átomos de carbono de la cadena se inicia por el carboxilo; sin embargo, para determinar su actividad biológica los poliinsaturados se numeran según la posición del primer doble enlace con respecto al grupo metilo (o carbón omega, que es la última letra del alfabeto griego) y se dividen en dos grandes grupos: los omega 6 ($\omega 6$), que lo tienen en el sexto carbono, como el ácido linoleico, y los omega 3 ($\omega 3$), 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 designarse C18:1$\omega 9$, que significa que es un ácido de 18 átomos de carbono, con una sola insaturación, la cual está a 9 carbonos del grupo metilo. Por su parte, el linoleico sería el 18:2$\omega 6$, mientras que el linolénico, 18:3$\omega 3$.

$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$

carbono omega — ácido oleico

$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$

1 2 3 4 5 6 — ácido linoleico (omega 6)

$CH_3-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$

1 2 3 — ácido linolénico (omega 3)

$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$

ácido araquidónico

En el aceite de pescado se presenta una mezcla muy compleja de ácidos grasos de cadenas más largas y más insaturados que el linolénico, como el ácido llamado EPA, de 20 C con cinco insaturaciones (20:5), el DHA de 22 C con 6 insaturaciones (22:6) y el DPA de 22:5. 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 en esas condiciones. Por esta razón, entre todos los aceites comestibles los de pescado son más sensibles a la oxidación y especialmente su fracción de fosfoglicéridos, que es la más insaturada. El contenido de los omega 3 es muy variable entre los peces y en forma aproximada es de 0.9, 1.6, 2.0 y 0.2 g/100 g para el atún, salmón, arenque y bacalao, respectivamente.

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	$C_{17}H_{33}COOH$	13.0
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	*trans*-Octadeca-11-enoico	$C_{17}H_{32}COOH$	40.0
Gadoleico	Eicosa-11-enoico	$C_{19}H_{17}COOH$	23.5
Erúcico	Docosa-13-enoico	$C_{21}H_{40}COOH$	38.0
EPA	Eicosa-5,8,11,14,17-enoico	$C_{19}H_{29}COOH$	< −50.0
DPA	Docosa-7,10,13,16,19-enoico	$C_{21}H_{32}COOH$	< −50.0
DHA	Docosa-4,7,10,13,16,19-enoico	$C_{21}H_{30}COOH$	< −50.0

*Ácidos grasos insaturados más comunes en alimentos.

Las modificaciones genéticas han permitido desarrollar semillas con perfiles de ácidos grasos distintos. Por ejemplo, se tiene el aceite de soya bajo en linolénico (<3%) y alto oleico (>80%); la palma baja en palmítico y en esteárico y alto en oleico; oleína de palma con bajo punto de enturbiamiento (<5 °C); canola alta en oleico y baja en linolénico; girasol sin ceras, etc. Estas modificaciones, en general, confieren más estabilidad a los aceites y facilitan su procesamiento industrial, aunque en ocasiones en detrimento de su valor biológico por la reducción del contenido de ácidos grasos indispensables.

Las insaturaciones de los ácidos grasos y de otras moléculas como las vitaminas A y E, así como los carotenoides, 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.

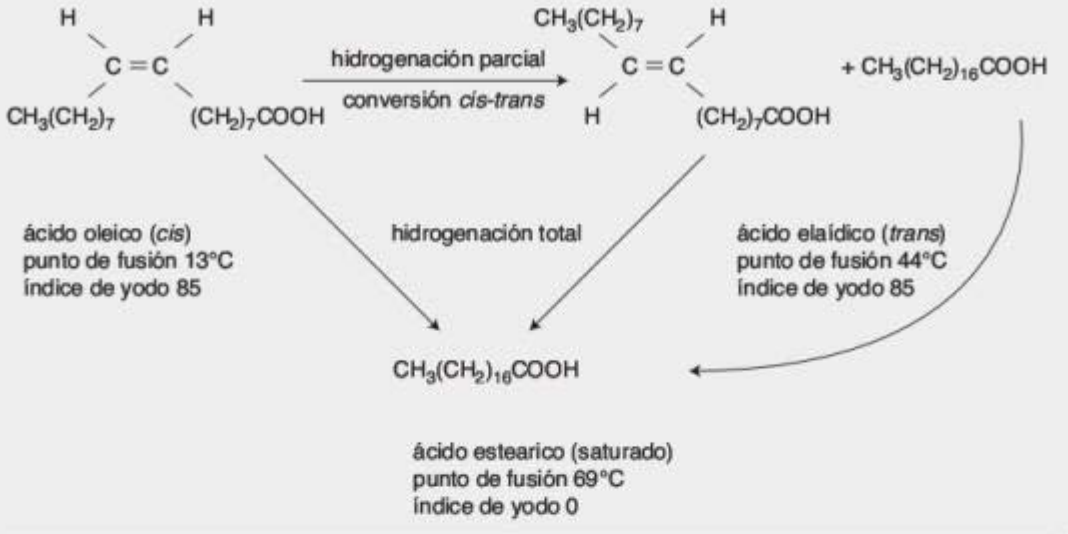
En estado natural, la mayoría de los ácidos grasos son *cis* (prefijo griego que significa "de la parte o del lado de acá", mientras que los *trans* (prefijo que significa "del otro lado") se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales y en algunas provenientes de rumiantes, como el sebo; la mantequilla 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, de cristal, semejante a un saturado.

Ese 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 y se encuentra en las mantecas hidrogenadas y en la grasa láctea (figura 4.2).

Los pocos ácidos con ramificaciones presentes en la naturaleza muestran puntos de fusión bajos debido a que sus protuberancias impiden que se asocien entre sí y formen estructuras ordenadas cristalinas de mayor punto de fusión, como lo hacen las cadenas lineales y los *trans*.

Cuando se tiene una doble ligadura, como en el oleico, sólo existen 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 más compleja con más dobles ligaduras. Muchos de estos isómeros se sintetizan en la hidrogenación de los aceites

Figura 4.2 Efecto de la hidrogenación en el ácido oleico.



y su presencia influye de manera importante en las características físicas y químicas de las mantecas; su determinación se puede realizar con métodos espectroscópicos.

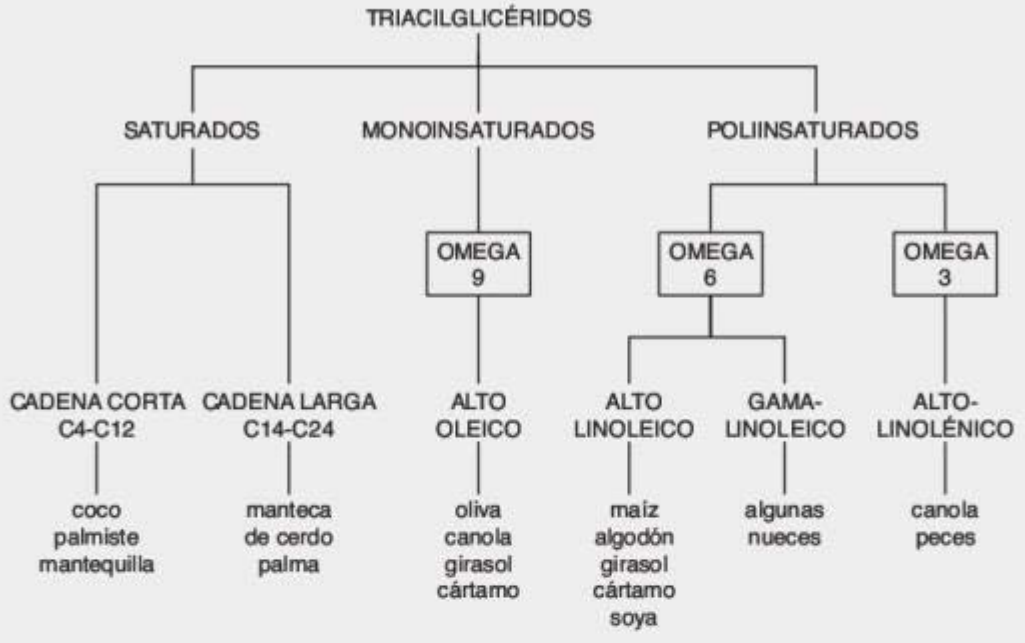
Por su parte, el isomerismo posicional está relacionado con la localización de las dobles ligaduras en la cadena hidrocarbonada. Los sistemas no conjugados son los más comunes; sin embargo, con tratamientos térmicos se transforman en conjugados que son más reactivos y fácilmente oxidables. Para los monoinsaturados se observa que la doble ligadura puede encontrarse en diferentes posiciones isoméricas; por ejemplo, el ácido vaccénico (*trans*-octadeca-11-enoico, de la mantequilla) y el ácido petroselínico (*cis*-octadeca-6-enoico de varias semillas), son los isómeros posicionales del ácido oleico (*cis*-octadeca-9-enoico).

$CH_3–(CH_2)_7–CH=CH–(CH_2)_7–COOH$	ácido oleico	pf 13 °C
$CH_3–(CH_2)_5–CH=CH–(CH_2)_9–COOH$	ácido vaccénico	pf 40 °C
$CH_3–(CH_2)_{10}–CH=CH–(CH_2)_4–COOH$	ácido petroselínico	pf 30 °C

De igual manera, el ácido elaeosteárico (octadeca-9,11,15-trienoico) es el isómero posicional del ácido linolénico (octadeca-9,12,15-trienoico). Cabe indicar que el ácido linolénico está presente en los isómeros alfa, con sus insaturaciones en los carbonos 3,6 y 9 a partir del omega, haciéndolo un ácido omega 3, pero también se tiene el ácido gama-linolénico, con sus insaturaciones en los carbonos 6, 9 y 12, que lo convierte en omega 6.

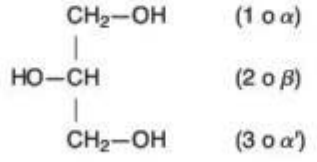
En general, los aceites líquidos a temperatura ambiente presentan más insaturados que las grasas sólidas; los de peces de agua fría tienen el mayor porcentaje de insaturados, el pollo más que el cerdo y éste, a su vez, más que la res. Hablar de aceites o grasas saturadas e insaturadas no es muy exacto, puesto que todas contienen ambos grupos de ácidos grasos, aunque en distinta proporción (cuadro 4.5). Sin embargo, con base en la predominancia de algún ácido graso, las grasas y aceites se pueden dividir como se muestra en la figura 4.3. Los aceites ricos en linoleico y linolénico, por ejemplo soya, maíz y canola, presentan puntos de fusión bajos, con elevados índices de yodo que indican una gran susceptibilidad a las reacciones de oxidación.

Figura 4.3 Clasificación de grasas y aceites, según la predominancia de algún ácido graso.[11]

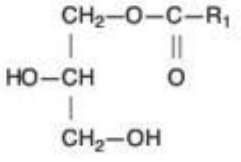


Acilglicéridos

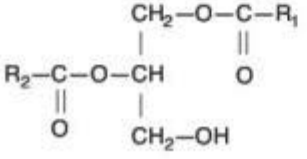
Son lípidos simples, neutros o sin carga, los más comunes en la naturaleza, derivados de la reacción de esterificación entre el glicerol y una, dos o tres moléculas de ácidos grasos en las posiciones 1, 2 y 3, o α, β y α' del glicerol. De todos, los triacilglicéridos son los más importantes. Su nomenclatura, llamada numeración estereoespecífica (en inglés *sn*, de *stereospecific numbers*), se basa en que los sustituyentes de la molécula se designan 1, 2 y 3, y el 2 se representa a la izquierda del plano de átomos de carbono.



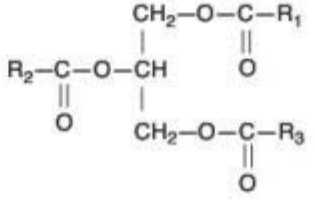
glicerina



1-monoacilglicérido



diacilglicérido



triacilglicérido

● Mono y diacilglicéridos

Los monoacilglicéridos y los diacilglicéridos, comúnmente llamados monoglicéridos y diglicéridos, respectivamente, representan una fracción muy pequeña de las grasas y los aceites; 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 o por las altas temperaturas (vea la sección Lipólisis o rancidez hidrolítica). De manera natural, ambos grupos de sustancias se asocian con las membranas de los glóbulos de grasa, como ocurre con la leche y en otros sistemas grasos naturales.

Se sintetizan por una reacción de esterificación directa entre el glicerol y los ácidos grasos, aunque de forma comercial se efectúa por medio de interesterificaciones entre grasas y glicerol (vea la sección Interesterificación). Los mono y diacilglicéridos así como sus derivados, se usan ampliamente como emulsionantes pues tienen una parte hidrófoba representada por el o los dos ácidos grasos y otra hidrófila del resto de la molécula; en consecuencia, su capacidad emulsificante depende de sus ácidos grasos y de sus otros sustituyentes.

● Triacilglicéridos

Son los acilglicéridos más abundantes en la naturaleza y los principales constituyentes de todas las grasas y los aceites, incluido el tejido adiposo del ser humano y otros animales, ya que representan más de 95% de su composición. Su nomenclatura depende de sus ácidos, de manera que cuando contienen sólo uno se conocen como triacilglicéridos simples y cuando poseen dos o tres se consideran 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.

CUADRO 4.5 **Composición de ácidos grasos de algunas grasas y aceites**

	butírico	caproico	caprílico	cáprico	láurico	mirístico	palmítico	esteárico	oleico	linoleico	linolénico
	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	
cacahuate							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	
mantequilla	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%.

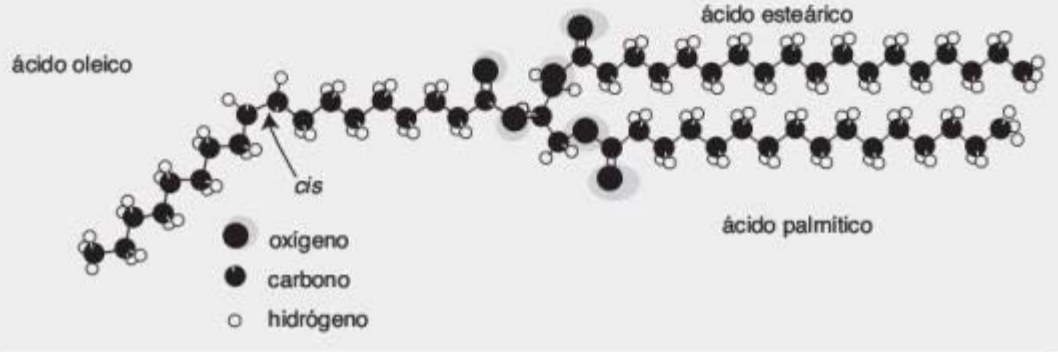
La nomenclatura de los mixtos se basa en indicar de forma consecutiva los tres ácidos grasos, utilizando el sufijo *-il* o *-ato* para cada uno. Con la numeración estereoespecífica, un triacilglicérido con linoleico, esteárico y palmítico en posiciones 1, 2 y 3 respectivamente, se denomina *sn*-gliceril-1-linoleato-2-estearato-3-palmitato, que equivale al linóleo-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 esos ácidos: *β*-palmitil-*α*, *α'*-diestearina equivale a la 2-palmitil-1,3-diestearina o, de manera abreviada, diestearopalmitina o palmitidildiestearina. La figura 4.4 es una representación estereoquímica de un triacilglicérido formado por los ácidos oleico, esteárico y palmítico.

Sus características físicas y químicas dependen del tipo, concentración y forma de distribución de sus ácidos grasos en las tres posiciones. Sus posibles combinaciones de ubicación 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 con 10 ácidos grasos se pueden integrar más de 500 posibles triacilglicéridos; sin embargo, en la naturaleza no existe tan amplia variedad de ellos y, en este caso, 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. 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 de menos de 10 carbonos 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% de los disaturados en los que 80 % del oleico se encuentra en la posición 2 y los saturados en la 1 y la 3. Los aceites de soya y de cacahuate presentan una alta proporción de triinsaturados. En los aceites de oliva y de cacahuate los ácidos grasos están distribuidos de manera más homogénea.

Figura 4.4 Estructura estereoquímica de un triacilglicérido con los ácidos oleico, esteárico y palmítico.



Cada fracción de triacilglicéridos tiene una temperatura de fusión diferente, como en el caso de la palma, en que se han aislado seis grandes grupos (cuadro 4.6) mediante una cristalización controlada; el número de tales fracciones depende de las condiciones de fraccionamiento, como se describe en la sección Fraccionamiento.

Con base en lo anterior, 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 sus ácidos grasos: *a*) localización en el glicerol; *b*) grado de instauración; *c*) tamaño de la cadena, y *d*) presencia de isómeros.

CUADRO 4.6 **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

● Polimorfismo

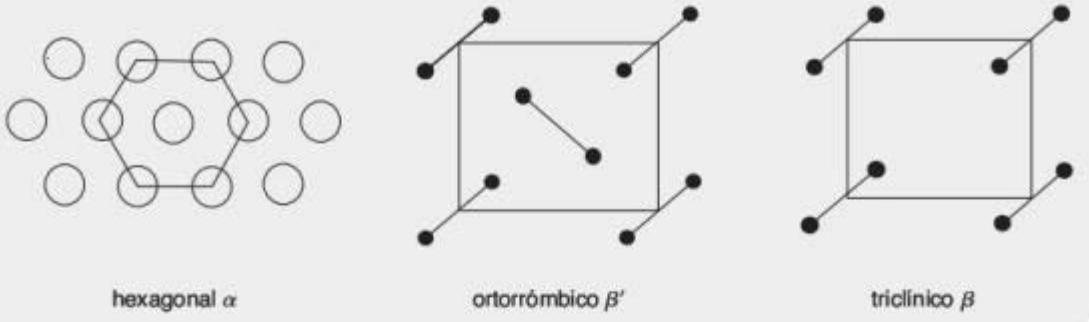
Cuando se enfrían las cadenas lineales de ácidos grasos, se orientan y forman una estructura compacta llamada cristal; este proceso implica la remoción de calor y, por lo tanto, la reducción de la dinámica de las moléculas, con lo que se provoca el acercamiento entre unas y otras. Cuando la distancia 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 más compacto, por lo que se forma un solo tipo de cristal; en caso contrario, si son mixtos (varios ácidos grasos), como ocurre con todas las grasas naturales, el empaquetamiento no es homogéneo por tener ácidos grasos de diverso tamaño, de ubicación en el glicerol, de insaturación y de isomerismo, que interrumpen una ordenación como en el primer caso y se produce más de un tipo de cristal.[41]

La creación de los cristales es un proceso dinámico dado que cambian de patrón cristalográfico hasta llegar a un estado termodinámicamente más estable; a la propiedad de un compuesto para cristalizar en distintas formas, conservando su composición química, se le llama polimorfismo. Cada cristal tiene un tamaño y forma determinados que se reflejan en su textura y en su punto de fusión; en su integración influye 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 efectúa con técnicas de difracción de rayos X, de espectroscopía 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 y el segundo está en función de la longitud, la multiplicidad y la inclinación de la cadena sobre su base.

Con estos análisis se han identificado siete distribuciones de empaquetamiento, entre las que destacan la hexagonal, la triclínica y la ortorrómbica y por lo general se les designa como α, β y β' (figura 4.5). La 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, mientras que la β' tiene características intermedias entre las dos primeras.

Figura 4.5 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 1 μ de longitud, aproximadamente; por su alto grado de desorden, por tener cadenas orientadas al azar y en todas direcciones y por no estar bien empacados, estos cristales son inestables y se transforman en β', que son más grandes y con mejor orientación y uniformidad; éstos, a su vez, tienden a cambiarse a la forma β de un tamaño de hasta 50 μ, aunque 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 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 de hasta 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 debido a eso 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, cacahuate, 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, por ejemplo en la leche, la margarina, el algodón, el sebo, la palma y la soya hidrogenada. Cabe resaltar el hecho de que con pocos ácidos grasos, el aceite de soya 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 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 licúe en la boca. Esta grasa se caracteriza por su alto contenido de triacilglicéridos con dos ácidos grasos saturados y un insaturado que representa 67.5% de sus triacilglicéridos; 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 la III son 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 muy resistente a las reacciones de oxidación. Cuando se enfría bruscamente se producen cristales inestables, los cuales se licúan 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.[5]

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 después 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 que provoca un aspecto muy indeseable debido a que ocurre una transformación polimórfica.

El polimorfismo también se presenta en las grasas usadas para fabricar margarinas, en el sebo y en las mantecas vegetales o *shortenings*; término derivado del inglés *shorten*, que se refiere a las grasas que no permiten o acortan el gluten, como lo requieren la estructura esponjosa de los pasteles y los panqués.

Fosfoglicéridos o fosfolípidos

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. En la mayoría, el ácido graso en C1 o C3 es saturado (u *gr.* el palmítico o esteárico) o monoinsaturado (oleico), mientras que el de C2 es insaturado (linoleico o linolénico). Los fosfoglicéridos tienen mucha importancia biológica, ya que intervienen en diversos pasos del metabolismo, son parte integral de las membranas y de otros constituyentes celulares y representan hasta 90% de los lípidos de la mitocondria.

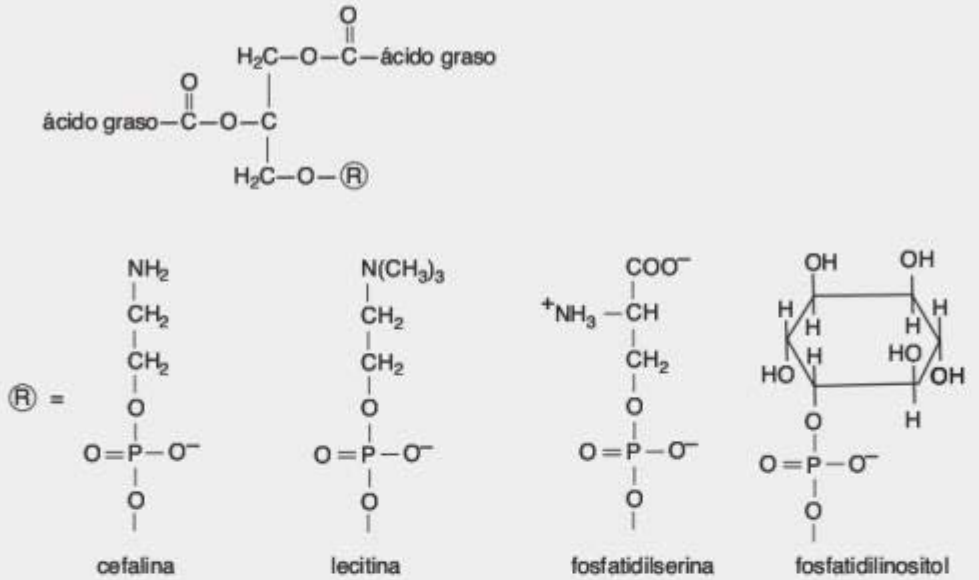
La yema del huevo contiene aproximadamente 67% de triacilglicéridos, 5% de colesterol y 28% de fosfolípidos, los que a su vez están constituidos por 73% de fosfatidilcolina o lecitina (del griego *lekigos*, yema de huevo), 15% de fosfatidiletanolamina o cefalina, 6% de lisofosfatidilcolina, 2.5% de esfingomielina, 2% de lisofosfatidiletanolamina y 1% de plasmalógeno. Como vimos antes, 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, se reducen los fosfoglicéridos debido a que se usan como fuente de energía y 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 y 23% de esfingomielina y otros; se localizan sobre todo en la membrana de los glóbulos de grasa (aproximadamente 60% del total), 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 con facilidad, 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 y actúa como emulsionante debido a que su molécula contiene una parte hidró-

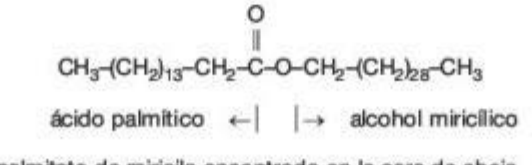
Figura 4.6 Fórmulas de diferentes fosfolípidos. El grupo (R) es hidrofílico e interactúa con el agua, mientras que el resto de la molécula del acilglicérido lo hace con el aceite.



foba y otra hidrófila. El grupo fosfato y la base nitrogenada de la lecitina o (R) en la figura 4.6 interaccionan 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. De forma comercial se obtiene como subproducto de la refinación del aceite de soya y es en realidad una mezcla de diversos fosfátidos que incluye la cefalina y el inositol; su uso más importante es como emulsionante, sobre todo en productos infantiles y de confitería.

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, las plumas de los animales y en los peces; son sólidas en frío, pero líquidas y moldeables en caliente y su temperatura de fusión varía de 40 a 100 °C.[26,35] 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/cm^2 de epidermis y son ricas en ácidos grasos de 16 a 36 átomos de carbono; cabe aclarar que estos compuestos por lo general están asociados con parafinas, alcoholes, esteroles, cetonas y otras sustancias de alto peso molecular.



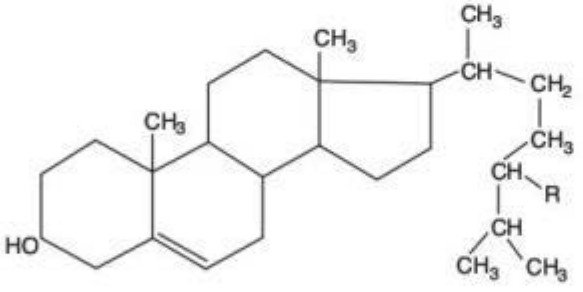
palmitato de miricilo encontrado en la cera de abeja

Tanto el aceite de maíz como el de girasol contienen ceras que deben ser eliminadas mediante el proceso de hibernación (vea la sección Hibernación), ya que de otra manera provocan turbiedad en el producto refinado.

Esteroides

Son sustancias integradas por el grupo perhidrociclopentanofenantreno, una cadena hidrocarbonada y un grupo alcohol y están presentes tanto en el reino vegetal como en el animal. En el primer caso reciben el nombre genérico de fitoesteroles, entre los que destaca el β-sitosterol (80% de todos los esteroles vegetales), seguido del estigmasterol (15%), del campesterol, del resveratrol y de otros; en apariencia funcionan de la misma manera que el colesterol en el tejido animal, es decir, estabilizan la membrana y controlan 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/100 g), en cacahuates (50-90 mg/100 g), en frutas, verduras, semillas, leguminosas, etcétera.

Por su parte, el colesterol es exclusivo del reino animal y es el esterol más abundante, ya que representa 95%. En la yema del huevo, el colesterol está esterificado y equivale al 5% del total de los lípidos, lo que equivale a 210-240 mg, aproximadamente, por cada huevo. En la leche está en una concentración de 120-150 mg por litro, del que 85% se asocia sobre todo 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 unos 35 mg de colesterol. La carne de bovino y la de pescado presentan cerca de 75 mg de este esterol por cada 100 g de porción comestible.



Los fitoesteroles son importantes nutracéuticos que se emplean para reducir el colesterol sanguíneo (vea el capítulo 15). Junto con estos esteroles, se recomienda el consumo de proteínas de soya, de β-glucanos, de isoflavonas, de saponinas y de otros polisacáridos, que son más baratos y que ayudan a reducir el colesterol.[12,27] Se recomienda un consumo de 1-2 gramos de fitoesteroles para obtener un efecto benéfico; de forma comercial se obtienen de la destilación de los productos recuperados de la desodorización de los aceites, como el de soya (sección Desodorización).

El resveratrol del cacahuate y de la uva también es considerado un potente agente preventivo de diversas enfermedades; de hecho, se supone que este fitoesterol, junto con otros compuestos, es la razón de los efectos benéficos de la ingesta de vino tinto y por eso se considera un importante nutracéutico (vea el capítulo 15).

Análisis físicos y químicos

En la producción de grasas y aceites usados para fabricar mantecas, aderezos, mayonesas, margarinas, etc., se emplean los siguientes análisis:

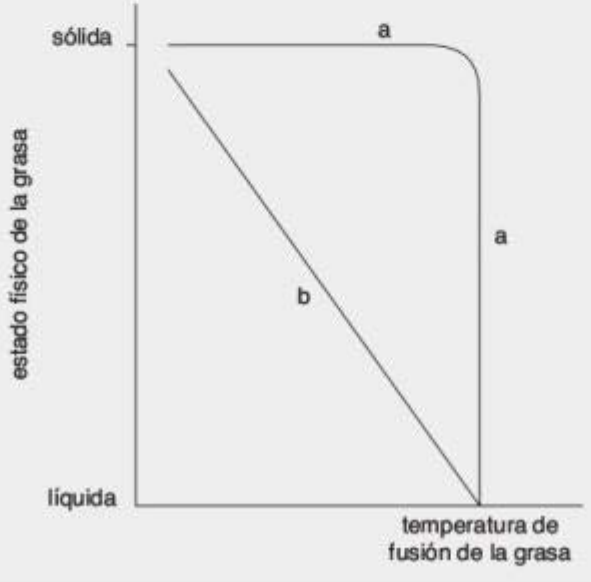
Índices. Entre los más comunes está el de acidez, que mide la cantidad de ácidos grasos libres de un aceite como resultado de una hidrólisis de los triacilglicéridos. Por su parte, el índice de yodo refleja el grado de insaturación; a mayor valor, mayor insaturación, aun cuando no informa acerca de la distribución ni localización de las dobles ligaduras.

Punto de fusión. Es la temperatura a la que la fase sólida cambia a líquida, reflejo de la fuerza de unión entre los ácidos grasos de un cristal. Debido a que las grasas comestibles son mezclas de triacilglicéridos, su punto de fusión es en realidad un intervalo y únicamente cuando se trata de un solo triacilglicérido puro el punto de fusión es muy preciso, como se observa en la figura 4.7. Para su determinación, el método *slip point* utiliza tres 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 tres temperaturas es el punto de fusión.

Temperatura de formación de humos o punto de humeo. Es la temperatura a la que se producen compuestos de descomposición visibles, que depende de los ácidos grasos y de los mono y diacilglicéridos libres de la grasa. La influencia de estos compuestos es tan grande que tan sólo su concentración al 1% provoca la reducción de 230 a 160 °C la temperatura de formación de humos en un aceite para freír.

Prueba del frío. Sirve para determinar la eficiencia de la hibernación (vea la sección Hibernación). El aceite se mantiene a 0 °C y se mide el tiempo que permanece transparente; los triacilglicéridos de alto punto de fusión lo enturbian a bajas temperaturas. Se considera de buena calidad si el aceite se conserva transparente durante cinco horas y media para usarse, por ejemplo, en mayonesas.

Figura 4.7 Patrones de fusión para un triacilglicérido puro *a*) y una grasa común *b*).



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 su plasticidad depende de su relación sólido/líquido a diferentes temperaturas. La plasticidad se puede determinar dilatométricamente (índice de sólidos grasos) o mediante la 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 manera diferente a como lo hacen los líquidos y la máxima expansión se alcanza cuando la grasa sólida se vuelve líquida.

En la figura 4.8 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. La cantidad de sólidos es igual a la fracción de la grasa que no se ha fundido y el cálculo se hace como sigue: porcentaje de sólidos grasos = BC/AC. El cuadro 4.7 muestra los valores de este índice para varias grasas a diferentes temperaturas; por ejemplo, se observa que la mantequilla presenta un 3% de sólidos a 33 °C, pero éstos desaparecen a 38 °C al rebasar su punto de fusión (36.3 °C), mientras que el aceite de palma contiene un 4% de sólidos a 38 °C, debido a que su punto de fusión es de 39.2 °C.

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.[10] 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".

Figura 4.8 Curva dilatométrica de una grasa.

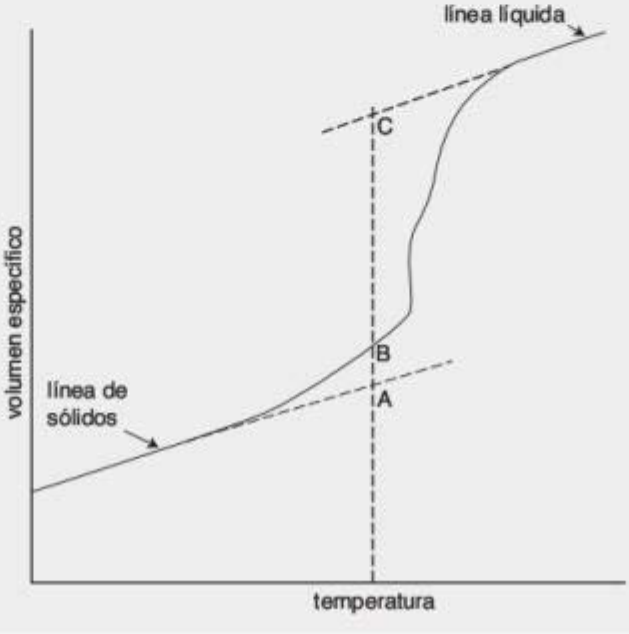
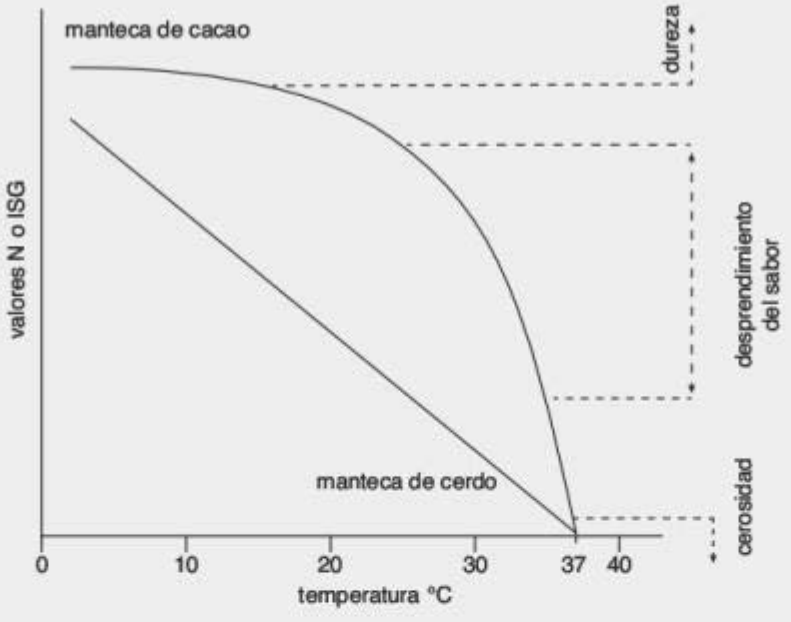


Figura 4.9 Curva de sólidos de las mantecas de cerdo y de cacao.



Los valores N pueden relacionarse con diversas características de textura, dureza, cerosidad, fusión, etc., como lo muestra la figura 4.9, para la 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, en consecuencia, no dejará una sensación de grasa o cerosidad en la boca. Por otra parte, de 20 a 25 °C la grasa es dura porque contiene 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 cercana a su punto de fusión, comparada con la de la manteca de cerdo, lo que indica que su fusión se hace abruptamente cuando se alcanzan los 35 a 37 °C, por lo que es ideal para la elaboración de chocolates. A manera de ejemplo, una especificación industrial de valores N a 20 °C, 25 °C, 30 °C y 35 °C para la base grasa requerida para una margarina dura sería de 29, 20, 12 y 6, mientras que para una margarina suave se necesitaría una base con valores de 25, 18, 9 y 3, respectivamente.

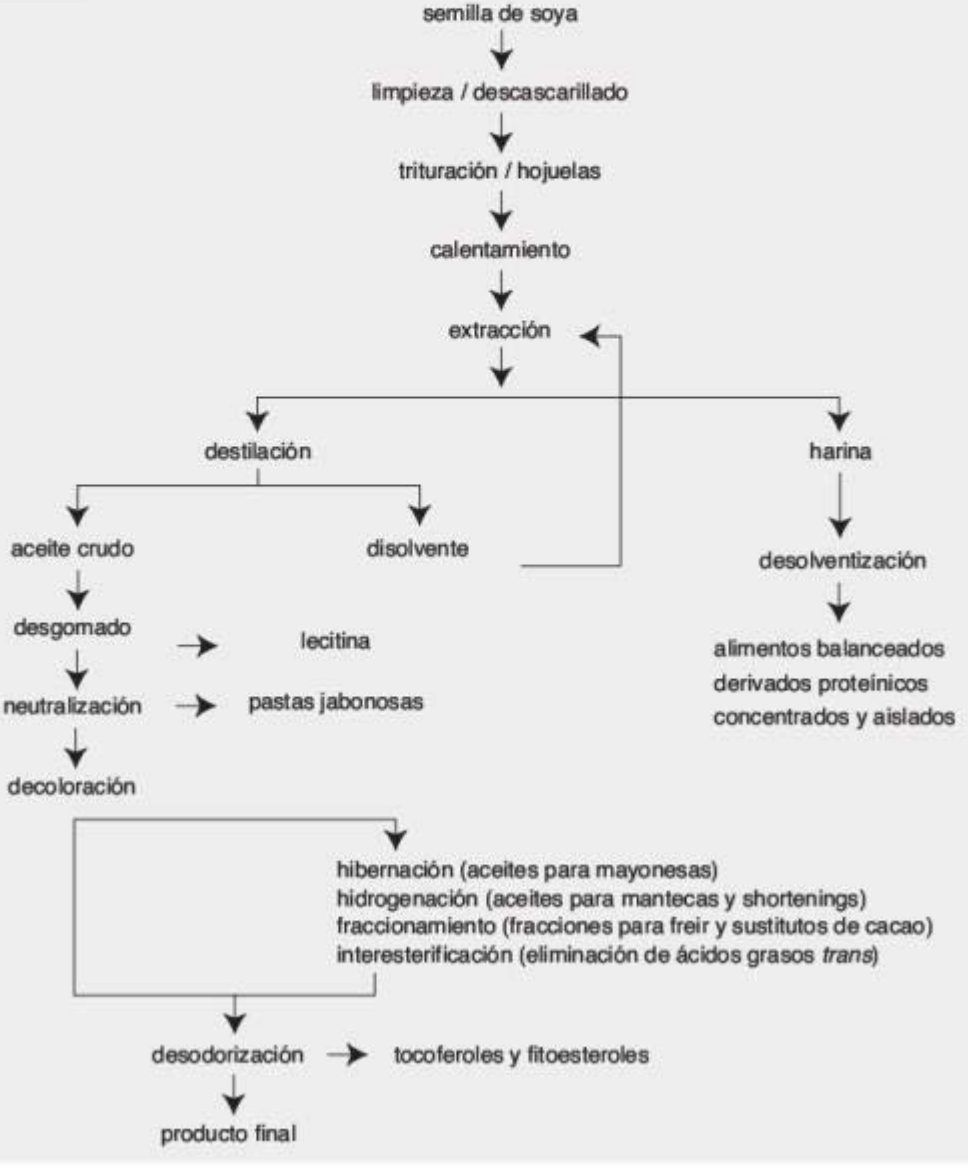
CUADRO 4.7 **Valores de ISG de algunas grasas**

	Punto de fusión (° C)	Valores de ISG				
		10	21	27	33	38
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 palmaste	29.1	49	33	13	0	0

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 la canola y, en menor grado, de la aceituna, el ajonjolí, el algodón, el cacahuate, el cacao, el cártamo, el coco, el girasol, el maíz y el palmiste. En cuanto a las de origen animal, la manteca de cerdo ocupa el primer lugar, seguida del sebo de res y del aceite de pescado. Aceites como el de pepita de uva y de aguacate se producen en mínima cantidad para mercados muy selectos.

Figura 4.10 Obtención industrial del aceite de soya y sus derivados.



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 con impurezas, que deben eliminarse, como ácidos grasos libres, proteínas, pigmentos, hidratos de carbono, agua, fosfátidos, etc., 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 se recuperan en la refinación de los aceites.

En el caso de la soya (figura 4.10), con la semilla triturada se forman hojuelas para aumentar el área superficial, que se alimentan al extractor continuo por percolación, inmersión o una combinación de ambas. El hexano es el disolvente más común, su uso implica precauciones debido a 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 por efecto de la lipólisis (sección Lipólisis o rancidez hidrolítica).

Después de la extracción y una vez eliminado el solvente, la harina residual, se utiliza para la alimentación animal y en la obtención de concentrados y aislados, productos ricos en proteínas (vea el capítulo 13). La mezcla aceite-disolvente, conocida como "micela", se somete a destilación para separar el aceite crudo y el hexano que se reutiliza. El proceso de refinación, constituido por diversas etapas (desgomado, neutralización, decoloración y desodorización) que se describen a continuación, provoca grandes cambios en la composición del aceite crudo al eliminar o reducir impurezas (cuadro 4.8).

CUADRO 4.8 **Composición promedio de los aceites crudo y refinado de soya**

	Crudo	Refinado
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
Proteínas, hidratos de carbono y agua	< 1.0	0.0

Desgomado

Es la extracción acuosa de compuestos hidrosolubles como proteínas, hidratos de carbono, agua y fosfátidos, que se separan al establecer una fase inmiscible 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 de 2 a 3% de agua, se calienta entre 50 y 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, pero se puede, a su vez, refinar para obtenerla más pura; su valor depende del fósforo, elemento que en promedio equivale a casi 4% de un fosfolípido puro.

Neutralización

Este tratamiento elimina ácidos grasos libres 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%, que es 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 H_2SO_4. 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 (*u. gr.* >2.5%) se forman pastas jabonosas muy densas que resultan difíciles de separar por centrifugación; para esto, en lugar de neutralizar se realiza la llamada refinación física, que consiste en destilar estos ácidos por arrastre con vapor a vacío y a 250-260 °C, lo que ocurre en el desodorizador. Además de esos ácidos, también se eliminan otras sustancias de peso molecular bajo que imparten olores indeseables.

Los aceites bien neutralizados contienen menos de 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.

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 obtener 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 por un lado se obtiene el aceite y por el otro el adsorbente que puede regenerarse. Idealmente este proceso debe efectuarse al 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.

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 oxidativo del aceite, aunque en ocasiones se añaden antioxidantes o agentes secuestradores, como el ácido cítrico para eliminar la acción catalizadora de los metales.

Cabe indicar que el material recuperado de la desodorización contiene, además de las sustancias odoríficas, otras de importancia comercial como tocoferoles, tocotrienoles, fitoesteroles y ácidos grasos libres, que 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 embotellado para uso doméstico; sin embargo, algunos todavía se someten a un paso final, que es la hibernación.

Hibernación

Este proceso, también conocido como *winterización*, (anglicismo por *enfriamiento*), 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 Fraccionamiento 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.[24] Las fracciones con ácidos grasos saturados del aceite de soya 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, como mayonesas. Debido a que la porción separada contiene una gran cantidad de ácido esteárico, se le conoce como estearina.

El aceite de soya para aderezos y mayonesas requiere pasar una prueba del frío (sección Análisis físicos y químicos) de 5.5 horas, para evitar los cristales grasos que pueden romper esta emulsión en la refrigeración.

Procesos de modificación de grasas y aceites

Los aceites refinados, con o sin hibernación, pueden embotellarse y venderse directamente, o bien someterse a otras reacciones físicas y químicas (figura 4.10) que modifican sus propiedades para hacerlos más funcionales y apropiados para la fabricación de mantecas vegetales para panificación, aceites y grasas para freír, bases para margarinas, aceites para mayonesas y aderezos, sustitutos de manteca de cacao y estearinas; 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 y que resistan la oxidación.[31] 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 de ellos, hasta otros muy laboriosos como la hidrogenación, la interesterificación y el fraccionamiento.[4] En general, los dos últimos se emplean más en países 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, como en México.

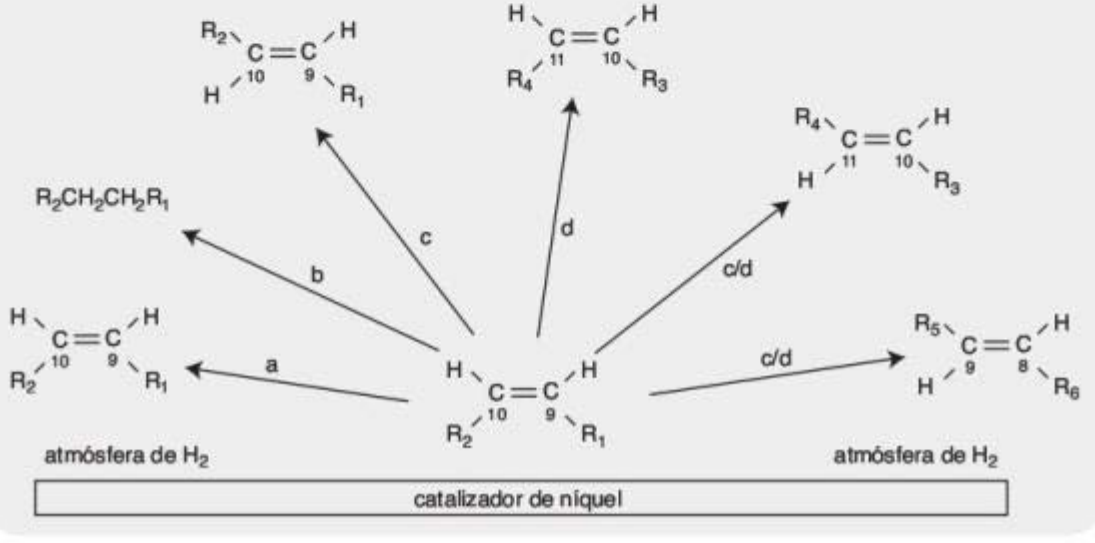
Hidrogenación

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 producir margarinas y mantecas que se conservan sin detrimento por largos periodos.[13]

En la hidrogenación, los ácidos insaturados están sujetos a tres transformaciones, que en orden de ocurrencia son: *a*) saturación de las dobles ligaduras; *b*) isomerización geométrica *cis-trans* y *c*) isomerización posicional (figura 4.11). Las características físicas y químicas de los derivados hidrogenados dependen de la intensidad con que ocurre cada una de estas reacciones; un ácido graso puede presentar al mismo tiempo los dos tipos de isomerización en su estructura.

Para llevar a cabo la hidrogenación, 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.[17]

Figura 4.11 Rutas que sigue una doble ligadura durante la hidrogenación. *a*) ninguna; *b*) saturación; *c*) isomerización geométrica y *d*) isomerización posicional.



El proceso es exotérmico e incrementa 1.6 °C por unidad de reducción del índice de yodo (iy); la medición del avance de la reacción se hace con el índice de refracción que depende de la cantidad de 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 m^3 de H_2/ton de aceite. La velocidad relativa de hidrogenación de los ácidos grasos de acuerdo con su insaturación se muestra en el cuadro 4.9, donde se observa que el linolénico, por ser el más insaturado, es el que más rápido se hidrogena y también se oxida.

CUADRO 4.9 **Velocidades relativas de oxidación y de hidrogenación**

	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

El aceite de soya (iy 125-140) es líquido incluso 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 punto de fusión 68 °C. De manera similar, el aceite de palma (iy 50-55) funde a 36-38 °C, pero alcanza una temperatura de 44 a 46 °C cuando ese 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 hidrogenadas y sólo las estearinas son totalmente saturadas.

Para hidrogenarse, el aceite debe estar refinado y seco; un contenido de agua >0.05% a temperaturas altas induce 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.

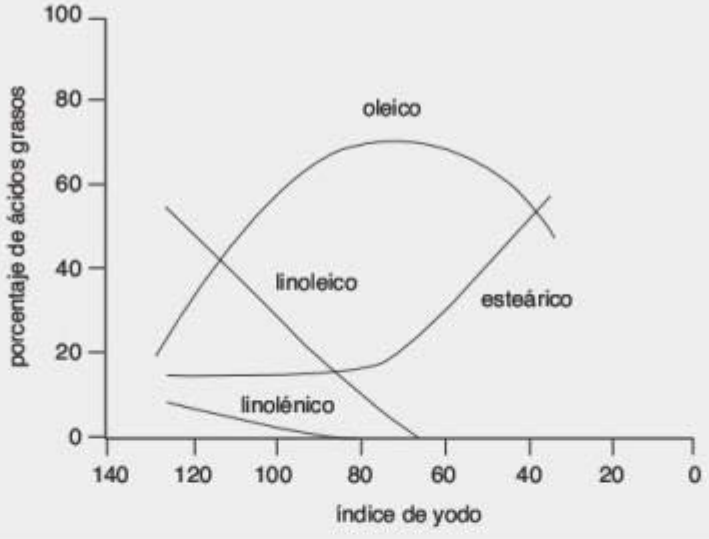
El H_2 debe ser puro (99.5% mínimo), estar seco y libre de gases como CO, NH_3 y CO_2 que bajan su presión parcial o envenenan el Ni. Se produce más puro por electrólisis que por la reformación del propano.

Como catalizador, los cristalitos (50-100 Å) del níquel esponjoso deben presentar una gran área superficial (*v. gr.* 90 m^2/g); además de los agentes 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.

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. 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, este último se convierte en esteárico sólo después de que desaparece el linoleico (figura 4.12). En el cuadro 4.10 se comprueba el aumento del esteárico a expensas de los insaturados y la formación del elaídico para después saturarse a esteárico a medida que avanza la hidrogenación, con la consecuente disminución del índice de yodo.

Figura 4.12 Cambios en la composición del aceite de soya durante la hidrogenación.



El incremento del punto de fusión de una grasa parcialmente hidrogenada se debe en buena medida a la formación de ácidos *trans*, cuyos puntos de fusión de manera individual son equivalentes a los de los ácidos grasos saturados; esto se comprueba ya que el índice de yodo no se abate proporcionalmente con el aumento del punto de fusión de la grasa. La hidrogenación selectiva se favorece con una baja presión de hidrógeno en la superficie del catalizador, con temperaturas altas y una mayor cantidad de níquel (figura 4.13).

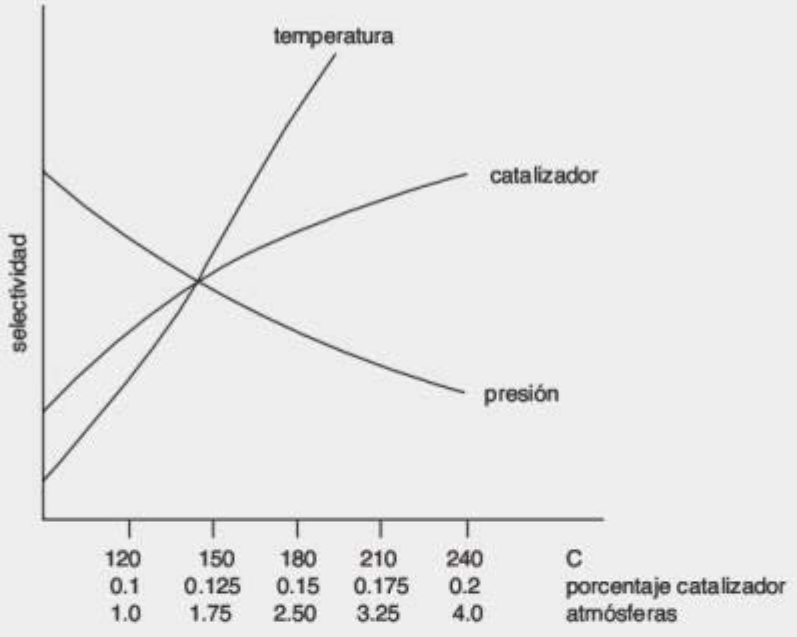
CUADRO 4.10 **Composición de ácidos grasos en el aceite de soya**

	Índice de yodo				
Ácido graso (%)	**129**	**107**	**87**	**76**	**5**
Palmítico	11	11	11	11	11
Esteárico	4	4	5	7	83
cis-Oleico	27	27	26	24	0
trans-Oleico (elaídico)	0	21	41	52	6
Linoleico	50	34	16	6	0
Linolénico	8	3	1	0	0
Punto de fusión (°C)	-	27.2	32.7	37.7	62.7

Por economía, los fabricantes prefieren la hidrogenación no selectiva debido a que se realiza más rápidamente; la mayor cantidad de los ácidos linolénico y linoleico se transforman directamente en esteárico.

Como vimos antes, 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 (*u. gr.* 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

Figura 4.13 Selectividad de la hidrogenación en función de la temperatura, la concentración de catalizador y la presión de operación.



trans mediante una biohidrogenación que se pueden encontrar en alimentos como la leche, mantequilla y en la carne de res, pero no en derivados de animales monogástricos como el cerdo, con su carne o grasa.

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.

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. 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 disponible, lo que facilita 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*. En las margarinas duras de barra (bases grasas más hidrogenadas con altos valores N) se tiene un 25 a 30% de esos ácidos, mientras que las suaves untables (grasas menos hidrogenadas) presentan un 10-20% y las mantecas vegetales un 10 a 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, etc., que indica que presentan sus insaturaciones en carbonos diferentes a los normales. La hidrogenación también produce el ácido linoleico conjugado (CLA) y se sintetiza en el rumen de los animales mediante una biohidrogenación; en este caso, el isómero más común es el 9-*cis*, 11 *trans*.

Además de los ácidos grasos, otros compuestos con dobles ligaduras también se hidrogenan y se isomerizan, tal como sucede con los grupos cromóforos de los carotenoides y con la vitamina A. La hidrogenación también se emplea para fabricar los polioles usados como aditivos (vea el capítulo 9).

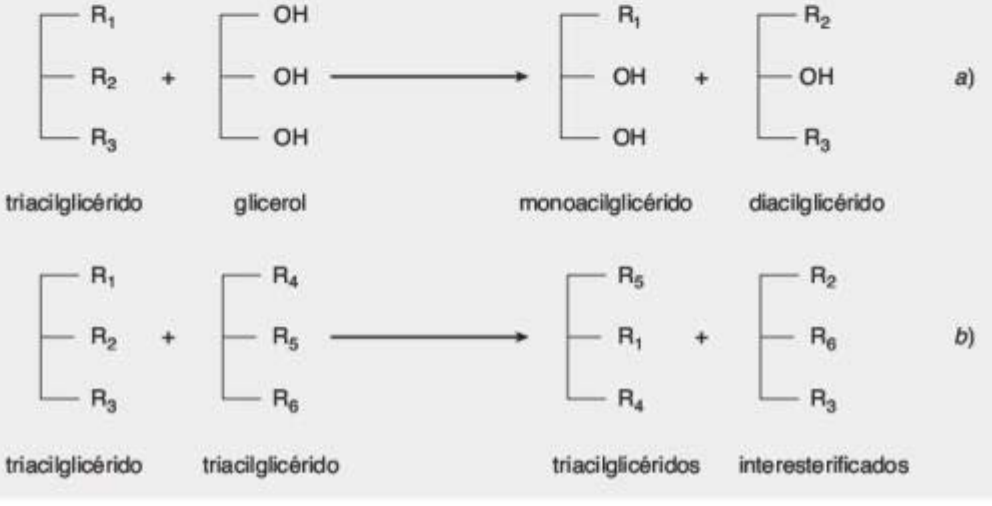
Por todo lo expuesto, se concluye que las propiedades físicas (*v. gr.* punto de fusión, plasticidad, valores N, etc.) de una grasa parcialmente hidrogenada, dependen de forma directa del grado de saturación que se obtenga, así como de la concentración de sus isómeros geométricos y posicionales.

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 del 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. 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. También se emplea para la producción de mono y diacilglicéridos que, a su vez, sirven para fabricar diferentes emulsificantes (figura 4.14).

Figura 4.14 Representación esquemática de la interesterificación. *a*) Reacción para fabricar mono y diacilglicéridos. *b*) Reacción entre dos triacilglicéridos de una misma grasa o con más grasas.



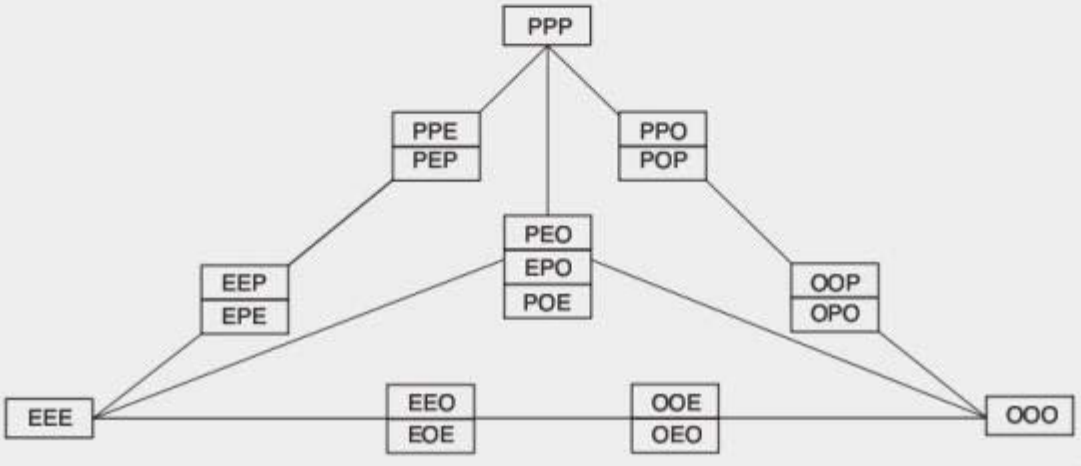
Como se puede deducir de la figura. 4.14, el número de posibles arreglos con sólo dos triacilglicéridos interesterificados con seis ácidos grasos diferentes es grande y ofrece mayores complicaciones cuando se trata de una grasa con muchos triacilglicéridos. Para entender esto considérese el caso más sencillo de una interesterificación con la sola participación de la tripalmitina (PPP) y la trioleína (OOO); el número de combinaciones se calcula con la fórmula: $N = (X^2 + X^3)/2$, donde X = triacilglicéridos reactivos y N = triacilglicéridos interesterificados. En este caso se obtienen seis: PPP, OOO, OPP, POP, POO y OPO, ya que $N = (2^2 + 2^3)/2 = 6$; con 3 triacilglicéridos simples se producen 18 combinaciones (figura 4.15). 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 combinaciones es enorme.

Con la interesterificación se fabrican bases grasas sin *trans* para margarinas y mantecas. Para ello, los aceites de soya o de palma se saturan hasta obtener la estearina y así eliminar todos los ácidos insaturados; posteriormente se interesterifican con un aceite líquido refinado y se obtiene una base grasa semisólida, sin *trans*, con propiedades físicas de plasticidad, untabilidad, punto de fusión, etc., 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 en la manteca de cerdo que se logra sólo con su calentamiento.

La acumulación de ácido palmítico en el C2 de la grasa de cerdo provoca la formación de cristales β de tamaño grande, responsables de 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 horneo, lo que ocasiona un volumen pequeño del producto final; los β' son preferibles porque son tienen menor tamaño y no presentan 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 untuosidad que lo hacen más adecuado para usarlo en la industria de la repostería, donde se logran volúmenes de cremado 50% mayores que con la grasa sin interesterificar.

La reacción de interesterificación industrial es muy compleja, demanda muchos cuidados y se efectúa de 60 a 180 °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.

Figura 4.15 Posibles triacilglicéridos de la interesterificación de la tripalmitina (PPP), triestearina (EEE) y trioleína (OOO).



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 desactiva 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 bien refinados y muy secos.

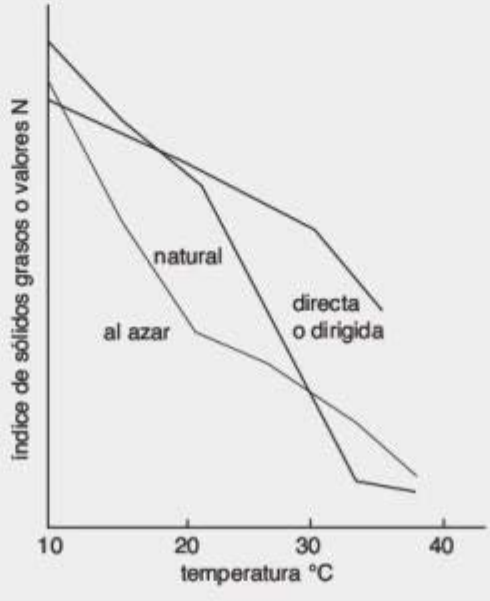
Es normal que la reacción produzca ácidos grasos, mono y diacilglicéridos, que deben eliminarse mediante un lavado exhaustivo, ya que la presencia de los primeros favorece las reacciones de oxidación y los segundos retrasan la cristalización de las grasas obtenidas.

La interesterificación al azar ocurre si se alcanza el equilibrio establecido por la probabilidad de distribución (figura 4.16). 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.

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 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.

La interesterificación enzimática se efectúa a 40 °C, aproximadamente, 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 que es muy costosa y genera ácidos grasos libres y acilglicéridos.[42] Algunos sustitutos de la grasa de la leche materna se elaboran 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.

Figura 4.16 Cambios en los sólidos de la manteca de cerdo mediante diferentes interesterificaciones.



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, etc.) o con agentes tensoactivos (jabones y detergentes).[24] En el cuadro 4.6 se observa que los triacilglicéridos de la palma se agrupan, en este caso, en 6 fracciones con distintos puntos de fusión y, por ende, con diferentes propiedades. La hibernación (sección Hibernación) 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. Las fracciones así obtenidas 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 por su perfil de fusión.

Sistemas grasos en alimentos

Las grasas y los aceites se emplean ampliamente para elaborar diversos alimentos, muchos de los cuales por lo general se encuentran como emulsiones. A continuación se revisan algunos aspectos de los sistemas grasos más importantes.

Margarina

Este producto se desarrolló en Francia en 1860, como respuesta a la escasez de mantequilla y a la necesidad de tener alimentos más duraderos, según los requerimientos de Napoleón III. Sin embargo, no fue sino hasta principios del siglo XX, cuando se introdujo la hidrogenación y posteriormente la interesterificación y el fraccionamiento, que sentaron las bases para producirla, como la conocemos hoy en día.[3]

La margarina es una emulsión de agua en aceite en una relación aproximada de 20:80, aun cuando hay productos que tienen mucho menos grasa y que están estabilizados con emulsificantes. Existen tanto de mesa (tinas o barras) como las industriales; estas últimas son más especializadas y se emplean en repostería, panificación, pastelería, etc. Según el uso para el que se destinen, cada una requiere distintas funcionalidades, en cuanto a untuosidad, firmeza, valores N, plasticidad, aireación y patrón de fusión, aunque todas se elaboren bajo el mismo principio: la cristalización de una preemulsión, en la que la fase dispersa de gotitas de agua con sus ingredientes hidrosolubles queda atrapada en una matriz cristalina de triacilglicéridos, a manera de esponja.

Las diferencias de funcionalidad se logran mediante el diseño y control de las formulaciones de los aceites y de la fase acuosa, de las condiciones de cristalización y del almacenamiento posterior de la margarina, donde termina propiamente la cristalización.

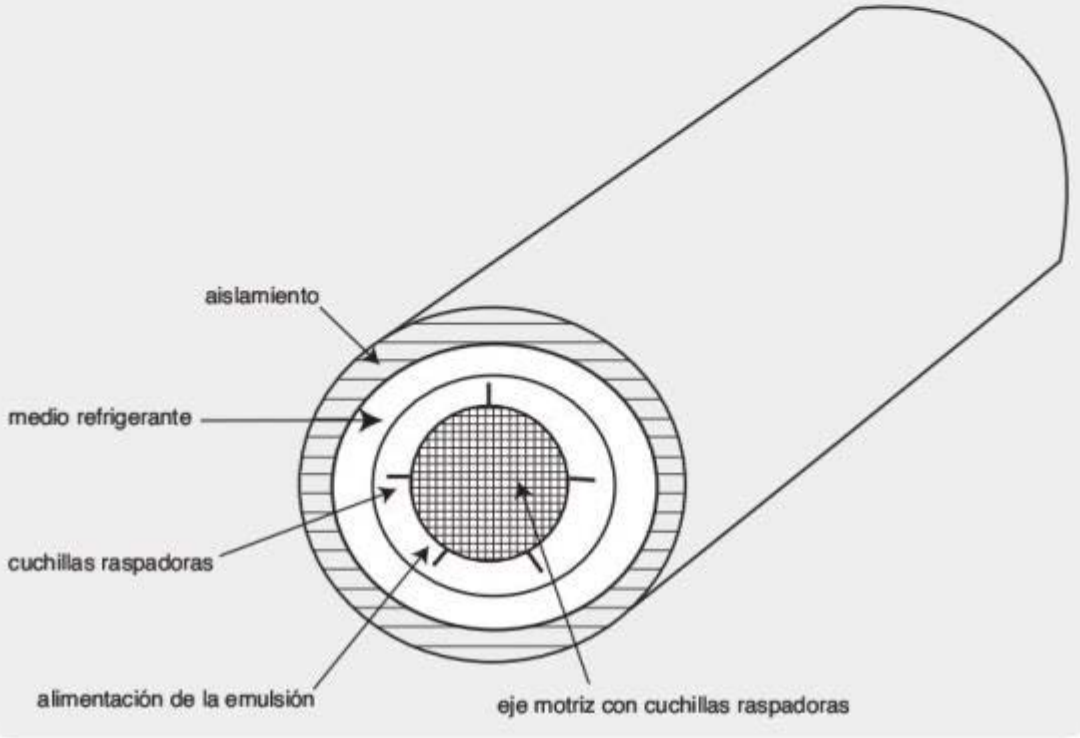
Para la fase grasa se emplean mezclas de aceites, tanto hidrogenados como sin hidrogenar. El perfil de sólidos grasos expresados como valores N o ISG y el punto de fusión dependerán del tipo de margarina a fabricar: más duros o hidrogenados para margarinas

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 poliglicéroles, polisorbatos y derivados del propilenglicol. El achiote y el β-caroteno son los pigmentos que más se emplean y el TBHQ es el antioxidante generalmente incorporado por el fabricante del aceite. Los saborizantes dependen del uso; para las margarinas de mesa se usan los tradicionales que recuerdan la mantequilla, mientras que las de panificación demandan los que resistan las altas temperaturas del horneo 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.

La mezcla de las fases grasa y acuosa, 5-7 °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), donde comienza 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 4.17). 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

Figura 4.17 Unidad A para fabricación de margarinas.



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 esa cristalización.

Para evitar una subsiguiente conversión de los β' en cristales grandes β, el producto final debe mantenerse en refrigeración (5-10 °C) todo el tiempo y evitar los cambios bruscos de temperatura que favorecen la recristalización.

Como hemos visto, 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'.

Mantecas vegetales

Estos productos, también llamados *shortenings* (del inglés *shorten*, acortar) se emplean de forma industrial en la panificación, para elaborar tortillas de harina de trigo, en el freído de alimentos, en el cremado, etc. Ese término se refiere a que estas grasas no permiten que el gluten del trigo establezca una estructura rígida tipo pan bolillo, 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 la aplicación de la grasa. La unidad A se utiliza para la cristalización y es ahí donde se le incorpora nitrógeno o aire para que tenga una apariencia blanca.

Mantequilla

Es una emulsión de agua en aceite (16:84) que se obtiene por la inversión de fases de la crema de la leche (emulsión de aceite en agua) y que estabilizan las proteínas lácteas. La leche recién obtenida de la vaca se centrifuga para estandarizar su contenido de grasa y su excedente se usa para fabricar 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 generar 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 que es importante un ligero enfriamiento previo. Una característica típica de la mantequilla es su dureza y poca untabilidad a temperaturas de refrigeración.

Grasas para alimentos infantiles

Debido a las limitaciones que algunas madres tienen para amamantar a sus bebés, se han desarrollado grasas que se emplean en la fabricación industrial de productos que sustituyen la leche materna, las que 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 esos ácidos está definido en el producto final, una programación lineal es suficiente para llevar a cabo el cálculo de las proporciones requeridas.

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, etc.), grasa 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 ambas, representa aproximadamente 13% de la formulación y desempeña una función primordial en la textura del helado.

Los ingredientes se mezclan y pasteurizan por lo general usando sistemas UHT (siglas de *ultra high temperature*) que funcionan a partir de temperaturas elevadísimas y 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; 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) 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.

Mayonesa y aderezos

A diferencia de la margarina y la mantequilla, la mayonesa es una emulsión de aceite en agua, a pesar de que contiene una alta proporción de aceite (70-75%). La estabilización de esta gran cantidad de fase lipídica discontinua, en tan poca fase acuosa continua, demanda muchos cuidados en la formulación, la emulsificación y 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 28% de lecitina funciona como un potente agente emulsificante, aun cuando su colesterol tiene un efecto opuesto e inhibitorio; es decir, la lecitina sólo representa 2% de la fórmula, pero emulsifica esta gran cantidad de aceite. 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 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 (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. Los aderezos también se estabilizan por la adición de gomas cuya principal función es incrementar la viscosidad.

Siendo el principal componente de los aderezos y mayonesas, el aceite de soya requiere 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 adecuada. La fabricación de la mayonesa puede ser continua o por lotes; en el segundo caso, los ingredientes (el aceite a < 8 °C) se mezclan en un tanque 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 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.

Sustitutos de manteca de cacao

Originario de México, el cacao tiene fluctuaciones continuas de disponibilidad y precio, lo que ha propiciado 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 que funden por debajo de 37 °C, que es la temperatura promedio del cuerpo humano.

Es mejor que el patrón de fusión del cacao muestre un comportamiento semejante al que se indica en la figura 4.9 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 al combinarse son compatibles.

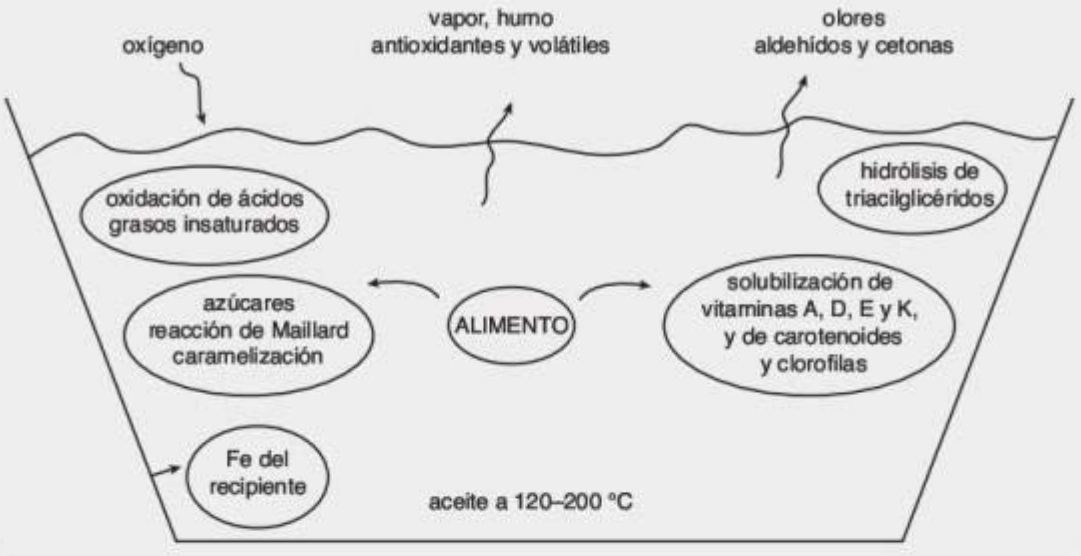
Freído

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.[7,23]

El cocimiento en agua a presión atmosférica se efectúa a 100 °C como máximo y al nivel del mar, mientras que en la Ciudad de México ocurre a 92.8 °C; sin embargo, el freído varía de 120-180 °C, aun cuando se puede alcanzar a 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 4.18). 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 tria-

Figura 4.18 Cambios durante el freído.



cilglicéridos 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, con lo que facilitan la oxidación de los insaturados. Con la inclusión de oxígeno por efecto de la aireación ocurre una oxidación y se forman hidroperóxidos muy reactivos que provocan la síntesis de aldehídos, cetonas, ácidos, etc., con olores característicos de rancidez. Por ser un disolvente no polar, el aceite extrae carotenoides y clorofila que lo pigmentan, así como las vitaminas A, D, E y K que se vuelven más sensibles al calor y al oxígeno causando su cambio químico o destrucción. Todas estas modificaciones se reflejan en un incremento en la viscosidad y en los ácidos grasos libres, en la generación de colores oscuros y de espuma, en la reducción del índice de yodo, etcétera.

Por eso el aceite que se utilice debe cumplir ciertas especificaciones para evitar su rápido deterioro, por ejemplo: índice de yodo < 100; índice de peróxido < 1.0; ácidos grasos libres $< 0.05\%$; mínimo 20 horas de AOM (*Active Oxygen Method*); punto de humeo 200 °C, etcétera.

De acuerdo con la composición del alimento se presentan otros cambios: gelatinización de almidones, reacción de Maillard y caramelización. El exceso de agua en el alimento debe evitarse; los productos capeados, con alto contenido de mono y oligosacáridos 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 hierro y cobre en menos de 1 ppm, los cuales aceleran la oxidación; del mismo modo, los sulfitos (usados 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 entrada de luz y oxígeno, así como tener una relación mínima de superficie a volumen; las bombas de recirculación de aceite no deben provocar turbulencia ni entrada de oxígeno. Un programa permanente de limpieza es necesario para evitar la acumulación de polímeros provenientes de la oxidación de los aceites, 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.

Deterioro de los lípidos

Los aceites sufren transformaciones químicas, más conocidas como rancidez, que además de reducir su valor nutritivo producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores; estas transformaciones se han dividido en dos grupos: la lipólisis o rancidez hidrolítica y la oxidación o rancidez oxidativa.

Lipólisis o rancidez hidrolítica

Esta reacción es catalizada por lipasas (vea el capítulo 5) y, en ciertas condiciones, por las altas temperaturas en presencia de agua, como puede ocurrir en el freído, en la que se hidroliza el enlace éster de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos y se liberan ácidos grasos (figura 4.1). 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 así 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 oxidación 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 carne y el pescado.

En el caso de aceites vegetales (soya, maíz, canola), los ácidos liberados 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 y caprílico), más volátiles, con olores peculiares y responsables del deterioro percibido olfativamente; la lipasa se asocia con las micelas de caseína y en la homogeneización se pone en contacto con los glóbulos de grasa, de manera que se favorece su acción si no se pasteuriza o esteriliza de inmediato.

Contrario a esta situación negativa de la leche fluida, en algunos quesos maduros y de fuerte aroma es totalmente deseable y hasta se añaden enzimas microbianas o microorganismos con intensa actividad lipolítica para favorecerla. 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, ésta se efectúa con una baja A_a, 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. Dado su sistema enzimático, muchos hongos y levaduras contaminantes de los alimentos llegan a ocasionar severos problemas de lipólisis.

Oxidación o rancidez oxidativa

Es el deterioro más común de las grasas y aceites y se refiere a la oxidación de los ácidos grasos insaturados, pero también de otros compuestos de interés biológico como las vitaminas A y E y los carotenoides, que también tienen una estructura insaturada. La oxidación ocurre cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de reducción química.

En la oxidación 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 o rancia. El incremento del índice de yodo favorece esta reacción, como se muestra con el esteárico, oleico, linoleico y linolénico, que absorben oxígeno con el patrón mostrado en el cuadro 4.9; 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 sucede con la carne y el pescado.

Los agentes promotores e inhibidores de la oxidación se enlistan en el cuadro 4.11; 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 (*v. gr.* la lipoxigenasa) (vea el capítulo 5), como ocurre en las nueces y los cacahuates, ya que una vez rota esa barrera, la oxidación se manifiesta rápidamente.[15]

CUADRO 4.11 **Factores que influyen en la oxidación de lípidos**

Promotores	Inhibidores
Temperaturas altas	Refrigeración
Metales, Cu, Fe	Secuestradores
Peróxidos de grasas oxidadas	Antioxidantes
Lipoxigenasa	Escaldado
Presión de oxígeno	Gas inerte o vacío
Luz UV, azul	Empaque opaco
Poliinsaturación	Hidrogenación de ácidos insaturados
Radiaciones ionizantes	Antioxidantes

La reacción requiere de una energía de activación (*Ea*) 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, esta oxidación es más importante. Algunos derivados carbonilos reductores 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 tales compuestos.

Aunque la *Ea* es baja, necesita de catalizadores (cuadro 4.11), 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 pigmentos actúan como fotosintetizadores y facilitan la conversión del triplete del oxígeno al singulete.

La velocidad de reacción se duplica por cada 15 °C de incremento; sin embargo, ocurre aun en frío en productos donde los promotores estén muy activos o en aquellos con un muy reducido contenido de agua; 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 o 0.6 de Fe; 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.

La influencia de la actividad del agua se observa en la figura 1.8: 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.

Su mecanismo de propagación es mediante radicales libres y para efectos didácticos se considera que procede en tres etapas (cuadro 4.12): *iniciación, propagación* y *terminación*. Para simplificar este complejo proceso se usan sistemas modelo de un solo ácido, como el linoleico (figura 4.19). 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•) 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•; 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•) que regresa a la reacción.

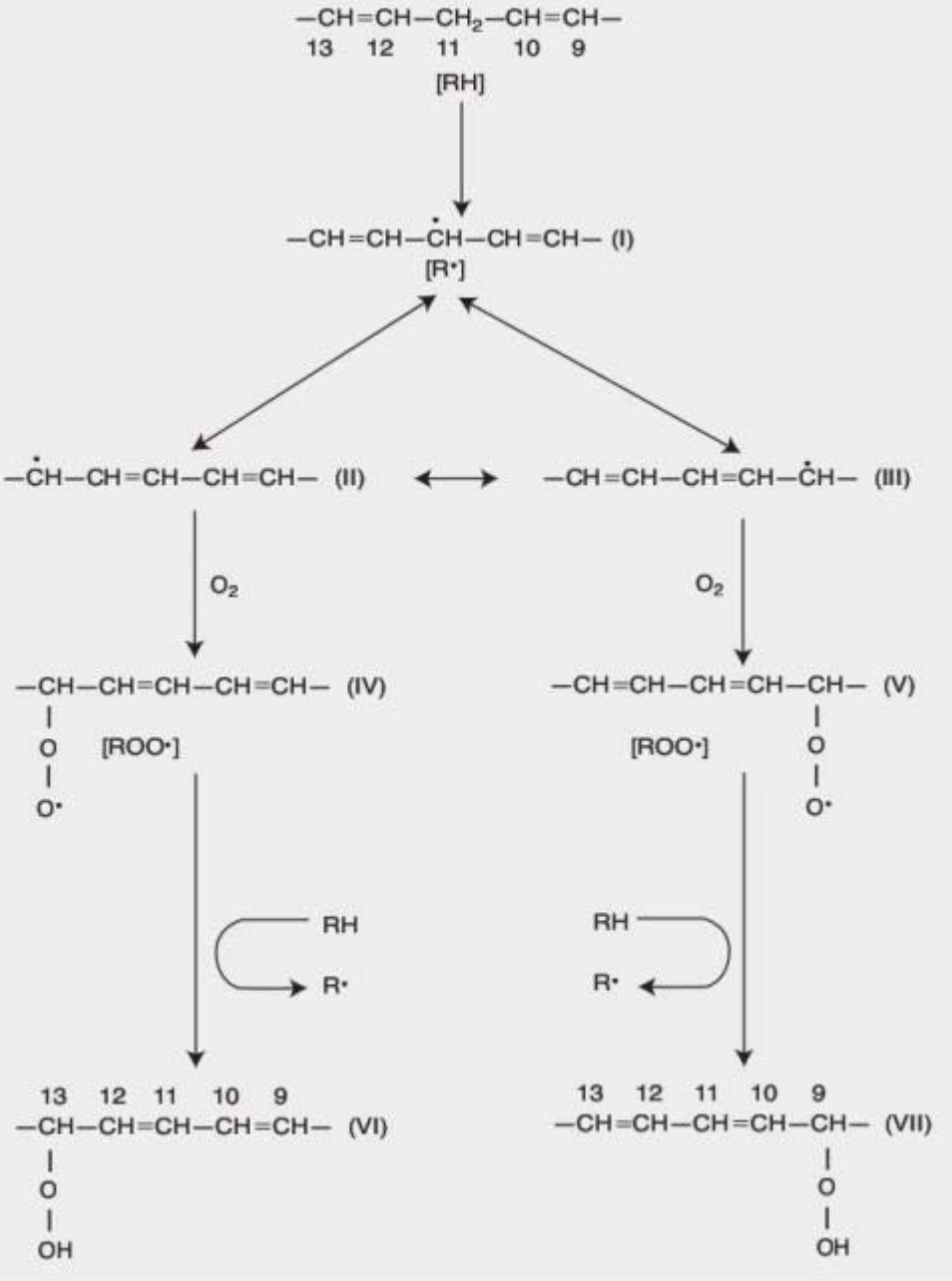
Por ser monoinsaturado, la oxidación del oleico necesita más energía y los radicales se generan por la extracción de un hidrógeno del C8 o C11, que inmediatamente establece dos híbridos resonantes; la secuencia de reacciones es semejante a la descrita para el linoleico. Por su naturaleza altamente insaturada, el linolénico requiere muy poca energía y aun mucho menos los penta y hexainsaturados DHA, DPA y EPA que son altamente sensibles.

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 compues-

CUADRO 4.12 **Mecanismo de oxidación de un ácido graso insaturado (RH)**

Iniciación	RH	→	R• + H•	Radical libre
Propagación	R• + O_2	→	ROO•	Radical hidroperóxido
	ROO• + RH	→	R• + ROOH	Hidroperóxido
Terminación	R• + R•	→	RR	Compuestos muy estables
	R• + ROO•	→	ROOR	
	ROO• + ROO•	→	ROOR + O_2	
	RO• + R•	→	ROR	
	2RO• + 2ROO•	→	2 ROOR + O_2	

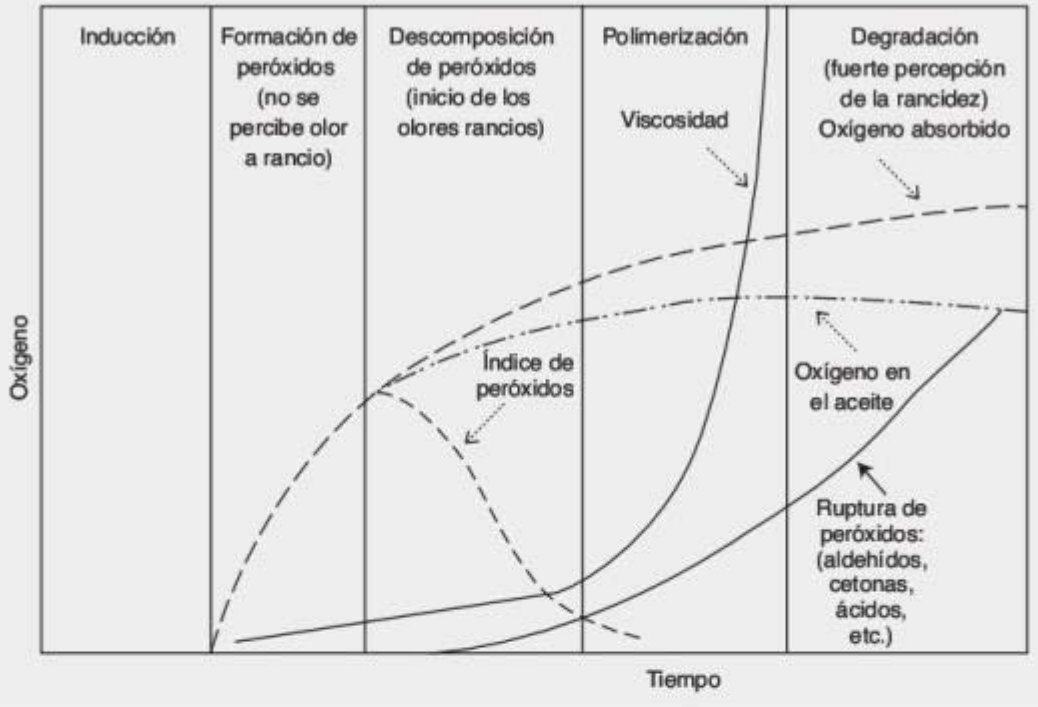
Figura 4.19 Mecanismo de oxidación del ácido linoleico.



tos de bajo peso molecular que confieren olores, se deshidratan y sintetizan cetoglicéridos, se ciclan, etcétera.

En la figura 4.20 se observa que el índice de peróxido puede declinar, pero la viscosidad aumenta, así como la degradación y la generación de compuestos odoríficos; por esta razón, el índice de peróxidos no necesariamente refleja el grado de oxidación de una grasa; depende del momento en que se determina.

Figura 4.20 Desarrollo de la oxidación de los aceites.



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 4.13).

Esta situación se complica mucho para los hidroperóxidos del linoleico y aún más para los del linolénico, DHA, DPA y EPA. Para seguir el avance de la reacción se puede medir la producción de hexanal y de dialdehído malónico ($OHCCH_2CHO$); el primero se percibe sensorialmente a bajas concentraciones (3 ppm), por ejemplo en las papas fritas; por su parte, la determinación del segundo es parte del método del TBA (sección Método del ácido tiobarbitúrico). En términos organolépticos, basta con que sólo 5-10% de la grasa insaturada de un alimento se oxide para que el producto se vuelva inaceptable.

CUADRO 4.13 **Compuestos formados por la ruptura de los hidroperóxidos del ácido oleico**

Hidroperóxido	Aldehído	Ácido	Hidrocarburo	Cetoácido
8	2-Undecenal	Heptanoico	Decano	8-Cetooctanoico
9	2-Decenal	Octanoico	Nonano	9-Cetononanoico
10	Nonanal	Nonanoico	Octano	10-Ceto-8-decenoico
11	Octanal	Decanoico	Heptano	11-Ceto-9-undecenoico

Los hidroperóxidos reaccionan con los aminoácidos y se producen compuestos como la histamina a partir de la histidina, la metionina se oxida a su correspondiente sulfóxido, etc., con lo cual se pierden algunos aminoácidos indispensables. Además, esta interacción provoca la desnaturalización, agregación, fragmentación y polimerización de las proteínas, lo que se refleja en sus propiedades funcionales, en la hidrofobicidad y en la solubilidad, como ocurre con la caseína y el linoleico y en el pescado. 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. 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, el oxígeno y los reactivos, 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 ocurre en alimentos deshidratados y en los de humedad intermedia.

La oxidación del colesterol del huevo en polvo expuesto al aire produce muchos compuestos, 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 y de la distancia a la fuente luminosa.[25,28] Además de la oxidación, los ácidos grasos saturados se descomponen a temperaturas muy 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.

La conservación de los alimentos mediante su irradiación con rayos gama ionizantes también conlleva cambios en las grasas y aceites, algunos de tipo oxidativo. Las dosis comerciales son menores de 10 kGy (kilo Grays) y en ciertas condiciones provocan la formación de radicales libres hidroxilo HO a partir del agua y que siguen rutas como las descritas en la oxidación.

Antioxidantes

Como su nombre lo indica, los antioxidantes previenen la oxidación de las grasas y aceites y existen dos grupos: los naturales y los sintéticos. De manera natural muchos alimentos contienen sustancias que previenen la oxidación. Entre ellos destacan: *a*) carotenoides, como el β-caroteno; *b*) lecitina; *c*) derivados fenólicos como las isoflavonas genisteína, daidzeína y gliciteína y los ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico y cumárico, aun cuando se encuentran en baja concentración 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;[38] *d*) los tocotrienoles y tocoferoles, cuyo poder antioxidante es inverso al de su función biológica y 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; *e*) los extractos de especias como clavo, romero,[34] salvia, orégano y pimienta gorda. Además, los derivados de la reacción de Maillard son carbonilos reductores que inhiben la oxidación de la grasa de la carne y de otros alimentos. Los nitritos que se utilizan en los embutidos actúan como antioxidante al interaccionar con los lípidos o por su unión a los prooxidantes naturales, como el hierro.

En general, los compuestos mencionados están en concentraciones bajas y su efectividad antioxidante es muy reducida, por lo que es preciso recurrir a sustancias sintéticas más potentes.

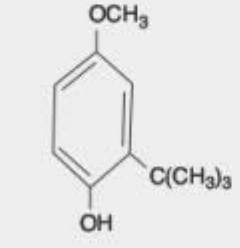
Los antioxidantes sintéticos actúan donando protones a los radicales libres, reaccionan con ellos, los estabilizan y producen radicales del antioxidante menos reactivos.[40] Es decir, se consumen en la reacción y, por lo tanto, la estabilidad del lípido siempre dependerá de la cantidad residual.[19] Entre los principales destacan el butilhidroxianisol (hidroxianisol butilado, BHA), el butilhidroxitolueno (hidroxitolueno butilado, BHT), la terbutilhidroquinona (butilhidroquinona terciaria, TBHQ) y los galatos (figura 4.21). Aun cuando no actúan con este mecanismo, los secuestrantes también inhiben la oxidación al eliminar el efecto catalítico del hierro y del cobre.

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 ($R^{\bullet}$) y a los hidroperóxidos ($ROO^{\bullet}$), restaurando el ácido (RH) y el hidroperóxido (ROOH). En la figura 4.22 se observa este mecanismo con un galato que actúa sobre los radicales del oleico: una vez que el antioxidante 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.

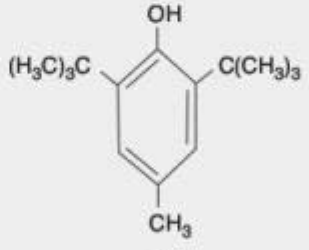
El BHA es, en realidad, una mezcla de dos isómeros, 2-BHA y 3-BHA, y por contener un solo hidroxilo, al igual que el BHT, es muy lipófilo, insoluble en agua y muy soluble en grasas y aceites; es muy efectivo para prevenir la oxidación de aceites esenciales y pigmentos liposolubles y a temperaturas elevadas desprende olores fenólicos. Por su parte, el BHT actúa mejor en grasas animales que en aceites vegetales. En general, el BHA y el BHT no son muy activos en aceites vegetales refinados.

El BHA, con sodio o potasio, desarrolla un tono rosa como el que se observa en las mantecas inadecuadamente refinadas, que contienen NaOH y jabones de la neutralización del aceite.

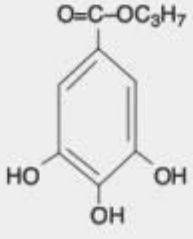
Figura 4.21 Antioxidantes más comunes.



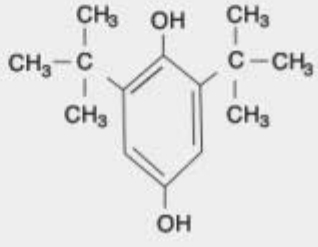
BHA



BHT

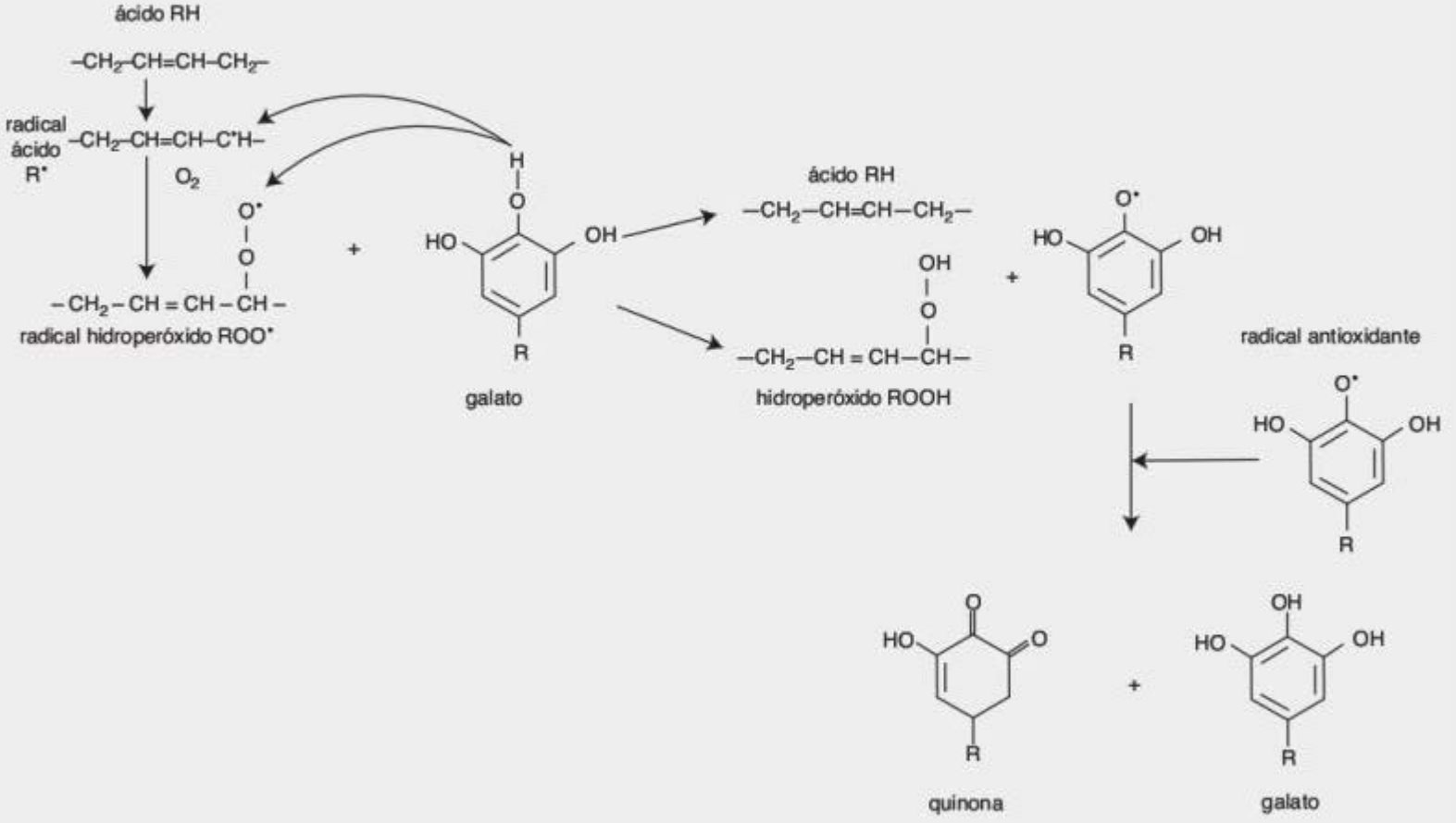


galato de propilo



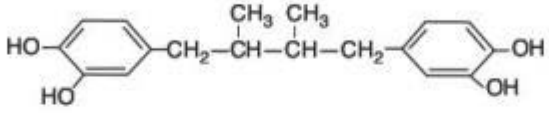
TBHQ

Figura 4.22 Mecanismo de acción del galato sobre los radicales del ácido oleico.



Por presentar dos hidroxilos, el TBHQ es un poco más soluble en agua que los anteriores y es el antioxidante más efectivo para los aceites insaturados para la fritura (soya, canola, algodón, cártamo).

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 °C, por lo que no son recomendables en aceites de fritura. El de propilo produce una coloración azul oscura 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 equipos son a base de este metal.

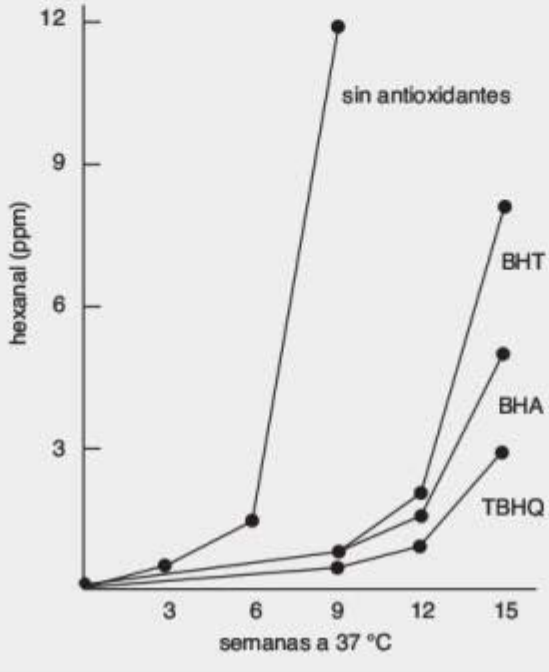


Ácido nordihidro guayarético

Existen otros antioxidantes, como el ácido nordihidro guayarético, que proviene de la planta desértica *Larrea divaricata* 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 4.23), y no funcionan igual si se trata de un aceite puro o de una emulsión.

Figura 4.23 Relación de producción de hexanal en trigo tratado con diferentes antioxidantes a una concentración de 40 ppm.[15]



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.[16] 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 son 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 gramnegativas, grampositivas y hongos productores de aflatoxinas. 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.

Por otra parte, los secuestradores forman un quelato con el Cu y Fe y evitan su acción catalizadora; aunque no son propiamente antioxidantes, previenen la oxidación (vea el capítulo 9). 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 ($HOOCCH_2CH_2SCH_2CH_2COOH$) 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 oxidorreducción del hierro, lo que favorece su efecto catalítico.

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.

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 los rechaza. Este tipo de análisis se lleva a cabo en la industria de manera más organizada y rutinaria por personal entrenado capaz de detectar pequeñas concentraciones de los aldehídos, cetonas, etc., generados en la oxidación 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 4.20); cuando se identifica el olor a rancio, dependiendo del umbral de detección del catador, por lo general la reacción ya se encuentra avanzada. La generación de hexanal se relaciona con la oxidación (figura 4.23).[39]

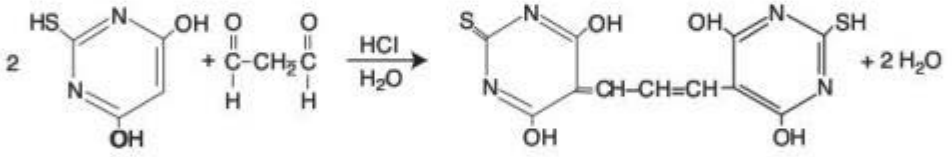
Índice de peróxido

Este método se basa 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 alcanzan una concentración máxima (figura 4.20); por eso 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.

Método del ácido tiobarbitúrico

Igual que el anterior, este método se utiliza mucho 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.

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.



Método del oxígeno activo

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.

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. También se mide el hexanal producido mediante cromatografía de gases.

Aspectos nutricionales

A pesar de que los lípidos contribuyen en muchos aspectos al bienestar del individuo (cuadro 4.1), su consumo, sobre todo de grasas y aceites, se ha cuestionado en las últimas décadas. Antes prácticamente se recomendaba eliminarlos de la dieta, ya que se les atribuía ser causantes de muchas enfermedades, incluido el cáncer;[8] después se llegó a sugerir su consumo, aunque con cierta mesura. Pero en la actualidad existen productos que contienen lípidos y cuya función es la prevención de las enfermedades que tradicionalmente se han adjudicado a este grupo de sustancias.[37]

Son muchos los aspectos nutricionales relacionados con los lípidos; a continuación se revisan sólo los más relevantes.

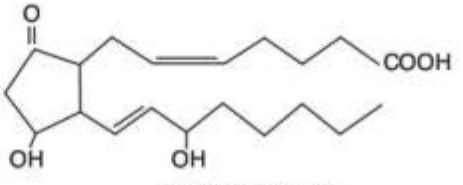
Energía. Las grasas y aceites representan la forma más concentrada de energía para el hombre, ya que cada gramo suministra 9 kcal (37.8 kJ); debido a que su estructura contiene más átomos de carbono, producen más energía que las 4 kcal/g (16.8 kJ/g) de las proteínas y de los hidratos de carbono. Es claro que, en exceso, producen más calorías que las requeridas por el organismo y, en consecuencia, se almacenan en el tejido adiposo, con lo que propician la obesidad.

Por otra parte, las grasas y aceites suministran los importantes ácidos grasos indispensables, cuya ausencia ocasiona problemas de salud.[18] Por esta razón, para lograr un equilibrio entre sus beneficios y perjuicios, se considera que 25% de las calorías consumidas provengan de grasas y aceites y que, a su vez, 18% sea de los ácidos grasos insaturados y 7% de los saturados. Por ejemplo, en una dieta de 2 000 kcal, las grasas y aceites deben aportar 500 (2 000 × 0.25) que equivalen a 55.6 g (500/9) y deben distribuirse en 140 kcal o 15.6 g para los saturados y 360 kcal o 40 g para los insaturados. Para mayores beneficios, esto debe ir acompañado con 30 g de fibras y menos de 250 mg de colesterol por día, y de preferencia con soya, por su perfil de ácidos grasos, además de que sus proteínas tienen un efecto preventivo contra ciertas enfermedades [12,27]

Se considera que del total de las grasas que una persona ingiere, las llamadas "visibles" como la margarina, el aceite para freír, las cremas, la grasa de la carne y la mantequilla, representan aproximadamente 30%, mientras que las "invisibles", que son añadidas en la formulación de los alimentos (mantecas de panificación, grasas para embutidos, etc.), suman 70% y son las que "no se ven" pero afectan el organismo humano.

Ácidos grasos. En relación con los aspectos nutricionales, los ácidos grasos se pueden dividir en tres grupos: los indispensables omega, los saturados y los *trans*.

Igual que con algunos aminoácidos, el linoleico y el linolénico son ácidos indispensables y su consumo debe ser constante; se recomienda que representen de 1 a 2% de los lípidos totales ingeridos.[22] Forman parte de la membrana celular, son precursores del ácido araquidónico que da rigidez a la mitocondria y que a su vez es empleado en la síntesis de las hormonas prostaglandinas. Contribuyen al mantenimiento de la piel, del pelo y del sistema reproductor, así como en la regulación del metabolismo del colesterol; ayudan a la absorción de nutrimentos, a la regulación de la contracción muscular y a la presión arterial.[32,36] Para obtener los mejores resultados de los omega, se recomienda consumirlos en una proporción de aproximadamente 4 de omega-6 a 1 de omega-3. Debido a su alta insaturación, la adición de estos ácidos grasos a los alimentos puede ser complicada, ya que son altamente susceptibles de oxidación.



prostaglandina E_2

Al ácido linoleico conjugado (CLA) se le atribuye una capacidad para reducir el colesterol y prevenir el cáncer. 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 LBD (colesterol-LPL, siglas de *low density lipoproteins*), llamado colesterol "malo". En contraste, los ácidos grasos insaturados (los ω, como linoleico, linolénico, EPA, DHA y DPA) promueven la producción de lipoproteínas de alta densidad LAD (colesterol-HDL, siglas en inglés de *high density lipoproteins*), llamado colesterol "bueno". 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.

Colesterol. Este esterol es exclusivo del reino animal, forma parte de las membranas celulares y es necesario para la síntesis de las hormonas sexuales estrógeno y testosterona, de la vitamina D, de la bilis y de la aldosterona que regula la presión arterial. En consecuencia, el colesterol es tan importante que 80% del que se encuentra en la sangre (150 a 210 mg por 100 mL), es sintetizado en el hígado a una velocidad de 1 gramo por día y sólo 20% proviene de la dieta. Aun cuando el colesterol ingerido contribuye al 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.

El colesterol, los triacilglicéridos y los fosfolípidos se transportan en la sangre mediante las lipoproteínas; las LBD toman el colesterol producido en el hígado y se le llama colesterol "malo" porque en su camino de distribución a las células que lo requieren deja residuos en el endotelio o pared interna de las arterias; por su parte, el colesterol "bueno" tiene su origen en que las LAD efectúan el viaje de regreso y recogen y limpian el exceso de colesterol para depositarlo en el hígado, donde es reprocesado o excretado. En realidad no hay dos moléculas de colesterol, de modo que llamarlo "bueno" o "malo" sólo se refiere a la función de la lipoproteína con la que interactúa. Los ácidos grasos saturados y los *trans* incrementan el colesterol sanguíneo, lo que a su vez puede provocar la deposición de plaquetas lipídicas y el endurecimiento de las arterias (ateroesclerosis), ocasionando una menor circulación de sangre y, en consecuencia, de oxígeno.

A pesar de ser insaturados, los ácidos *trans* son iguales o más dañinos que los saturados y se considera que por cada 2% de aumento de las calorías provenientes de ellos se incrementa en 25% el riesgo de accidente cardiovascular; promueven el colesterol sanguíneo y la síntesis de lipoproteínas de baja densidad o colesterol "malo" y con ello problemas cardiovasculares.[20,29]

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 un ácido graso indispensable que se pierde en esta transformación.

Fitoesteroles. El efecto benéfico de estos compuestos se revisa en el capítulo de nutracéuticos.

Grasas para freír. En condiciones normales de freído, sin abuso de aceite, los triacilglicéridos no sufren modificaciones químicas; sin embargo, en condiciones drásticas de calentamiento se generan compuestos aromáticos policíclicos derivados del antraceno, tales como el benzopireno y el benzantraceno, todos ellos agentes carcinógenos conocidos. En el capítulo 11 se revisan más aspectos de este tema.

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, N.Y.
2. Akoh, C.C. y Min, D.B. 2002. *Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
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., N.Y.
4. Anónimo. 1994. "Tools: hydrogenation, interesterification". *Inform*, 5:668.
5. Beckett, S.T. 2000. *The Science of Chocolate*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
6. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Berlín, cap. 4.
7. 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., N.Y.
8. Carroll, K.K. 1991. "Dietary fats and cancer". *Am. J. Clin. Nutr.* 53:10645.
9. Coultate, T.P. 2002. *Food. The Chemistry of its Components*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
10. Coupland, J. 2002. "Determination of solid fat content by nuclear magnetic resonance". *En: Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Ed. R. Wrolstad. John Wiley & Sons, Nueva York.
11. Duncan, S.E. 2000. "Lipids: Basic Concepts". *En: Food Chemistry. Principles and Applications*. Ed. Christen, G. y Smith, J.S. Science Technology System. California, E.U.
12. Erdman, J.W. 2000. "Soy protein and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the AHA". *Circulation* 102:2555.
13. 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.
14. Frankel, E.N. 1996. "Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion". *J. Agric. Food Chem.* 44:131-135.
15. Fritsch, C.W. y Gale, J.A. 1994. "Lipid oxidation — the other dimensions". *Inform*, 5:423.
16. Hamama, A.A. y W.W. Nawar. 1991. "Thermal decomposition of some phenolic antioxidants". *J. Agric. Food Chem.* 39:1063.
17. 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., N.Y.
18. Haughton, C. 1991. "Health Aspects of Oils and their Production". *Oils & Fats International*, núm. 1.
19. Hudson, B.J.D. 1990. *Food Antioxidants*, Elsevier, Amsterdam.
20. 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.

21. Kinsella, J.E. 1988. "Food lipids and fatty acids: Importance in food quality, nutrition and health". *Food Technol.* 42(10):124.

22. 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., N.Y.

23. Kochler, S.P.: "Stable and healthful frying oil for the 21st century." Inform 11, 642 (2000).

24. 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., N.Y.

25. 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.

26. 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. N.Y.

27. Lichtenstein, A.H. 2001. "Got soy?" *Am. J. Clin. Nutr.* 73:667.

28. Luby, J.M. 1986. "Photo-oxidation of cholesterol in butter". *J. Food Sci.* 51:904.

29. Mann, G. 1994. "Metabolic consequences of dietary *trans*-fatty acids". *Lancet*, 343:1268.

30. McClements, J.D. y Decker, E.A. 2008. *Lípidos. En:* Química de los Alimentos, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

31. Milo, L.O. 2011. Functionally Fit Oils. *Food Technol. 7:* 91-96.

32. Ohr, L.M. 2003. Fats for healthy living. *Food Technol.* 57(7): 91-96.

33. 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.

34. O´Keefe, S.F. 2002. "Nomenclature and classification of lipids". Cap. 1. *En: Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.

35. Parish, E.J., Boos, T.L. y Li, S. 2002. "The Chemistry of Waxes and Sterols". *En: Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.

36. Pszczola, D.E. 2009. "Separating Fats from Fiction." *Food Technol.* 9:47-60.

37. Pszczola, D.E. 2011. "A progressive Potpourri. Tippecanoe and Fats Too." *Food Technol. 7:*77-89.

38. 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, N.Y.

39. Shin, M.G. 1986. "Correlation between oxidative deterioration of unsaturated lipid and n-hexanal during storage of brown rice". *J. Food Sci.* 51:460.

40. Stauffer, C.E. 1996. *Fats and Oils*. Eagen Press, St. Paul, MN.

41. Timms, R.E. 1995. "Crystallization of fats". *En: Developments in Oils and Fats*. Ed. R.J. Hamilton. Blackie Academic and Professional, Londres, cap. 8.

42. Willis, W.M. y Marangoni, A.G. 2002. "Enzymatic interesterification". *En: Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Ed. C.C. Akoh y D.B. Min, Marcel Dekker, Inc. Nueva York.

5

- Introducción
- Nomenclatura
- Las enzimas como catalizadores
- Especificidad
- Sitio activo
- Factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas
- Cinética de las reacciones enzimáticas
- Cuantificación de la actividad enzimática
- Uso industrial de las enzimas
- Revisión de enzimas de importancia en alimentos
- Procesos de interés en alimentos con enzimas o células inmovilizadas
- Análisis químico con enzimas
- Tecnología de ADN recombinante aplicada a la producción y modificación de enzimas de interés en alimentos

Referencias bibliográficas

Maricarmen Quirasco Baruch
Agustín López-Munguía Canales

Enzimas

Introducción

A mediados del siglo XIX, cuando se acuñó el término "enzima" (del griego *en* y *zymos*, levadura), se pensaba que sólo actuaban en el interior de las células. Louis Pasteur distinguió dos tipos de actividades, "fermentos organizados" y "no organizados", que se referían a las enzimas asociadas a las células de levadura y a las extracelulares, respectivamente. En 1897, Eduard Büchner demostró que un extracto de levadura libre de células también podía producir etanol a partir de azúcares.[49] Sin embargo, poco se sabía sobre la naturaleza química de las enzimas y no fue sino hasta 1926 que, con la cristalización de la ureasa, James B. Sumner demostró su naturaleza proteínica.[48] Hoy se sabe que son proteínas que actúan como catalizador biológico, efectúan reacciones bioquímicas a velocidades muy altas, no se consumen durante la reacción y, en general, presentan un elevado grado de especificidad.

Todas las células, incluidos microorganismos y organismos superiores, producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada a las reacciones metabólicas, ya que la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse, o simplemente no procederían si las enzimas no estuvieran presentes. Su estudio en el campo de los alimentos es de primordial importancia debido a que son responsables de fenómenos como la digestión y de varios cambios químicos que sufren los alimentos, los que pueden resultar benéficos (*v. gr.* la maduración de frutas) o

perjudiciales (*v. gr.* oxidación de ácidos grasos y oscurecimiento enzimático). Por otra parte, muchos productos alimenticios se modifican a través de reacciones bioquímicas realizadas por enzimas, ya sean endógenas del alimento, añadidas con carácter de aditivos, o de manera indirecta, por las enzimas de los microorganismos que intervienen en la elaboración de alimentos fermentados. Las enzimas se emplean también de forma directa en procesos industriales para la síntesis de compuestos de uso en la industria alimentaria, tales como edulcorantes, ácidos orgánicos, potenciadores del sabor, etcétera.

El uso de enzimas en la producción de alimentos comenzó hace muchos siglos. Hoy se sabe que diversos pueblos antiguos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver carne, con lo que facilitaban la acción de proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) sobre las proteínas del tejido animal y provocaban su ablandamiento. Asimismo, algunos grupos humanos utilizaban el estómago de corderos y becerros como recipiente y con ello propiciaban la coagulación de la leche con enzimas asociadas a ese órgano. Ahora se sabe que la acción de las proteasas presentes en el estómago de las terneras (principalmente quimosina) sobre las caseínas provoca su coagulación, proceso indispensable en la producción del queso.

En el sector alimentario, el interés actual de la aplicación de enzimas en procesos —tecnología enzimática— se enfoca en la conservación de alimentos o de sus componentes (*v. gr.* vitaminas), al uso más eficiente de materias primas y al mejoramiento de la calidad sensorial de los alimentos (textura y sabor). De igual forma, se han utilizado enzimas para producir alimentos bajos en calorías y eliminar compuestos antinutricionales de ciertas materias primas. Otros ejemplos de aplicaciones de la tecnología enzimática actual se enumeran 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 con 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 pionera en esta área.
- El uso 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. El conocimiento de las estructuras de las proteínas ha aumentado de manera exponencial desde finales de la década de 1970, en que se comenzaron a hacer públicas. Hasta enero de 2012, en la base de datos Swiss-Prot había registradas 533 657 secuencias de proteínas de un tamaño promedio de 354 aminoácidos. De acuerdo con el *Protein Data Bank* (PDB) se tiene registrada la estructura tridimensional de 14 720 enzimas diferentes, la mayoría obtenida por difracción de rayos X.[43] Existen algunas cuya estructura ha sido ampliamente analizada; por ejemplo la lisozima, de la cual existen 1 155 estructuras reportadas, seguida por la ARN polimerasa, de la cual hay 848 diferentes estructuras. La base de datos BRENDA incluye 5 536 diferentes

tipos de enzimas provenientes de más de 10 000 organismos, que se distribuyen en unos 4 200 tipos de reacción, de acuerdo con el número EC que se describe más adelante.[10]

Para su función catalítica, 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; para actuar de manera óptima, cada una requiere de condiciones definidas de temperatura, pH, fuerza iónica, etc.; condiciones en las que la estructura tridimensional es estable y su carga adecuada para interactuar con el sustrato.

Muchas enzimas como la lisozima, tripsina y pepsina, están formadas por una sola cadena polipeptídica (son monoméricas); sin embargo, otras más están compuestas por varias cadenas polipeptídicas (son multiméricas: diméricas, triméricas, etc.), de modo que para tener actividad requieren de una estructura cuaternaria adecuada. Algunos ejemplos de enzimas multiméricas son la β-galactosidasa de *E. coli*, la glucosa oxidasa, la catalasa y la polifenoloxidasa. 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 el mismo tipo de actividad catalítica, lo que implica que poseen un sitio activo muy similar; sin embargo, el resto de la cadena polipeptídica puede o no ser diferente. Se habla entonces de "identidad" (expresada en porcentaje de aminoácidos idénticos) y se considera que por arriba de 30% de identidad dos enzimas ya pueden catalogarse como muy parecidas. Esto no impide que tengan además tamaños diferentes. Por eso es importante ser explícito sobre el origen de la enzima de una determinada preparación.

CUADRO 5.1 **Peso molecular de algunas enzimas[10]**

Enzima	Fuente	Peso molecular (Da)
β-Galactosidasa	*Escherichia coli*	516 000
Catalasa	*Aspergillus niger*	385 000
Ureasa	*Lactobacillus fermentum*	220 000
Glucosa oxidasa	*Aspergillus niger*	192 000
Glucosa oxidasa	*Penicillium amagasakiense*	154 000
Glucosa oxidasa	*Penicillium notatum*	138 000
Fosfatasa alcalina	*Bos taurus*	81 000
Polifenol oxidasa	*Pleurotus ostreatus*	67 000
Pepsina	*Homo sapiens*	35 000
Renina	*Bos taurus*	33 000
Bromelina	*Ananas comosus*	31 000
Papaína	*Carica papaya*	23 400
Lisozima	*Gallus gallus*	14 310

Nomenclatura

Desde su descubrimiento se había nombrado a las enzimas de manera empírica y poco sistemática (tripsina, papaína, etc.); en algunos casos se tomó la raíz del nombre del sustrato que reconoce la enzima y se agregó el sufijo *-asa*. Por ejemplo, a una enzima que degrada proteínas se le denomina *proteinasa* o *proteasa*. Miembros de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), así como del International Union of Biochemistry (IUB) y de la International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB), idearon un sistema de identificación en el que a cada enzima se le asigna una serie de cuatro dígitos, al que se denomina número de la EC (Enzyme Comission).[42,58]

De esos dígitos, el primero está relacionado con la reacción química que cataliza la enzima, de acuerdo con el siguiente código:

- **EC 1.-.-.- Oxidorreductasas:** catalizan reacciones de oxidorreducción. Este grupo incluye las deshidrogenasas, oxidasas, oxigenasas y peroxidasas.
- **EC 2.-.-.- Transferasas:** promueven la transferencia de distintos grupos químicos de una molécula donadora a otra que actúa como aceptora. Como ejemplo, están las glicosiltransferasas o las fosfotransferasas.
- **EC 3.-.-.- Hidrolasas:** efectúan la ruptura de enlaces covalentes con la introducción de una molécula de agua. Las enzimas hidrolíticas (que incluyen amilasas, esterasas, glicosidasas, lipasas y proteasas, entre otras) se utilizan principalmente como aditivos en la industria alimentaria.
- **EC 4.-.-.- Liasas:** rompen enlaces para la eliminación de un determinado grupo químico del sustrato y forman dobles ligaduras sin la introducción de moléculas de agua. Entre ellas se encuentran aldolasas, descarboxilasas, deshidratasas y pectinaliasas.
- **EC 5.-.-.- Isomerasas:** catalizan el rearreglo espacial de grupos del sustrato sin modificar su composición química y son epimerasas y racemasas.
- **EC 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 (EC 3.-.-.-) se refiere al tipo de enlace que hidroliza: el EC 3.1.-.-, enlaces éster; el EC 3.2.-.-, enlaces glucosídicos; el EC 3.4.-.-, enlaces peptídicos, etcétera.

El tercer dígito es una subdivisión y ofrece más información del sustrato que utiliza la enzima. Por lo tanto, si se tiene una hidrolasa de uniones éster (EC 3.1.-.-), el tercer número indicará si se trata de un enlace éster carboxílico (EC 3.1.1.-), tioéster (EC 3.1.2.-), monofosfato (EC 3.1.3.-), etcétera.

Por último, el cuarto dígito indica el número serial de la enzima en el grupo correspondiente.

Los seis grupos de enzimas indicados corresponden a reacciones en el metabolismo celular, aunque no todas tienen la misma 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 cuanto a su aplicación en la tecnología de alimentos, es el de las hidrolasas. En los aspectos 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 son importantes en varios procesos, por ejemplo en la elaboración de cerveza y pan, el ablandamiento de carne y la producción de hidrolizados proteínicos, además de que ocupan el mercado más grande de las enzimas en la industria en general, que es el de los detergentes biológicos.

CUADRO 5.2 **Clasificación de algunas enzimas de interés en alimentos**[10,19,42]

Grupo	Nombre común	Número	Sustrato
Oxidorreductasas	Glucosa oxidasa	EC 1.1.3.4	D-glucosa y oxígeno
	Catecol oxidasa	EC 1.10.3.1	Catecol y oxígeno
	Catalasa	EC 1.11.1.6	Peróxido de hidrógeno
	Lipoxigenasa	EC 1.13.11.12	Ácidos grasos poliinsaturados
Transferasas	Amilosacarasa	EC 2.4.1.4	Sacarosa
	Dextransacarasa	EC 2.4.1.5	Sacarosa
	Levansacarasa	EC 2.4.1.10	Sacarosa
	Ciclomaltodextrina Glucosiltransferasa	EC 2.4.1.19	Almidón
Hidrolasas	Lipasa	EC 3.1.1.3	Acilglicéridos
	Pectinesterasa	EC 3.1.1.11	Pectina esterificada
	α-amilasa	EC 3.2.1.1	Almidón
	β-amilasa	EC 3.2.1.2	Almidón
	Amiloglucosidasa	EC 3.2.1.3	Glucooligosacáridos con enlaces α1-4 o α1-6
	Endoglucanasa (celulasa)	EC 3.2.1.4	Celulosa
	β-glucanasa	EC 3.2.1.6	Glucanos con enlaces β1-4 o β1-3
	Poligalacturonasa	EC 3.2.1.15	Pectatos
	Invertasa	EC 3.2.1.26	Sacarosa
	Pululanasa	EC 3.2.1.41	Glucooligosacáridos con enlaces α1-6
	Subtilisina	EC 3.4.21.62	Proteínas
	Papaína	EC 3.4.22.2	Proteínas
	Bromelina	EC 3.4.22.32	Proteínas
	Renina	EC 3.4.23.4	Caseína
Liasas	Pectato liasa	EC 4.2.2.2	Pectatos
	Pectina liasa	EC 4.2.2.10	Pectinas esterificadas
Isomerasas	Glucosa (xilosa) isomerasa	EC 5.3.1.5	Glucosa (xilosa)

Las enzimas como catalizadores

Las reacciones químicas pueden ocurrir con o sin la ayuda de catalizadores, pero el poder catalítico de las enzimas es sorprendente. Quizá la más espectacular de todas sea la enzima que descarboxila 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. Otra que también sorprende por su capacidad catalítica es la catalasa, ya que una sola molécula de enzima puede oxidar varios millones de moléculas de H_2O_2 cada segundo. Para que las reacciones ocurran, es necesario que los reactivos (sustratos) formen un *estado de transición* que sea estabilizado, lo que resulta en una disminución de la energía de activación que requiere la reacción. En ausencia de la enzima, el estado de transición 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 del sustrato con grupos del sitio activo de la

enzima (cuadro 5.4), sin que cambie el mecanismo de la reacción, pues estos grupos equivalen a los ácidos o bases que intervienen en las reacciones químicas (catálisis ácido-base). 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 describir el sitio activo. Cabe indicar que, al igual que otros catalizadores, las enzimas sólo aceleran la velocidad de aquellas reacciones que termodinámicamente son posibles; asimismo, 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 ocurren mediante una ruta que requiere menos energía de activación (figura 5.1). En el cuadro 5.3 se observan ejemplos que demuestran que para una misma reacción se necesita menos energía de activación (Ea) 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 (*v. gr.* la oxidación de lípidos o la descomposición del peróxido de hidrógeno) la transformación enzimática siempre requiere menos energía de activación para realizarse. 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 ($\Delta G < 0$).

Por otro lado, de acuerdo con la ley de Arrhenius la energía de activación nos permite establecer la relación que existe entre las constantes de velocidad de reacción y la temperatura. Por ejemplo, para una reacción de primer orden en la que la velocidad es proporcional a la concentración de sustrato:

$$v = k\,S \qquad \text{(Ec. 1)}$$

donde v puede estar dado en moles de sustrato transformado por litro por segundo y S en moles por litro. La constante de velocidad (k) en seg^{-1}, de acuerdo con Arrhenius, estará definida como:

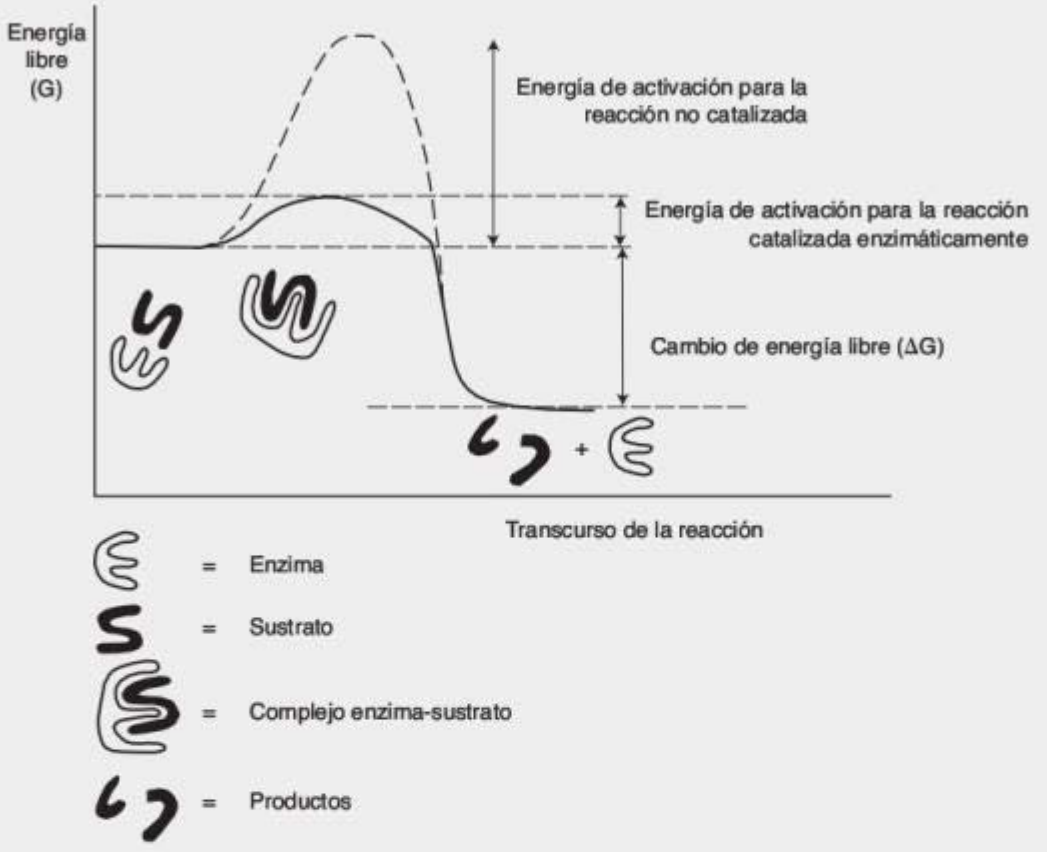
$$k = A\,e^{-(Ea/RT)} \qquad \text{(Ec. 2)}$$

donde Ea es la energía de activación, R la constante general del estado gaseoso y T la temperatura absoluta en °K; A es una constante.

CUADRO 5.3 **Ejemplos de energías de activación de algunas reacciones[37]**

Reacción	Catalizador	Ea (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_2O_2	Ninguno	18 000
	Pt coloidal	11 700
	Catalasa de hígado	5 500
Hidrólisis del éster fosfato	Fosfatasa	3 400

Figura 5.1 Diagrama de energía libre para reacciones químicas efectuada con catalizadores químicos o con enzimas. El ΔG representa la diferencia de energía libre entre los estados inicial y final de la reacción.[49]



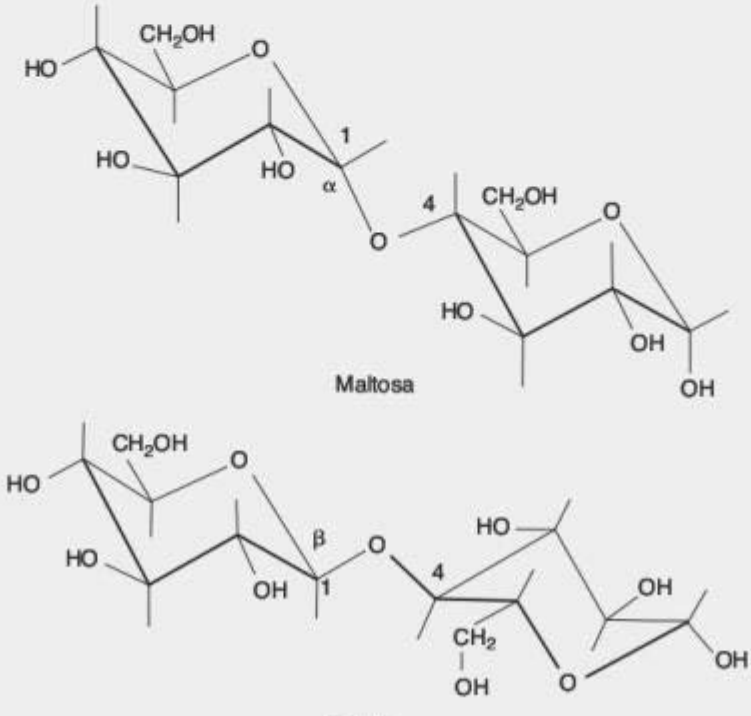
Especificidad

Las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones químicas de manera muy específica; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado compuesto que debe poseer 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-glucopiranósido) y la celobiosa (O-β-D-glucopiranosil-[1-4]-O-β-D-glucopiranósido) son disacáridos compuestos por dos moléculas de glucosa unidos por los carbonos 1 y 4 (figura 5.2), pero con el enlace glucosídico en configuración α y β con respecto al C_1, respectivamente, lo que propicia una orientación diferente de los grupos glucosídicos. 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 *estéreo especificidad* de una enzima también es la causa de que ésta pueda reconocer una forma óptica específica del sustrato (L-aminoácidos o D-azúcares). Por otro

lado, la *regio especificidad* de las enzimas les permite reconocer un determinado grupo químico sólo en cierta posición de una molécula. Existe también la llamada *quimio selectividad* o *especificidad de grupo,* que se presenta cuando las enzimas actúan sobre un sustrato que contiene un determinado enlace y un grupo químico específico a un lado; 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. Sin embargo, la tripsina no es tan específica en términos del tipo de enlace que hidroliza, ya que además de hidrolizar a la lisina de enlaces peptídicos, también puede hacerlo de enlaces éster, lo que ha permitido diseñar sustratos sintéticos para medir la actividad de proteasas aprovechando su especificidad como esterasas. De la misma forma, 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.

Por último, es conveniente señalar que existen enzimas con *baja especificidad*, también llamadas promiscuas porque tienen una especificidad muy relajada; tal es el caso de las lipasas, que hidrolizan enlaces éster entre una gran variedad de alcoholes y ácidos grasos, pero también pueden hidrolizar amidas (formadas entre aminas y ácidos grasos) y tioésteres (entre tioles y ácidos grasos). Catalizan además reacciones de acidólisis, aminólisis y alcohólisis, dependiendo de las condiciones de reacción, especialmente en bajo contenido de agua. Las lipasas catalizan también reacciones de transesterificación, por ejemplo intercambiando ácidos grasos entre dos grasas de distinta composición.

Figura 5.2 Estructura de dos disacáridos de D-glucosa unidos con enlace (1-4).



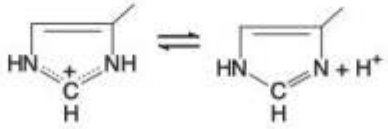
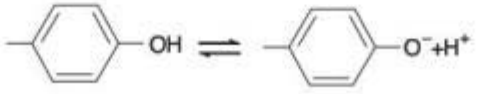
Sitio activo

Las proteínas con actividad catalítica son esencialmente globulares, con una superficie irregular que presenta protuberancias y cavidades. Según el plegamiento de la proteína, ciertos residuos de aminoácidos, con frecuencia polares, se exponen en la estructura globular de la superficie de la proteína mientras que otros quedan ocultos dentro de la molécula. Por lo general, es en la superficie donde se ubica el dominio de interacción con el sustrato, también llamado *sitio activo* o *bolsillo catalítico*. Hasta la fecha sigue siendo útil visualizar la interacción entre la enzima y el sustrato a través del viejo modelo de "la llave y la cerradura" propuesto por Emil Fisher (1894). En este modelo se considera al sitio activo de la enzima una estructura rígida como el de la cerradura de una puerta donde debe embonar a la perfección un sustrato, también rígido como una llave, lo que explica el alto grado de especificidad que ambos poseen. En 1958 Daniel Koshland postuló que la enzima y el sustrato presentan cierta flexibilidad: después de que el sustrato interacciona con la enzima, se induce una distorsión del sitio activo y del sustrato, lo que permite que este último se aproxime al estado de transición, favoreciendo la formación del producto.[35,55]

Así, el sitio activo de una enzima es aquella porción de la proteína que participa directamente en la unión y transformación del sustrato; 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 con frecuencia en la catálisis enzimática.

Las enzimas adquieren su poder catalítico cuando presentan una estructura secundaria, terciaria o cuaternaria 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

CUADRO 5.4 **Radicales de los residuos que pueden participar en la catálisis[56]**

Grupo	Ionización	pKa
Carboxilo	$-COOH \rightleftharpoons -COO^- + H^+$	α^a, 3.0-3.2 β, γ, 3.0-4.7
Imidazol		5.6-7.0
Sulfhidrilo	$-SH \rightleftharpoons -S^- + H^+$	8.0-8.5
Amonio	$-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$	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.

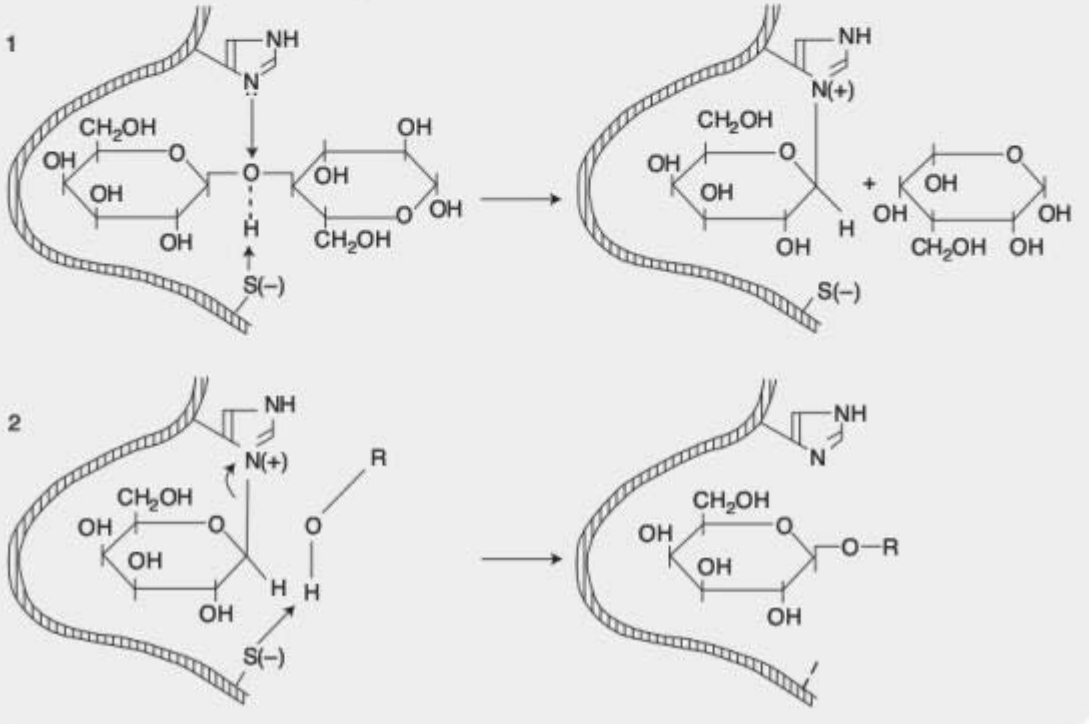
disulfuro. Así, por ejemplo, en el centro activo de la quimotripsina se ubican los aminoácidos histidina, serina y ácido aspártico, en las posiciones 57, 195 y 102, respectivamente; se puede intuir que para que esos aminoácidos sean adyacentes, la molécula de enzima debe adquirir una estructura tridimensional determinada.

De igual manera, la carboxipeptidasa A forma en su sitio activo una cavidad de naturaleza hidrófoba, integrada por la fenilalanina 279, la tirosina 198 y la arginina 71, 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 vimos antes, en algunos casos la participación de los aminoácidos del sitio activo en la reacción enzimática implica 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, así como en carbohidrasas como la α-amilasa, las invertasas o la β-galactosidasa, 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.[55]



De acuerdo con un estudio estadístico realizado en 2002 sobre los sitios activos de enzimas descritas hasta ese año, la histidina es un aminoácido poco abundante en las enzimas (en promedio menos del 3% de todos los residuos de las enzimas), pero el más abundante en los sitios catalíticos (más del 18% de los residuos de los sitios catalíticos).[6] El aspártico y el glutámico, aunque un poco más abundantes en las proteínas, son también muy frecuentes en los sitios catalíticos (11% de los residuos de esos sitios cada uno). Esto contrasta con aminoácidos como la alanina, la valina o la prolina, abundantes en la estructura de la enzima, pero rara vez como parte del sitio activo.

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.

Efecto del pH

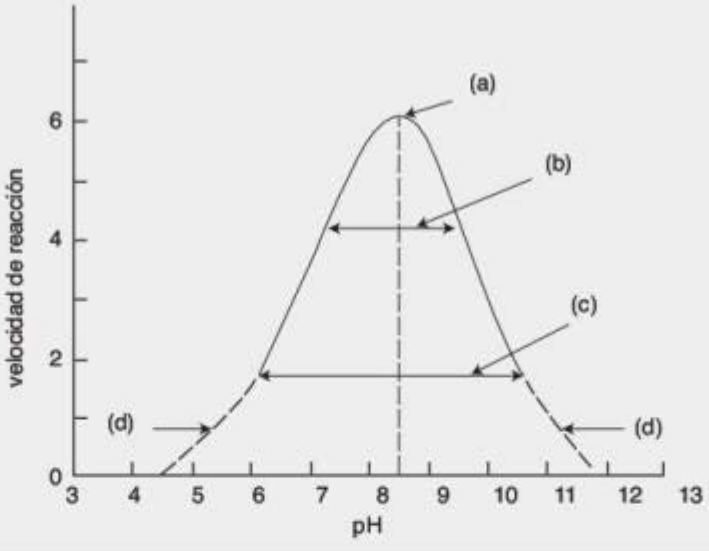
La actividad de las enzimas depende de la concentración de iones hidronio del medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos de la proteína, incluidos los del sitio activo, del sustrato (en caso de ser ionizable), o del complejo enzima-sustrato; de hecho el pH influye en la estructura tridimensional de la proteína y, a su vez, sobre la afinidad que tenga la enzima por el sustrato.

La mayoría de las enzimas disponen de rango de pH relativamente estrecho en el que presentan una actividad óptima y se desactivan en pH extremos (figura 5.4); aunque existen excepciones, como la α-amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* que presentan un rango de actividad óptima muy amplio en presencia de iones calcio. 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 ellos 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 razones obvias, para aplicaciones

CUADRO 5.5 **pH de actividad óptima de algunas enzimas[10]**

Enzima	pH óptimo
Pepsina (bovina)	2.0
Quimosina (renina) (ternero)	3.5
Catepsinas (hígado)	3.5-5.5
Poligalacturonasa (tomate)	4.4
α-amilasa (*Bacillus amyloliquefaciens*)	4-10
β-amilasa (camote)	6.0
Polifenoloxidasa (durazno)	6.5
α-quimotripsina (bovina)	6-9
Ficina (higo)	7.0
Lipoxigenasa 1 (soya)	9.0

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.[54]



industriales se seleccionan enzimas que funcionen bien al pH del alimento, pues éste es difícilmente modificable.

Si el alimento lo permite, es posible inhibir la actividad enzimática endógena mediante la reducción del pH adicionando ácidos disponibles como aditivos (*v. gr.* adición de limón [ácido cítrico] al aguacate para inhibir el oscurecimiento o al cortar la cebolla para evitar las reacciones de las alinasas que dan lugar a la generación de compuestos lacrimógenos.

A partir de la estructura de una enzima, hasta ahora es imposible predecir sus propiedades fisicoquímicas o cinéticas, por lo que el pH óptimo de actividad se debe determinar de forma experimental, considerando además otras variables operacionales que influyen en la actividad, por ejemplo 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 principalmente de los residuos de aspártico, glutámico, lisina, arginina e histidina. La consecuencia será el desplegamiento o *desnaturalización* permanente o irreversible de la estructura 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 originales, es decir, se puede *renaturalizar*. Para el químico en alimentos, interesado en evitar reacciones que alteren a un alimento durante su almacenamiento, la renaturalización después de la desactivación térmica puede ser un problema, por lo que el fenómeno debe estudiarse con profundidad. Es el caso de la actividad peroxidasa en el escaldado, de la fosfatasa alcalina en la leche pasteurizada o de la plasmina (proteasa láctea alcalina) en la leche esterilizada.

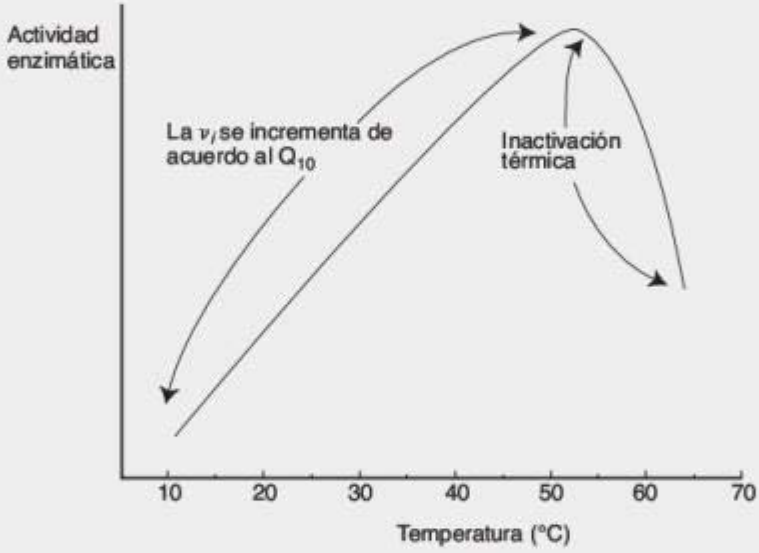
Efecto de la temperatura

De acuerdo con la teoría de las colisiones, las reacciones suceden debido a los choques que sufren las moléculas dentro de un recipiente. Arrhenius delimitó la posibilidad de reacción sólo para aquellas moléculas que hubiesen alcanzado la energía de activación. La velocidad

de las reacciones en general, incluidas las enzimáticas, se incrementará con la temperatura al aumentar la energía cinética de las moléculas, propiciando un mayor número de colisiones en el intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en los casos en que el incremento de temperatura es muy grande, se favorece la desnaturalización irreversible y, en consecuencia, la proteína pierde su capacidad catalítica. Contar con una enzima que resista altas temperaturas presenta otras ventajas, como mayor solubilidad del sustrato, o disminución de los riesgos de contaminación microbiana, lo que es clave cuando una reacción enzimática se prolonga por varias horas.

Así, cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual se logra más actividad: la mayoría tiene un óptimo que se encuentra entre 30 y 45 °C, y se desactivan a más de 60 °C, en la que la energía introducida en el sistema sobrepasa la de las fuerzas que mantienen la estructura funcional (figura 5.5).

Figura 5.5 Efecto de la temperatura en la actividad catalítica de las enzimas.[36]



Existen diversos parámetros que permiten caracterizar la influencia de la temperatura en la actividad, como el factor Q_{10} que corresponde a la relación de velocidades medidas con 10 °C de diferencia. En el caso de enzimas, 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. Para cuantificar el efecto de la temperatura en la velocidad de reacción puede emplearse la ecuación de Arrhenius tomando la relación del valor de la constante de velocidad de reacción (k) con 10 °C de diferencia:

$$\frac{k(T+10)}{k(T)} = \frac{Ae^{-(Ea/RT+10)}}{Ae^{-(Ea/RT)}} = e^{(Ea/RT-Ea/RT+10)} = e^{Ea/R(1/T-1/(T+10))} \qquad \text{(Ec. 3)}$$

Como puede inferirse de esta ecuación, el aumento de la velocidad con la temperatura depende directamente de la energía de activación (Ea). En el caso de las enzimas, es común estudiar el efecto de la temperatura sobre la k_{cat}, una constante de primer orden, característica de cada enzima, que revisaremos más adelante.

En la industria alimentaria es común utilizar los tratamientos térmicos como método de conservación, con los que no sólo se eliminan los microorganismos, sino también las enzimas que llegan a causar cambios indeseables, según se ejemplifica en la figura 5.6. El objetivo específico del proceso de escaldado es eliminar la actividad de enzimas endógenas que oxidan alimentos de origen vegetal. Incluso en alimentos congelados pueden ocurrir reacciones enzimáticas, aunque a una velocidad muy baja.

La descripción en el tiempo de la desactivación de una enzima por lo general puede hacerse empleando un modelo cinético de primer orden, de tal manera que la ecuación 1 puede presentarse como:

$$v = k\,E \qquad \text{(Ec. 4)}$$

donde v es la pérdida de actividad enzimática con respecto al tiempo ($-dE/dt$), equivalente a las moles de enzima que se desactivan por unidad de volumen y por unidad de tiempo; k es la constante de desactivación de primer orden y E la concentración de enzima activa. De la integración de esta ecuación resulta una ecuación logarítmica:

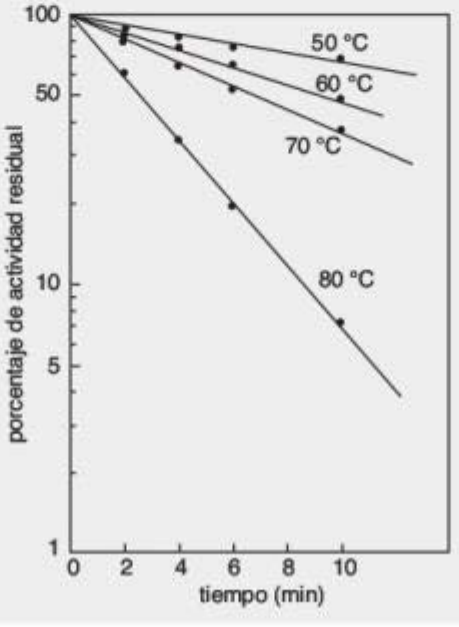
$$\ln E = \ln Eo - k\,t \qquad \text{(Ec. 5)}$$

que describe las rectas de la figura 5.6. Esta ecuación es muy útil, ya que permite definir un parámetro que se utiliza mucho en la industria para caracterizar la estabilidad de las enzimas: el tiempo de vida media, o $t_{½}$. Este parámetro corresponde al tiempo necesario, a una temperatura específica, para que la enzima pierda la mitad ($Eo/2$) de su actividad inicial (Eo). De la ecuación anterior se puede deducir que:

$$t_{½} = \ln 2/k \qquad \text{(Ec. 6)}$$

La k podrá evaluarse a diferentes temperaturas aplicando la ecuación de Arrhenius, para lo cual será necesario determinar las constantes A y la *energía de desactivación*, Ea, de forma experimental.

Figura 5.6 Desactivación térmica de la polifenol oxidasa de la remolacha.[31]

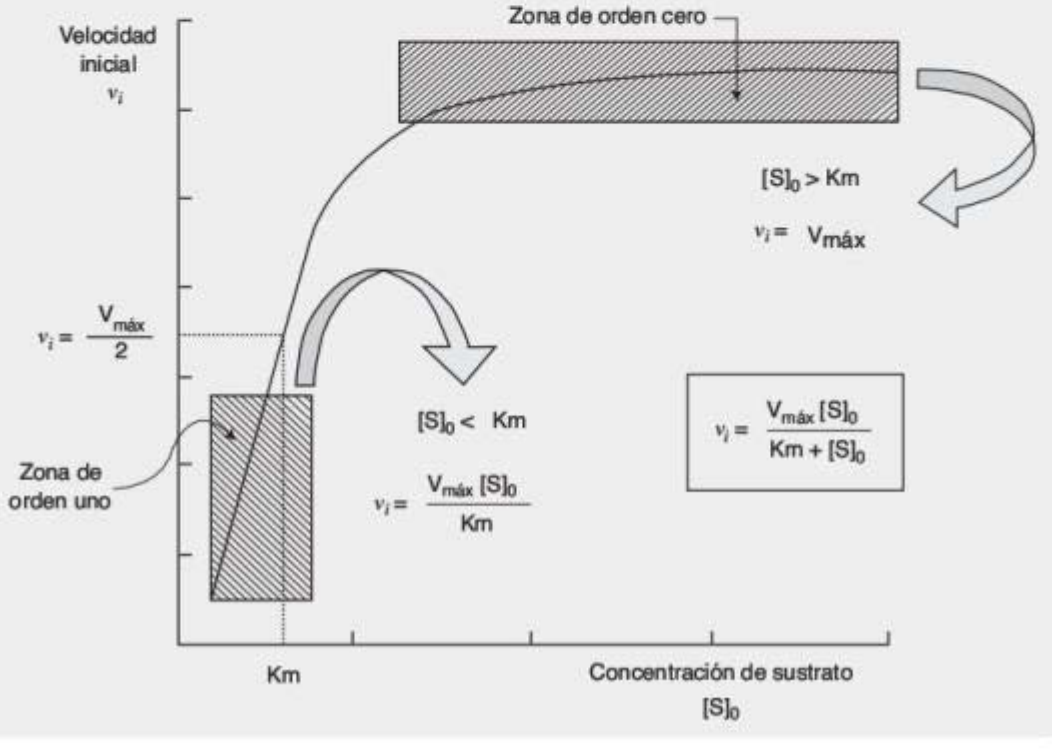


Cabe mencionar que actualmente se dispone de enzimas que se obtienen de microorganismos extremófilos aislados de regiones de la Tierra que se encuentran a muy altas temperaturas y presiones, por ejemplo las chimeneas marinas, los volcanes o los géiseres. Estas enzimas funcionan de manera óptima a temperaturas muy altas, incluso arriba de los 100 °C, y aunque no son frecuentes en el procesamiento de alimentos, son importantes para la biotecnología moderna. Es el caso de las ADN polimerasas obtenidas de *Thermus aquaticus* y de *Pyrococcus furiosus*, utilizadas 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 alimenticio, si consideramos que se necesitan enzimas que resistan condiciones drásticas de operación, por ejemplo en el procesamiento de almidón o, como vimos antes, que operen a temperaturas que limiten los riesgos de contaminación microbiana. Es importante recordar que los procesos de síntesis química se desarrollan usualmente a altas temperaturas.

Efecto de la concentración de sustrato

Una enzima funciona de manera más eficiente cuando la concentración de sustrato está en exceso con relación a la concentración de enzima, debido a que son más probables las colisiones "exitosas" entre moléculas de sustrato con moléculas de enzima. En estas condiciones, el producto se obtiene a la máxima velocidad posible para la cantidad de enzima presente. Si la concentración de sustrato disminuye, la velocidad de reacción también se reducirá, por lo general según el comportamiento que muestra la figura 5.7. Como se verá

Figura 5.7 Efecto de la concentración del sustrato en la velocidad de reacción de las enzimas.



más adelante, este aspecto es muy importante en la caracterización cinética de una enzima. Por otra parte, la acción de una enzima a nivel industrial debe ser óptima en cuanto a su costo y a su eficiencia catalítica, de modo que la reacción se debe realizar a la máxima velocidad posible.

Efecto de la actividad acuosa

Los alimentos se deshidratan para evitar el crecimiento microbiano; sin embargo, aun en estas condiciones perdura la acción de muchas enzimas.[9] Las verduras y las frutas deshidratadas están sujetas a reacciones de deterioro cuando no se desactivan sus enzimas con un tratamiento de escaldado previo a la deshidratación. De hecho, algunas enzimas llegan a actuar con un mínimo de agua, como ocurre con las lipasas. En ambos casos, la amplia disponibilidad del sustrato hace que las reacciones se logren incluso en condiciones de baja actividad acuosa (a_w). 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, lo que es suficiente para que presenten actividad catalítica. En otros casos, se aprovecha este fenómeno para aplicar enzimas hidrolíticas en medios con bajo a_w, invirtiendo el sentido de la reacción al modificar el equilibrio termodinámico, para llevar a cabo la síntesis de compuestos en medios no acuosos, 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.[41]

Para alcanzar valores de a_w bajos, la enzima liofilizada se puede equilibrar en un ambiente con menor a_w, como podría ser en disolventes orgánicos no miscibles con el agua (por ejemplo, n-butanol, hexano, ciclohexano, etc.), o reemplazar agua con disolventes miscibles como el glicerol. Contrario a lo que pudiera pensarse, algunas enzimas son más estables en disolventes orgánicos —sobre todo no polares— que en solución acuosa; es el caso de la lisozima, la subtilisina y de la mayor parte de las lipasas.[9]

Algunas aplicaciones muy importantes de enzimas en medios no acuosos incluyen la síntesis de aspartamo; la reestructuración de triacilgliceroles, por reacciones de transesterificación, para obtener 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 las glicosilaciones para aumentar la solubilidad de ciertos aditivos como algunos saborizantes, colorantes o antioxidantes.[41]

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 3, En el caso de la fuerza iónica, ésta altera la solubilidad y la estructura tridimensional de la proteína, lo que trae consigo modificaciones de la disponibilidad de la enzima y del sitio activo.

Por otra parte, es común que los iones de metales pesados como mercurio, plata y plomo, inhiban 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 zinc, así como aniones de cloro, bromo y 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 los iones pueden formar parte del sitio activo, requerirse para la interacción de la enzima con el sustrato o para mantener la conformación tridimensional, interactuando con alguna región de la enzima. De éstas, algunas requieren de otros cofactores para presentar 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 oxidorreducción. 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 enzimáticos[21]**

Enzima	Cofactor	Vitamina	Fosfato	Fosfato	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	Piridoxal fosfato	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 como herramienta de ataque emplean insectos o microorganismos depredadores. 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 siete puentes disulfuro. Dado que estos inhibidores causan un detrimento en la calidad nutricional se deben desactivar, lo que se logra con el cocimiento por 1 hora, aproximadamente. Existen otros inhibidores de proteasas, como el ovomucoide (específico para tripsina) y el ovoinhibidor de la clara del huevo, que inhibe tripsina, quimotripsina y subtilisina. Los cereales contienen también inhibidores de amilasas, cuya función es proteger al grano impidiendo la degradación del almidón. Además, se han identificado inhibidores de invertasa, lipasas y de algunas enzimas pépticas. Recientemente se ha puesto en evidencia que los polifenoles del chocolate inhiben la acción de la lipasa pancreática, mientras que inhibidores específicos de las amilasas como la acarbosa se utilizan como medicamentos para evitar la degradación de almidón y la producción de glucosa.

Cinética de las reacciones enzimáticas

Existen varios modelos que explican el funcionamiento de una enzima como catalizador, de los que el más aceptado es el que desarrollaron Michaelis y Menten en 1913, en el que consideraron que cuando el reactivo o sustrato (S) está en contacto con la enzima (E), se combinan para formar un complejo enzima-sustrato (ES). De este complejo posteriormente 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:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P \qquad \text{(Ec. 7)}$$

De acuerdo con 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 por lo general es rápida, pero su descomposición en producto y enzima libre es un paso lento ($k_2 < k_1$), mientras que k_2 es usualmente mucho mayor que k_{-2}. Sin embargo, en ciertas condiciones una reacción catalizada de forma enzimática puede proceder en cualquier dirección. Como ya hemos visto, algunas reacciones enzimáticas que proceden en dirección hacia la hidrólisis en un medio acuoso, por ejemplo, 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 8, 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. 9). Cuando [S]>>[E] la enzima se encuentra saturada, esto es, todas las moléculas de enzima forman el complejo con el sustrato (Ec. 10), por lo que la reacción se desarrolla a su máxima velocidad ($V_{máx}$), como se expresa en la ecuación 11.

$$v_i = k_2 [ES] \qquad \text{(Ec. 8)}$$

$$[E]_T = [E] + [ES] \qquad \text{(Ec. 9)}$$

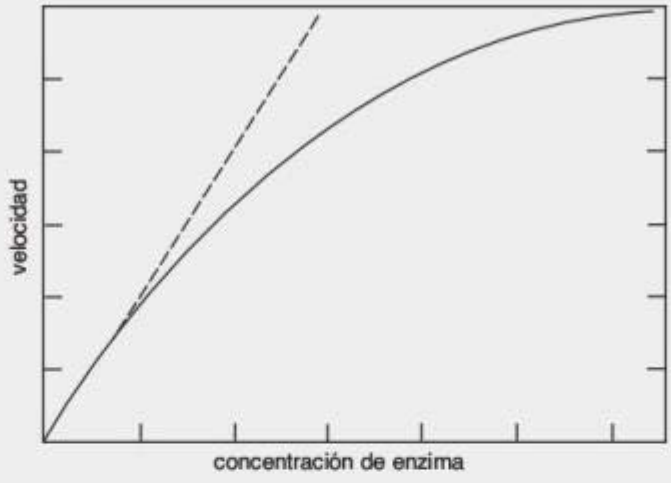
Cuando [S]>>[E], entonces se considera despreciable la concentración de enzima libre, por lo que:

$$[E]_T \approx [ES] \qquad \text{(Ec. 10)}$$

$$v_i \approx k_2 [E]_T = V_{máx} \qquad \text{(Ec. 11)}$$

Es importante recordar la relación que existe entre la concentración de los reactivos con la velocidad de reacción, lo que define el orden de una reacción química. De la ecuación 11 se deriva que en la saturación (cuando la concentración de sustrato es muy alta con respecto a la concentración de enzima), una reacción enzimática se comporta como una de orden cero, pues la velocidad de reacción (v_i) es constante (igual a $V_{máx}$), independiente de la concentración de sustrato (figura 5.7). Así, la velocidad de reacción, a pH y temperatura constantes, dependerá sólo de la concentración de la enzima, como muestra la figura 5.8. Esta condición es también la más adecuada para evaluar la influencia del pH y la temperatura en la actividad de la enzima.

Figura 5.8 Velocidad de reacción enzimática con respecto a la concentración de enzima. La línea punteada es la relación teórica (ecuación 11) 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, lo que corresponde a un comportamiento cinético de primer orden; a medida que se incrementa [S], la velocidad deja de aumentar en forma lineal hasta que se alcanza un valor constante, cuando la enzima se satura y la reacción se vuelve de orden cero; como hemos visto, ésta será la máxima velocidad que podrá obtenerse a esa concentración de enzima.

A la relación entre k_1, k_{-1} y k_2 se le define como Km, la constante de Michaelis-Menten o constante de afinidad:

$$Km = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \qquad \text{(Ec. 12)}$$

La Km y la k_2, también conocida como constante catalítica (k_{cat}) o número de recambio, son específicas para cada enzima y la relación k_{cat}/Km define la eficiencia catalítica de la enzima para un determinado sustrato (cuadro 5.7).

La ecuación de Michaelis-Menten (Ec. 13) representa una hipérbola (figura 5.7) y describe la variación de la velocidad inicial de reacción en función de la concentración del sustrato. Se puede apreciar que, en condiciones de saturación, [S]>>Km, la ecuación 13 se transforma en $v_i = V_{máx}$ que representa una ecuación de velocidad de orden cero. Por otra parte, cuando [S]<Km, entonces la ecuación de Michaelis se puede simplificar a $v_i = V_{máx}$ ([S]/Km), que puede representarse también como $v = k'$ [S], donde k' equivale a una constante de primer orden igual a $V_{máx}$/Km.

$$v_i = V_{máx}\left(\frac{[S]}{Km + [S]}\right) \qquad \text{(Ec. 13)}$$

En la igualdad de Michaelis-Menten aparentemente no existe ningún término que incluya la concentración de la enzima $(E)_T$; sin embargo, ésta se encuentra implícita en $V_{máx}$ ya que es igual a $k_2(E)_T$, como se observa en la ecuación 11.

De la ecuación 13 puede hacerse una deducción algebraica importante, ya que una reacción se desarrolla a la mitad de la velocidad inicial máxima ($v_i = 1/2\ V_{máx}$) cuando [S] = Km (sustituir v_i por $1/2\ V_{máx}$ y despejar [S]); es decir, la relación de constantes de velocidad definida en la ecuación 12 como Km, es igual a la concentración del sustrato a la que la velocidad observada en la reacción es la mitad de la velocidad máxima. El valor de Km depende del pH y de la temperatura (que en principio permanecen constantes en una reacción). Es también característico para un sustrato, pero para enzimas que actúan con dos o más sustratos tendrán un valor de Km para cada uno de ellos.

La Km es un índice de la afinidad que tiene una enzima por un determinado sustrato: un valor bajo (del orden μM) indica que la enzima requiere de bajas concentraciones de sustrato para alcanzar la saturación; por el contrario, un valor alto indica que la enzima tiene poca afinidad hacia el sustrato, ya que es necesaria una elevada concentración de éste para que la enzima se sature. 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 Km.

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})	Km (M)	kcat/Km ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
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	3.6×10^7
Crotonasa	Crotonil-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.9×10^8
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}	1.9×10^6
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}	

Cuantificación de la actividad enzimática

La potencia o actividad de una enzima no puede medirse a partir de la concentración de proteína, ya que puede estar presente pero en forma desnaturalizada y sin función; por eso se emplean mediciones de velocidad de reacción para caracterizarla cinéticamente. De entre todas las velocidades a las que puede actuar una enzima, destaca la que definen las Unida-

des de Actividad Enzimática. Una unidad está 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; esta velocidad de reacción además debe medirse a una concentración de sustrato en la que la enzima se encuentre actuando con su velocidad máxima, es decir, en condiciones de saturación ($[S]_0>>Km$). Para determinarla, se debe medir la velocidad inicial de consumo de sustrato ($-\Delta S/\Delta t$) o la de aparición de producto ($\Delta P/\Delta t$) donde ΔS y ΔP equivalen respectivamente a la cantidad de sustrato y de producto que se transformaron en el intervalo inicial de tiempo Δt. De esta determinación se obtiene una velocidad volumétrica, es decir, definida en términos del volumen de reacción. Así, por ejemplo, una velocidad medida como 100 μmol de S/mL·min, equivale a una reacción con 100 U/mL.

Cuando la velocidad volumétrica se refiere a la concentración de enzima en la reacción, o a la concentración total de proteína, se obtiene la *actividad específica*, definida como las unidades de actividad por masa de proteína (U/mg). Cuanto más pura se encuentre una preparación enzimática, mayor será la actividad específica, hasta llegar al valor máximo cuando la enzima esté pura y toda la proteína en la reacción corresponda únicamente a la enzima, sin ninguna otra proteína contaminante. La actividad específica 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, la mayoría de las transformaciones que sufren los alimentos muestran 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. Note que 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 (*v. gr.* almidón, pectinas y complejos proteínicos), por lo que es complicado definir su actividad en los términos antes expuestos. Por esta razón se han desarrollado innumerables métodos para cuantificar la actividad en esos sistemas y son relevantes los casos de las actividades amilolítica y proteolítica; sin embargo, los protocolos son muy arbitrarios, lo que dificulta la comparación entre los valores que se obtienen por diversos métodos. Por ejemplo, se determina la actividad amilolítica con las siguientes metodologías y unidades de actividad correspondientes:[49]

- *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 una hora.
- *Unidad SKB*. Cantidad de amilasa que hidroliza 1 g de dextrina β-límite hasta el punto de reacción negativa con yodo en una hora bajo condiciones definidas.
- *Unidades "licuefón"*. Se determina el tiempo requerido para disminuir en 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.
- *Unidad internacional*. Cantidad de enzima que libera una mol de equivalentes glucosa (medidos a partir del poder reductor generado) por minuto.

Desde la perspectiva de la aplicación industrial de enzimas, es probable que sea necesario elegir de entre un grupo de enzimas de diversas características para una aplicación específica. De acuerdo con lo que hemos revisado antes, la decisión dependerá, entre otros, de 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. Además, el valor de Km permitirá elegir a la enzima que tenga 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 específica de enzima, se emplea la siguiente ecuación integrada de Michaelis-Menten:

$$V_{máx}\, t = k_2\, [E]_T\, t = [S]_o\, X - Km \ln (1 - X) \qquad \text{(Ec. 14)}$$

donde:

$$X = \frac{[S]_o - [S]}{[S]_o} \qquad \text{(Ec. 15)}$$

S_o es la concentración inicial de sustrato y S la concentración al tiempo t.

Uso industrial de las enzimas

De las miles de enzimas conocidas, sólo algunas decenas se producen a escala industrial, para emplear en la manufactura de alimentos y de materias primas. Cada día aumenta el número de reacciones industriales que se efectúan por vía enzimática, principalmente debido a la posibilidad de expresar cualquier gen en microorganismos modificados por tecnología de ADN recombinante.

Desde el punto de vista industrial, 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 necesitan condiciones de procesamiento drásticas que puedan alterar la naturaleza del alimento, ni 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 o la concentración de enzima, y *e*) son fácilmente desactivadas en cuanto se alcanza el grado de transformación deseado.[50] También es posible utilizar 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 para el uso de enzimas es el costo, ya que hasta la fecha, algunas de ellas siguen siendo escasas. Sin embargo, es conveniente hacer un balance entre los costos y las ventajas de realizar una determinada reacción con enzimas para definir la viabilidad, incluido el bajo impacto que tienen los productos biológicos en el medio ambiente. Al respecto, cabe indicar que hay muchas innovaciones tecnológicas que están abaratando estos catalizadores, como la ingeniería genética, que permite transformar microorganismos y plantas al aumentar la disponibilidad de enzimas, o bien su reutilización cuando se encuentran inmovilizadas en un soporte, lo que constituye un biocatalizador. A pesar de esta ventaja, aún existe un mercado importante para las enzimas no recombinantes, sobre todo en el sector alimentario debido a la relevancia económica de los mercados de productos libres de las OGM.

Igual que con cualquier otro aditivo alimenticio, las enzimas deben cumplir con especificaciones de calidad, sobre todo en cuanto a su inocuidad y la del microorganismo que la produce, en caso de que sea de origen microbiano.[44] Debido a que con frecuencia las enzimas que se emplean en la industria no tienen un alto grado de pureza (resulta muy costosa su purificación completa), es preciso tomar en cuenta las demás moléculas que pudieran contener. Por esta razón, una preparación enzimática comercial en realidad está compuesta por una mezcla de proteínas, entre las que se encuentra la que presenta la actividad deseada, así como estabilizantes (glicerol, sorbitol) y adjuntos (cloruro de sodio, benzoato).

Debido a la complejidad y restricciones del medio, en muchas ocasiones el comportamiento cinético de una enzima, estudiada en un laboratorio, no permite extrapolar su comportamiento en un alimento. Así, en el laboratorio es posible modificar el pH, la temperatura, la fuerza iónica, las concentraciones del sustrato y de las enzimas, la naturaleza y la cantidad de los activadores, inhibidores y cofactores, mientras que al aplicar la enzima a un alimento la mayor parte de estos parámetros no puede modificarse sin alterar el producto. Por esta razón, y a diferencia de la forma en la que se aplican las enzimas en la industria química o farmacéutica, por lo general en el caso de los alimentos se requiere buscar una enzima cuyos parámetros de actividad sean compatibles con los del alimento.

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

Las enzimas industriales pueden ser de origen animal, vegetal y microbiano (cuadros 5.8 y 5.9), de las que estas últimas son las más abundantes. Los microorganismos que se emplean para este propósito presentan muchas ventajas, ya que incluso se les puede alterar genéticamente para convertirlos en sobreproductores de una determinada enzima. Además, las técnicas de ADN recombinante permiten aislar el material genético que codifica para la síntesis de 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*, *Aspergillus 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 países como Estados Unidos, Francia y Canadá, consideran que *A. niger, A.oryzae, B. subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae* son microorganismos generalmente reconocidos como seguros o GRAS (siglas en inglés para *Generally Recognized As Safe*) para la producción de enzimas, tanto propias como recombinantes. Cepas inocuas de *E.coli*, como la K-12, también se consideran seguras para la expresión de proteínas recombinantes.

CUADRO 5.9 **Algunas fuentes microbianas comerciales de preparaciones enzimáticas**

Fuente	Actividad enzimática
Hongos	
Aspergillus oryzae	α-amilasa, glucoamilasa, lactasa, proteasa, lipasa
Aspergillus niger	α-amilasa, β-glucanasa, glucoamilasa, celulasas, hemicelulasas,lactasa, pectinasas, proteasas, lipasa, catalasa, glucosa oxidasa, naranginasa, pululanasa, dextranasa, inulinasa, xilanasas
Rhizopus oryzae	α-amilasa, glucoamilasa, pectinasa
Rhizopus niveus	Amiloglucosidasa
Rhizomucor pusillus	Proteasa, sustituto de la renina
Rhizomucor miehei	Proteasa, lipasa, sustituto de la renina
Trichoderma reesei	Proteasa, sustituto de la renina, celulasa, hemicelulasa
Levaduras	
Kluyveromyces lactis	Lactasa, renina recombinante
Saccharomyces spp.	Invertasa
Candida spp.	Lipasas
Bacterias	
Escherichia coli	Lactasa, enzimas recombinantes (quimosina, ADN polimerasa)
Bacillus subtilis	α-amilasa, β-glucanasa, proteasas neutra y alcalina
Bacillus licheniformis	α-amilasa, proteasa
Bacillus polymyxa	α-amilasa
Bacillus amyloliquefaciens	α-amilasa, proteasa
Bacillus cereus	α-amilasa, proteasa
Micrococcus lysodiekticus	Catalasa
Bacillus coagulans	Glucosa isomerasa
Streptococcus griseofuseus	Glucosa isomerasa
Streptomyces olivochromogenes	Glucosa isomerasa
Streptomyces rubiginosus	Glucosa isomerasa
Klebsiella planticola	Pululanasa

Una ventaja de obtener enzimas por fermentación es que muchos microorganismos las producen de forma extracelular, es decir, las secretan de la célula, por lo que su recuperación es sencilla. Sin embargo, en otros casos las enzimas son intracelulares y es preciso romper las células para su extracción. Del sobrenadante de cultivo o del extracto crudo proveniente de la ruptura celular, se precipitan las proteínas mediante la adición de disolventes orgánicos (etanol o acetona), o sales (sulfato de amonio); los precipitados se recuperan por filtración o centrifugación y se secan al vacío o se liofilizan. Otra opción es simplemente concentrar las proteínas empleando ultrafiltración, ya que muchas enzimas se comercializan en forma líquida. La recuperación de las enzimas se debe realizar en condiciones 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.

Revisión de enzimas de importancia en alimentos

El cuadro 5.10 muestra un resumen de las aplicaciones más importantes de enzimas en alimentos. En esta sección se tratarán 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 las que hidrolizan carbohidratos, proteínas y lípidos, así como otras reacciones enzimáticas relevantes en sistemas alimenticios.

CUADRO 5.10 **Algunas de las aplicaciones más importantes de enzimas en el procesamiento de alimentos**

Fuente	Alimento	Propósito o función
Amilasas	Productos de panificación	Aumentar el contenido de azúcares fermentables para la levadura. Evitar el endurecimiento del pan y la tortilla.
	Cerveza	Producción de maltosa para la fermentación alcohólica.
	Cereales	Producción de maltosa y dextrinas para aumentar la absorción de agua.
	Chocolate / cocoa	Fluidificación del almidón.
	Edulcorantes	Producción de dextrinas de bajo peso molecular y de glucosa a partir de almidón.
	Jugo de caña y manzana	Degradación de almidón residual que afecta la calidad del producto.
Celulasa	Cerveza	Hidrólisis de pared celular de las semillas de cebada y adjuntos.
	Café	Hidrólisis de celulosa durante el secado de las bayas para facilitar el descascarillado.
	Varios	Uso de enzimas en procesos de extracción (aceite de oliva, leche de soya).
Dextransacarasa	Azúcares de especialidad	Producción de oligosacáridos con propiedades prebióticas.
Invertasa	Confitería	Producción de caramelos de centro suave.
	Edulcorantes	Obtención de azúcar invertido (jarabes fructosados a partir de sacarosa).
Lactasa	Helados	Evitar la cristalización de la lactosa, con lo que se evita la textura arenosa.
	Leche	Producción de leche para la población intolerante a lactosa.
	GOS	Síntesis de galacto oligosacáridos.

(continúa)

CUADRO 5.10 **Algunas de las aplicaciones más importantes de enzimas en el procesamiento de alimentos (*continuación*)**

Fuente	Alimento	Propósito o función
Fitasa	Alimentación animal	Degradación de ácido fítico. Aumento de la digestibilidad en la alimentación animal.
Tanasa	Cerveza	Eliminación de compuestos polifenólicos —proceso *chill-proofing*.
Naraginasa	Jugos de cítricos	Eliminación de sabores amargos, particularmente en toronja.
Enzimas pécticas	Chocolate/cocoa	Actividad hidrolítica durante la fermentación del cacao.
	Café	Hidrólisis de 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	Aumenta la extensibilidad de la masa, mejora la textura, miga y volumen del pan. Libera actividad β-amilasa.
	Cerveza	Desarrollo de cuerpo y sabor. Ayuda a la clarificación —proceso *chill-proofing*.
	Cereales	Manufactura de miso.
	Queso	Coagulación de la caseína. Producción de sabores durante la maduración.
	Huevo	Mejora las propiedades de secado.
	Carne y pescado	Ablandamiento. Recuperación de proteínas de huesos. Liberación de aceite.
	Soya	Preparación de tofu y leche de soya.
	Hidrolizados de proteína	Producción de salsa de soya y tamari. Mejora la funcionalidad de proteínas.
	Vino	Clarificación.
Lipasas	Queso	Generación de atributos de sabor durante la maduración.
	Lípidos	Conversión a glicerol, ácidos grasos y reacciones de transesterificación.
	Leche Grasas Chocolate	Adecuación de sabor para fórmulas con sabor a chocolate. Producción de grasas de diversa composición. Producción de emulsificantes. Producción de aromas. Producción de sustitutos de grasa
Fosfatasas	Leche	Monitoreo de procesos térmicos —pasteurización.
Asparaginasa	Papas, pan, etc.	Eliminación de asparagina. Evitar la formación de acrilamida en los alimentos fritos u horneados.
Nucleasas	Potenciadores de sabor	Producción de nucleótidos y nucleósidos.
Peroxidasa y catalasa	Vegetales	Monitoreo de escaldado.
Glucosa oxidasa y catalasa	Variedad de productos	Eliminación de oxígeno y/o glucosa para evitar oxidación y oscurecimiento.
Polifenol oxidasa	Café, té, pasas	Oscurecimiento durante la fermentación y/o maduración.
Dextranasa	Jugo de caña	Tratamiento de jugos contaminados con dextrana.

Carbohidrasas

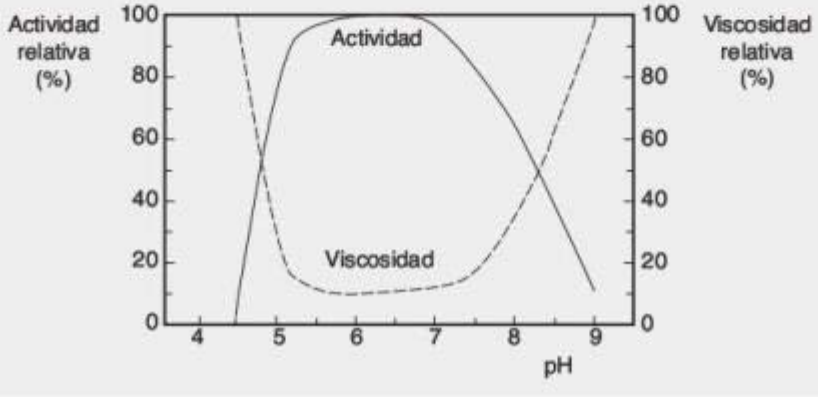
En 1998 se creó en Francia CAZy (siglas en inglés para *Carbohydrate-Active enZYmes Database*), una base de datos especializada que incluye la información genómica, estructural y bioquímica de las enzimas que actúan sobre carbohidratos.[13] En ella se describen las familias en las que se clasifican todas las enzimas cuya estructura se ha publicado, capaces de modificar, hidrolizar o sintetizar enlaces glicosídicos, de acuerdo con su estructura y actividad. La base se actualiza a medida que aparece nueva información genómica. Para mayor comprensión es recomendable visitar la página web www.cazy.org. Hasta enero de 2012 había registradas 130 familias de glicosil hidrolasas, 94 familias de glicosil transferasas, 22 de liasas de polisacáridos y 16 de esterasas de carbohidratos, así como 64 familias de módulos de unión a carbohidratos. A más de 7 000 de estas proteínas se les ha asignado un número EC y a más de 700 una estructura reportada en la base de datos PDB.[43]

Amilasas

Existen dos mecanismos generales mediante los cuales una enzima hidrolítica desdobla un sustrato polimérico, *v. gr.* el almidón, la pectina, la celulosa, las proteínas, etc. Mediante un mecanismo "exo", las exoenzimas remueven una o dos unidades del polímero a partir de alguno de sus extremos, mientras que mediante un mecanismo "endo", las endoenzimas tienen la capacidad de romper enlaces internos en cualquier punto de la cadena del polímero.

La **α-amilasa** (EC 3.2.1.1) es una endohidrolasa que actúa aleatoriamente sobre los enlaces internos α1-4 de la amilosa y de la amilopectina, con lo cual se producen dextrinas de 10 a 20 unidades de glucosa, ya que no puede hidrolizar los enlaces α1-6 de la amilopectina; recibe el nombre de enzima licuante o licuefactante debido a que su presencia provoca la rápida reducción de la viscosidad de las soluciones de almidón (figuras 5.9 y 5.10). Se denomina α, ya que retiene la configuración en α del carbono anomérico de la glucosa en el almidón. Las α-amilasas bacterianas provienen principalmente del género *Bacillus (B. subtilis, B. amyloliquefaciens, B. licheniformis, B. stearothermophilus)* y son metaloenzimas dependientes del ion 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*. Cuando una enzima del tipo α-amilasa se deja actuar por largo tiempo sobre almidón, se genera un perfil de malto-oligosacáridos específico de cada enzima.

Figura 5.9 Efecto del pH sobre la actividad amilolítica de *B. amyloliquefaciens*, determinada por disminución de viscosidad e incremento de azúcares reductores.[49]

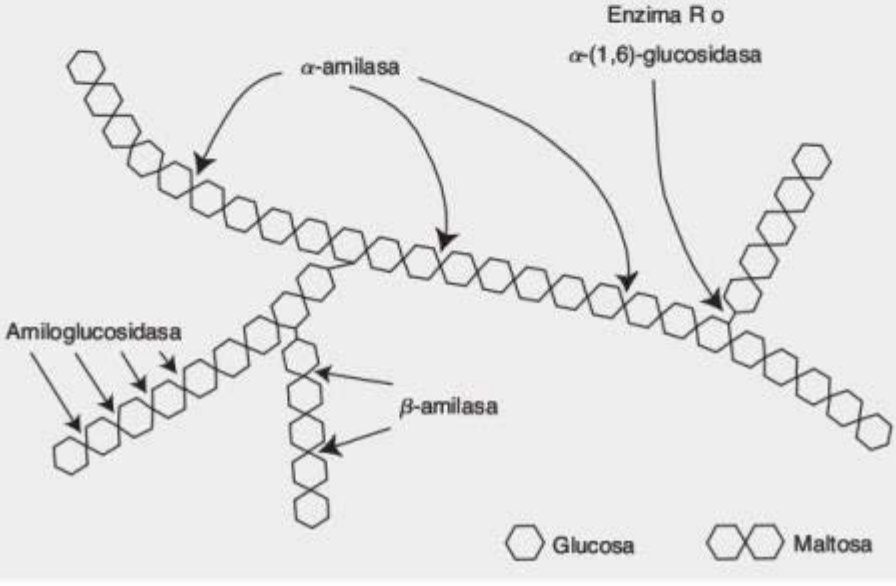


Por otra parte, la **β-amilasa** (EC 3.2.1.2) es una exoenzima que hidroliza los enlaces α1-4 cada dos moléculas de glucosa a partir de los extremos no reductores de la amilosa y de la amilopectina, con la liberación de moléculas de maltosa (figura 5.10). Se denomina β, ya que se invierte la configuración del carbono anomérico de α a β. A diferencia de lo que sucede cuando actúa la a-amilasa, tendría que ocurrir una hidrólisis extensa con β-amilasa para observar una disminución importante de la viscosidad de la solución de almidón. Su acción también se detiene al llegar a las uniones α1-6 de la amilopectina, lo que genera fragmentos conocidos como dextrinas β-límite. Es endógena en las semillas durante la germinación (u *gr.* en la cebada, durante el proceso de malteo), y la produce un gran número de microorganismos. Entre los más importantes se encuentran *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus*, *Streptomyces* sp. y *Aspergillus fumigatus*.

Amiloglucosidasa (EC 3.2.1.3). Esta enzima, también llamada glucoamilasa, tiene la capacidad de hidrolizar tanto los enlaces α1-4 como los α1-6 de los glucanos por el extremo no reductor de la cadena; produce β-glucosa, de modo que se invierte la configuración de la glucosa, como en el caso de la β-amilasa. Su acción prolongada da lugar a la hidrólisis casi total del almidón (figura 5.10), por lo que se emplea en la fabricación de los jarabes de glucosa. Uno de los primeros reportes de esta enzima data de 1957 y se refiere a una enzima producida por *Aspergillus awamori*; actualmente se obtiene a nivel industrial a partir de *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Rhizopus delemar*, *R. oryzae* y *R. niveus*.

La **pululanasa** (EC 3.2.1.41) hidroliza los enlaces α1-6 en el pululano, polímero que consiste de unidades de maltotriosa unidas mediante enlaces α1-6 en la amilopectina y, por ende, también en las dextrinas límite. Requiere que cada una de las dos cadenas de amilopectina unidas por el enlace α1-6, contengan al menos dos unidades adyacentes de glucosa unidas con enlace α1-4. Se conoce también como enzima desramificante o enzima R. Las preparaciones comerciales provienen de *Klebsiella planticola*, *B. deramificans* y *B. acidopullulyticus*. Además de la pululanasa existen otras enzimas desramificantes como la isoamilasa.

Figura 5.10 Hidrólisis del almidón por diferentes enzimas.[36]



Aplicaciones industriales

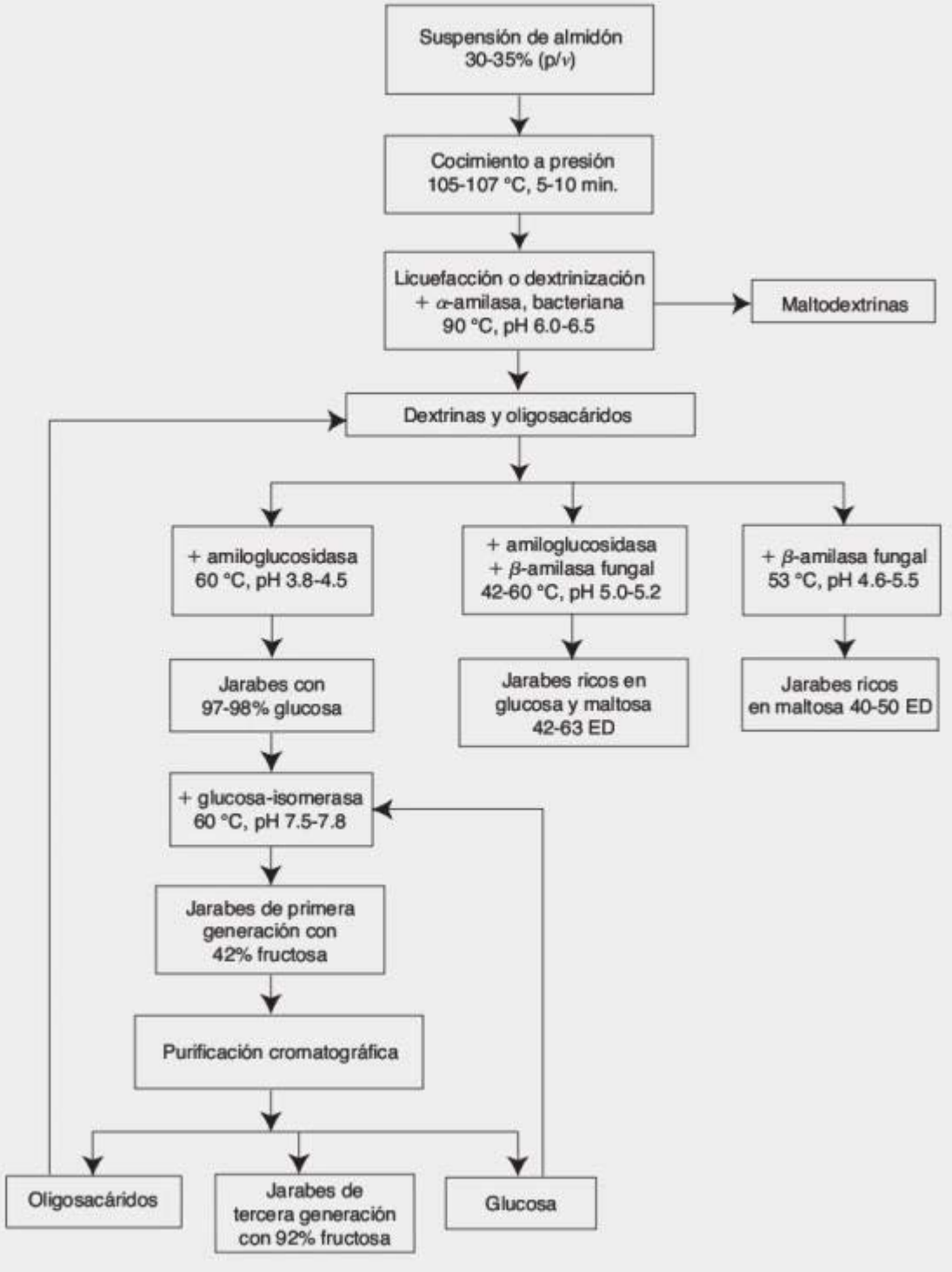
Malteo. Durante la germinación de cereales las actividades de α- y β-amilasa se incrementan considerablemente. Ésta es una función importante en la producción de malta a partir de la cebada, en el proceso llamado "de malteo", etapa esencial en la elaboración de cerveza. Este cereal contiene en el endospermo una gran cantidad de β-amilasa y al 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 que se emplean en la fabricación de cerveza. Si hubiera una hidrólisis de almidón insuficiente, se reflejaría en una fermentación lenta o en una insuficiente producción de alcohol. Para evitar estos problemas es común adicionar el mosto de α-amilasa exógena. También se puede agregar pululanasa o glucoamilasa para realizar la hidrólisis más extensa del almidón, tal como sucede en la producción de cervezas ligeras, permitiendo así que todos los carbohidratos provenientes del almidón se puedan transformar en etanol.[36]

Panificación. La acción amilolítica comienza al mezclar la harina de panificación con todos los ingredientes en estado húmedo y produce maltosa y algo de glucosa, debido a que la harina de trigo contiene mucha más β- que α-amilasa. Los mono y disacáridos que se obtienen sirven como sustrato para las levaduras en la producción de anhídrido carbónico y de etanol, previo al horneado. También permiten que se efectúen reacciones de oscurecimiento no enzimático durante la cocción y dan lugar a una coloración característica de los derivados de la panificación. La cantidad de azúcares fermentables disponibles para este proceso (fermentación) depende de la variedad del cereal y del método que se siga para producir la harina pero, por lo general, se emplea el parámetro conocido como "valor maltosa" para control y caracterización, El valor deseable de valor maltosa en una harina, oscila entre 290 y 350 mg de maltosa por cada 10 g de harina.

A pesar de que la actividad β-amilasa es mayor que 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; cuando su actividad es baja, en el otro extremo 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 el color del pan y su textura. Ambas enzimas se desactivan en la etapa del horneado, aunque la α- es más termorresistente que la β-amilasa.[36] La enzima que más se utiliza en panificación es la α-amilasa fungal o Taka-amilasa (de *A. oryzae*) que tiene una baja actividad proteolítica asociada y una termoestabilidad adecuada, de tal forma que la inactivación de la enzima ocurre después de la gelatinización inicial del almidón (70-80 °C).[1]

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 producir edulcorantes, como se explica a continuación.

Figura 5.11 Procesamiento enzimático del almidón.



El almidón gelatinizado se trata con una α-amilasa bacteriana termorresistente (la más usada proviene de *B. licheniformis*) con baja actividad proteolítica, para evitar que la proteína residual del maíz que contiene el almidón dé lugar a aminoácidos que propicien reacciones de oscurecimiento no enzimático, que a su vez afecten la calidad del producto final. Comercialmente existen preparaciones de amilasas con baja actividad proteolítica o libres de ella.

El grado de transformación del almidón en glucosa se determina por el poder reductor del jarabe y se expresa como equivalente de dextrosa (ED); por ejemplo, una hidrólisis que genere un producto con un poder reductor equivalente a 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.

La actividad de las amilasas reduce el tamaño de las cadenas de almidón hasta llevarlas a un ED de 8-12. Las dextrinas que se obtienen así, son muy útiles en la industria alimentaria por su solubilidad. Por su parte, las dextrinas sirven de sustrato para llevar a cabo tres posibles transformaciones: *a*) si las dextrinas se incuban con una amiloglucosidasa (o amiloglucosidasa y pululanasa), se favorece la hidrólisis prácticamente total (97-98%) y se produce D-glucosa; una reacción enzimática adicional permite transformar la glucosa en fructosa por mediación de la glucosa isomerasa, frecuentemente en un reactor con la enzima en forma inmovilizada; *b*) las dextrinas en presencia de amiloglucosidasa y de β-amilasa pasan a ser jarabes de alta conversión con ED 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). En muchos procesos se ha sustituido a la β-amilasa de origen vegetal, por una β-amilasa denominada "maltogénica" proveniente de especies fungales. Si bien se trata de una verdadera α-amilasa, después de una extensa hidrólisis el producto preferencial es maltosa. Todos los productos así obtenidos (glucosa, fructosa, dextrinas y los jarabes con un contenido elevado de glucosa y/o de maltosa), se usan ampliamente en diversas industrias alimentarias, como las de bebidas, confitería, fermentaciones, helados, alimentos infantiles y otras.

Los jarabes glucosados son útiles no sólo por su poder edulcorante, sino por sus características nutricionales y funcionales como fermentabilidad, viscosidad y humectabilidad, entre otras. Son materia prima esencial en la elaboración de caramelos, mermelada, jalea, bebidas de fruta, productos de panificación, etc. Los jarabes maltosados son más viscosos y menos higroscópicos que los glucosados; presentan menor tendencia a oscurecerse y a cristalizar y se usan sobre todo 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 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 de maíz. Una degradación limitada evita que la amilopectina solubilizada y amorfa se reacomode en forma cristalina.

● 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 glucosa, como el almidón, pero con enlaces β1-4, 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 β1-4 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 sobre todo de *Trichoderma reesei* y de *A. niger*. Recientemente se han estudiado también celulasas provenientes de los protozoarios presentes en el sistema digestivo de las termitas terrestres y las de mar (gribble).[28]

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). Las endoglucanasas disponen de un dominio de unión a la celulosa, lo que les permite actuar asociados a la estructura insoluble.

La acción hidrolítica de otras β-glucanasas (laminarinasa, liquenasa) se ejerce sobre los enlaces β1-3 y β1-4 de diversos polisacáridos, y de algunas gomas como la de guar y la de algarrobo. Las hemicelulasas (xilanasas, arabinosidasas, etc.) quedan incluidas en este grupo. Las preparaciones comerciales se obtienen a partir de diferentes especies de *Bacillus* y de mohos como *Penicillium pinophilum, Sporotrichum pulverulentum, Fusarium solani, Cellulomonas* sp., *Celvibrio* sp., *Clostridium thermocellum, Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Talaromyces emersonii* y *Trichoderma viride, T.reesei, T. koningii, Microbispora bispora, Therninibispora* sp., entre otros.

Aplicaciones industriales

Dada la necesidad de disponer de celulasas y hemicelulasas eficientes para el aprovechamiento de residuos agrícolas, este grupo de enzimas ha conocido un desarrollo espectacular en años recientes. Existe un importante número de plantas industriales en las que, a partir de residuos agrícolas, se transforma la celulosa en glucosa que sirve de materia prima para producir etanol por vía fermentativa. Para ciertas aplicaciones se han desarrollado cocteles enzimáticos que combinan una amplia gama de actividades para degradar sustratos complejos como la pared celular de plantas o la estructura de residuos agrícolas como el bagazo de caña y de agave, o la paja.

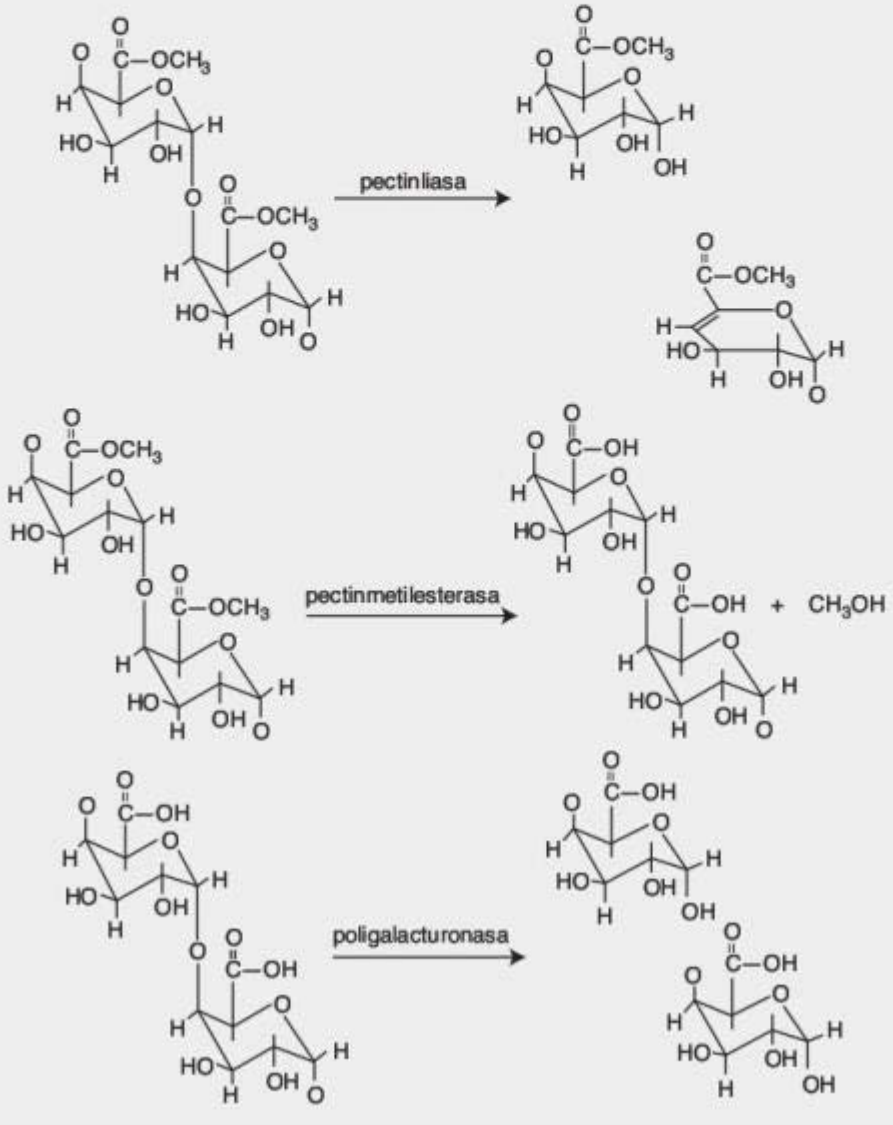
En la industria de alimentos este grupo de enzimas se ha usado en forma limitada para mejorar la extracción de aceites esenciales, así como para ablandar los tejidos celulósicos de verduras y frutas y para ayudar en la rehidratación de diversos productos. Sin duda las aplicaciones más importantes ocurren en la extracción de aceite de oliva, la producción de leche de soya (extracción acuosa) y 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 solubles facilita los procesos de filtración o clarificación.[36,50] Las xilanasas se han aplicado también en panificación.

● Pectinasas

La textura de las frutas y verduras se debe a la presencia de pectinas, que son moléculas de adhesión del tejido vegetal y forman parte de la pared celular, por lo que la acción de las pectinasas altera las características de estos alimentos. La pectina es un polímero del ácido galacturónico que se encuentra parcialmente metilado: por ejemplo, en la manzana el grado de metilación puede ser de 90-95%, mientras que en las uvas es sólo de 30-35%. Las pectinasas incluyen diversas actividades, dentro de las cuales primero se distingue a las **pectinmetilesterasas (PME)** o **pectinesterasas** (EC 3.1.1.11) que, al hidrolizar los enlaces éster metílico, liberan metanol (que por error a veces se asocia a la fermentación de frutas) y producen pectinas de bajo metoxilo e incluso ácido péctico o pectato, que es la pectina desmetilada; son las más abundantes e importantes en las frutas, sobre todo en cítricos como la naranja. **Poligalacturonasas (PG)** (EC 3.2.1.-), que rompen el enlace glucosídico α1-4 entre moléculas de pectato (la pectina ya desmetilada) por una acción que puede ocurrir tanto en el interior del polímero (endo-PG) como a partir de los extremos (exo-PG); 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 rápido; junto con la

pectinmetilesterasa integran el sistema de pectinasas de las frutas. **Pectinliasas (PL)** o **pectinotranseliminasas** (EC 4.2.2.-), 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 la contaminación microbiana de las frutas (antes o después de la cosecha) trae consigo un deterioro muy grave en la calidad y vida de anaquel del producto, y **pectatoliasas** que actúan sobre el pectato o sobre las pectinas de bajo metoxilo, con una acción similar a la descrita para la pectin liasa; sólo las producen las bacterias y no se encuentran en forma natural en los vegetales. Sus características se muestran en la figura 5.12 y en el cuadro 5.11. Por otro lado, algunos autores también

Figura 5.12 Acción de las enzimas pécticas.



CUADRO 5.11 **Clasificación de enzimas pécticas**

Nombre y tipo	Número	Sustrato preferido	Sitio de corte
Hidrolasas			
Endo poligalacturonasa	EC 3.2.1.15	Pectato	Al azar en el interior de la cadena
Exo poligalacturonasa	EC 3.2.1.67	Pectato	Terminal
Liasas			
Endo pectatoliasa	EC 4.2.2.2	Pectato	Al azar en el interior de la cadena
Exo pectatoliasa	EC 4.2.2.9	Pectato	Terminal
Endo pectin liasa	EC 4.2.2.10	Pectina	Al azar en el interior de la cadena
Esterasa			
Pectin esterasa	EC 3.1.1.11	Pectina	Desesterificación

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; su resistencia térmica por lo general es mayor que en otras.

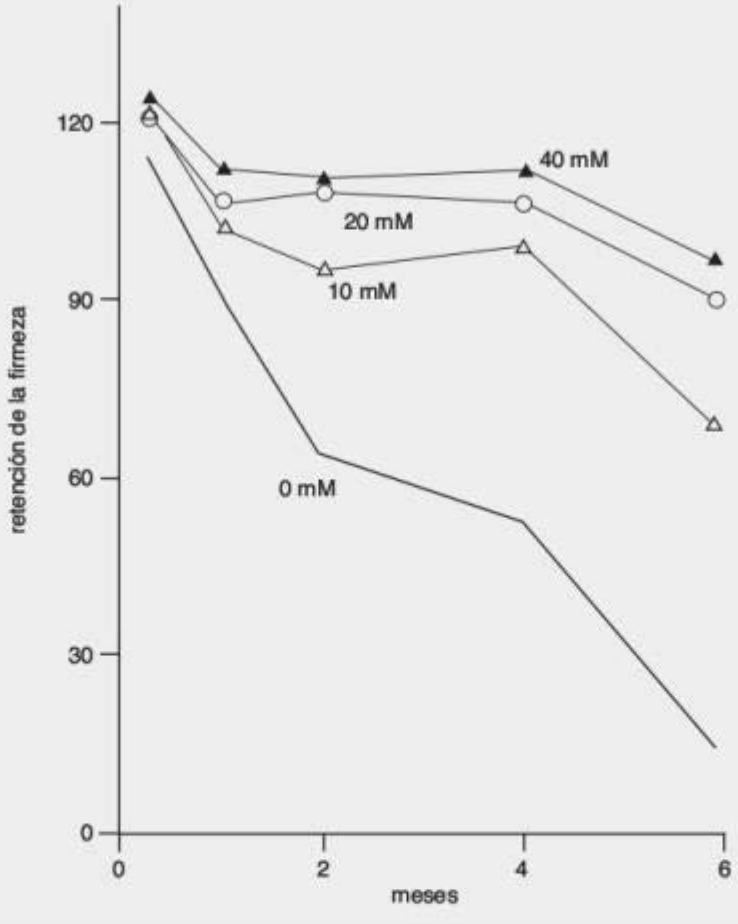
Como hemos visto, en las frutas se encuentran principalmente la pectin metilesterasa y la poligalacturonasa, cuya acción conjunta en la maduración provoca que las pectinas se degraden y el fruto adquiera una textura más adecuada para el consumidor; por otra parte, una excesiva actividad enzimática causa ablandamiento notorio, pérdida de textura, propicia las condiciones para un ataque microbiano y aumenta la concentración de ácido galacturónico.

La pectin metilesterasa provoca la formación de un mayor número de grupos carboxilo libres, capaces de interactuar 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 de forma térmica (figura 5.13).[12] Las frutas también incrementan su firmeza cuando se calientan en presencia de sacarosa, ya que al hidratarse obliga a los polisacáridos de la pared celular a unirse más fuertemente, con lo que 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).

Aplicaciones industriales

Los jugos de tomate, naranja, limón y 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 correspondiente turbiedad; por lo tanto, durante su producción es necesaria la desactivación enzimática de la actividad endógena con tratamientos térmicos que dependen de pH: a medida que éste disminuye se reduce la intensidad del calentamiento, aunque para lograr la desactivación basta un minuto a 80-90 °C. Además del pH, también influye la concentración de sólidos solubles (medida como grados Brix), ya que los sólidos tienen un efecto protector sobre las enzimas.[34] Durante el procesamiento del tomate la desactivación se hace rápidamente si se desea mantener su carácter viscoso (como ocurre con el jugo de tomate), pero se permite un cierto grado de degradación si lo que se busca es mayor contenido de sólidos solubles (como en el puré de tomate).

Figura 5.13 Efecto del $CaCl_2$ en la retención de la firmeza de rebanadas de pepinos calentados a 81 °C durante 3 minutos.[38]



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 pectin metilesterasa se usa como índice de la eficiencia del calentamiento. Su unidad de actividad se define como los miligramos de metoxilos liberados por gramo de sólidos solubles. Al parecer, la reactivación de la pectin metilesterasa es la causante de algunas alteraciones en la textura de frutas, como la cereza, o de la rápida clarificación del jugo de naranja, 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 pectin metilesterasa, la poligalacturonasa y la pectinoliasa, todas de origen fungal (de *Aspergillus* spp.). 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, al parecer 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.[39]

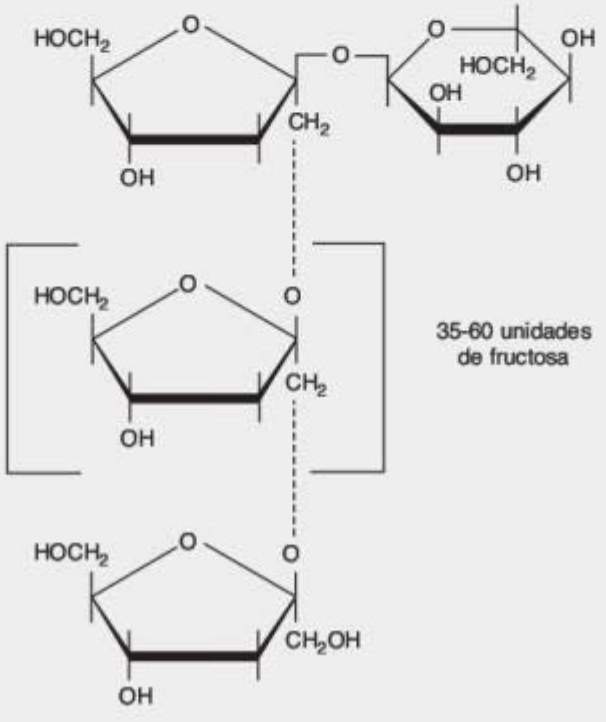
● Inulinasa

La inulina es un polímero lineal de fructosas unidas con enlaces β2-1 en la cadena principal y ramificaciones en β2-6, con una sacarosa unida en el extremo de la cadena. Tiene un grado de polimerización que llega hasta 60 moléculas de fructosa y sirve como reserva de energía en aproximadamente 15% de las plantas, entre las que destaca la achicoria, la alcachofa de Jerusalem 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).[49]

Aplicaciones industriales

Es evidente que la inulina representa una materia prima con gran potencial para la producción de edulcorantes. Se extrae de las plantas con agua caliente y se puede hidrolizar químicamente con una baja acidez a 80-100 °C; sin embargo, la fructosa es inestable a valores de pH ácidos y bajo las condiciones de reacción se producen además reacciones de oscurecimiento no enzimático, dando lugar a un producto oscuro, por lo que la hidrólisis enzimática ofrece una alternativa interesante. En la actualidad, una combinación de endo y exo inulinasas se aplican para la producción de mieles de fructosa de agave y se ha propuesto como aditivo en el proceso tequilero; también se aplica una endoinulinasa fungal para la producción de fructo-oligosacáridos a partir de inulina de achicoria.

Figura 5.14 Estructura de la inulina.



● Lactasa

La β-galactosidasa o lactasa (EC 3.2.1.23) hidroliza a la lactosa en sus monosacáridos (galactosa y glucosa) y se emplea en diversos productos lácteos, especialmente en los que se elaboran para las poblaciones con intolerancia a la lactosa (leches deslactosadas). Hoy en día existen incluso presentaciones farmacéuticas de la enzima, que se añade a la leche antes de consumirla para reducir la concentración de lactosa.

En derivados lácteos la baja solubilidad de la lactosa (180 g/L a 20 °C) puede constituir un problema; al hidrolizar la lactosa, se evita que ésta cristalice endureciendo los caramelos o dando la característica sensorial de "arenosidad" a los helados; además, la mezcla de glucosa y galactosa resultante tiene un sabor más dulce que la propia lactosa, que sólo tiene entre 20 y 40% del poder edulcorante de la sacarosa. También se emplea en panificación, dado que mejora la calidad del pan elaborado con leche en vista de que las levaduras utilizadas en el proceso no pueden metabolizar la lactosa pero sí los monosacáridos que la componen.

Se ha observado que, dependiendo de su origen, la lactasa presenta cierta actividad de transgalactosidasa; por ejemplo, esta actividad es más fuerte en la β-galactosidasa de *Escherichia coli* o *Kluyveromyces lactis* y menor en la enzima de *Bacillus circulans*.[25] La acción de la transgalactosidasa favorece la síntesis de galacto oligosacáridos (GOS) al transferir la galactosa a la lactosa o a la galactosa, pero éstos tienden a desaparecer en las últimas etapas de la reacción pues son también sustratos de la enzima.[40] La síntesis enzimática de GOS tiene hoy en día un importante crecimiento, dado su gran poder como prebiótico, aunque para esta aplicación se emplea la enzima de *Lactobacillus reuteri*.[47]

Las preparaciones enzimáticas comerciales para aplicación en alimentos se obtienen sobre todo de *Candida pseudotropicalis*, *K. lactis* 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.

● Invertasa

La β-fructofuranosidasa o invertasa (EC 3.2.1.26) hidroliza la sacarosa en los dos monómeros que la constituyen: 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 es endógena 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, dada la mayor solubilidad de la glucosa y la fructosa que de la sacarosa.[49]

Desde el punto de vista bioquímico se sabe que la enzima identifica el residuo fructosilo de la sacarosa, invirtiendo el ángulo de desviación de la luz polarizada, de donde deriva su nombre. Es importante señalar que existen también enzimas que realizan la misma función, identificando el residuo glucosilo denominadas α-glucosidasas.

Proteasas

Las enzimas proteolíticas, proteasas o proteinasas hidrolizan el enlace peptídico que enlaza a los aminoácidos en las proteínas. Existen proteasas comerciales de origen vegetal (papaína, ficina y bromelina), animal (pepsina, tripsina y quimotripsina, renina) y microbianas (prove-

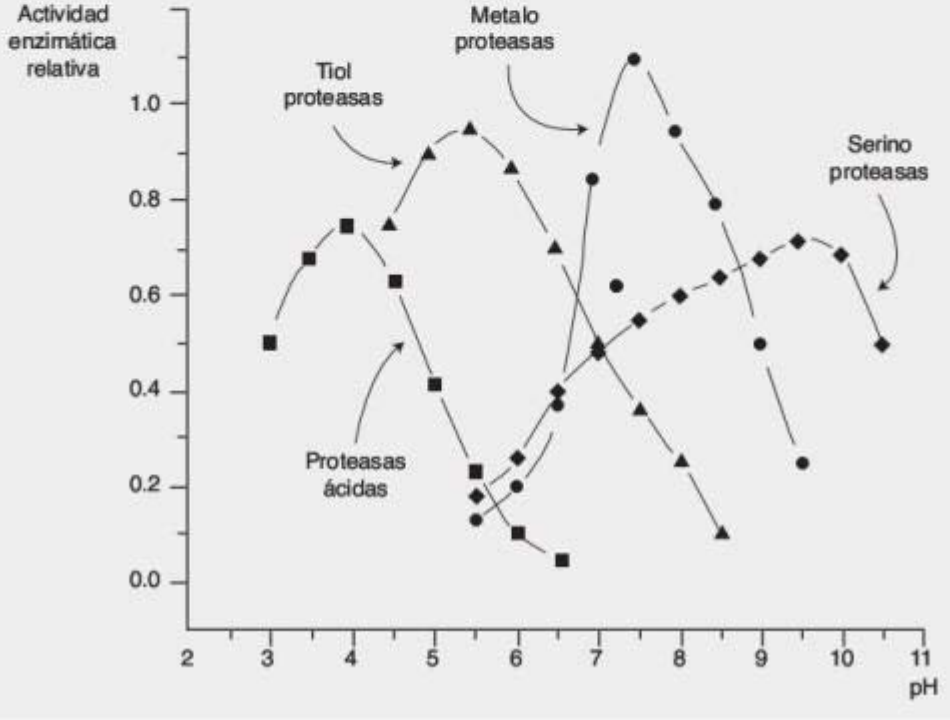
nientes de una gran diversidad de hongos y bacterias). Pueden tener acción endo o exo; en este último caso pueden ser carboxipeptidasas si remueven el último aminoácido del extremo carboxilo, o aminopeptidasas si lo hacen del extremo amino. Su acción es compleja, pues tienen otro grado de especificidad, ya que pueden requerir de un aminoácido específico en el enlace, tanto del lado amino como del carboxilo. Por ejemplo, la tripsina requiere del lado carboxilo de los aminoácidos lisina o arginina, y la renina hidroliza preferentemente el enlace entre fenilalanina y metionina de la κ-caseína de la leche, lo que hace que la coagulación de la leche sea un proceso altamente específico.

Las proteasas se pueden clasificar de acuerdo con 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.[36]

Las **serino-proteasas** o **proteasas séricas** (EC 3.4.21) poseen un hidroxilo en su sitio activo (que proviene de un residuo de serina); otros residuos importantes para la catálisis son un grupo imidazol (de la histidina) y un aspartilo que confieren a la serina catalítica un carácter nucleofílico. Todas son endopeptidasas y son inhibidas por DFP (diisopropil fósforo fluorohidrato) que reacciona 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** o **cisteín-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 muy amplio (de 4.5 a 9.5), pero con frecuencia su óptimo está entre 6 y 7.5. Las proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) son algunos ejemplos.

Figura 5.15 Rangos de pH de actividad de grupos de proteasas.[36]



Las **metalo-proteasas** (EC 3.4.24) requieren en el sitio activo la presencia de un ion metálico, como el Zn o Mn 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, por lo general 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).

● Proteasas de origen vegetal

Son tiol-proteasas y se producen principalmente de papaya (*Carica papaya L.*), piña (*Ananas comosus* y *A. bracteatus*) e higo (*Ficus carica* y *F. glabrata*).

La **papaína** (EC 3.4.22.2) se extrae del látex de la papaya, donde se encuentra en una concentración aproximada de 10%; tiene un peso molecular de 21 kDa, tiene tres puentes disulfuro, un rango de pH óptimo de 6.5 a 7.8. Es una proteasa no muy específica.

Por otro lado, aunque la **bromelina** (EC 3.4.22.4) se encuentra en la planta y el fruto, 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 kDa y pH óptimo de 5 a 8.

Aplicaciones industriales

Las proteasas de origen vegetal, principalmente la bromelina y la papaína, son muy activas sobre el tejido conectivo de colágeno 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.[16] 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; 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 por complejos en los que interviene la proteína del cereal empleado; la papaína o la 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 producir y estabilizar la espuma (ver más adelante propiedades funcionales de las proteínas), por lo que si son hidrolizadas en exceso, se obtiene un producto poco espumoso.[36]

● Proteasas de origen animal

Las proteasas del tracto digestivo de los mamíferos se conocen y se han estudiado desde antes de que hubiera evidencia de la naturaleza proteínica de las enzimas. Tienen en común el hecho de que se producen como precursores inactivos, conocidos como zimógenos o proenzimas, los que se activan al ser secretados al tracto digestivo del animal. Por su aplicación en alimentos, de este grupo las de mayor importancia 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 obtiene del estómago de cerdos y se utiliza como fórmula farmacéutica para mejorar la digestión en humanos, así como para producir hidrolizados proteínicos y, ocasionalmente, para estabilizar 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 disulfuro 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 fenilalanina-metionina (posiciones 105-106) de la κ-caseína, lo que da origen a una secuela de interacciones fisicoquímicas que provocan la formación de micelas y finalmente un coágulo; constituye uno de los primeros pasos en la elaboración de los quesos. En el capítulo dedicado a la leche se detallan estas transformaciones.

La quimosina fue la primera enzima para aplicación en alimentos producida por métodos de ADN recombinante. (Más adelante se explica en qué consiste esta tecnología). La quimosina se logró sobre-expresar en bacterias con las ventajas que conlleva cambiar el origen de una fuente animal a una microbiana, así como el aumento en rendimiento y productividad con respecto a la producción del sustituto de renina de origen microbiano que se obtiene de *Rhizomucor miehei* y *R. pusillus*. Además, conserva la alta especificidad requerida para evitar una proteólisis excesiva que podría afectar la calidad del queso. Los microorganismos hospederos en que se ha expresado el gen que codifica para quimosina 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 Food and Drug Administration (FDA) en 1994.[56]

De forma natural, la leche contiene actividad proteolítica a la que contribuye primordialmente la plasmina (proteasa láctea alcalina), que deriva de un plasminógeno de 88 kDa, mediante un corte en Arg 557-Ile 558 que provoca otra proteína conocida como activador del plasminógeno, en un fenómeno similar al que ocurre en la sangre en la degradación de coágulos. La actividad proteolítica debe eliminarse en leches de larga vida de anaquel.

Proteasas musculares. Además de las proteasas gástricas, en los animales 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 principalmente digestiva. En el caso de la carne, el tejido muscular se ablanda de manera natural por la 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*.[20,27,30] 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.[24]

● Proteasas de origen microbiano

De todas las proteasas, las que producen microorganismos son las de mayor importancia comercial, principalmente para la formulación de detergentes. Los microorganismos producen proteasas para consumir proteína como fuente de nitrógeno del medio de cultivo, por lo que en su mayoría son extracelulares y producidas en grandes cantidades, razón por la cual han podido aplicarse a nivel industrial. En el cuadro 5.12 se presentan algunas de las proteasas industriales más importantes.

Aplicaciones industriales

Las proteasas microbianas tienen múltiples aplicaciones: se utilizan para producir hidrolizados de utilidad en la complementación nutricional de alimentos, así como para la recuperación de proteínas de materiales de desperdicio de origen animal, tales como sangre, vísceras o pescado; también hay proteasas con una especificidad parecida a la renina, por lo que se usan como sustitutos de renina o cuajos microbianos. Se ha utilizado una preparación de

CUADRO 5.12 **Algunas proteasas microbianas de importancia en alimentos**

Nombre	Origen	Especificidad	pH óptimo	Características bioquímicas
Serino-proteasas				
Subtilisina Carlsberg	*Bacillus licheniformis*	Tyr, Phe y Trp	8-9	Monomérica 27 277 Da No tiene Cys
Pronasa	*Streptomyces griseus*	C-terminal de Glu y Asp	8.4	20 000 Da
Proteinasa K	*Tritirachium album*	C-terminal de residuos alifáticos, hidrofóbicos y aromáticos	7-8	28 500 Da Dos puentes S-S Una Cys libre
Metalo-proteasas				
Proteasa neutra	*Bacillus amyloliquefaciens*	N-terminal de Phe, Leu y Val	4.8-6.6	37 000 Da Tiene un átomo de Zn y dos de Ca
Termolisina	*Bacillus thermoproteolyticus*	Residuos hidrofóbicos	7-9	34 000 Da Muy termoestable. Tiene un átomo de Zn y cuatro de Ca
Proteasas ácidas				
Renina de mucor	*Rhizomucor pusillus* *Rhizomucor miehei*	N y C-terminal de residuos hidrofóbicos	4-6	30 000 Da Dos Cys libres

aminopeptidasa de *Lactococcus lactis* para el desarrollo de sabor en la manufactura de queso chedar. En panadería se han aplicado en la modificación del gluten de la harina de trigo, con el fin de incidir en sus propiedades funcionales: volumen, dureza, peso, tamaño y homogeneidad de la miga, etcétera.[36]

Los hidrolizados de proteína tienen aplicaciones como saborizantes en la formulación de diversos alimentos, *v. gr.* los sustitutos de salsa de soya que requieren una mezcla de aminoácidos y de péptidos.

También se han empleado diversas proteasas para modificar proteínas con el propósito de impartirles ciertas **propiedades funcionales** que de otra manera son deficientes; con este método se puede incrementar la capacidad de espumado, de emulsificación, la solubilidad, la capacidad de retención de agua, la estabilidad térmica, etc. Las propiedades funcionales también pueden modificarse mediante la acción en proteínas de la enzima ***transglutaminasa*** (EC 2.3.2.13), que cataliza la transferencia entre un grupo amida de una glutamina unida a una proteína y el grupo ε-amino de una lisina, lo que resulta en el entrecruzamiento de las dos cadenas de proteína.[2] Esta misma enzima ha sido propuesta para modificar las gliadinas del trigo con el fin de evitar su efecto en quienes padecen de la enfermedad celiaca.[7] De manera análoga, mediante una hidrólisis específica la α-quimotripsina y la tripsina pueden reducir la alergenicidad de las proteínas de cacahuate.[59]

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.[33]

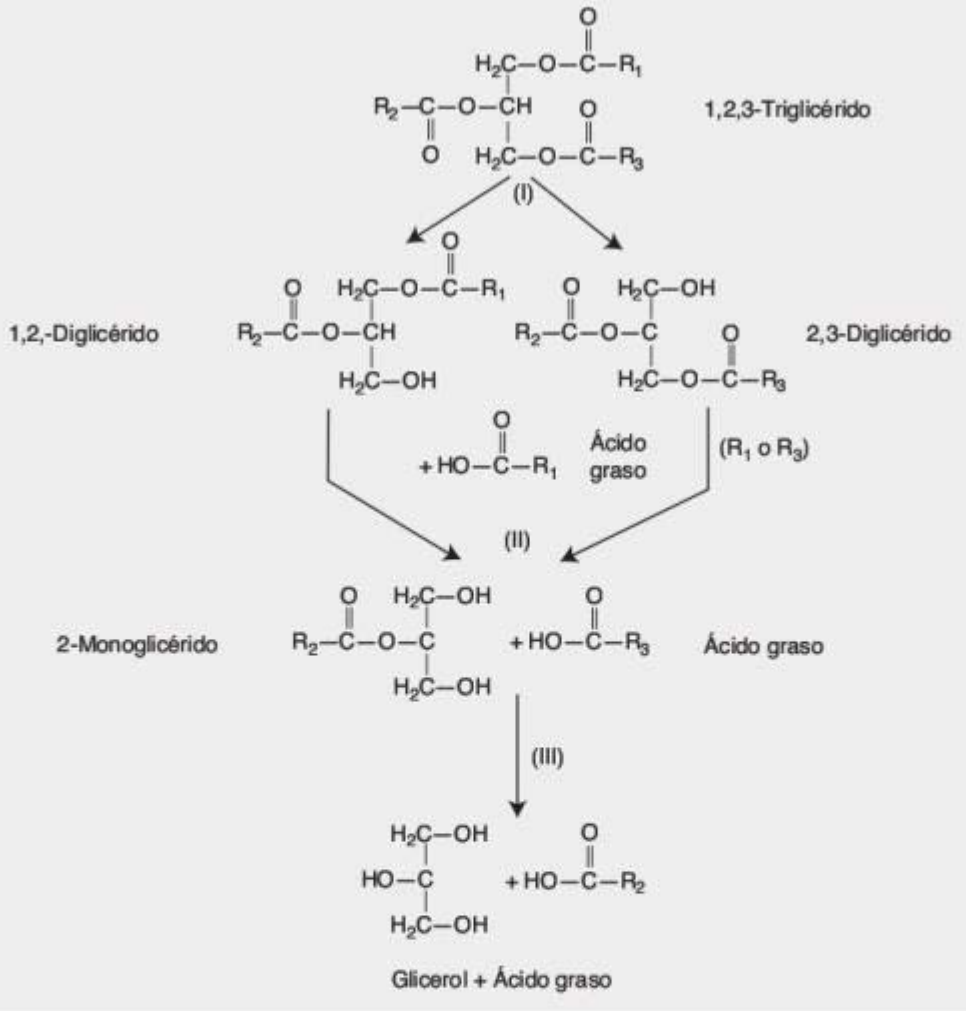
Lipasas

Las lipasas (EC 3.1.1.3) tienen como sustrato a los triacilglicéridos, de los que liberan ácidos grasos. Dependiendo del grado de hidrólisis dan lugar a 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 aire producen rancidez oxidativa.

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 requiere estar en la interfase agua-aceite, con el sitio activo expuesto hacia la región hidrofóbica pero con acceso a la fase acuosa, pues se necesita la participación de moléculas de agua en la catálisis. Este fenómeno se conoce como "activación interfacial" y explica la razón por la que la actividad de las lipasas tiene una gran dependencia del área de interfase. En las lipasas se pueden reconocer dos tipos de especificidad de hidrólisis: preferencia por la posición del ácido graso en el triacilglicérido, denominada regio especificidad, y preferencia por un determinado tipo de ácido graso o quimio especificidad. 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 grasa de cacao a partir de aceite de palma y ácido esteárico.[41]

Las lipasas están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos. Las de origen animal incluyen la pancreática gástrica, la intestinal y la de la leche. Las ve-

Figura 5.16 Etapas en la hidrólisis de triacilglicéridos.[49]



getales abundan en las semillas oleaginosas (soya y cacahuate) y las microbianas son producidas principalmente por hongos y levaduras como *Aspergillus niger, Rhizomucor miehei, Rhizopus delemar, R, niveus, Geotichum candidum, Candida rugosa* y *Candida antarctica*. De entre las bacterianas sobresalen las del género *Bacillus*.

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, lo que aumenta no sólo el índice de acidez, sino también el riesgo de oxidación de los ácidos grasos insaturados, en detrimento de la calidad del aceite.

Lipasas animales. La lipasa de la leche (LPL) ha sido ampliamente estudiada, por ser 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 su interior. No ocurre lipólisis antes de industrializar la leche, pues

la grasa está almacenada en glóbulos con membrana de fosfolípidos, mientras que la LPL está asociada a las micelas de caseína. 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 especialmente afectada por la lipasa, ya que libera ácidos como el butírico, el cáprico y el caproico, cuyos olores son muy peculiares y son responsables de la rancidez hidrolítica.

Lipasas microbianas. Las lipasas bacterianas pertenecen a la familia de serino hidrolasas; tienen un plegamiento de α/β hidrolasas y su actividad se basa en la triada catalítica que comprende a los residuos serina, histidina y aspartato. La mayoría de las lipasas bacterianas tiene el pentapéptido consenso Gly-Xaa-Ser-Xaa-Gly. Para más información estructural de lipasas se recomienda consultar la base de datos de esterasas y lipasas microbianas (MELDB).[32]

Las preparaciones comerciales que se utilizan para modificar aceites y grasas provienen en su mayoría de microorganismos. Su mayor aplicación es en la elaboración de diversos productos lácteos, principalmente en la maduración acelerada de quesos; en éstos liberan ácidos grasos de cadena corta que contribuyen al aroma o que sirven de sustrato para reacciones secundarias.[33] Por β-oxidación, descarboxilación y esterificación de los ácidos grasos, 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 responsables de la maduración del producto.

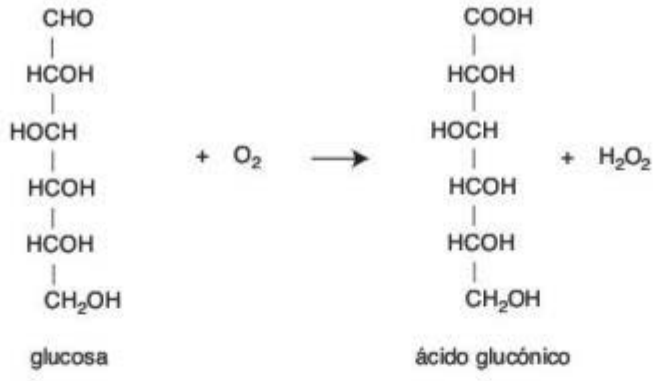
Existen varios aditivos comerciales con características sensoriales de derivados lácteos que se producen por la acción de la lipasa sobre la grasa de la leche.

Oxidorreductasas

Dentro de las modificaciones que el oxígeno puede ocasionar en los alimentos, se encuentran las reacciones oxidativas 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 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.

● 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 emplea también para eliminar el oxígeno residual en bebidas, aderezos y mayonesas. La principal fuente de glucosa oxidasa es *Aspergillus niger;* esa enzima tiene un peso molecular de 160 kDa, 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 y presenta una gran actividad secundaria de catalasa, lo cual es muy deseable para eliminar el H_2O_2 que se produce en la reacción.



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.[22]

● Catalasa

En algunas regiones que no cuentan con sistemas de refrigeración adecuado para el almacenamiento y transporte de la leche, se utiliza 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 cultivos iniciadores. La "pasteurización en frío" también se aplica a la clara de huevo con el mismo fin.

La catalasa (EC 1.11.1.6) cataliza la reacción $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$, por lo que se emplea precisamente para destruir el peróxido de hidrógeno, por ejemplo el que la glucosa oxidasa produce durante la transformación de la glucosa en ácido glucónico. La catalasa está presente en gran cantidad de tejidos animales (como el hígado de bovino) 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 y es indicador de mastitis en las vacas. Esta enzima está presente en algunas bacterias aeróbicas (*u. gr. Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y enterobacterias), y su concentración en el medio (actividad) es proporcional al número de microorganismos, por lo que la medición de la catalasa refleja de forma indirecta la población microbiana de algunos productos, como es el caso de los derivados cárnicos.[53]

● Lipoxigenasa

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.[23]

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, cacahuate, 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 en verduras y frutas es 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 procesamiento es la causante de cambios indeseables, ya que oxida las grasas y genera compuestos de olores desagradables.[46,57] Su acción provoca la destrucción de los ácidos grasos indispensables y la formación de peróxidos que, además de oxidar otras sustancias, se descomponen en aldehídos y cetonas de intenso olor mediante un mecanismo semejante al descrito en la autoxidación de las grasas.

En la soya se presentan tres isoenzimas (L1, L2, y L3) que actúan de diferente manera; cabe indicar que la L1 es la más estudiada y la más estable a los tratamientos térmicos. Como sustrato L1 usa los ácidos grasos libres, mientras que la más débil emplea los triacilglicéridos. Por esta razón, junto con la lipasa favorece la oxidación al suministrar ácidos grasos libres para la lipoxigenasa.

El peso molecular de la lipoxidasa de soya es de 102 kDa, 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, y es una de las más activas. Como vimos en el capítulo 4, la autoxidación de las grasas requiere 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 incluso a bajas temperaturas.[14]

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, pero los tratamientos térmicos que se requieren para la inactivación de los inhibidores de tripsina (capítulo 13), son suficientes para destruir la enzima. Sin embargo, en ciertos productos como la leche de soya se debe regular el calentamiento, ya que si es excesivo se puede provocar la insolubilización de las proteínas.[17]

Dado que la calidad del aceite de soya depende en gran medida de la actividad lipoxigenásica de las semillas, ésta debe reducirse antes de efectuar la extracción, para lo cual se emplea un tratamiento térmico que da mejores resultados si se realiza bajo presión.[18,52] Por otra parte, algunas variedades de esta leguminosa carecen de lipoxigenasa-1 y, por consiguiente, son más estables a la oxidación que las tradicionales.[26]

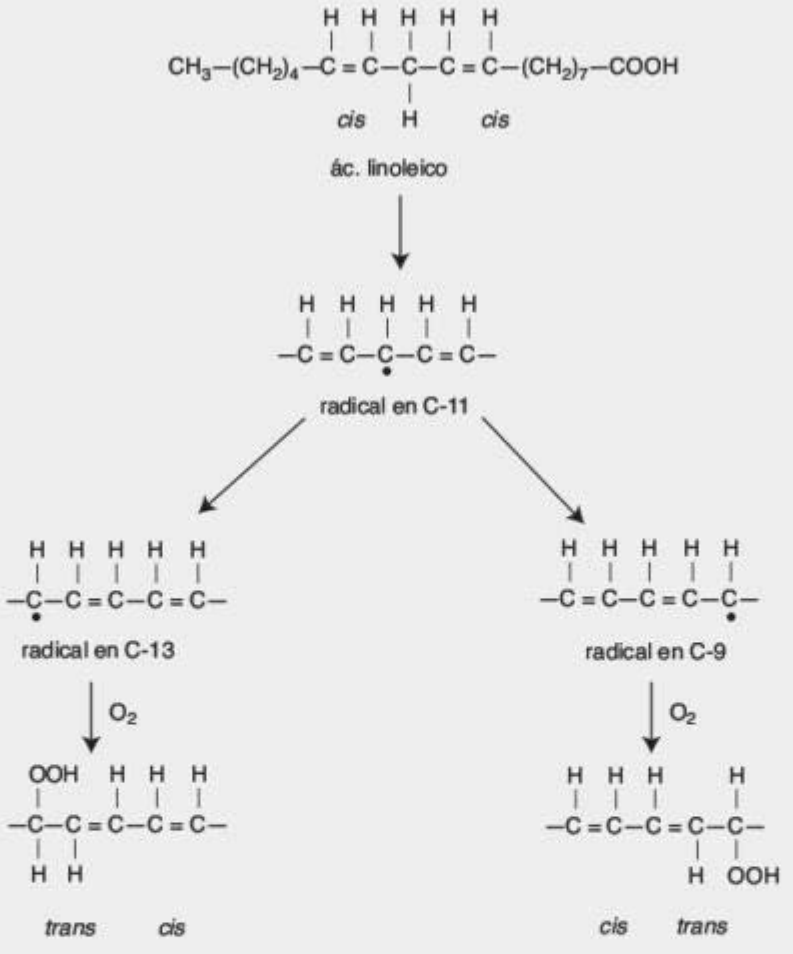
Al igual que en la soya, en las otras oleaginosas se observa una actividad de lipoxigenasa, especialmente en las semillas destinadas a la obtención del aceite. Si la enzima llegara a encontrarse en el aceite crudo, ésta se eliminaría en los diferentes pasos que integran la refinación. Por lo anterior, su acción en los aceites refinados no representa un riesgo a la calidad.

En general, los sustratos de la lipoxigenasa son ácidos grasos que contienen el sistema de insaturaciones no conjugado *cis-cis*-1,4-pentadieno, -CH=CH-CH_2-CH=CH-; no utiliza los que tienen uniones conjugadas, con una configuración *trans*, ni los monoinsaturados (como el oleico). Como resultado de lo anterior, los sustratos más fácilmente oxidados por la enzima 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 , y cuando sucede en el C-13, se forman L.

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* son inodoros, pero cuando se descomponen generan sustancias odoríficas.[3]

Figura 5.17 Acción de la lipoxigenasa sobre el ácido linoleico.



Como vimos antes, la lipoxigenasa también ataca otros compuestos con dobles ligaduras, entre los cuales destacan algunos pigmentos como los carotenoides y las clorofilas.[8,29] De hecho, esta reacción se ha aprovechado para la decoloración o blanqueado de las harinas de cereales (principalmente la de trigo).[5] 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, etc., para que la lipoxigenasa realice su función.

En los chícharos, la actividad de esta enzima se incrementa del exterior al interior, con la mayor concentración en el centro de la semilla; tal como sucede con otros productos de origen vegetal, la lipoxigenasa del chícharo debe destruirse mediante 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 5.13).

CUADRO 5.13 **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-Butanal	5-10	> 50
n-Pentanal	> 50	> 50
n-Hexanal	> 50	> 50
n-Heptanal	11-50	5-10
-Hept-*trans*-2-enal	> 50	> 50
2-n-Pentilfurano	5-10	> 50

Como ocurre con la autoxidación, cuando se añaden los compuestos antioxidantes butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) se evitan las reacciones de propagación de los radicales libres, como se describió en el capítulo 4. La presencia de flavonoides, de antocianinas y del ácido cinámico (que tienen una estructura fenólica) puede también inhibir la oxidación, pues actúan de manera análoga al BHT y BHA.

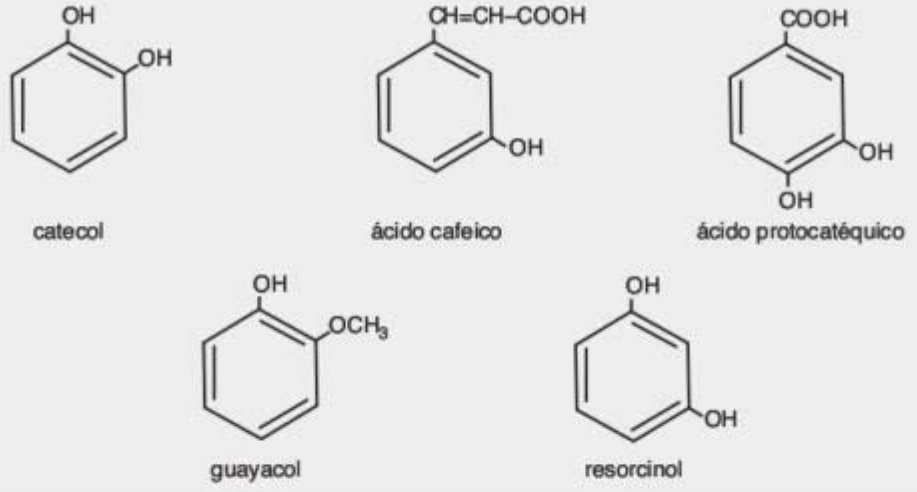
● Fenolasa

Bajo este nombre se agrupan varias enzimas y sus respectivas isoenzimas que provocan el oscurecimiento de ciertos alimentos de origen vegetal que exponen su tejido al aire;[51] 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. En casos como los del té, el café y algunas especies de uvas, el oscurecimiento enzimático es deseable, pero en otros afecta la calidad, como ocurre con el aguacate o el plátano. En la actualidad hay una tendencia creciente al consumo del té verde, que contiene un mayor número de antioxidantes, lo que evita las reacciones de oxidación enzimática.

Las enzimas que catalizan esta transformación pertenecen a las oxidorreductasas 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 informalmente 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 (razón por la que la fenolasa de este tubérculo recibe 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 cafeico, 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 inten-

Figura 5.18 Compuestos fenólicos relacionados con las fenolasas.



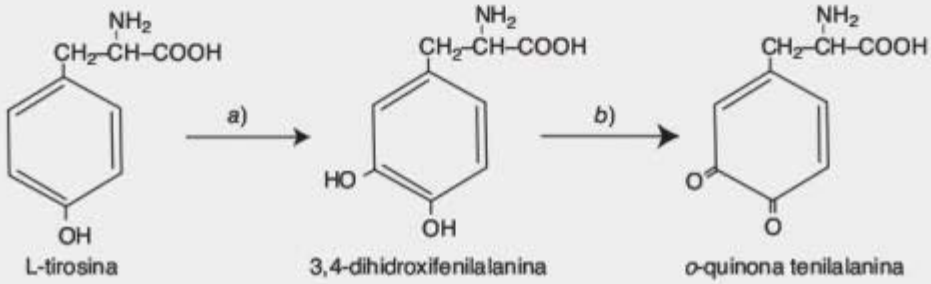
sidad del oscurecimiento en la manzana está en función de la actividad de la fenolasa, así como de la concentración de los polifenoles que sirven de sustrato.[15]

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.

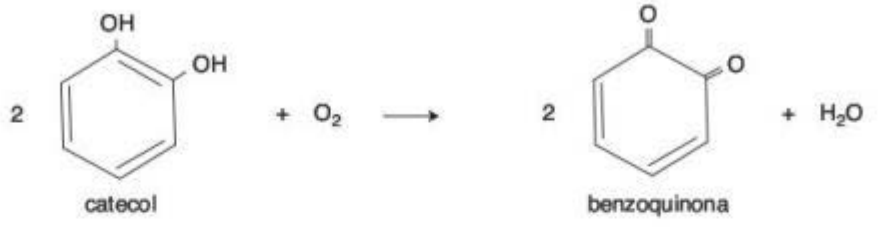
Las fenolasas requieren de iones Cu como cofactor, ya sea en estado monovalente, como ocurre con las del champiñón, o divalente como en las de las papas; su pH óptimo de actividad es de 5 a 7 y tienen estructuras oligoméricas en las que cada monómero contiene su cofactor correspondiente.

Muchas de las fenolasas presentan dos tipos de actividad catalítica, a través de la cual se llevan a cabo estas reacciones de oscurecimiento. Éstas 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*-fonoles en estado natural no efectúan la hidroxilación; tal es el caso del catecol que, siendo un difenol en *orto* se transforma de manera directa a la correspondiente benzoquinona por la acción oxidante de la polifenoloxidasa.



Las ortoquinonas así formadas pueden polimerizar con facilidad 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 oxidorreducción, etc. Además, estas ortoquinonas también interactúan con las hidroxiquinonas para formar 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, igual que muchas frutas, producen etileno.[31]

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 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 termosensibilidad, pero también influye el pH, la presencia de sales y el grado de aireación.

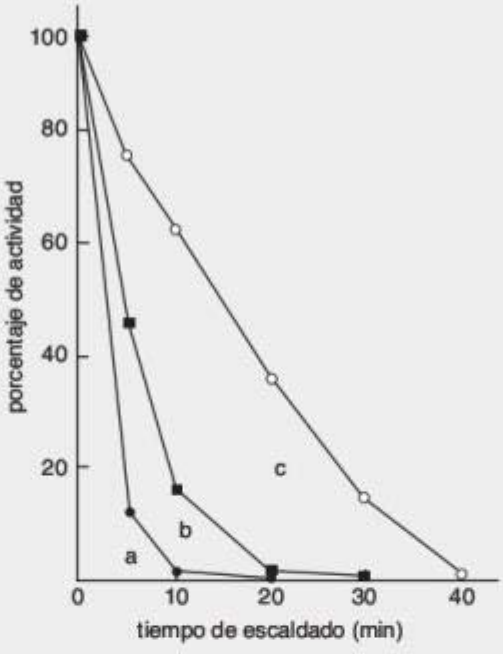
Cabe señalar que al calentar los frutos y sus derivados debe considerarse que hay posibilidad de que la textura se dañe seriamente, por lo que éste no es un método muy recomendado para inhibir la fenolasa. Sin embargo, cuando es posible son suficientes los tratamientos térmicos de 70 a 90 °C durante 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 desactivación depende del tamaño del fruto y de la temperatura (figuras 5.6 y 5.20), y su cinética es de pseudoprimer orden.[31]

Los sulfitos son muy versátiles, pues pueden emplearse como inhibidores de las reacciones de oscurecimiento, tanto enzimático como no enzimático, 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 $SO_3^=$ (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 SO_2 se deba a que establecen un complejo quinona-sulfito que evita que la quinona polimerice, o a que actúan directamente sobre la enzima y alteran su estructura proteínica.[45]

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.



Cabe mencionar que estos compuestos tienen la capacidad de reaccionar con los grupos cetona y aldehído (*v. gr.* de azúcares reductores) de los alimentos, por lo que la concentración residual que puede actuar para inhibir la fenolasa se puede reducir a un grado importante. 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. Por lo general es suficiente una concentración residual de menos de 20 ppm de SO_2 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 de forma directa con la fenolasa.

La enzima se inhibe por completo 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 muy 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, debido a que provoca que el tejido vegetal adquiera características anaeróbicas, que a su vez favorecen ciertas reacciones metabólicas que dañan el fruto.

En general, para desactivar la fenolasa se puede acudir a una combinación de los sistemas que ya hemos revisado. En el caso de los hongos comestibles (*Agaricus bisporus*), que presentan un alta actividad enzimática, se procede a un escaldado a pH 4.5 en 0.05 M de ácido cítrico, con lo cual se reduce a un grado importante la acción de la fenolasa.

Existen bacterias con enzimas como algunas del género *Pseudomonas*, 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.

Transferasas

Las enzimas de este grupo catalizan la reacción:

$$AB + C \rightarrow A + CB$$

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 ocurre una gran cantidad de reacciones de transferencia, muchas de las cuales 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. Aunque existen transferasas de diversos grupos químicos (fosfato, amino, etc.) en el área de alimentos las transferasas que tienen mayor relevancia catalizan la transferencia de azúcares o residuos glicosilo, esto es, catalizan reacciones de transglicosilación. En general las transglicosidasas se clasifican como del tipo Leloir (que necesitan intermediarios de alta energía) y las no Leloir, que pueden tomar el residuo glicosilo de un intermediario tal como la sacarosa o la maltosa, de las que estas últimas son de mayor relevancia industrial. En el cuadro 5.14 se presentan algunas de sus características.

La **dextransacarasa** es una glucosiltransferasa de la bacteria láctica *Leuconostoc mesenteroides*, que sintetiza a partir de la sacarosa un polímero de glucosa con enlaces α1-6 en la cadena principal y con ramificaciones en α1-3, α1-2 o α1-4, liberando a la fructosa en solución. El tipo de polímero sintetizado depende de la estructura de la enzima, y ésta a su vez de la cepa productora. La dextrana constituye un problema en la industria azucarera, donde la contaminación de los jugos con *L. mesenteroides* provoca no sólo pérdida de sacarosa, sino la transformación de sacarosa en polímero que da al extracto de caña el aspecto de lodo y que además de dificultar el transporte y disminuir el rendimiento, afecta la forma de los cristales de sacarosa. La misma reacción enzimática se da por acción de glucosiltransferasas producidas por bacterias de la microbiota bucal, tales como *Streptococcus mutans* o *S. sanguis*. En este caso, las moléculas de glucosa en el polímero (glucana), sintetizadas a partir de la sacarosa de la dieta, están unidas básicamente a través de enlaces α1-3, lo que hace insoluble al polímero. Éste forma entonces una película que se adhiere a la superficie de los dientes, sirve de soporte a la materia orgánica y da origen a la placa dental. Como también se trata de bacterias lácticas, el ácido producido desmineraliza los dientes.

Cuando además de la sacarosa se encuentra presente otro azúcar de bajo peso molecular en el medio de reacción, como la maltosa, éste actúa como aceptor del residuo glucosilo, lo que origina la síntesis de oligosacáridos con un número de residuos de glucosa que varía de 3 a 7, lo que se denomina *reacción de aceptor*. La cepa de *L. mesenteroides* NRRL B-1299 produce una glucosiltransferasa que se caracteriza por catalizar la transferencia de glucosilos

con enlace α1-2 sobre la maltosa, con lo que 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, en especial de alimentos lácteos, aunque se le encuentra de manera natural en la fermentación espontánea del aguamiel extraído del agave pulquero. En esta fermentación cepas silvestres de *L. mesenteroides* transforman la sacarosa del aguamiel en dextrana y dan lugar a la viscosidad característica del pulque.

La **levansacarasa** realiza una reacción análoga a la glucosiltransferasa, pero transfiere el residuo fructosilo de la sacarosa, por lo que se trata de una fructosiltransferasa. En la reacción de polimerización produce levana, que consiste en cadenas de fructosa unidas mediante enlaces β2-6 en la cadena principal y algunas ramificaciones en β2-1. Otra fructosiltransferasa es la **inulosacarasa** que también usa a la sacarosa como sustrato pero une a las moléculas de fructosa mediante enlaces β2-1, con lo que da lugar a la inulina. *Zymomonas mobilis*, una bacteria productora de alcohol aislada del pulque, produce levansacarasa de modo que contribuye también a la viscosidad de esta bebida mediante la síntesis de levana. Es importante señalar que la síntesis de fructanas en plantas es más compleja y hace intervenir a varias enzimas, mientras que en microorganismos las fructanas (levanas o inulinas) son producidas por una sola enzima.

Las funciones de la levana en bacterias están relacionadas con simbiosis *(B. polymyxa)*, fitopatogénesis *(Erwinia amylovora)* o respuesta al 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 detiene la síntesis de fructanas y dan lugar a fructo-oligosacáridos (FOS), con enlaces β-(2-1) entre las fructosas. Los FOS son los prebióticos más exitosos de la industria alimenticia. También pueden obtenerse por hidrólisis ácida o enzimática de la inulina extraída de la achicoria (figura 5.14). Los fructo-oligosacáridos presentan una aplicación potencial como edulcorantes no calorigénicos, no cariogénicos y prebióticos.

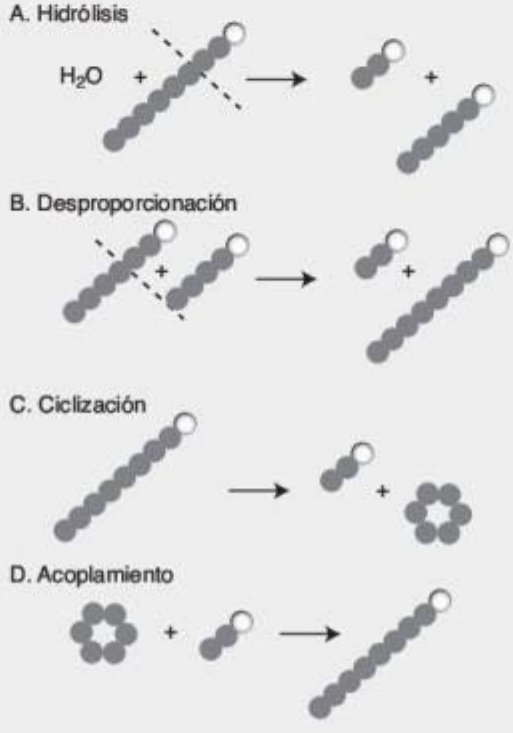
La **ciclodextrin glucosiltransferasa** (CGTasa) es integrante de la familia de las α-amilasas que presenta una actividad hidrolítica relativamente baja y una predominante actividad de ciclización, donde la parte de la molécula donadora que se escindió de la cadena de almidón actúa a su vez como aceptora y da lugar a moléculas con una estructura cíclica: las ciclodextrinas. La enzima utiliza con una afinidad muy alta la cadena de amilosa del almidón. Además, puede catalizar otras reacciones como la inversa a la ciclización y la de desproporcionación (figura 5.21).[56]

Las ciclodextrinas que se aplican en alimentos provienen de la reacción con almidón y pueden tener 6, 7 u 8 residuos de glucosa, correspondientes a la α, β, o γ-ciclodextrinas, respectivamente. En estas moléculas, cuya estructura es semejante a la de una dona, 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 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, igual que en emulsiones como mayonesa o margarina. En fechas recientes se ha aplicado la β-ciclodextrina para remover el colesterol de la leche y de otros productos.[56]

CUADRO 5.14 **Glicosiltransferasas que catalizan reacciones de transglicosilación de interés en alimentos**[56]

Nombre	Número de EC	Organismo productor	Molécula donadora	Molécula aceptora	Producto	Aplicación
Dextran sacarasa	2.4.1.5	*Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F	Sacarosa	$(Glucosa)_n$ [α-(1-6)]	Dextrana	Agente viscosante
		Leuconostoc mesenteroides NRRL B-1299	Sacarosa	Maltosa	Gluco-oligosacáridos [α-(1-2)]	Agentes prebióticos
Levan sacarasa	2.4.1.10	*Bacillus polymyxa*	Sacarosa	$(Fructosa)_n$ [β-(2-6)]	Levana	Agente espesante
		Zimomonas mobilis	Sacarosa	Oligosacáridos	Fructo-oligosacáridos [β-(2-6)]	Agentes prebióticos
Ciclodextringlucosil transferasa	2.4.1.19	*Bacillus macerans*, *B. megaterium*, *Klebsiella sp.*, *Thermoanaerobacter*	Amilosa	Amilosa	Ciclodextrinas (α, β, o γ)	Vehículo de moléculas no polares
Amilosacarasa	2.4.1.4	*Neisseria polysaccharea*	Sacarosa	Almidón	Almidón modificado	Almidones resistentes no digeribles

Figura 5.21 Esquema de las reacciones catalizadas por la CTGasa. Los círculos negros representan residuos glucosilo y los círculos blancos el extremo reductor.[56]



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 la década de 1960. El sustrato natural de esta enzima es la D-xilosa, que se isomeriza a D-xilulosa de modo que su nombre correcto es xilosa isomerasa. En la industria alimentaria se utiliza para la isomerización de D-glucosa a D-fructosa, reacción muy importante ya que constituye la última etapa en la producción de jarabes fructosados. Destaca el hecho de que este último paso ocurre de forma continua, gracias a la posibilidad de inmovilizar de manera eficiente a la enzima en un soporte sólido. 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, que se empaca 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 ocurre aproximadamente a 60 °C y pH 7.5, pero por razones que tienen que ver con la termodinámica, llega al equilibrio cuando sólo 50% del sustrato se ha transformado. A medida que la enzima va perdiendo actividad con el transcurso del tiempo (semanas) de operación, el flujo de entrada del sustrato al sistema se ajusta, de manera que el tiempo de residencia aumenta y se logra una conversión de 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 la glucosa al reactor.

La glucosa isomerasa es una metaloenzima microbiana, que 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 ion metálico, y parecen indicar que la función de éste es formar un puente entre la enzima y el azúcar para generar el complejo enzima-sustrato.

Con frecuencia es una enzima intracelular y está ampliamente distribuida en la naturaleza; sin embargo, sólo algunos microorganismos se han utilizado para su producción industrial. El cuadro 5.15 describe algunas de las presentaciones comerciales de esta enzima.

CUADRO 5.15 **Biocatalizadores con glucosa isomerasa inmovilizada[56]**

Fuente	Método de inmovilización
Streptomyces rubiginosus	Enzima pura adsorbida en DEAE-celulosa aglomerada con poliestireno y TiO2.
Streptomyces rubiginosus modificado genéticamente	Entrecruzado.
Streptomyces murinus	Células entrecruzadas con glutaraldehído, extruidas posteriormente.
Streptomyces olivochromogenes	Enzima pura adsorbida en resina de intercambio iónico.
Streptomyces griseofuseus	Células entrecruzadas con glutaraldehído, tratadas con quitosano y granuladas.
Streptomyces phaechromogenes	Células tratadas con calor unidas a resina de intercambio aniónico, granuladas.
Streptomyces olivochromogenes	Enzima pura entrecruzada con glutaraldehído en alúmina cerámica tratada con PEI.

Procesos de interés en alimentos con enzimas o células inmovilizadas

Una enzima es una proteína que actúa disuelta en 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 emplearse repetidas veces o incluso empacarse en una columna por la que se haga pasar la corriente líquida con el sustrato. Esto es de especial importancia para las enzimas de costo elevado. En algunos casos no es deseable que la enzima activa quede en el producto, por lo que se hace necesario un proceso de desactivación, que podría actuar en detrimento de su calidad.

Por lo expuesto hasta aquí, desde la década de 1960 se ha desarrollado un sinnúmero 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, con frecuencia estas formas proporcionan mayor estabilidad al restringir el movimiento de la molécula de enzima. Se han desarrollado biocatalizadores con enzimas puras (o parcialmente puras), e incluso con células inmovilizadas que contienen una actividad enzimática.

La aplicación de sistemas inmovilizados de manera directa en alimentos es limitada, sobre todo debido a que los sistemas alimenticios 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.

Algunas aplicaciones de sistemas con enzimas y células inmovilizadas para la producción de compuestos de interés en alimentos se muestran en los cuadros 5.16 y 5.17.

Algunas 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, etc.), difusión del sustrato hacia la enzima y de los productos hacia afuera del catalizador, necesidad de cofactores, susceptibilidad 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. Para evitar una barrera difusional, en algunos casos suele darse un tratamiento de permeabilización celular previo a la inmovilización. Es importante no confundir un proceso enzimático con células completas, con una fermentación

CUADRO 5.16 **Aplicación comercial de enzimas inmovilizadas en la industria alimenticia[21]**

Enzima o células inmovilizadas	Sustratos	Productos	Aplicación
Aspartasa, *Escherichia coli*	Fumarato + NH_3	L-aspartato	Materia prima para aspartamo.
Aminoacilasa, *Aspergillus oryzae*	Acil-D,L-aminoácido	L-aminoácido + acil-D-aminoácido	Resolución racémica.
Fumarasa, *Brevibacterium ammoniagenes*	Fumarato + H_2O	L-malato	Acidulante.
Glucosa isomerasa. *Steptomyces sp.* *Bacillus coagulans*	D-glucosa	D-fructosa	Edulcorante.
β-galactosidasa, *Aspergillus oryzae*	Lactosa	D-glucosa + D-galactosa	Aprovechamiento del suero.
α-galactosidasa	Rafinosa	D-galactosa + sacarosa	Recuperación de sacarosa en remolacha.

o bioconversión con células inmovilizadas. En el cuadro 5.17 se ejemplifican algunos catalizadores de esta naturaleza.

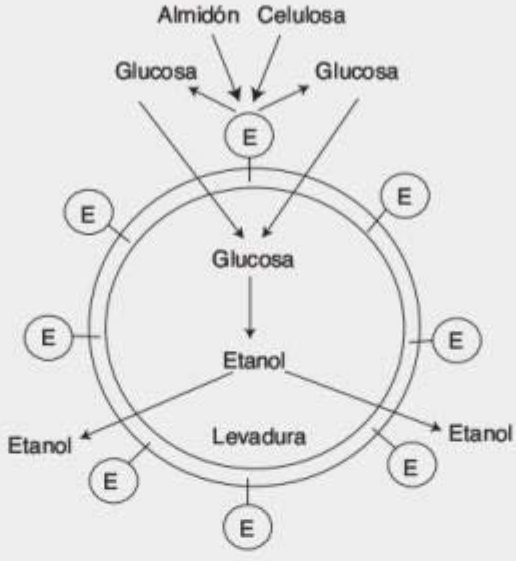
El biocatalizador de glucosa isomerasa del cuadro 5.17 opera a 60-65 °C y tiene una vida media de 80-150 días; el de la aminoacilasa, utilizado para la resolución de mezclas racémicas en la producción de L-aminoácidos, de 65 días a 50 °C y el que se utiliza para la hidrólisis de lactosa del suero de 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 coexpresa como proteína de fusión. De esta forma, si se cultiva al microorganismo genéticamente modificado en un medio con almidón o con celulosa —no degradados por la cepa silvestre— pueden producir etanol (figura 5.22).[56]

CUADRO 5.17 **Microorganismos inmovilizados para la producción de compuestos de interés a través de una reacción enzimática**

Microorganismo	Enzima	Producto
E. coli	Aspartasa	L-ácido aspártico
Bacillus coagulans	Glucosa isomerasa	Jarabe de fructosa
E. coli	Triptofanasa	Triptófano
Brevibacterium ammoniagenes	Fumarasa	Ácido málico
Erwinia rhapontici	Isomaltulosa sintasa	Isomaltulosa
Serratia plymuthica	Isomaltulosa sintasa	Isomaltulosa
Mortierella vinacea	β-Galactosidasa	Rafinosa
Pseudomonas dacunhae	Aspartato decarboxilasa	Alanina
Klebsiella aerogenes	Serina hidroximetiltransferasa	Serina
Rodococus rhodochrous	Nitrilo hidratasa	Acrilamida
E. coli	L-Arabinosa Isomerasa	Tagatosa

Figura 5.22 Modelo de *Saccharomyces* modificada genéticamente para la expresión de amilasas o celulasas en su superficie, para la producción de etanol.[56]



Análisis químico con enzimas

El control de calidad de ciertos alimentos puede llevarse a cabo de manera rutinaria e indirecta a través del análisis de la actividad de ciertas enzimas; la presencia o 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 eliminar ciertas enzimas o microorganismos. En este sentido, se ha encontrado que la desactivación de la peroxidasa (EC 1.11.1.7) puede indicar el grado de escaldado en vegetales, que como hemos visto antes se utiliza para desactivar enzimas que causan el oscurecimiento de tejidos vegetales. Si la peroxidasa se desactiva por completo, eso indicaría un tratamiento excesivo que repercutiría en detrimento de la textura del vegetal. El tratamiento correcto sería tal que se conservara de 5 a 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 la avena.[36]

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 5.18 se resumen otras aplicaciones propuestas de enzimas como indicadores de la calidad de alimentos.

CUADRO 5.18 **Enzimas como índice de calidad de alimentos[21]**

Propósito	Enzima	Alimento
Evaluación de tratamiento térmico	Peroxidasa fosfatasa alcalina β-acetilglucosaminidasa	Vegetales Leche, lácteos Huevo
Evaluación de congelación/ descongelación	Enzima málica Glutamato oxaloacetato transaminasa	Ostras Carne
Evaluación de contaminación bacteriana	Fosfatasa ácida Catalasa, reductasa o glutamato descarboxilasa	Carne, huevo Leche
Detección de infestación de insectos	Uricasa	Cereales, frutas
Índice de frescura	Lisolecitinasa, xantino oxidasa	Pescado
Índice de madurez	Sacarosa sintetasa Pectinasa	Papas Peras
Indicador de germinación	Amilasa Peroxidasa	Harina Trigo
Modificación de color	Polifenol oxidasa Succinato deshidrogenasa	Café, trigo, aguacate, duraznos Carne
Indicador de sabor	Aliinasa Glutaminil traspeptidasa	Cebolla, ajo Cebolla
Índice de calidad nutricional	Proteasas Ureasa L-aminoácido descarboxilasa Lisina descarbohilasa	Digestibilidad Inhibidores de proteasas Aminoácidos esenciales Lisina

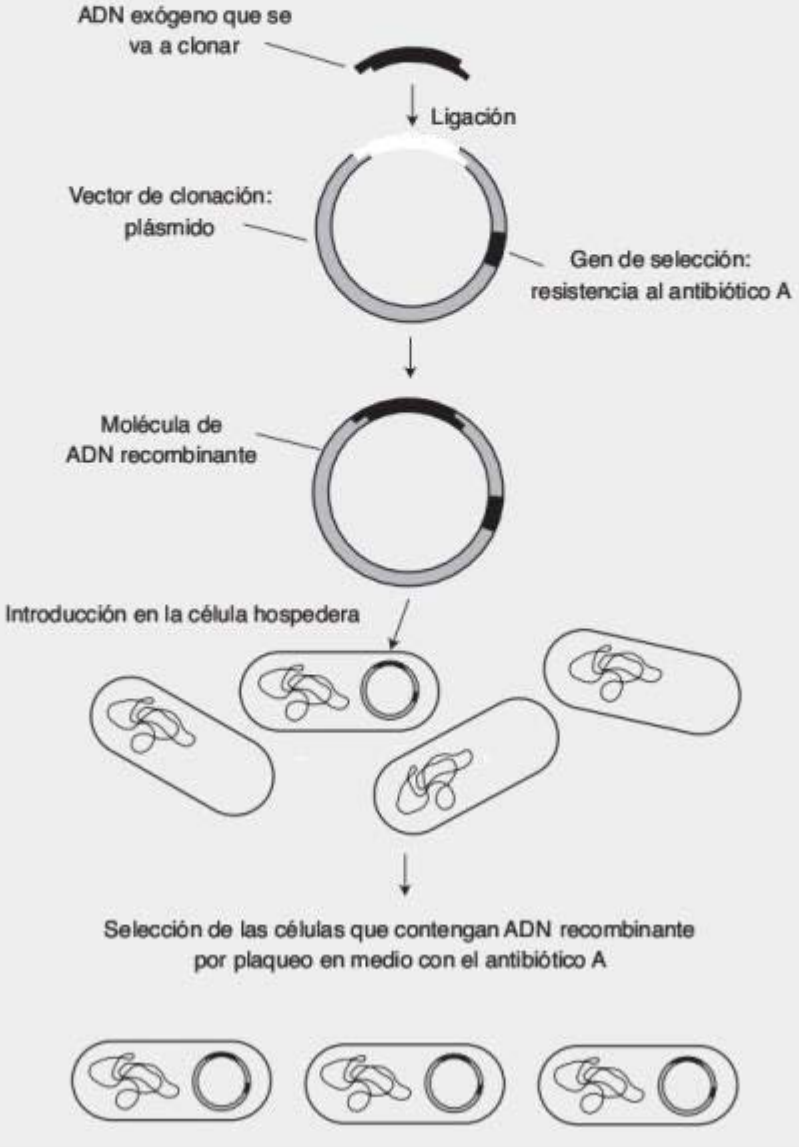
Tecnología de ADN recombinante aplicada a la producción y modificación de enzimas de interés en alimentos

El notable 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 con mayor productividad o se han modificado sus características operacionales de acuerdo con 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 tiene una alta frecuencia de replicación, con las secuencias de regulación adecuadas para su óptima transcripción y traducción. El gen, una vez clonado, puede ser sujeto a modificaciones en su secuencia con el propósito de aumentar la termoestabilidad, mejorar la eficiencia catalítica o modificar la especificidad enzimática, actividad que se conoce como "ingeniería de proteínas". Posteriormente, varias moléculas del vector,

con el gen clonado, se introducen en un organismo hospedero donde se producirá la enzima de interés, proceso conocido como transformación (figura 5.23). Utilizando esta tecnología, los avances obtenidos hasta ahora 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 especial se elige al bacilo cuando se quiere que la enzima se produzca de manera extracelular. 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.

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.[58]



Los procedimientos para la transferencia de genes entre especies, que pueden estar muy alejadas filogenéticamente, tuvieron algunos problemas al principio, 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 de manera autocatalítica los intrones, para la síntesis del ADN complementario (cADN) utilizando la enzima transcriptasa reversa. En cuanto se tuvo el cADN, se siguió la misma metodología para clonar en un vector de expresión y poder transformar a la célula hospedera. Éste fue el procedimiento utilizado para clonar la quimosina, de origen bovino, en hospederos como *E. coli*.[4]

Es interesante hacer notar que las herramientas moleculares con las que se llevan a cabo los procesos 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 en sitios específicos de la secuencia de ADN, se utiliza la ADN polimerasa, enzima que es la base para efectuar la reacción en cadena de la polimerasa o PCR, que 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 su costo de producción; 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 la posibilidad de producir en *E. coli* u otro hospedero mesófilo, las enzimas descubiertas en microorganismos termofílicos. Como vimos antes, estas enzimas funcionan a altas temperaturas (>80 °C) y han encontrado múltiples usos en la industria, pero no existe infraestructura para cultivar los microorganismos que las producen y que en algunos casos superan los 100 °C y requieren de cultivo a presión, de modo que producirlas en condiciones de fermentación estándar representa una ventaja operacional.

Por último, esta posibilidad también permite tomar el gen de una fuente tóxica y expresarlo en un microorganismo inocuo como los referidos.

CUADRO 5.19 **Ejemplos de enzimas de interés en alimentos, modificadas por técnicas de manipulación genética[4]**

Enzima	Método de modificación	Efecto
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 termoestailidad mejorada
Subtilisina E	Recombinación al azar	Termoestabilidad mejorada
β-galactosidasa	Cambio de orden de regiones de ADN	Incremento en actividad específica

El cuadro 5.19 presenta 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.

El objetivo es que estas modificaciones repercuten en la obtención de enzimas que cumplan de mejor manera los requerimientos de la industria, incluidas las demandas específicas de la industria alimenticia.

Referencias bibliográficas

1. Aehle, W. 2004. *Enzymes in Industry*. Wiley-VCH Verlag, GmbH. Weinheim, Alemania.
2. Alp, H. y Bigicli, N. 2008. "Effect of transglutaminase on some properties of cake enriched with various protein sources". *J. Food Sc.* 73(5):S210-S214.
3. 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.
4. Ashie, I.N.A. 2003. "Bioprocess Engineering of Enzymes". *Food Technol.* 57:44-51.
5. 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.
6. Bartlett, G.J., Porter, C.T., Borkakoti, N. y Thornton, J.M. 2002. "Analysis of catalytic residues in enzyme active sites". *J. Mol Biol.* 324:105-121.
7. Berti, C. et al. 2007. "Celiac Related Properties of Chemically and Enzymatically Modified Gluten Proteins", *J. Agric Food Chem.* 55:2482-2488.
8. 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.
9. Bornscheuer, U.T. y Kazlauskas, R.J. 1999. "Hydrolases in Organic Synthesis: Regio-and Stereoselective Biotransformations". Wiley-VCH Verlag, GmbH. Weinheim, Alemania.
10. BRENDA. Braunschweig Enzyme Database. Base de datos de enzimas. http://www.brenda-enzymes.org/
11. Buescher, R.W. 1975. "Effects of ethylene on metabolic and quality attributes in sweet potato roots". *J. Food Sci.* 40:1018.
12. 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.
13. CAZy. "Carbohydrate-Active enZYmes Database". Base de datos de enzimas con actividad sobre carbohidratos en: http://www.cazy.org/
14. Chism, G.W. 1985. "Soy lipoxigenase", 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.
15. 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.
16. Dransfield, E. y Etherington, D. 1981. "Enzymes in tenderization of meat". *En: Enzymes and Food Processing*, Ed. G.G. Birch, N. Blakebrough y K.J. Parker, Applied Science Publishers, Londres. Inglaterrra.
17. Ediriweera, N., Akiyama, Y. y Saio, K. 1987. "Inactivation of lipoxygenase in soybeans with retention of protein solubility". *J. Food Sci.* 52:685.
18. Engeseth, N.J., Klein, B.P. y Warner, K. 1987. "Lipoxygenase isoenzymes in soybeans: effects on crude oil quality". *J. Food Sci.* 52:1015.
19. Enzyme. Base de datos de secuencias de enzimas en: http://enzyme.expasy.org/

20. 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.

21. Fennema, O.R. Ed. 1996. *Food Chemistry.* 3a. ed. Marcel Dekker Inc. Nueva York. E.U.

22. 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.

23. 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.

24. 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.

25. Greenberg, N.A. y Mahoney, R.R. 1983. "Formation of oligosaccharides by β-galactosidase from *Streptococcus thermophilus*". *Food Chem.* 10:195.

26. Hildebrand, D.F. y Hymowitz, T. 1981. "Two soybean geno types lacking lipoxygenase-1". *J. Am Oil Chem. Soc.* 58:583.

27. 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.* 79:122-32.

28. King, A. J., *et al.* 2010. "Molecular insight into lignocellulose digestion by a marine isopod in the absence of gut microbes". *PNAS* 107 *(12)*:5345-5350.

29. Klein, B.P., King, D. y Grossman, S. 1985. "Cooxidation reactions of lipoxigenase in plant systems". *Adv. Free Radical Biol. and Med.* 1:309.

30. 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.

31. Lee, C.Y. y Smith, N.L. 1979. "Blanching effect on polyphenol oxidase activity in table beets". *J. Food Sci.* 44:82.

32. MELDB. Microbial Esterase and Lipase Data Base. Base de datos de estructuras de lipasas y esterasas en: http://www.gem.re.kr/meldb/index.php

33. 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.

34. 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.

35. Mathews, C.K., Van Holde, K.E. & Ahern, K.G. 2002. *Bioquímica.* 3a. ed. Pearson Addison Wesley, Madrid, España.

36. Mathewson, P.R. 1998. *Enzymes. Practical Guides for the Food Industry.* Eagan Press, Minnesota. E.U.

37. Mazur, A. y Harrow, B. 1971. *Textbook of Biochemistry.* W.B. Saunders, Nueva York. E.U.

38. 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.

39. 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.

40. Mozaffar, Z., Nakanishi, K. Matsuno, R. 1985. "Formation of oligosaccharides during hydrolisis of lactose in milk using β-galactosidase from *Bacillus circulans*". *J. Food Sci.* 50:1602.

41. Nagodawithana, T. & Reed, G. Eds. 1993. *Enzymes in Food Processing.* Academic Press, Inc. San Diego. E.U.

42. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Base de datos de nomenclatura enzimática en: http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme

43. PDB. Protein data bank. Base de datos de estructuras de proteínas en: http://www.wwpdb.org/

44. Pariza, M.W. y Foster, E.M. 1983. "Determining the safety of enzymes used in food processing". *J. Food Protection.* 46:453.

45. Sayavedra-Soto, L.A. y Montgomery, M.W. 1986. "Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite". *J. Food Sci.* 51:153 1.

46. Sessa, D J. 1979. "Biochemical aspects of lipid-derived flavors in legumes". *J. Agr. Food Chem.* 27:234.

47. Splechtna, B. *et al.* 2006. "Production of Prebiotic Galacto-Oligosaccharides from Lactose Using β-Galactosidases from *Lactobacillus reuteri*". *J. Agric. Food Chem.* 54(14):4999-5006.

48. Suckling, C.J. 1990. *Enzyme Chemistry.* Chapman & Hall, Londres. Inglaterra.

49. Uhlig, H. 1998. *Industrial Enzymes and their Applications.* John Wiley & Sons, Inc. Nueva York. E.U.

50. Underkofler, L.A. 1972. "Enzymes". *En: Handbook of Food Additives*, Ed. T.E. Furia, CRC Press, Cleveland. E.U.

51. Va'Mos-Vigyazo, L. 1981. "Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables". *CRC Rev. Food Sci. Nutr.* 15:49.

52. van der Ven, C., Master, A.M. y van den Berg, R.W. 2005. "Inactivation of soybean trypsin inhibitors and lipoxygenase by high-pressure processing". *J. Agric. Food Chem.* 53:1087-92.

53. 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.

54. Webb, F.C. 1964. *Biochemical Engineering.* Van Nostrand, Londres. Inglaterra.

55. Whitaker, J.R. 1994. *Principles of Enzymology for the Food Sciences.* Marcel Dekker, Nueva York. E.U.

56. Whitaker, J.R., Voragen A.G.J. & Wong D.W.S. Eds. 2003. *Handbook of Food Enzymology.* Marcel Dekker, Nueva York. E.U.

57. 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.

58. Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski, V. y Zoller, M. 1998. "Recombinant DNA." Scientific American Books, Nueva York, E.U.

59. Yu, J. *et al.* 2011. "Enzymatic treatment of peanut kernels to reduce allergen levels". *Food Chem.* 127:1014-1022.

6

- Introducción
- Contenido de vitaminas en los alimentos
- Vitaminas liposolubles
- Vitaminas hidrosolubles
- Compuestos asociados a las vitaminas
- Resumen de la estabilidad de las vitaminas
- Nutrimentos inorgánicos o minerales

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Vitaminas y nutrimentos inorgánicos

Introducción

Las vitaminas son micronutrimentos que facilitan el metabolismo y el aprovechamiento de los macronutrimentos (proteínas, hidratos de carbono y lípidos) y mantienen diversos procesos fisiológicos vitales para todas las células activas, tanto de vegetales como de animales, incluido el hombre. Se encuentran en cantidades muy pequeñas en los alimentos y pueden ir de unos cuantos microgramos hasta 200 o más miligramos por kilogramo, lo que representa desde 1/10 000 hasta 1/100 000 000 de la dieta. Si bien es cierto su presencia no es tan evidente, su ausencia —que se acompaña de cuadros clínicos graves y aparatosos—, es muy notoria.[4] Su carencia es causa de problemas que se conocen desde las antiguas civilizaciones de Egipto, Grecia y Roma, como lo muestra el papiro de Ebers, que data de hace unos 3 500 años, en el que hay referencia a enfermedades como el escorbuto, el raquitismo y la ceguera nocturna. Hoy se sabe que estos problemas se relacionan con la falta de ciertas vitaminas.

En 1912 el bioquímico estadounidense de origen polaco Casimir Funk aisló una fracción del arroz que curaba el beriberi; debido a que tenía propiedades de amina (tiamina). La llamó *vitamine* (del inglés *vital amine*), que significa amina vital o indispensable para la vida. Posteriormente se descubrió que no todos estos compuestos eran aminas, por lo que se les designó sólo como *vitamin*. Después de 36 años, en 1948 culminó el periodo en el que se identificó al resto de este grupo de compuestos, cuando se descubrió la cianocobalamina.

Para muchas personas, actualmente el término *vitamina* tiene una connotación casi mágica, porque se le relaciona con la salud y la fuerza que, se cree, resulta de consumirlas. Nada más alejado de esto. La mejor forma de obtenerlas es a través de una dieta equilibrada y sólo en casos muy específicos deben elegirse presentaciones farmacéuticas. Los excesos y sobredosis de vitaminas como A, D y B_6 pueden causar intoxicaciones, incluso algunas graves, mientras que otras sencillamente se eliminan a través de la orina.

Las vitaminas son trece compuestos con estructuras químicas orgánicas diversas, no producen energía, pero actúan en el control de diversas reacciones propias del anabolismo y del catabolismo, que a su vez producen energía y propician la síntesis de otros compuestos.[2,35]

Cabe mencionar que, en ciertos casos, esta actividad biológica no es exclusiva de un solo compuesto debido a que varias sustancias, llamadas vitámeros, cumplen la misma función en el hombre, aunque con diferente poder vitamínico. Por ejemplo, en la vitamina B_6 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: 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles; etc. Para medir ese poder vitamínico se emplea la Unidad Internacional (en inglés *IU*) como referencia. Por ejemplo 1 UI de vitamina A equivale a 0.3 µg de retinol o 0.6 μg de β-caroteno; es decir, se debe consumir el doble del pigmento para igualar el efecto del retinol; 1 UI de vitamina D son 0.025 µg de colecalciferol o de ergocalciferol; 1 UI de vitamina E equivale a 0.666 mg de *d*-α-tocoferol o 1 mg de acetato de *d*-α-tocoferol; 1 UI de vitamina C son 50 µg de ácido ascórbico, etcétera.

Por otra parte, en muchos alimentos las vitaminas se encuentran en una forma química inactiva sin funcionalidad biológica, como la niacina del maíz crudo, por lo que se requiere activarla, o hacerla biodisponible, a través de diversas reacciones para que el organismo humano la aproveche.[10,19] También existen las provitaminas o precursores, como los carotenoides que no tienen actividad biológica, pero que se convierten en vitamina A en el tracto gastrointestinal.

Todavía no se conoce por completo la función que desempeña cada una de ellas en el hombre, aunque su deficiencia produce malestares o enfermedades, a pesar de que se consuma una dieta rica en los demás nutrimentos.[15]

Para el buen funcionamiento del cuerpo humano ocurren miles de transformaciones químicas que requieren de las correspondientes enzimas con sus respectivos cofactores, muchos de los cuales son vitaminas;[6] se les llama indispensables porque el organismo, al no sintetizarlas todas en cantidades suficientes, debe 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, *v. gr.* biotina, ácido pantoténico, cobalamina y vitamina K y, en mucho menor proporción, tiamina, niacina, ácido fólico, vitamina B_6 y riboflavina. Parte de estas vitaminas se aprovecha al ser absorbida directamente a través de la pared del tracto gastrointestinal; la ingesta de antibióticos destruye esa microflora y trae consigo una reducción en la síntesis de estos nutrimentos.

Los requerimientos diarios de vitaminas varían entre ambos sexos y también por la edad, así como en el caso de las mujeres embarazadas y lactantes.[5] El cuadro 6.1 muestra el Valor Nutrimental de Referencia (VNR) que se usa para las recomendaciones de consumo de vitaminas y de algunos elementos químicos; se observa que la Ingesta Diaria Recomendada de vitamina C es de 60 mg, mientras que de la B_{12} es tan sólo de 2.1 μg, esto representa una diferencia de casi 30 000 veces entre ambas recomendaciones. En general, las dietas balanceadas constituidas por una amplia variedad de alimentos son suficientes para satisfacer todos los requerimientos vitamínicos diarios.

CUADRO 6.1 **Valor Nutrimental de Referencia**[31]

	IDR	IDS
Proteína g/kg de peso corporal	1	
Fibra dietética g	30	
Vitamina A μg (equivalentes de retinol)		568
Vitamina B1 μg (tiamina)		800
Vitamina B2 μg (riboflavina)		840
Vitamina B6 μg (piridoxina)		930
Niacina mg (equivalente a ácido nicotínico)		11
Ácido fólico μg (folacina)		380
Vitamina B12 μg (cobalamina)		2.1
Vitamina C mg (ácido ascórbico)	60	
Vitamina D μg (como colecalciferol)		5.6
Vitamina E mg (equivalente a tocoferol)		11
Vitamina K μg		78
Ácido pantoténico mg		4.0
Calcio mg		900
Cobre μg		650
Cromo μg		22
Flúor mg		2.2
Fósforo mg	664	
Hierro mg		17
Magnesio mg		248
Selenio μg		41
Yodo μg		99
Zinc mg		10

IDR: Ingestión diaria recomendada.
IDS: Ingestión diaria sugerida. Se usa cuando la información sobre requerimientos es insuficiente. Norma Oficial Mexicana. NOM-051.

Las vitaminas sintetizadas químicamente, o producidas por métodos biológicos, se utilizan para fortificar algunos productos de consumo cotidiano, como antioxidantes y hasta como colorantes.[13,25] De todos, el aspecto más importante es el empleo de las vitaminas como nutrimentos en alimentos que las han perdido al procesarlos. El técnico puede contribuir significativamente a mejorar el bienestar y la salud del consumidor al manejar los productos de tal manera que la destrucción de nutrimentos sea mínima, o añadirlos cuando se requiera. Las presentaciones comerciales son variadas: en polvos, emulsiones, soluciones, etc., y recientemente en forma de nanomateriales.[8]

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 en liposolubles e hidrosolubles.

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, que se acentúan aún más en productos procesados, sometidos a alguna transformación que provoca 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 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. [22,30]

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, etc.; todos estos factores causan las discrepancias que hasta ahora registra a literatura sobre el tema. Por su parte, el contenido de vitaminas en el huevo, la carne, la leche, etc., depende de la raza, la dieta y 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 ocurre normalmente con las hidrosolubles.

Algunas frutas, como las fresas, sintetizan el ácido ascórbico paralelamente a los pigmentos, aun cuando éste disminuye una vez que se recolectan; en el caso de las ciruelas, la situación es inversa puesto que el contenido se incrementa después de la cosecha. La cantidad de tiamina en la manzana está en relación con su estado fisiológico. Incluso dentro de un mismo fruto, la distribución de vitaminas no es homogénea; como ocurre con 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 otras frutas, como en los cítricos (naranja y limón), de 50 a 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 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 los chícharos, que incrementan considerablemente su concentración de ácido ascórbico, riboflavina, niacina y biotina. En los cereales (arroz, trigo, centeno, avena, etc.), estos nutrimentos por lo general se ubican en la cascarilla que los cubre, de modo 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 una separación del salvado, germen y cascarilla por la que se pierde un porcentaje elevado de estos nutrimentos (cuadro 6.2); el arroz pulido, sin cascarilla, contiene una proporción menor de vitaminas que el grano entero.

Para mejorar la calidad nutritiva del arroz se emplea el "sancochado", que consiste en 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. Los conteni-

CUADRO 6.2 **Pérdida de nutrimentos en el descascarillado del arroz**

Nutrimento	Porcentaje de pérdida
Riboflavina	45
Tiamina	75
Niacina	60
Hierro	75
Fósforo	50

dos vitamínicos, en mg/kg, del arroz producido por molienda tradicional y por sancochado, aproximadamente, son: tiamina, 0.7-1.5; riboflavina, 0.25-0.45; niacina, 20-45, y 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 el salvado; a medida que aumenta el grado de extracción, disminuye la cantidad de nutrimentos retenidos; el cuadro 6.3 muestra algunas de estas pérdidas ocasionadas por el proceso industrial de producción de una harina de trigo para la industria panificadora.

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 otros factores, influye de manera directa 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, por las altas temperaturas, 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, etc., influyen decisivamente 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 importantes.

CUADRO 6.3 **Pérdida de algunos nutrimentos en la molienda del grano de trigo**

Nutrimento	Porcentaje de pérdida
Potasio	77
Fósforo	70
Hierro	75
Magnesio	85
Biotina	75
Niacina	75
Riboflavina	67
Piridoxina	80

También debe considerarse que el propio consumidor induce su destrucción en el hogar; de hecho, en ocasiones, estos daños son mayores a los que provoca la industria cuando abusa de las altas temperaturas. Recalentar los alimentos causa 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 de las vitaminas hidrosolubles 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, etc.), el pH, las interacciones con otras sustancias, el tipo de vitámero o provitamina, etcétera.[28]

En los cuadros 6.4 y 6.5 se muestran las composiciones aproximadas de vitaminas y de nutrimentos inorgánicos de algunos alimentos. Como hemos visto, estos datos se deben tomar sólo como referencia, dado que pueden existir discrepancias con la información proveniente de otras fuentes. Por su riqueza vitamínica, y de fibras, la recomendación internacional es consumir cinco porciones de frutas y verduras al día.[17]

CUADRO 6.4 **Contenido vitamínico aproximado de algunos alimentos**

Alimento	Biotina µg/100 g	Ácido pantoténico mg/100 g	Vitamina B6 mg/100 g	Vitamina B_{12} µg/100 g
Carne de res	2.6-3.4	0.25-0.35	0.08-0.3	2.0-3.0
Carne de cerdo	4.0-6.0	0.4-0.6	0.08-0.3	0.6-09
Carne de pollo	9.0-11.0	0.7-0.9	0.08-0.3	0.2-0.4
Pescado	0.1-3.0	0.2-1.0	0.4-0.5	5.0-14.0
Leche	2.0-5.0	0.3-0.5	0.03-0.3	0.3-0.6
Queso	1.6-1.8	0.15-0.25	0.04-0.8	0.2-2.0
Huevo (cada uno)	11.0-13.0	1.0-1.2	0.25	0.4-0.5
Harina de trigo: entera 80%	7.0-12.0	0.5-0.6	0.4-0.7	-
extracción	1.4-3.0	0.2-0.3	0.1-0.3	-
Arroz pulido	4.0-6.0	-	-	-
Manzana	0.9-1.0	-	-	-
Jugo de naranja	0.5-1.5	0.15-0.17	0.05-0.06	-
Frijol	-	0.13-0.15	0.10-0.11	-
Chícharo	-	0.3-0.4	0.15-0.17	-
Papa	-	0.6-0.7	0.14-0.23	-

CUADRO 6.5 **Contenido aproximado de vitaminas y de nutrimentos inorgánicos (Base: 100g de parte comestible)**

Alimento	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Vitamina A (UI)	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Niacina (mg)	Vitamina C (mg)
Frutas:							
Durazno	16.0	0.1	1 300	0.02	0.05	1.0	19.0
Manzana	7.0	0.2	90	0.03	0.01	0.2	4.0
Fresa	14.0	0.4	60	0.02	0.07	0.2	57.0
Piña	35.0	0.3	70	0.09	0.03	0.4	48.0
Naranja	41.0	0.3	200	0.10	0.04	0.4	50.0
Hortalizas:							
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
Cereales:							
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
Carnes:							
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
Vacuno	11.0	2.8	40	0.10	0.15	4.5	-
Porcino	5.0	1.4	30	0.44	0.10	2.4	-

Vitaminas liposolubles

Las vitaminas de este grupo (A, D, E y K) son solubles en disolventes orgánicos y en aceites, como el de freír y el de los aderezos, pero insolubles en agua; sin embargo, comercialmente existen preparaciones microencapsuladas en gomas y en otros polímeros hidrófilos, que las hacen estables en soluciones acuosas. Algunas de sus estructuras contienen dobles enlaces sensibles a las reacciones de oxidación, como la A y la E, mediante mecanismos semejantes a los descritos en el capítulo 4 para la oxidación de ácidos grasos insaturados.

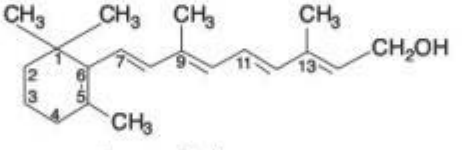
El hombre, igual que otros mamíferos, las retiene en el tejido adiposo, principalmente del hígado, por lo que una persona bien alimentada puede sobrevivir durante varias semanas sin necesidad de consumirlas; por el contrario, las hidrosolubles deben ingerirse de manera sistemática, ya que no se almacenan con tanta facilidad y pueden presentarse problemas si no se ingieren con regularidad.

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.

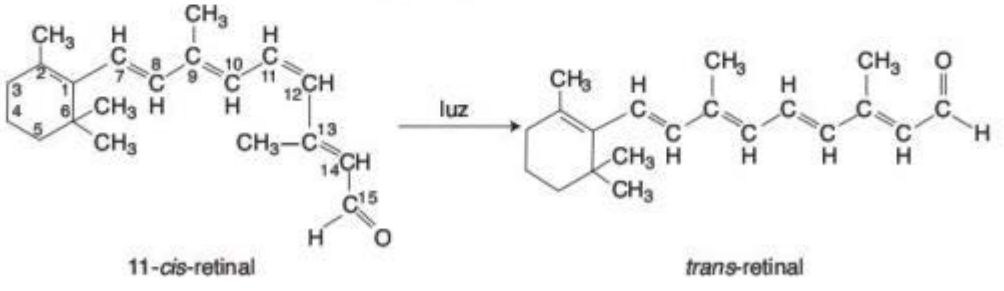
Vitamina A

Esta vitamina se encuentra sólo en el reino animal, principalmente en el hígado, así como en la leche, el huevo y el pescado. Hoy se sabe que, desde hace miles de años, para curar la ceguera nocturna en Egipto y Grecia era necesario consumir hígado. La vitamina A 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, siendo el β-caroteno el más importante, seguido de otros como el β-apo-8'-carotenal, la criptoxantina y el α-caroteno (vea el capítulo 7). En la conversión del β-caroteno en vitamina A, ocurren reacciones de oxidorreducción que primero lo transforma en retinal y 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 por completo y sólo se alcanza 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 referirse a su potencia biológica y a las recomendaciones de consumo, se emplea la Unidad Internacional, UI y el Equivalente de Retinol, RE (en inglés RAE, que significa *Retinol Activity Equivalent*), que corresponde a 1 μg de retinol.



trans-retinol

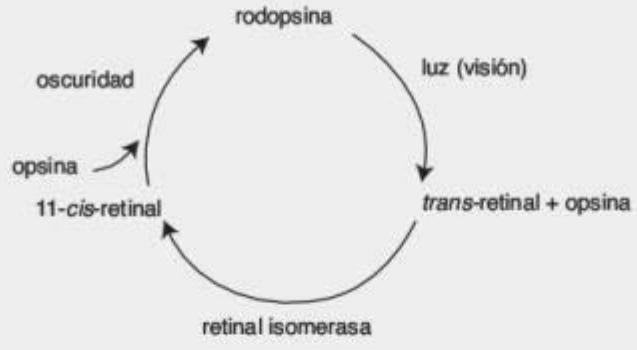


11-*cis*-retinal

trans-retinal

Aunque no se conoce su función biológica completamente, su carencia inhibe 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; por su parte, 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,

Figura 6.1 Acción biológica de la vitamina A. Ciclo de síntesis de la rodopsina.



para isomerizarse nuevamente y realizar un proceso cíclico (figura 6.1). Por esta razón, su deficiencia causa xeroftalmia (disminución de la transparencia de la córnea) en los niños y ceguera nocturna en los adultos.

El abuso en el consumo de esta vitamina a través de preparaciones farmacéuticas puede causar intoxicación, pero eso no ocurre si se lleva una alimentación balanceada. La Ingestión Diaria Sugerida se indica en el cuadro 6.1; se ha identificado como una carencia nutrimental importante en niños menores de 12 años en México.[32] 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.

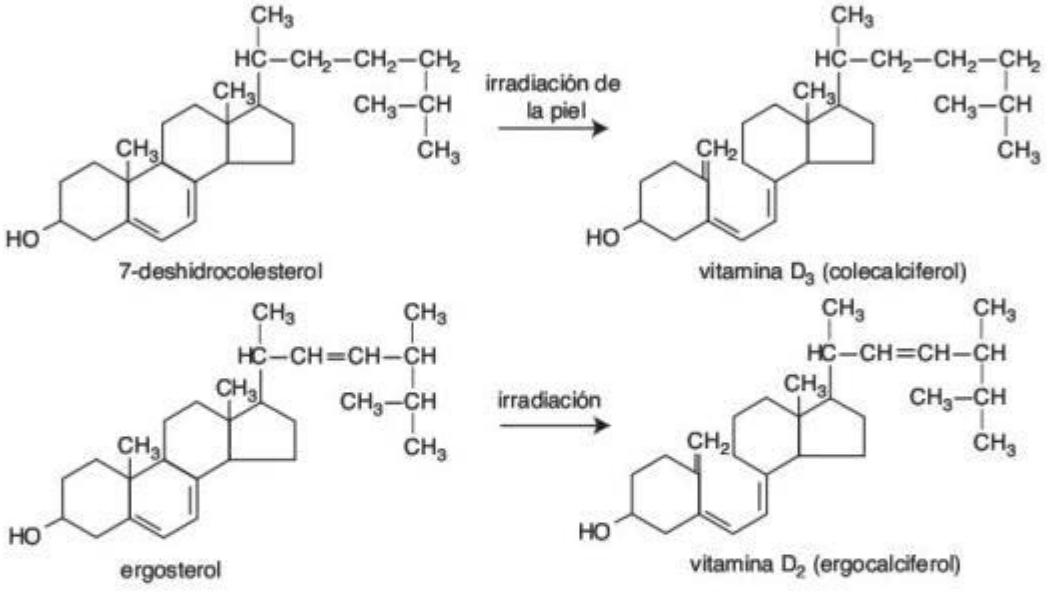
En cuanto a su estabilidad química, al ser hidrocarburos isoprenoides insaturados con dobles ligaduras, la vitamina A y sus precursores, son sensibles a la oxidación, como las grasas y aceites, en especial a temperaturas elevadas y en presencia de enzimas y de metales de transición (Fe y Cu), con radiaciones electromagnéticas y en sistemas con una baja *Aa*, 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.

Su actividad biológica se pierde parcialmente cuando se isomeriza; por ejemplo, si se toma toda la molécula en *trans* y se le asigna un valor de 100, los derivados *cis* pueden tener valores de 75 o mucho menos. Su determinación cuantitativa tradicional no discrimina entre los isómeros y mide la cantidad total, motivo por el cual se acude a la cromatografía líquida de alta presión. La isomerización de las dobles ligaduras provoca cambios hipsocrómicos, es decir, en su longitud de onda de máxima absorción. En ausencia de oxígeno (u *gr.* en enlatados), su calentamiento induce la isomerización y, dado que contiene cuatro dobles ligaduras, el número de posibles isómeros es grande. La isomerización también ocurre al exponerse a los ácidos fuertes o si se irradia con luz ultravioleta y hasta con la luz fluorescente empleada en los comercios.

Vitamina D

Con este nombre se conocen once compuestos similares con estructuras de esterol, 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 D_2) y el

colecalciferol (vitamina D_3) son los más importantes. A su vez, estos dos vitámeros tienen sus precursores en el organismo humano, el ergosterol y el 7-dehidrocolesterol, respectivamente, sin actividad biológica, pero que se transforman en la respectiva vitamina cuando se irradian con la luz ultravioleta del sol. El primero se localiza sobre todo 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 intermediarios como el lumisterol y el taquisterol; una excesiva irradiación destruye la actividad biológica, y además se generan diferentes sustancias, algunas con potencial tóxico. Cabe indicar que la coenzima Q_{10} empleada como nutracéutico (vea el capítulo 15) tiene una estructura semejante a la de la vitamina D.



En forma de la hormona 1,25-dihidroxicolecalciferol, la vitamina D ayuda 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 síntomas 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 μg de colecalciferol. Un consumo excesivo, o hipervitaminosis, provoca la concentración del calcio en el plasma y en algún momento su precipitación como fosfato en órganos y tejidos, 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.

Sus distintas formas comerciales se han utilizado para enriquecer la leche, sobre todo en países nórdicos donde la intensidad de la radiación solar es escasa; su contenido puede aumentarse, alimentando a las vacas con dieta rica 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 intenso con el oxígeno y la luz.

CUADRO 6.6 **Contenido de vitamina D_3 en algunos alimentos**

Alimento	UI/100 g
Leche	3.0
Queso	10.0
Huevo	90.0
Mantequilla	40.0
Aceite de pescado	Hasta 50 000

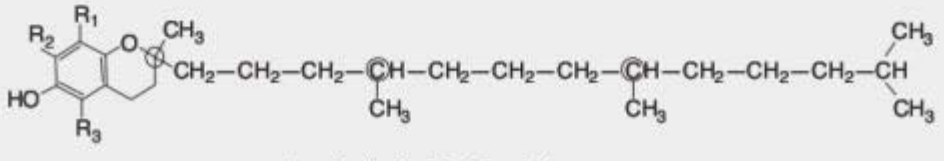
Vitamina E

Con este nombre se conocen ocho compuestos de las familias de los tocoferoles (del griego *tokos*, descendencia y *pherin*, soportar o apoyar; el sufijo *-ol* sirve para indicar que es un alcohol) y de los tocotrienoles, el α, β, γ y σ-tocoferol y el α, β, γ y σ-tocotrienol. El más activo es el α-tocoferol (100% de potencia), seguido del β (50%), el γ (5%) y el σ (1%).

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, etc.) 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 como 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 el prefijo *rac-* se refiere a que está racemizado en su totalidad; su actividad biológica es de aproximadamente 80% de la del RRR-α-tocoferol.

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.

Figura 6.2 Fórmulas de los tocoferoles. El acetato de tocoferilo se produce al sustituir el OH por el grupo CH_3COO.



α-tocoferol $R_1, R_2, R_3 = CH_3$
β-tocoferol $R_1, R_3 = CH_3$ y $R_2 = H$
γ-tocoferol $R_1, R_2 = CH_3$ y $R_3 = H$
δ-tocoferol $R_1 = CH_3$ y $R_2, R_3 = H$
○ carbonos asimétricos

No se conoce bien su función biológica, pero sí los problemas que ocasiona su carencia. Debido a su estructura química actúa como antioxidante natural celular y reduce los peróxidos provenientes de la oxidación de los ácidos poliinsaturados (linoleico, linolénico, EPA, DHA, etc.); por este motivo es un importante nutracéutico recomendado cuando se consumen altas concentraciones de ácidos grasos muy insaturados. Cabe indicar que el ácido ascórbico ayuda a recuperar la función antioxidante de la vitamina E una vez que actúa como tal. Su deficiencia en animales se manifiesta por degeneración tubular renal, pigmentación de los depósitos lipídicos, necrosis hepática y distrofia muscular. La recomendación de consumo se muestra en el cuadro 6.1.

La vitamina E se concentra hasta en 85% en los gérmenes de maíz y de trigo, pero se pierde buena parte al desgerminar estos granos para su aprovechamiento industrial. Los aceites de almendra, cacahuate, oliva, soya y aguacate contienen 14, 16, 8, 18 y 1.5 mg/100 g de α-tocoferol, respectivamente.

En la refinación de los aceites, los tocoferoles y los tocotrienoles se deterioran, principalmente por oxidación, y su concentración se reduce de forma significativa (cuadro 6.7). Al oxidarse se inducen las reacciones típicas de la oxidación descritas en el capítulo 4. Su actividad como antioxidante es débil en los aceites refinados, por lo que generalmente se utilizan antioxidantes sintéticos.

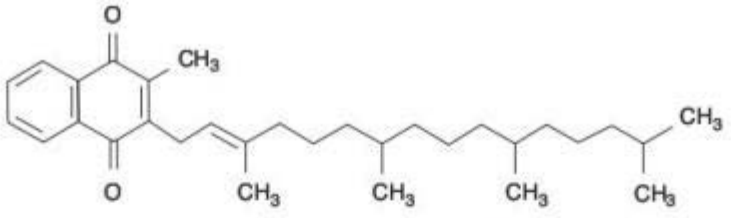
CUADRO 6.7 **Concentración de tocoferoles en el aceite de maíz (mg/100 g)**

Tocoferol	Aceite crudo	Aceite refinado
α-Tocoferol	27-32	2.3
α-Tocotrienol	5-6	-
γ-Tocoferol	50-60	43.5
γ-Tocotrienol	6-7	-
Total	**88-105**	**45.8**

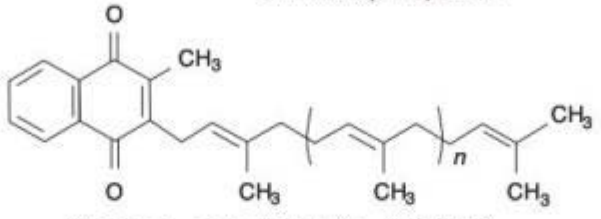
Comercialmente existen diversos derivados de la vitamina E que se emplean como nutrimento y antioxidante; el acetato sólo se usa para fortificar, mientras que la forma de alcohol, sin esterificar, se usa como antioxidante por tener el OH libre activo del grupo fenólico.

Vitamina K

En la década de 1930 se descubrió un componente de los aceites que actuaba como factor antihemorrágico, al que se le llamó vitamina K por la palabra alemana *koagulation*. Este término incluye a cada uno de los derivados de la naftoquinona, cuya función biológica más conocida ocurre 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 dos principales son la vitamina K_1 o filoquinona, que está presente en las hojas de las plantas, y la vitamina K_2 o 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 como referencia para medir la actividad biológica y como aditivo en alimentos.



vitamina K_1, filoquinona



vitamina K_2, 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 y que los casos de deficiencias sean pocos.

La vitamina K se encuentra en el hígado, el huevo, la espinaca, el jitomate y otros; el brócoli, la col y la espinaca son también una buena fuente (cuadro 6.8). Es estable al calor, pero algo sensible a la luz; normalmente existen pocas pérdidas durante los distintos tratamientos y procesos a los que se someten los alimentos.

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

Vitaminas hidrosolubles

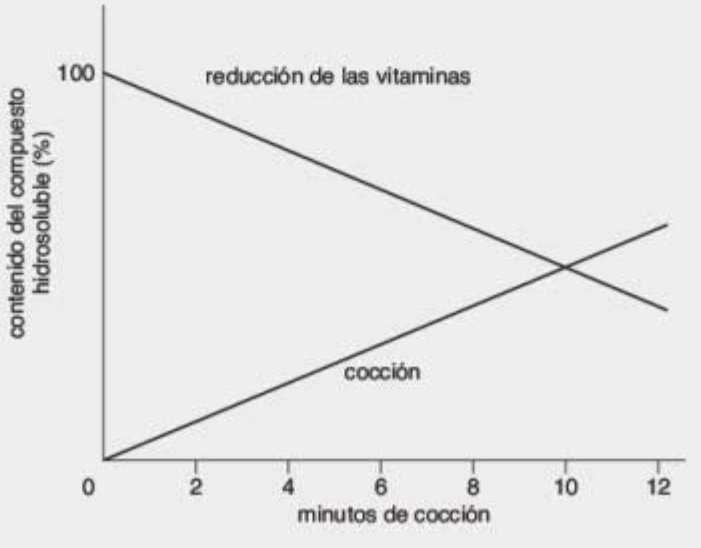
A diferencia de las liposolubles, el hombre tiene una capacidad limitada para almacenar las vitaminas hidrosolubles, de modo que requiere un consumo continuo, a pesar de que algunas son sintetizadas por la flora intestinal y una fracción se absorbe. Al ingerir una cantidad excesiva sólo se aprovecha una parte y la otra se elimina en la orina; esto debe tenerse en cuenta al administrar 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 ampolleta es suficiente para cubrir las necesidades de un individuo durante varias semanas, si pudiera almacenarse en el cuerpo.

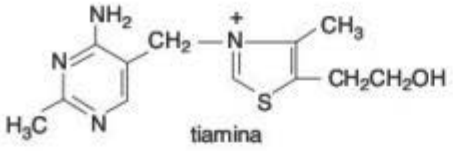
Las vitaminas hidrosolubles están constituidas por el complejo B, que incluye tiamina (B_1), riboflavina (B_2), vitamina B_6, vitamina B_{12}, biotina, folatos, niacina y ácido pantoténico, así como por la vitamina C. En general, muchas de las B se encuentran juntas en los alimentos de origen vegetal. Por ser solubles en agua, la lixiviación es un mecanismo común de pérdida para todas ellas. Es decir se pierden en el agua de lavado, de remojo, en la cocción y en cualquier proceso que involucre el contacto con el agua por algún tiempo (figura 6.3).

Tiamina (B_1)

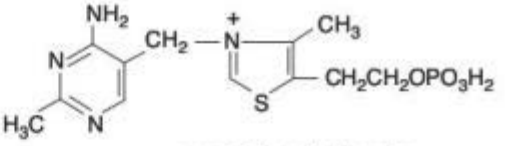
Químicamente esta vitamina está constituida por un anillo de pirimidina unido a otro de tiazol, mediante un puente metilénico ($-CH_2-$) muy sensible a los ataques nucleófilos. El nitrógeno del tiazol es cuaternario y normalmente está ionizado en el pH de la mayoría de los alimentos, lo que provoca que actúe como una base fuerte.

Figura 6.3 Lixiviación de compuestos hidrosolubles.





tiamina



monofosfato de tiamina

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.[16] Su deficiencia en el hombre causa beriberi, vocablo ceilanés que se refiere a una debilidad extrema, y que implica 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. Se presenta por el consumo de dietas basadas en arroz descascarillado (cuadro 6.2) y de otros cereales bajos en tiamina. Su absorción se lleva a cabo en la mucosa del yeyuno y del íleon e inmediatamente se fosforila; el exceso ingerido se elimina en la orina.

En muchos alimentos se encuentra 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. Los ácidos cafeico y tánico, y en general los taninos, inactivan su función biológica.

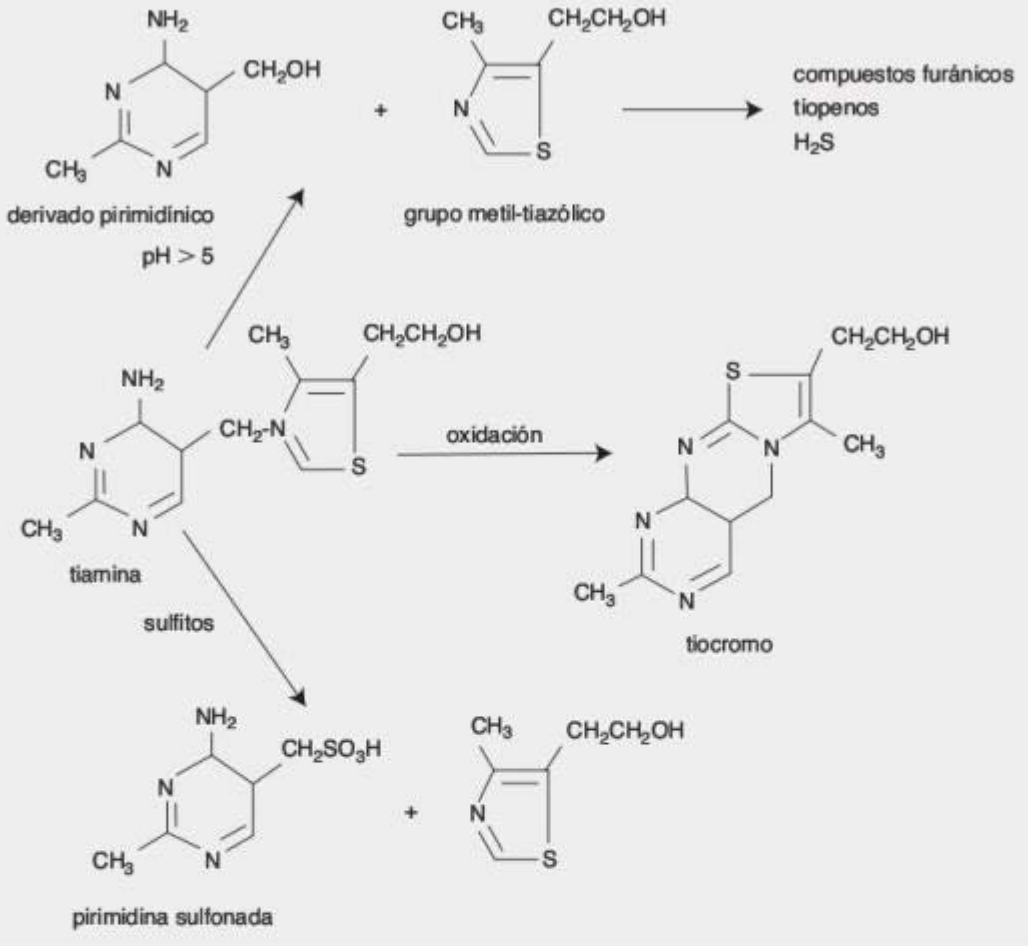
En forma comercial se encuentra como clorhidrato o como mononitrato, ambos solubles en agua que se usan para enriquecer algunos alimentos. Las recomendaciones de consumo se muestran en el cuadro 6.1.

Debido a su estructura química, junto con el ácido ascórbico, la tiamina es una de las vitaminas más inestables, sobre todo afectada por el pH; incluso se sugiere como índice de retención de nutrimentos, considerando que si soporta un determinado proceso, las otras vitaminas también se conservan. Es hidrosoluble y, por lo tanto, se pierde por lixiviación en el agua de lavado, enjuague, etc., 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 (*v. gr.* 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 y produce los dos anillos constituyentes (figura 6.4); el derivado pirimidínico es estable y no sufre reacciones secundarias, pero no ocurre 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. Esta transformación se ha aprovechado para desarrollar 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 6.5: la destrucción se acelera considerablemente en un pH > 5.0.[7]

Además, el puente metilénico es sensible a los ataques nucleófilos de los sulfitos y bisulfitos (figura 6.4) que se emplean en la conservación y prevención del oscurecimiento de productos deshidratados. La figura 6.6 muestra la destrucción de la tiamina por efecto del bisulfito de sodio. Esta vitamina también 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 oxidación de las grasas; por

Figura 6.4 Mecanismos de destrucción de la tiamina.



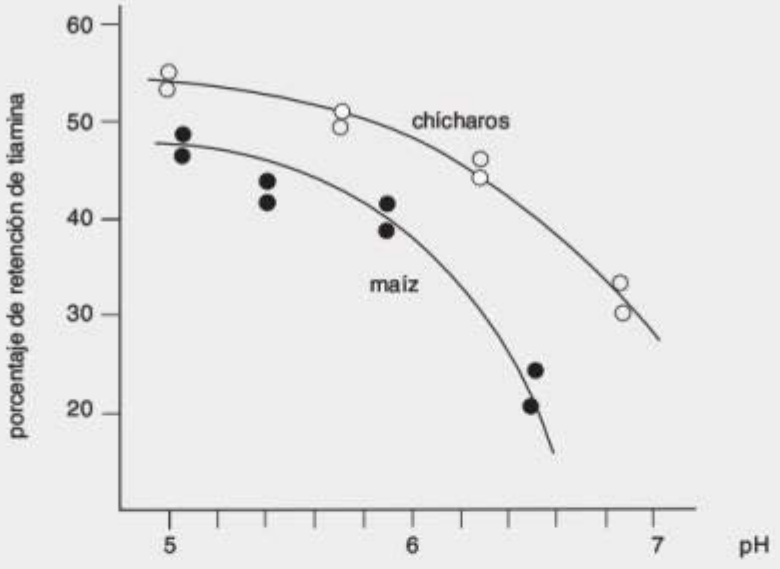
ser agentes fuertemente oxidantes, estos últimos convierten la tiamina en tiocromo, cuyas propiedades fluorescentes son aprovechadas para su cuantificación.

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.

Riboflavina (B_2)

La riboflavina está formada por un anillo heterocíclico de isoaloxacina combinado con una molécula del azúcar-alcohol o poliol llamado ribitol, derivado de la ribosa. En general 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 son coenzimas de las

Figura 6.5 Efecto del pH en la retención de la tiamina en purés de chícharos y de maíz tratados de forma térmica.[7]



flavoproteínas que regulan los procesos de transferencia de hidrógenos en reacciones de oxidorreducción de aminoácidos y de otros compuestos. Su deficiencia produce dermatitis seborreica, vascularización corneal, coloración anormal de la lengua, etc. 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, igual que el corazón y el riñón de los animales; las frutas no lo son.

Debido a su hidrosolubilidad, 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. 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 6.6).

Su principal característica es su fotosensibilidad a las longitudes de onda de 420 a 560 nm, por lo que la luz fluorescente es menos dañina que la solar. En soluciones ácidas o neutras, pierde su cadena de ribitol y se transforma en lumicromo, sustancia que tiene fluorescencia azul, mientras que a pH ligeramente alcalino se fotooxida a lumiflavina, ambas sin actividad biológica (figura 6.7). Estas transformaciones se incrementan al aumentar la temperatura y el pH, así como con el tiempo y la superficie expuesta. Ambas reacciones se presentan en la leche con pH casi neutro de 6.7, y pierde hasta 80% de riboflavina con una exposición de dos horas al sol; en vidrio la energía de activación para la destrucción de esta vitamina es de 8 Kcal/mol, mientras que en cartón laminado, tipo Tetra Pak, es mucho mayor, de 40 Kcal/mol.

Figura 6.6 Efecto del bisulfito de sodio en la estabilidad de algunas vitaminas.

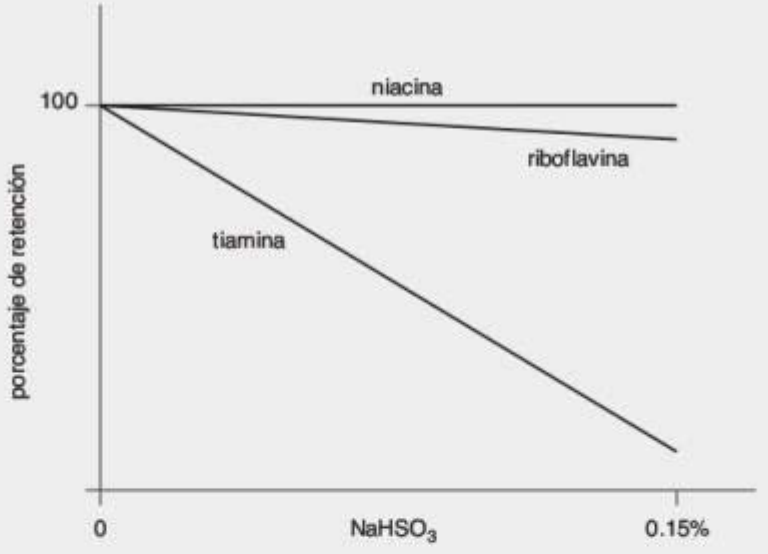
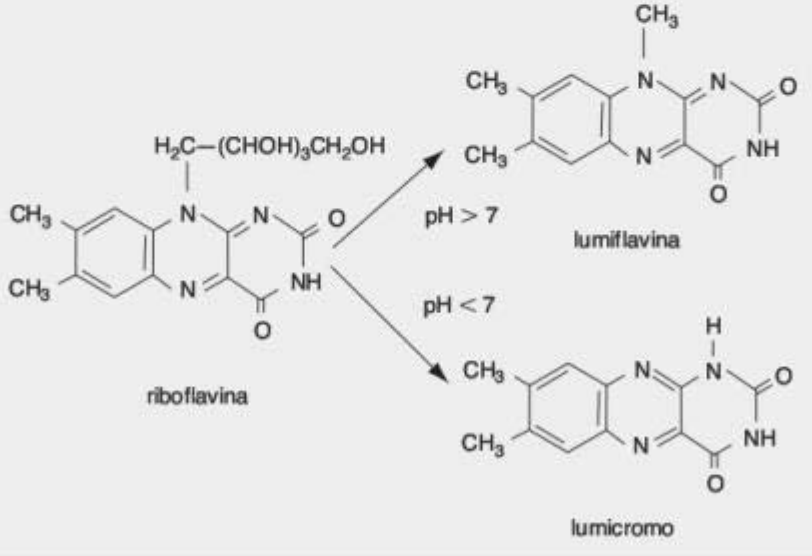


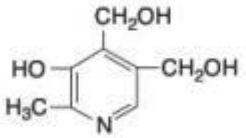
Figura 6.7 Degradación de la riboflavina.



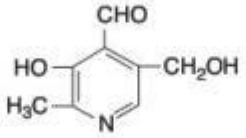
Debido a que es un agente muy oxidante, la lumiflavina destruye las vitaminas A y C, y al actuar sobre la metionina produce metional (CH_3–S–CH_2–CH_2–CHO) y otras sustancias de bajo peso molecular responsables del sabor a "soleado" de la leche distribuida en botella de vidrio, expuesta a los rayos solares.

Vitamina B_6

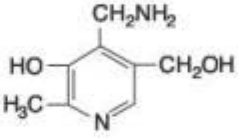
Reciben este nombre tres vitámeros biológicamente activos con una estructura química semejante: piridoxina o piridoxol (alcohol), piridoxal (aldehído) y piridoxamina (derivado amina). En forma de fosfato, el piridoxal es la coenzima de un gran número de reacciones metabólicas que incluye la utilización y la síntesis de aminoácidos por 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, etc., algunas de las cuales son neurotransmisores.[3] Su deficiencia causa desórdenes nerviosos, convulsiones y neuropatías. Las recomendaciones de su consumo diario se muestran en el cuadro 6.1.



piridoxina



piridoxal



piridoxamina

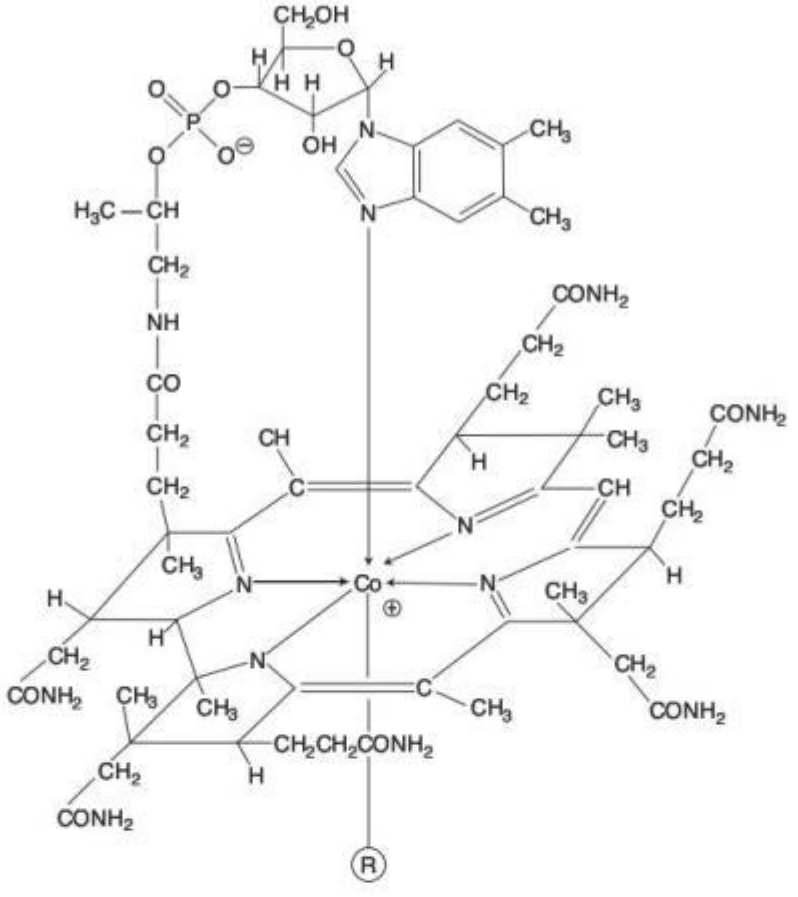
En los vegetales se encuentra como piridoxol y en los alimentos de origen animal, como piridoxal y piridoxamina (cuadro 6.4); la microflora intestinal del hombre la sintetiza y aprovecha una porción que se absorbe; el tejido muscular tiene una cierta capacidad de almacenarla en forma fosforilada unida a la proteína y con una dieta adecuada y variada no suelen presentarse deficiencias. 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. Igual que la riboflavina y la vitamina C, la B_6 es fotosensible, aunque en menor grado.

Las altas temperaturas no les afectan a pH 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. Las energías de activación para su destrucción van de 20 a 30 Kcal/mol, dependiendo del vitámero y del medio en que se encuentre.

Vitamina B_{12}

Esta vitamina tiene varios vitámeros, presenta la estructura química más compleja que está constituida por cuatro anillos pirrólicos que integran 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 R. Cuando R es un grupo –CN, se forma la cianocobalamina, que es la presentación comercial más común de esta vitamina y que se adiciona a los alimentos.

Esta vitamina 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 la anemia perniciosa y diversos problemas metabólicos.[37] Aunque la produce la microflora intestinal y una cantidad se absorbe, para el hombre adulto se recomienda un consumo de 2.1 μg diarios (cuadro 6.1).

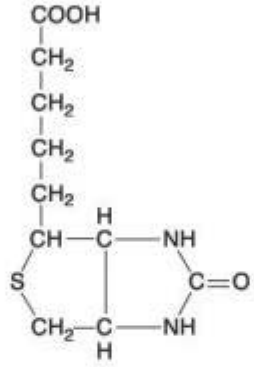


Vitamina B_{12}.
R = CN, cianocobalamina;
R = OH, hidroxicobalamina;
R = CH_3, metilcobalamina; etc.

Esta vitamina no existe en alimentos vegetales y sólo se encuentra en la leche, la carne, el huevo (cuadro 6.4) y otros productos de origen animal como hígado, corazón y riñones. Por esta razón los vegetarianos estrictos, así como los niños amamantados por madres vegetarianas, pueden mostrar problemas de anemia.[1] 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. 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 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.

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. 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 generalmente el hombre 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 adecuada una ingesta de 100 μg por día, o bien 50 μg por cada 4 250 kJ (1 000 calorías).



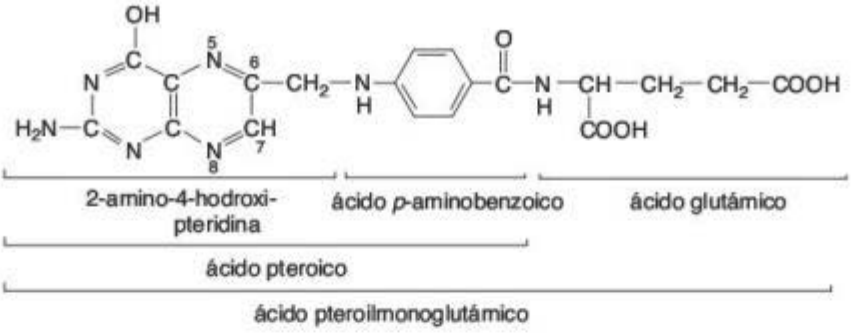
biotina

Es una vitamina muy estable frente a los ácidos, los álcalis, el calor, el oxígeno y la luz, y prácticamente no existen pérdidas en los alimentos procesados, excepto las causadas por lixiviación. Una característica de la biotina del huevo es que reacciona con la glucoproteína avidina y forma un complejo insoluble que evita el aprovechamiento y la absorción de la vitamina cuando se consume huevo crudo; el calentamiento del huevo causa la desnaturalización de la proteína y rompe esa interacción, con lo que la biotina se vuelve biológicamente disponible.

Folatos

También llamados folacina (del latín *folium*, hoja), los folatos 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 pteroico al que se le une un ácido glutámico. A su vez, el ácido pteroico 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 sobre todo 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, igual que en el metabolismo de purinas, pirimidinas y aminoácidos como metionina, histidina, glicina, valina y serina.



La recomendación de ingesta diaria de folacina para los adultos es de 380 µg (cuadro 6.1), pero aumenta cuando se trata de mujeres que desean embarazarse; su deficiencia puede causar defectos en los recién nacidos, como la espina bífida. Los folatos contribuyen, junto con las vitaminas B_6 y B_{12}, a metabolizar y eliminar la homocisteína, un aminoácido del organismo humano que en niveles altos propicia enfermedades cardiovasculares al modificar la fluidez de la sangre. Esta vitamina convierte la homocisteina en metionina y ayuda a reducir problemas del corazón.

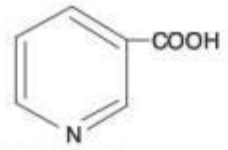
La folacina se encuentra en los vegetales de hojas verdes, en el hígado (150 μg/100 g), en la carne (5 μg/100 g), en el riñón (30 μg/100 g) y en menor cantidad en las frutas. El hígado de pollo es importante y una ración de 20-25 g es suficiente para llenar los requerimientos de folatos y de vitamina A, conjuntamente.

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 cocimiento de los alimentos, tanto en el hogar como en la industria. 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. Es más estable a pH ácidos y se destruye con mayor facilidad al acercarse a la neutralidad. Los nitritos y sulfitos aceleran su descomposición.

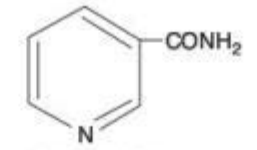
Niacina

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 su correspondiente amida, la nicotinamida (piridín-3-carboxiamida) del reino animal, que se produce a partir del triptófano. La nicotinamida es indispensable para dos coenzimas, el dinucleótido de adenina y nicotinamida (NAD) y su derivado fosfatado (NADP), que se encargan de la transferencia de hidrógenos en muchas reacciones metabólicas de las deshidrogenasas que actúan sobre 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".

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 en realidad se aprovecha 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.[36]



ácido nicotínico



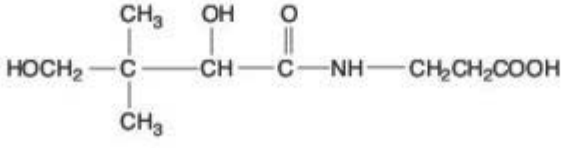
nicotinamida

Esto es más notorio con el maíz, que 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 a base de maíz hervido. No sucede igual cuando el grano se consume nixtamalizado, como en todo México, pues ese complejo se disocia y se libera la niacina; sin embargo, hay zonas en el sureste del país en las que, para obtener una masa más blanca, lavan intensamente el maíz nixtamalizado, con lo que provocan la pérdida por lixiviación de la vitamina liberada. Además de hacer que la niacina esté disponible, el tratamiento térmico-alcalino también facilita el aprovechamiento del triptófano, precursor de esta vitamina en el organismo humano; se considera que 60 mg del aminoácido sólo produce 1 mg de niacina.[9]

La leche, los huevos y otros productos de origen animal no son importantes proveedores de niacina, pero sí de triptófano; el hígado es una excelente fuente, igual que otros tejidos animales (cuadro 6.5). La niacina es 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.

Ácido pantoténico

El nombre pantoténico (del griego *pantós*, en todas partes) indica su amplia distribución en la naturaleza. 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 esteroles).[33] Se encuentra en muchos alimentos, tanto en forma libre como ligada, en cereales, levaduras, hígado, huevo, leche, etc., 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.

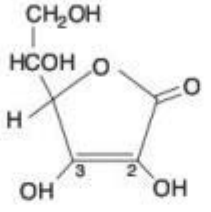


ácido pantoténico

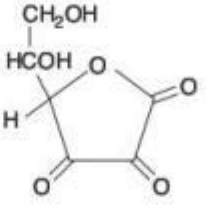
Se pierde por lixiviación y aun cuando es estable a un pH 4-7, puede degradarse por efecto de las altas temperaturas, por lo que los productos esterilizados o deshidratados muestran pérdidas considerables; en pH muy ácidos o alcalinos se provoca su hidrólisis.

Vitamina C

Existen varias sustancias que presentan una actividad biológica de vitamina C, pero con excepción del ácido L-ascórbico y el ácido L-dehidroascórbico (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-dehidroascórbico representa aproximadamente 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 frescas**

Alimento	mg/100 g
Durazno	4
Manzana	10
Plátano	10
Mandarina	25
Papa	30
Toronja	30
Naranja	50
Limón	50
Col	60
Chiles	120
Guayaba	230
Brócoli	250

La vitamina C es un derivado de la D-glucosa, tiene una estructura de cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-1-gulofuranolactona y contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y altamente reductor, por lo que se oxida con mucha facilidad.[27] Se encuentra principalmente en vegetales frescos (cuadro 6.9); mientras que los cereales, la leche, las carnes y los pescados y sus derivados, prácticamente no la contienen, por lo que es necesario el consumo rutinario de frutas y verduras para obtener la cantidad requerida de esta vitamina; asimismo, dado su carácter hidrosoluble, no es posible que se almacene en el organismo del hombre y, a diferencia de otras vitaminas, tampoco la sintetiza (en contraste con algunos animales que sí la producen, por lo que para ellos no es indispensable su consumo). 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.

Tal como ocurre con todas las vitaminas, el contenido de ácido ascórbico de los vegetales varía de manera significativa de acuerdo con muchos factores relacionados con las prácticas agrícolas (genética, fertilizantes, insolación, riego, etc.), 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, en contraste con las temperaturas cálidas y la oscuridad, que la favorecen.

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 oxidorreducción y de hidroxilación de hormonas esteroidales y aminoácidos aromáticos. 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. Debido a esto, comercialmente existen complejos de hierro-ácido ascórbico estables a pH ácidos que se adicionan a los alimentos, además de otras muchas formas químicas.[20]

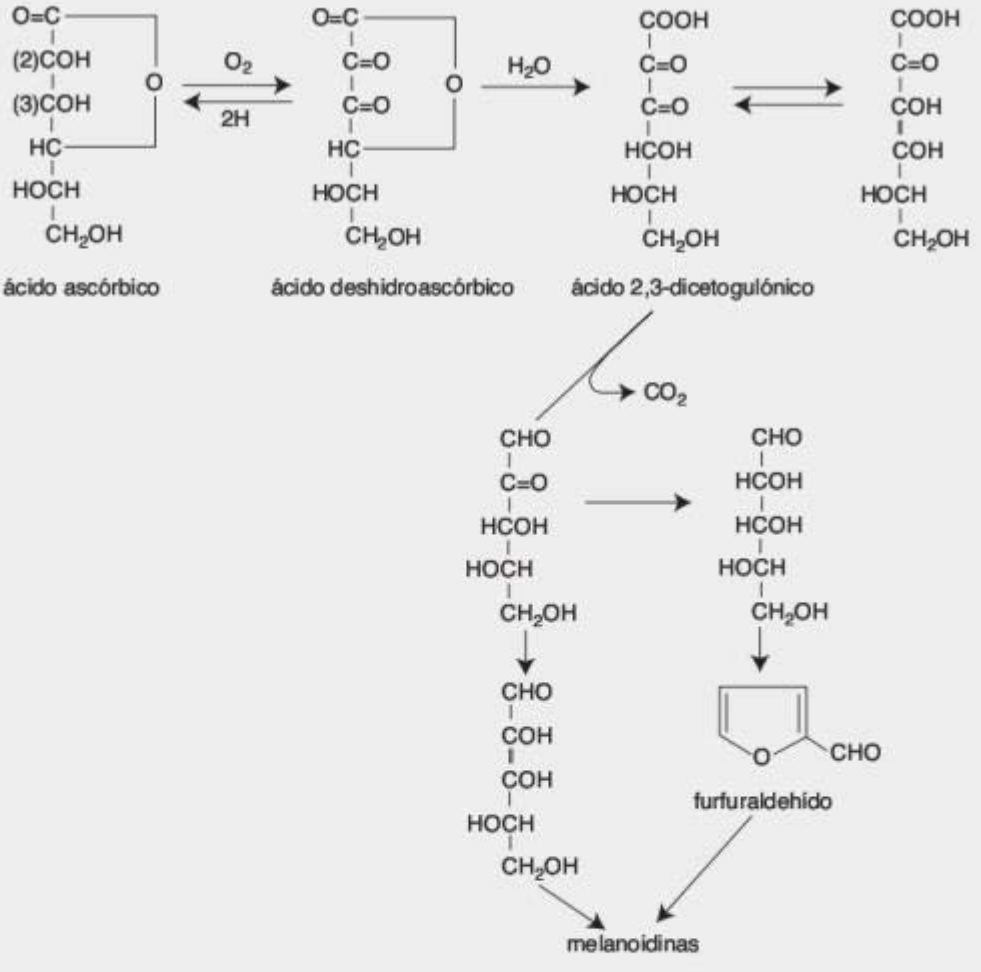
Su deficiencia provoca el escorbuto, conocido desde las antiguas civilizaciones egipcia, griega y romana, que se hizo más notorio en los viajes largos por mar, cuando la alimentación de los marineros no incluía frutas frescas; esta enfermedad vuelve al individuo muy susceptible a infecciones, algunas de las cuales son muy graves, además de que provoca inflamación articular, hemorragias subcutáneas, incapacidad de los osteoblastos (células productoras de las sustancias intercelulares óseas) para funcionar.

De todas las vitaminas, la C es la más inestable y la más reactiva debido a su estructura química, por lo que su contenido residual en los alimentos se usa como un índice de retención de nutrimentos: se considera que si resiste el procesamiento, el almacenamiento, etc., todos los demás nutrimentos se verán poco afectados.

Se oxida fácilmente a ácido dehidroascórbico, mediante una reacción reversible, estableciendo un sistema de oxidorreducción; a su vez, este ácido se sigue oxidando y se transforma en ácido 2,3-dicetogulónico que no tiene actividad biológica (figura 6.8). Por medio de la degradación de Strecker (vea el capítulo 2), el ácido 2,3-dicetogulónico se cicla y produce anhídrido carbónico y furfural que se polimeriza y forma melanoidinas de manera semejante a las del oscurecimiento no enzimático. 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. Este mecanismo se complica notablemente en presencia de azúcares reductores y aminoácidos que favorecen otras rutas de degradación, semejantes a las descritas en el capítulo 2.

Debido a la gran influencia del oxígeno en la destrucción de esta vitamina, la concentración industrial de los jugos de cítricos debe hacerse a baja temperatura y al vacío y no en recipientes abiertos, expuestos al aire. Sin embargo, y a pesar de eliminar este gas, la vitamina C se destruye térmicamente vía anaeróbica no oxidativa, de menor importancia, que alcanza su máximo a pH 4 como ocurre 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.

Figura 6.8 Degradación del ácido ascórbico.



Su oxidación ocurre en función de muchas variables, sobre todo disponibilidad de oxígeno, temperatura, pH (más estable a pH ácidos), metales de transición (hierro y cobre) y luz; también influyen algunas sales, la *Aa*, los peróxidos, ciertas enzimas (la de ácido ascórbico oxidasa que contiene cobre) y la presencia de otras vitaminas, principalmente la riboflavina por ser fotosensible. Al procesar un alimento se presentan condiciones en las que actúan muchas de estas variables de manera conjunta y sinérgica, y sólo en sistemas modelo se estudia de forma individual cada una.

A medida que aumenta la actividad del agua se favorece su destrucción, ya que el Cu y el Fe actúan como catalizadores al solubilizarse, tal como se indicó en el capítulo 1; esto se ha visto en productos deshidratados, como los jitomates, cuya concentración vitamínica se reduce independientemente del oxígeno existente, pero de una manera proporcional a la *Aa:* a valores menores de 0.4 no hay alteraciones, quizá 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.

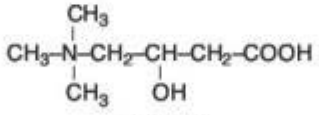
A pesar de que el escaldado provoca pérdidas de las vitaminas hidrosolubles por la lixiviación y el calor, también ayuda a conservar el ácido ascórbico en los productos deshidratados por la desactivación de la ácido ascórbico oxidasa; esta enzima actúa en productos frescos que no han sido sujetos a tratamientos térmicos que la desnaturalicen, y su acción provoca la transformación de la vitamina C en ácido dehidroascórbico mediante el consumo de 1/2 O_2.

Las diversas etapas de la industrialización de vegetales (lavado, pelado, escaldado, sulfitación y esterilización) propician la pérdida de esta vitamina. Sin embargo, las condiciones de proceso se pueden optimizar para lograr su mayor retención, conservando igualmente las propiedades sensoriales y de inocuidad.

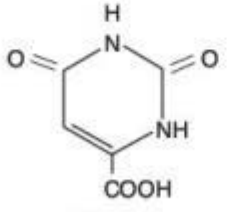
Además del ácido ascórbico, comercialmente existen los L-ascorbatos de sodio, potasio y calcio, así como el palmitato de L-ascorbilo, que se añaden a los alimentos por su función como nutrimento, antioxidante, secuestrante y conservador.

Compuestos asociados a las vitaminas

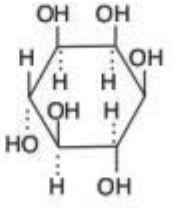
Existen algunas sustancias asociadas a las vitaminas, por ejemplo la colina, la L-carnitina[38] y la coenzima Q_{10}[11]. La primera participa en procesos metabólicos relacionados con la integridad de la membrana celular y la transmisión interneuronal; se encuentra en todos los seres vivos, principalmente en forma de fosfatidilcolina o lecitina, esfingomielina y acetilcolina. La L-carnitina es un derivado de los aminoácidos que acelera la oxidación de ácidos grasos y la generación de energía; su ausencia causa acumulación de tejido adiposo, está presente en carnes rojas y ausente en vegetales; en forma sintética se añade a los alimentos. La coenzima Q_{10} participa en la protección oxidativa del organismo humano (vea Nutracéuticos).



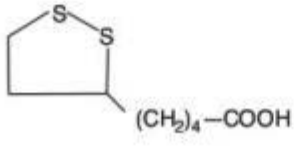
carnitina



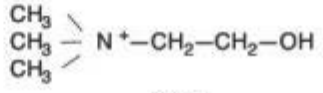
ácido orótico



inositol



ácido lipoico



colina

Resumen de la estabilidad de las vitaminas

Los alimentos se deterioran debido a contaminaciones microbianas, por la actividad enzimática y ante reacciones químicas; para evitar estos cambios y conservarlos por más tiempo, se someten a procesos a base de altas temperaturas (*v. gr.* escaldado, pasteurización, esterilización), bajas temperaturas (*v. gr.* refrigeración, congelación), eliminación del agua (*v. gr.* deshidratación), control de la actividad del agua (*v. gr.* concentración, alimentos de humedad intermedia), empleo de aditivos (*v. gr.* benzoatos, sorbatos), control de pH (*v. gr.* acidificación, fermentación), uso de radiaciones, etc. En algunos casos también se utilizan combinaciones de algunos de esos procesos.

Como hemos visto, de todos esos factores, la lixiviación y las altas temperaturas son responsables de la mayoría de las pérdidas de las vitaminas en los alimentos. No hay información precisa de tales mermas para cada una y para cada condición, pero se considera que en los enlatados varían de 40-80%.

Como un primer paso en la industrialización de los vegetales enlatados está el escaldado (90-95 °C/2-4 min), que sirve para desactivar enzimas y eliminar el oxígeno retenido en los tejidos; en el caso de la vitamina C, esta práctica se refleja en más retención en el producto final al destruirse la ácido ascórbico oxidasa, pero no es algo generalizado con el resto de las vitaminas; de forma paralela, también ocurre una lixiviación que provoca la extracción de las vitaminas hidrosolubles, algunas de las cuales se vuelven más sensibles al calor que en estado natural. La destrucción de muchas de ellas sigue una cinética de primer orden con una dependencia directa de la temperatura, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius.

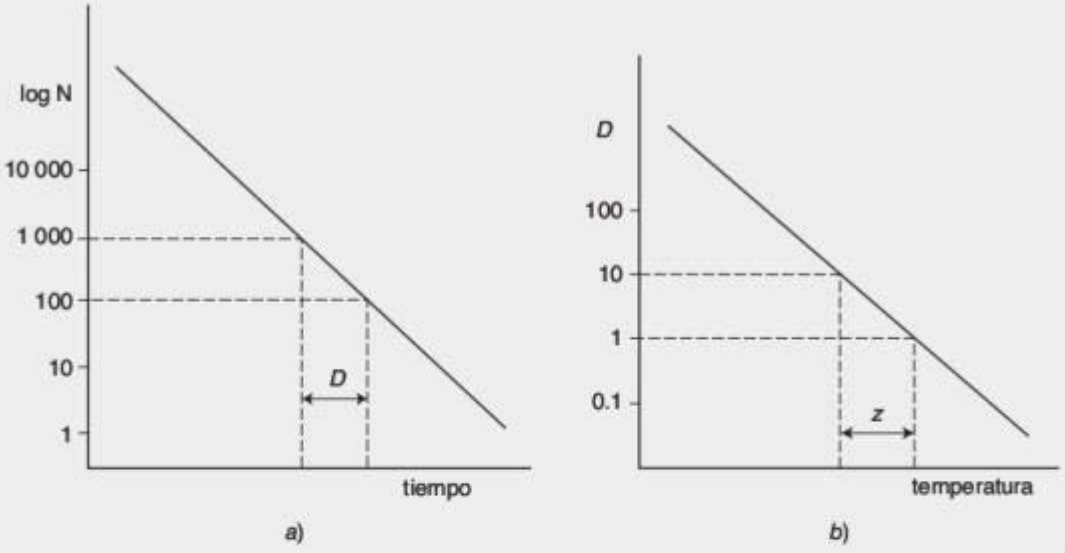
En el cuadro 6.10 se muestra una comparación de las resistencias térmicas de las vitaminas, de los compuestos que imparten las características de color, textura y sabor, y de los agentes indeseables como enzimas, células vegetativas y esporas; los datos son muy generales y pueden variar, pero muestran una tendencia que es importante tomarse en cuenta.

En la figura 6.9 se observa que la destrucción de microorganismos, vitaminas, enzimas, etc., 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*. Así, 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 significa que los valores de *D* muy grandes indican una alta resistencia térmica.

CUADRO 6.10 **Resistencia térmica de constituyentes de los alimentos y de microorganismos[26]**

	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

Figura 6.9 *a*) Curva de tiempo de reducción decimal; N representa la concentración de microorganismos, enzimas, vitaminas, etc. *b*) Curva de tiempo de muerte térmica (TMT).



Por otra parte, en la gráfica de valores de *D vs.* temperatura (figura 6.9-*b*), Z representa el incremento de temperatura para reducir en 90≦, o un ciclo logarítmico, el tiempo *D*; por su parte, Z mide la dependencia de la reacción en la temperatura, de modo que a medida que aumenta, también se incrementa la resistencia térmica.

La influencia de la temperatura T se relaciona con la energía de activación *Ea*, mediante la constante de velocidad de reacción *k*, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius (A y R son constantes):

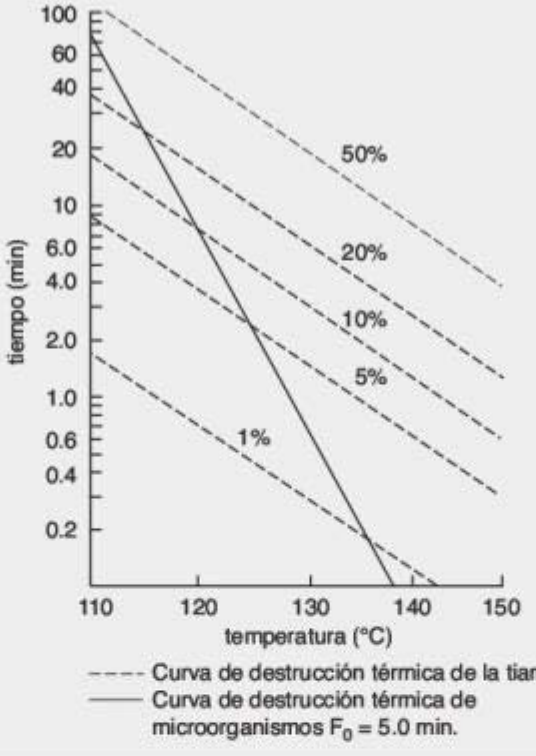
$$k = Ae^{-Ea/RT} \quad \text{o bien,} \quad 1n\ k = 1n\ A - Ea/RT$$

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 en gran medida de la temperatura (D_{121} y Z bajos y Ea 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 ocurre en la pasteurización de la leche que hoy en día se efectúa a 73 °C por 15 s (en lugar del método antiguo de 61.8 °C/30 min), o bien la ultrapasteurización a 140 °C por 2-4 s; el mismo principio se aplica en la esterilización comercial de los enlatados. 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 6.10; 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 lo anterior, se puede concluir que si se diseñan adecuadamente los procesos, en especial 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.

Figura 6.10 Curva de esterilización para la destrucción de esporas, comparada con soluciones de tiamina a diferentes concentraciones.[26]



Por otra parte, en el cuadro 6.11 se muestran las pérdidas de vitaminas de algunos vegetales enlatados. Resaltan de forma importante las grandes variaciones porcentuales para una misma vitamina entre los diferentes productos, como la B_6 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, sobre todo, de factores como temperatura/tiempo, pH, potencial de oxidorreducción, actividad del agua, fuerza iónica, metales presentes y los efectos protectores de polímeros, como proteínas e hidratos de carbono.

Durante los tratamientos térmicos a los que se someten los diversos derivados lácteos se destruyen vitaminas; 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. También la luz la afecta, principalmente por su contenido de riboflavina.[12] 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.

A manera de resumen y en forma muy generalizada, en el cuadro 6.12 se muestra la estabilidad de diversos nutrimentos ante algunas condiciones; esta información es sólo indicativa y debe tomarse con reservas ya que, como hemos reiterado, la estabilidad de las vitaminas es un fenómeno multivariable y muy complejo en el que interviene un gran número de factores. La sensibilidad a los tratamientos térmicos de las vitaminas C, D, E, B_1, B_2, B_6, ácido pantoténico y folatos, varía con el pH; el potencial de oxidorreducción es un factor muy importante con la A y la E, igual que con la C, la tiamina, la biotina, el ácido pantoténico

CUADRO 6.11 **Porcentaje de pérdida de nutrimentos durante el enlatado**[26]

	Biotina	Ácido fólico	Vit. B_6	Ác. pantoténico	Vit. A*	Tiamina	Vit. B_2	Niacina	Vit. C
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
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.

y los folatos. En la destrucción del tocoferol influye significativamente la actividad del agua. La tiamina es menos sensible al calor cuando está unida a proteínas que en estado libre, pero con otras vitaminas ocurre lo contrario; algunas son más inestables en presencia de otras. El ácido fólico se destruye con facilidad en presencia de ácido ascórbico; este último estabiliza la vitamina A mientras que afecta a la B_{12}; la riboflavina acelera la transformación de los ácidos fólico y ascórbico, etcétera.[23]

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, incluidos los bisulfitos y metabisulfitos destruyen la tiamina y algo de la vitamina B_2, al tiempo que protegen el ácido ascórbico.

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, en lugar de traer beneficios, la sobrefortificación puede causar problemas de toxicidad.

Nutrimentos inorgánicos o minerales

Los nutrimentos inorgánicos, llamados comúnmente minerales, son diversos elementos químicos necesarios para asegurar el bienestar de los individuos. El análisis de las cenizas de plantas, microorganismos, animales y cadáveres de seres humanos revela más de 60 ellos,

CUADRO 6.12 **Estabilidad de algunos nutrimentos[24]**

Nutrimentos	Neutro pH = 7	Ácido pH < 7	Alcalino pH > 7	Oxígeno o aire	Luz	Calor	Porcentaje de pérdidas máximas en el cocimiento
Vitamina A	E	I	E	I	I	I	40
Ácido 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
Ácido pantoténico	E	I	I	E	E	I	50
Ácido *p*-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.

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.[4] De manera conjunta, estos elementos representan aproximadamente 4% del peso total del cuerpo humano, donde resaltan el calcio con 2% y el fósforo con 1%.

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.[14,29] Actúan de diversas maneras, en la formación de tejidos rígidos del cuerpo (Ca, P, F, Mg), como cofactor de enzimas (Mn, Zn, Cu, Mo, Na), como integrante de vitaminas, hormonas, mioglobina y hemoglobina (Co, I, Fe), para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y del pH (Na, K, Cl) y como parte constitutiva de algunas macromoléculas (S, P, Fe). 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, el potasio y el cloro desarrollan compuestos sencillos que

existen en solución, por lo que forman iones libres fácilmente absorbibles, mientras que el calcio, el hierro, el fósforo y el magnesio, que integran compuestos insolubles, son más difíciles de asimilar.[34]

Los minerales presentes 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, etc. 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 horneo, etc., contienen diversos elementos químicos que también contribuyen al contenido de los alimentos.

Calcio

Es el elemento químico más abundante en el ser humano y representa hasta 2% del peso corporal, equivalente a 1 000-1 500 g en un adulto. Aproximadamente 99% de este elemento se encuentra distribuido en las estructuras óseas y el restante 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 la coagulación de la sangre, la contracción muscular, la activación enzimática y la transmisión de impulsos nerviosos. Los huesos están integrados por fosfato de calcio, pero también por colágeno que confiere resistencia, ya que de otra manera el hueso sería tan frágil como una cascara de huevo.

Se recomienda una ingesta diaria de 900-1 000 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 50%. Del calcio que se consume, aproximadamente 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 a 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.

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 [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] 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 es muy común, y esto conlleva problemas de absorción del calcio y de otros elementos al interactuar con ellos y hacerlos indisponibles.

Cabe aclarar que una gran parte del calcio que se consume en México 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 que facilita su absorción.

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 amortiguador del pH en la sangre, o en las células 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 (DNA y RNA), forma las fosfoproteínas, etc. Su absorción es más sencilla que la del calcio, aunque se ve afectada por los mismos factores antes mencionados; su biodisponibilidad varía, pero se calcula que se aprovecha 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.

Hierro

Este elemento cumple diversas funciones biológicas, en especial 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, el pollo y el pescado, y como Fe no-hemo o inorgánico presente en granos, leguminosas y vegetales. El primero tiene una mayor biodisponibilidad (20-30%) que el segundo, que es de tan sólo 2-10% y que depende de la presencia de los inhibidores de su absorción (fitatos, polifenoles, calcio y fosfatos) y de los promotores de su absorción (vitamina C, ácido cítrico, péptidos con cisteína y productos fermentados).[21]

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 se ha identificado en niños menores de 10 años en las zonas rurales de México.[32] Las recomendaciones de su consumo diario se muestran en el cuadro 6.1.

Sodio

El sodio desempeña muchas funciones biológicas importantes, ya que mantiene el pH sanguíneo y el equilibrio hídrico, participa en la conducción nerviosa y en la contracción muscular. Todos los alimentos lo contienen de manera natural, aun cuando su principal fuente es la sal común o cloruro de sodio (NaCl), adicionada en la industria o en la cocina.

Una vez en la sangre, el sodio se hidrata con fuerza y retiene agua, lo que provoca la dilución y la reducción de la densidad del suero sanguíneo (figura 1.4); el corazón, el hígado y el riñón deben trabajar con más intensidad con un mayor volumen de líquido para poder suministrar la glucosa, el oxígeno y demás nutrimentos a los distintos órganos. En estas condiciones, el corazón incrementa su presión arterial y con ello graves problemas de hipertensión; como dato curioso, en la antigua China era común el suicidio por consumo excesivo de sal.

Por su peso molecular, el ion Na representa 39.4% del NaCl y, en consecuencia, 1 g de sal proporciona 394 mg de sodio. Con base en esto, la recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 6 g/día (una cucharadita) para un adulto, equivale a 2.36 g de Na, mientras que para niños sugiere 4 g de sal/día, o 1.57 g de sodio. La mayoría de la gente acepta los alimentos con una concentración de sal de 0.6 a 1.0%; en México se va al límite superior, de modo que el consumo per cápita es de 10 g de sal/día, cuyo origen es tanto de los alimentos industrializados como de los preparados en la cocina.

En el capítulo 9 se revisan los sustitutos de sodio más comunes usados en la industria de los alimentos.

Otros elementos

En forma conjunta, el cloro y el sodio forman parte del plasma sanguíneo y del líquido extracelular que rodea las células, 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.

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, 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. 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 utiliza para enriquecer la sal de mesa en una concentración de 25-50 mg/kg; la deficiencia de yodo produce el bocio. El cromo facilita el aprovechamiento de los azúcares para generar energía.

Referencias bibliográficas

1. Allen, L.H. y Casterline, J. 1994. "Vitamin B12 deficiency in elderly individuals: diagnosis and requirements". *Am. J. Clin. Nutr.* 60:12-14.
2. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, Berlín, cap. 4.
3. Bitsch, R. 1993. "Vitamin B6". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:278-282.
4. Bourges, H. 1993. "Elementos de Nutriología". *En: Química de los Alimentos*, pp. 521-578. S. Badui. Pearson Educación, México.
5. Bourges, H., Casanueva, E. y Rosado, J. eds. 2005. *Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana*, Tomo 1. Editorial Médica Panamericana. México.
6. Bowman, B.B. y R.M. Russell (2001). *Present Knowledge in Nutrition*, 8a. ed. International Life Sciences Institute, ILSI Press, Washington, D.C.
7. Briozzo, J. 1987. "Improvement of thiamin retention in canned low-acid foods through pH adjustment". *J. Food Sci.* 52:827.
8. Bugusu, B. 2010. "Exploring Food Nanomaterials". *Food Technol.* 10:44-49.
9. Combs, G.F. (Ed.). 1992. "The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health", Academic Press, Inc., San Diego, Cal. E.U.
10. Coultate, T.P. 2002. *Food: The Chemistry of its Components*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
11. Crane, F.L. 2001. "Biochemical functions of coenzyme Q_{10}". *J. Am. Coll. Nutr.* 20:591-598.
12. DeMan, J.M. 1981. "Light-induced destruction of vitamin A in milk". *J. Dairy Sci.* 62:2031.
13. Encyclopedia of Foods. 2002. *A guide to healthy nutrition*. Mayo Clinic. Academic Press, California. E.U.
14. FAO/ILSI. 1997. "Preventing Micronutrient Malnutrition: A Guide to Food-Based Approaches", *ILSI Press*, Washington, D.C. E.U.
15. FAO/WHO. 2001. "Human Vitamin and Mineral Requirements". FAO, Roma, Italia.
16. Finglas, P.M. 1993. "Thiamine". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:270-274.
17. Fundación Campo, Educación y Salud, A.C. 2010. *5 × día*. México.
18. Garrow, T.A. 2001. "Choline and carnitine." *En: Present Knowledge in Nutrition*, 8a. ed. B.B. Bowman y R.M. Russell, eds. International Life Sciences Institute. ILSI Press, Washington, D.C., pp. 261-272.
19. Gregory, J.F. 2008. Vitaminas. *En: Química de los Alimentos*, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
20. Gregory, J.F. 1993. Ascorbic acid bioavailability in foods and supplements. *Nutr. Rev.* 51:301-309.
21. 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.

22. Holden, J.M., J.M. Harnly y G.R. Beecher. 2001. Food Composition. *En: Present Knowledge in Nutrition*, B.B. Bowman y R.M. Russell, eds. International Life Sciences Institute. ILSI Press, Washington, D.C., pp. 593-604.

23. Karel, M. 1979. "Effect of storage on nutrient retention of foods." *Food Technol.* 33(2):36.

24. Karmas, E. y R.S. Harris. 1988. Nutritional Evaluation of Food Processing. Van Nostrand Reinhold Co., Nueva York.

25. Lindsay, R.C. 2008. Aditivos alimentarios. *En: Química de los Alimentos*, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

26. Lund, D.B. 1977. "Design of thermal processes for maximizing nutrient retention", *Food Technol.*, 31(2):71.

27. Maiani, G., Azzini, E. y Ferro-Luzzi, A. 1993. "Vitamin C". *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63:289-295.

28. Mermelstein, N.H. 2011. Addressing Bioavailability and Digestibility. *Food Technol.* 3:76-79.

29. Miller, D.D. 2008. Minerales. *En: Química de los Alimentos*, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

30. Muñoz de Chávez, M. 2010. *Composición de alimentos*. McGraw Hill Educación. México.

31. Norma Oficial Mexicana. NOM 051. 2010.

32. "Perfiles Nutricionales por Países-México". Agosto 2003. FAO, Roma 33. Tehiliani, A.G. y Beinlich, C.J. 1991.

33. "Pantothenic acid in health and disease". *Vitam. Horm.* 46:165-228.

34. Tovar, A.R. ed. 2006. *Los micronutrimentos. Aspectos teóricos y prácticos*. Fundación Mexicana para la Salud. México.

35. Vega Franco, L. y M.C. Iñárritu Pérez. 2010. *Fundamentos de nutrición y dietética*. Pearson, México.

36. Wall, J.S. y K.J. Carpenter. 1988. "Variation in availability of niacin in grain products. Changes in chemical composition during grain development and processing effect the nutritional availability of niacin". *Food Technol.* 42:198-204.

37. Weir, D.G. y Scott, J.M. 1999. "Cobalamins Physiology, Dietary Sources and Requirements". *Encyclopedia of Human Nutrition* 1:394.

7

- Introducción
- Pigmentos naturales y sintéticos
- Carotenoides
- Clorofilas
- Pigmentos fenólicos
- Betalainas
- Hemopigmentos
- Otros pigmentos naturales

Referencias bibliográficas

Isabel Guerrero Legarreta
Eloísa López Hernández
Roberto E. Armenta López
Raquel García Barrientos

Pigmentos

Introducción

La apariencia y el color son factores importantes para que el consumidor valore la calidad de un alimento y lo acepte o lo rechace. Ambos aspectos son los atributos de calidad más importantes de los alimentos debido a la capacidad y facilidad que el ser humano posee para percibir esas características, las primeras que evalúa al adquirir alimentos. Los colores pueden deberse a diferentes compuestos, algunos de los cuales se producen durante su manejo y almacenamiento, aunque en la mayoría de los casos son resultado de la presencia de las sustancias pigmentantes que contienen o que se les añaden.

El color es esa parte de la energía radiante que el ser humano percibe mediante la estimulación de la retina del ojo a longitudes de onda de entre 380 y 780 nm, de modo que no es una propiedad del objeto ni de la luz que incide sobre él, sino el efecto de un estímulo sobre la retina que el nervio óptico transmite al cerebro, donde este último lo integra. El estímulo, a su vez, consiste en una luz reflejada o transmitida por el objeto, a partir de una iluminación incidente.[8]

Las sustancias pigmentantes naturales, que confieren color a los alimentos, pueden descomponerse en presencia de luz, oxígeno, metales y altas temperaturas, así como por la acidez o alcalinidad del medio. En la industria alimentaria se adicionan colorantes con propósitos como: *a*) devolver el color o intensificarlo cuando el que posee naturalmente casi

se ha perdido por el procesamiento; *b*) asegurar la uniformidad en tonos y evitar variaciones en su intensidad; *c*) como indicador visual de la calidad del producto, y *d*) para conservar la identidad y el carácter de los alimentos.[27,117] En general, los pigmentos naturales relacionados con los alimentos se dividen en clorofilas, carotenoides, antocianinas, flavonoides, betalaínas, taninos, hemopigmentos y otros. La mayoría están presentes en productos vegetales, aunque los carotenoides también se encuentran en crustáceos y algunos microorganismos como levaduras y algas.

Pigmentos naturales y sintéticos

De acuerdo con su origen o procedencia, los aditivos de color, o materiales pigmentantes, se clasifican en tres grandes grupos: naturales, idénticos a naturales y sintéticos. Estos últimos son los que no están presentes en los alimentos de manera natural, de modo que muchos han sido producidos por síntesis química; se han utilizado desde hace mucho tiempo también en los textiles. Tienden a proporcionar una apariencia más brillante que pigmentos naturales de tonalidad similar, son más baratos de producir, tienen más tonalidades y son muy estables cuando se añaden a los alimentos. Sin embargo, ha sido en estos materiales pigmentantes donde se han encontrado más casos de toxicidad, por lo que es necesario legislar al respecto.

Los pigmentos idénticos a los naturales se definen como análogos sintéticos, y son producidos por compuestos presentes naturalmente, como el trans-β-caroteno. La síntesis comercial proporciona una forma de producir pigmentos con mayor homogeneidad que los análogos naturales, por ejemplo el β-Apo-8′-carotenal, el etil-ester de ácido β-apo-8′-carotenoico y la vitamina B2 (riboflavina). La producción química de pigmentos idénticos a los naturales no es redituable debido a su elevado costo, además de que los rendimientos son bajos y producir pigmentos naturales es una opción que aumenta rápidamente.[136]

Los pigmentos naturales son generados por vegetales o animales, o bien están presentes en los minerales, aunque generalmente las fuentes son comestibles. Se emplean métodos probados y específicos de preparación, y casi siempre se purifican y concentran antes de su uso a fin de eliminar materiales indeseables. Este concepto excluye al color caramelo que se fabrica procesando amoniaco o sus sales, así como las clorofilidas de cobre, debido a que en su preparación se involucra la modificación química durante el proceso de obtención; sin embargo se les clasifica como colorantes naturales debido a que contienen materiales que se encuentran en la naturaleza, como el dióxido de titanio, carbonato de calcio y óxido ferroso.

Pigmentos naturales

El número de colores sintéticos que permiten las instancias gubernamentales en el mundo ha disminuido en los últimos 30 años, debido a que los consumidores prefieren productos de origen natural, con el consecuente aumento en la disponibilidad de pigmentos naturales para alimentos. Al mismo tiempo, el consumidor se ha interesado más en los efectos que para su salud tienen algunos atributos de los aditivos alimentarios en general, y en particular de los colorantes. Se han desarrollado nuevas fuentes naturales de pigmentos, como carotenoides de microalgas y aceite de palma, licopeno de jitomates y de ficomicetos, luteína de flor de cempasúchitl y antocianinas de frutas y semillas. La producción de pigmentos *in vitro* también ha despertado el interés en la investigación aplicada y el desarrollo tecnológico.[157] Los colorantes naturales que más se emplean en los alimentos a nivel mundial son el color caramelo, el anato

(bixina y norbixina), las antocianinas de diversas fuentes, el betabel (betalaínas y vulgaxantinas), la curcumina (resina turmérica) y la cochinilla (carmín y ácido carmínico).

Cada tipo de material pigmentante tiene sus propias ventajas y desventajas con respecto a la estabilidad y ámbito de aplicación. Por ejemplo, la producción del ácido carmínico es más cara que el betabel, pero ofrece una excelente estabilidad y fuerza tintórea. En fechas recientes algunos pigmentos naturales como β-caroteno, clorofilas y clorofilidas, licopeno y luteína han aumentado su participación en el mercado debido al desarrollo más eficiente de técnicas de extracción. A nivel mundial, los pigmentos naturales gozan de mayor aceptación que los sintéticos, aunque el principal reto en su desarrollo es obtener la estabilidad de color y variedad de tonalidad que se obtienen con los pigmentos sintéticos.[117] El uso de emulsiones dispersables para carotenoides evita la oxidación del pigmento y, por tanto, la degradación del color, lo que limitaría sus aplicaciones. Las microemulsiones de pigmentos liposolubles dispersables en agua aumentan la estabilidad al calor, luz y pH. La inclusión de pigmentos en ciclodextrinas también se utiliza para aumentar la estabilidad y dispersabilidad de formulaciones solubles, tanto en agua como en aceite.[136] Se ha optado por la nanotecnología para estabilizar pigmentos naturales, aunque todavía no se tiene un panorama claro de la percepción del consumidor con respecto a las nanoemulsiones, ni sus implicaciones a nivel fisiológico. La empresa trasnacional BASF patentó el uso de dispersiones de nanopartículas de carotenoides[33] para pigmentar compuestos no polares en medios acuosos. En casos como el carmín de cochinilla, la materia prima no se considera material alimentario debido a que lo produce un insecto.

Es importante recordar que muchos pigmentos naturales han sido revaluados por su potencial nutracéutico. Tal es el caso de α y β-carotenos y licopeno, reconocidos como antioxidantes, la resina turmérica por su efecto antitumoral, así como varios flavonoides, entre ellos las antocianinas, por su efecto antioxidante y cardioprotector.

Pigmentos sintéticos

Los colorantes sintéticos que se utilizan en los alimentos deben poseer ciertas características básicas a fin de prevenir riesgos para la salud de los consumidores y garantizar su utilidad. Entre las más importantes están su inocuidad, pureza química, alto poder tintóreo, facilidad de incorporación al alimento, estabilidad a la luz, al calor y a los cambios de acidez y alcalinidad, compatibilidad con los productos que van a pigmentar, no conferir olores ni sabores desagradables para no alterar las características del alimento que colorean y tener bajo costo.[48]

Debido a los riesgos derivados del consumo de aditivos sintéticos, se ha legislado respecto a la posible toxicidad de los pigmentos. La Unión Europea elaboró una lista que comprende 42 materiales pigmentantes diferentes para su uso en alimentos, de los cuales 15 son sintéticos de tipo orgánico; los demás son naturales o idénticos a ellos.[152]

Límites legales

Los aditivos derivados de fuentes naturales son, por naturaleza, más difíciles de definir que los sintéticos y presentan más problemas para establecer sus aplicaciones. La directiva 2008/128/EC, de la Unión Europea, establece una lista con los nombres, sinónimos, una definición del producto (por ejemplo, la pureza del compuesto, oleoresina, solución acuosa, etc.), nombre químico y fórmula, análisis total, límites de análisis, descripción y usos funcionales, lista de características (solubilidad, intervalo de fusión, reacciones de color, identificación cromatográfica), lista de pureza y criterios de pruebas (solventes residuales, metales pesados y pruebas analíticas basadas en métodos espectrofotométricos).

En 2007 se publicó un estudio[95] que correlaciona los pigmentos sintéticos con la posible hiperactividad en niños. A solicitud de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) se hizo una revisión y se llegó a la conclusión de que el estudio original (para efectos prácticos llamado "estudio Southampton") proporcionó evidencia limitada de las formulaciones de color que se estudiaron, sin ofrecer una conclusión válida. A pesar de ello, se recomendó a los fabricantes de alimentos que contenían uno de los colorantes reportados que a partir de julio de 2010 incluyeran en sus etiquetas una leyenda que indicara al colorante como posible causa de hiperactividad. Ante la obviedad del mensaje negativo, los fabricantes optaron por cambiar a colorantes naturales y el resultado fue un incremento notable en las ventas de esos colorantes en el mundo.

Tanto la EFSA en Europa, como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) a través del Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA),[48] han establecido un límite de aditivos (acceptable daily intake, o ADI), que es la cantidad que puede ser consumida diariamente por tiempo indefinido sin causar daño a la salud, expresada en relación con el peso corporal. El cuadro 7.1 indica las ADI de los pigmentos naturales y sintéticos que más se emplean.

La estructura química determina las propiedades de los pigmentos que van más allá del color, aunque éste sea su característica evidente; la estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento; su reactividad con otros compuestos químicos para determinar tanto el color como su durabilidad o cambio; su posible toxicidad, lo que en algunos casos implica tener que certificarlos para que cumplan con las normas oficiales, y su posible capacidad como micronutrientes.

El cuidado de la salud a través de la dieta es actualmente una preocupación constante en el mundo; los procesos oxidativos, mediados por la presencia de radicales libres, están asociados con enfermedades degenerativas en humanos, incluido el cáncer y las enfermendades coronarias. Tres tipos de pigmentos con características antioxidantes, flavonoides, antocianinas y carotenoides, han tenido especial importancia en la reducción de la incidencia de estas enfermedades; por otro lado, se han reportado algunos flavonoides 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.

Carotenoides

Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos muy difundidos en los reinos vegetal y animal, que 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 de ellos anualmente se sintetizan más de 100 000 toneladas de fuentes naturales. Sus ventas en el mundo sobrepasan los mil millones de dólares. 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. Están presentes en frutas y verduras como tomates, zanahorias, piñas y cítricos; en flores como el cempasúchil y el girasol; en semillas como el achiote; en algunas estructuras animales como el plumaje de flamencos y canarios; en los músculos de algunos peces como el salmón y la trucha; en crustáceos como el camarón, la langosta y el cangrejo; en microalgas como la *Haematococcus pluvialis*; en levaduras como la *Phaffia rhodozyma (Xanthophyllomyces dendrorhous)*, y en bacterias como *Corynebactrium poinsettiae*.[5,161] Aunque también se encuentran en las hojas verdes,

CUADRO 7.1 **Ingesta diaria permitida (ADI, mg/kg) de pigmentos naturales y sintéticos[44,48,152]**

		EFSA	JECFA
Colores sintéticos	Tartracina	7.5	0-7.5
	Amarillo quinolina	0.5	0-10
	Amarillo Sunset FCF	1(1)	0-2.5
	Azorubina	4.0	0-4
	Amaranto	0.015	0-0.5
	Rojo ponceau 4R	0.7	0-4
	Eritrosina	0.1	0-0.1
	Rojo Allura AC	7.0	0-7
	Azul patent V	15.0	ND
	Indigotina	5.0	0-5
	Azul brillante FCF	10.0	0-12.5
	Verde S	5.0	ND
	Negro brillante BN	5.0	0-1
	Café FK	ND	ND
	Café HT	1.5	0-1.5
	Litolrubina BK	ND	ND
Colores naturales	Cúrcuma	3	0-3
	Riboflavina	AC	0-0.5
	Riboflavina-5-fosfato	AC	0-0.5
	Carmín de cochinilla	5 (2)	ND
	Ácido carmínico		0-5
	Clorofilas	AC	IL
	Clorofilinas	AC	(3)
	Complejos de cobre de clorofilas	15	0-15
	Complejos de cobre de clorofilinas	15	0-15
	Color caramelo I	AC	NE
	Color caramelo II	200	0-160
	Color caramelo III	200	0-200
	Color caramelo IV	200	0-200
	Carbón vegetal	AC	DP
	Carotenos de plantas	AC	AC
	Carotenos de algas	AC	ND
	β-caroteno (sintético o bacteriano)	AC	0-5
	Anato (bixina/norbixina)	0.065	0-12 (4) 0-0.6 (5)
	Extracto de páprika	ND	AC
	Licopeno	0.5	0-0.5
	β-apo-8'carotenal	5	0-5
	Luteína	0.03	0-0.03
	Cantaxantina	0.03	0-0.03
	Betabel	AC	NE
	Antocianinas	AC	0-2.5 (6)
	Carbonato de calcio	AC	IL
	Óxido de titanio	AC	IL
	Óxidos e hidróxidos de fierro	AC	0-0.5

(1) Aprobación temporal. (2) Incluye carmín de cochinilla y carmines. (3) Clorofilidas en general. (4) Bixina. (5) Norbixin. (6) Extracto de cáscara de uva.
ND - aplicación no definida; AC - aceptable; IL - ilimitado; NE - no especificado.
DP - decisión pospuesta.

sólo aparecen en invierno cuando la clorofila, que es mucho más abundante, desaparece. En algunas de las fuentes citadas, especialmente en los microorganismos, se produce sólo en 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 aquéllos, 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, que a su vez producen el color. El espectro de absorción tiene máximos cuyas longitudes de onda dependen del número de dobles enlaces conjugados.[100]

Estructura y características químicas

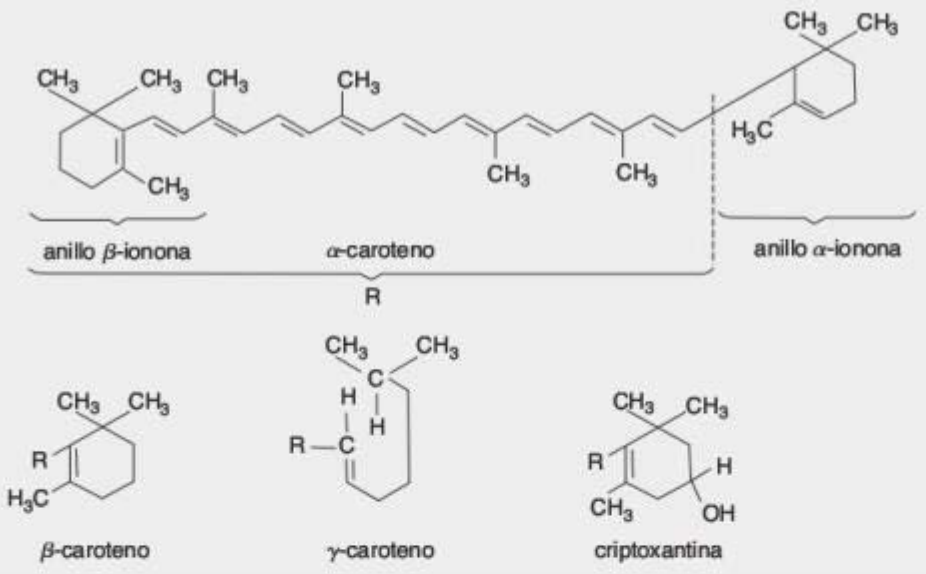
Los carotenoides se dividen en dos grupos químicos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantófilas, sus derivados oxigenados. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y poco en etanol; entre ellos destacan los α, β y γ-carotenos y el licopeno. Las xantófilas pueden presentarse como 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. La estructura de carotenos y xantófilas consiste en 8 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 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.[47,53]

Existen en forma libre, disueltos en la fracción lipídica del tejido vegetal o animal y forman complejos con proteínas (carotenoproteínas), 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 que se encuentra en crustáceos; cuando está en el caparazón de estos animales, presenta una coloración azul debido a su esterificación con una proteína de 260 kilodalton (kDa). Sin embargo, el mismo pigmento da coloración rojo-anaranjado cuando la proteína unida al pigmento se hidroliza o degrada, lo que se observa cuando crustáceos son cocinados, o las carotenoproteínas son hidrolizadas con enzimas proteolíticas. También el mismo pigmento da coloración verde a los huevos de langosta cuando se une a otra proteína.[12] La cantidad de xantófilas en la naturaleza sobrepasa a la de carotenos; aunque el β-caroteno es, quizás, el carotenoide de mayor importancia en la tecnología de alimentos. 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.

Carotenoides en alimentos

El maíz amarillo tiene de 1 a 4 ppm de carotenos y de 10 a 30 ppm de xantófilas, entre las que destacan la zeaxantina y la luteína. Esta última es también la principal responsable del

Figura 7.1 Diferencias químicas de los carotenoides.



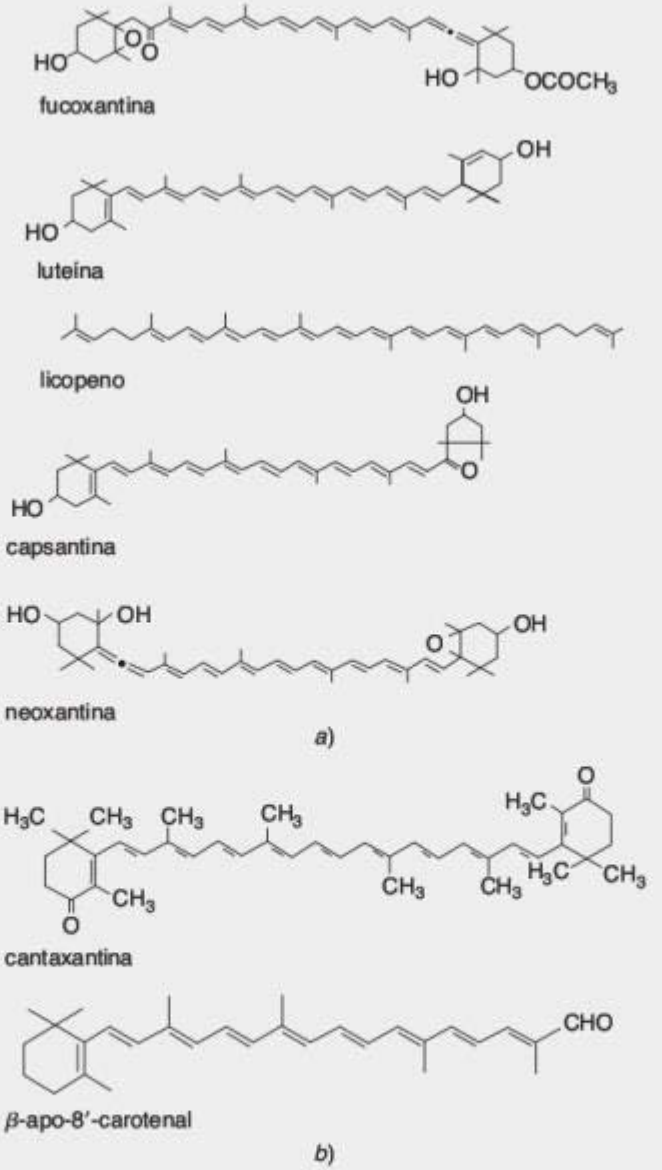
amarillo de la flor de cempasúchil *(Tagetes erecta)*; por eso en los últimos años se ha vuelto una práctica común en algunos países adicionar los pétalos deshidratados en la alimentación avícola para propiciar la pigmentación de la yema del huevo, así como de la piel y las patas de los pollos.

La astaxantina, que se encuentra en pequeños crustáceos llamados krill, los cuales son alimento de salmones, langostas y camarones en estado salvaje; pero al criarlos en granjas pierden su coloración debido a la falta de material pigmentante en su dieta. Por lo anterior, es fundamental suministrarla para conservar la coloración.[11] Recientemente se ha comercializado la trucha salmonada, que adquiere un color similar a los salmones al incluir en su dieta astaxantina sintética o natural que, además de actuar como antioxidante —y por tanto ser un nutracéutico—, es también muy apreciada en la industria de cosméticos debido a su tono rojo-anaranjado.

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 efectúa la extracción y la identificación.[85] El jugo y la pulpa 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. Según la variedad de la fruta, los jugos de naranja y de limón contienen de 1 a 2.5 mg de xantófilas/100 mL, y de 0.05 a 0.1 mg de carotenos. De estos pigmentos cabe destacar la presencia de la criptoxantina.[59]

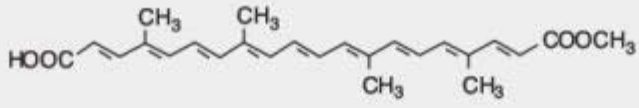
A diferencia de otras frutas y hortalizas, los jitomates y las zanahorias presentan mayor cantidad de carotenos que de xantófilas. El licopeno, de estructura lineal abierta, es responsable del tono rojo de los jitomates, aunque también existen pequeñas cantidades de β y α-caroteno y xantófilas, lo que 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 α-caroteno; el β-caroteno y las xantófilas sólo están presentes en una concentración de 5 a 10 ppm.

Figura 7.2 Estructura de los carotenoides más importantes en alimentos *a*) y estructuras de cantaxantina y β-8′-apo-carotenal *b*), carotenoides sintéticos.



La cantidad de los distintos carotenoides varía mucho con la madurez de los productos vegetales y con la pérdida de la clorofila. En frutas como manzanas y peras, estos pigmentos están presentes en mayor cantidad en la cáscara o en la piel (5.6 y 5.4 ppm, respectivamente), pero en menor cantidad en la parte interna o carnosa (3 y 0.7 ppm, respectivamente). Su composición 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.[85]

Figura 7.3 Estructura de la bioxina.



bixina

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 (*Bixia orellana*),[94,135] que se utiliza como aderezo de color y sabor en la cocina mexicana y de otros países (figura 7.3).

Los principales compuestos pigmentantes del azafrán son la crocina, que se sustituye por gentiobiosa, así como la crocetina, también isoprenoides.[93] Están presentes en los tres estigmas, unidos o no al estilo de la flor de *Crocus sativus* Lin.[135] El valor de este pigmento es de tal magnitud que su explotación y comercialización está muy vigilada en los países donde se produce: España, Irán, Grecia, Marruecos e India, a pesar de lo cual es posible encontrar imitaciones, que se obtienen de pigmentar estilos de otras flores con antocianinas, otro tipo de pigmento que se explicará más adelante.

Obtención

En la actualidad, una alta proporción de carotenoides se obtiene de forma sintética, dado 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 y por tanto pueden purificarse por saponificación, para liberar la fracción pigmentante de otras fracciones como proteínas o carbohidratos.[85]

Se han aislado y purificado cerca de 600 carotenoides. Entre los más importantes 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) y astaxantina (crustáceos). Entre los carotenoides de uso comercial existen principalmente los α y β caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina, astaxantina, cantaxantina, capsantina y bixina.[18,100,157] La astaxantina se obtiene de residuos de crustáceos; primero se estabilizan al promover un ambiente reductor y posteriormente se extrae con solventes,[11,12] mientras que varios carotenoides se extraen por medio de solventes, a partir del *Terminalia catappa*, un árbol ampliamente distribuido en el trópico húmedo.[87] El uso de carotenoides en la industria alimentaria ha propiciado el desarrollo de tecnologías que permiten dispersarlos en agua fría,[18,117] y de nanopartículas.[33]

La producción de pigmentos por vía microbiana es una tecnología promisoria. Se han hecho ensayos 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 μg/g de peso seco con *Euglena gracilis*, de 0.18 mg de xantófilas/g con *Clorella 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 productoras de carotenoides, entre ellos *Rhodotorula flava*, *R. gracilis* y *R. sannieli*, que producen β-caroteno pero con bajos rendimientos. Las bacterias son más prometedoras como fuen-

tes de carotenoides, como algunas cepas de *Flavobacterium*. Los carotenoides metoxilados son particulares de ciertas bacterias fotosintéticas como *Athiorhodaceae* y *Thiorhodaceae* spp. Utilizando flavobacterias marinas se ha producido un pigmento similar a zeaxantina hasta en concentraciones de 190 μg/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 que deben resolverse para aplicar esta tecnología, tales como la separación de los pigmentos de las membranas celulares y su cosecha en el medio de cultivo de forma eficiente. Además, requerimientos regulativos pueden incrementarse cuando se producen pigmentos para consumo humano a partir de organismos que han sido modificados genéticamente.

Haematococcus pluvialis se usa de forma comercial para producir carotenoides, específicamente astaxantina. Esta microalaga puede producir hasta 3% astaxantina en peso en seco, la cual tiene un valor comercial superior a los 2 000 dólares por kilogramo. La microalga *Dunalliella salina*, que en su mayoría produce β-caroteno, ha sido objeto de investigación reciente utilizando la innovadora técnica de "ordeño" *(milking)* de carotenoides.[61] Esta técnica consiste en la adición de alcanos (por ejemplo, dodecano) dentro del biorreactor para la extracción de carotenoides mientras la microalga se mantiene viva y produce carotenoides.

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, la empresa farmacéutica Roche introdujo al mercado el β-caroteno sintético como colorante y fortificante de margarina, en 1960 el β-apo-8′ carotenal y en 1964 la cantaxantina.[105]

Es probable que DSM (antes Hoffman-LaRoche) sea el mayor productor de carotenoides sintéticos de mayor venta; éstos son Carophyl rojo® con 10 000 ppm de cantaxantina sintética, y Carophyl rosado® con 8 000 ppm de astaxantina sintética. Estos pigmentos se utilizan ampliamente en acuicultura para pigmentar salmones, truchas, langostas y camarones, entre otros organismos. En este ámbito, los carotenoides también son empleados como factores de crecimiento y moduladores de varios procesos metabólicos en especies acuáticas cultivadas.

Estabilidad

Oxidación

Debido a su estructura insaturada, los carotenoides están sujetos a numerosos cambios químicos inducidos por las diferentes condiciones de procesamiento. Por eso los afecta la presencia de agentes físicos o químicos que favorezcan la producción de radicales libres.[21] La oxidación y subsiguiente desintegración de los carotenoides se inicia en un extremo de la molécula; éste no es un proceso casual, y siempre ocurre en el extremo abierto, antes que en el anillo terminal de ionona. A medida que se saturan y se rompen las dobles ligaduras, el color característico de los carotenoides desaparece.[111,115] 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.[126,141] 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 incluso sulfitando, aunque este método destruye la tiamina.[55,147]

Para la astaxantina extraída de residuos de camarón se ha determinado que la combinación de luz, temperaturas altas y oxígeno tiene el mayor efecto oxidativo, mientras que las condiciones que minimizan la oxidación de este carotenoide es la combinación de ausencia de luz y oxígeno, ya sea a temperaturas bajas o relativamente altas (5-45 °C).[12]

● Isomerización

La isomerización, además de provocar cambios de color, 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.[101] Las temperaturas altas, aun en ausencia de oxígeno, provocan su degradación de diferentes maneras.[6] Se considera que se isomeriza de 15 a 35% de estos pigmentos durante el procesamiento.[138] 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.[85]

● 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] De igual manera en los pimientos deshidratados se observa que la eliminación de agua, hasta aproximadamente 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.[68,138] Por otro lado, al ser insolubles en agua no se pierden por lixiviación.[117,136]

● Procesamiento de aceites

La degradación de carotenoides varía si se encuentra en tejidos intactos o si se han extraído de la fuente original, o adicionados a alimentos, ya que su estabilidad es una función de la permeabilidad de las células. 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 xantófilas, mientras que el aceite refinado presenta 0.5 y 4.8 ppm, respectivamente.[58] La saturación de los dobles enlaces de los carotenoides durante la refinación de aceites es la causa de la pérdida de color.

La palma africana *(Elaeis guineensis)* es la segunda fuente de aceite comestible más importante en el mundo y una de las que presenta el más alto contenido de aceite (45%), así como el que tiene el mayor campo de aplicación, debido a su composición química única. Este aceite es una mezcla compleja de diferentes triglicéridos con distintos puntos de fusión, entre los 50 y 70 °C, y difiere de los demás aceites vegetales comunes por su alto contenido en ácido palmítico (aproximadamente 45%). Debido a su composición semisólida a temperatura ambiente, se han desarrollado procesos que han tenido un alto impacto, como el fraccionamiento, que ha permitido la versatilidad y adaptabilidad del aceite de palma a diferentes aplicaciones alimentarias.[35] El aceite de palma, crudo, es un alimento rico en pigmentos rojos carotenoides, principalmente en α y β caroteno, los que le proporcionan una gran ventaja nutricional, ya que son precursores de la vitamina A; además, se ha demostrado que el caroteno y el tocoferol (vitamina E), presentes en la palma, tienen propiedades protectoras contra el daño de los radicales libres, que se cree son responsables de numerosas enfermedades degenerativas, tales como la arterosclerosis, artritis, carcinogénesis, etc.[67,123,151,160] Entre los carotenoides identificados en la palma de aceite podemos citar el fitoflueno, α, β, γ y ζ-caroteno, licopeno y luteína.[120,128,151]

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, trucha, camarón y langosta, se ha generado a nivel mundial una gran demanda por fuentes pigmentantes.[66] 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.[137] También se ha sugerido que los carotenoides protegen de la oxidación a los ácidos grasos poliinsaturados, ácidos docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA), contenidos en aceites de origen microbiano.[24]

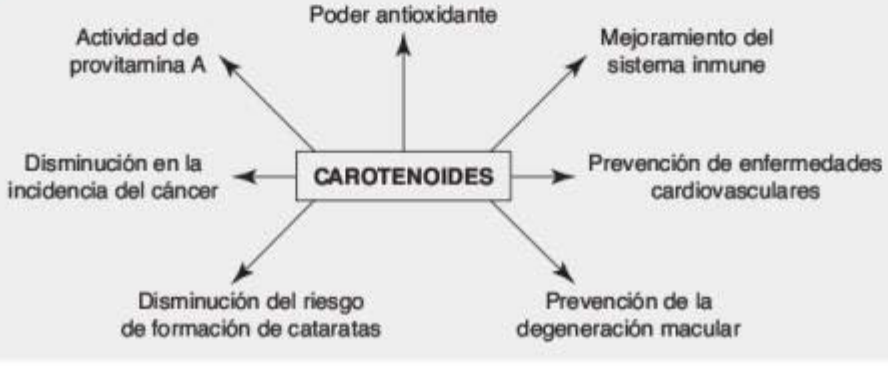
Carotenoides en la salud humana

La importancia de los carotenoides en los alimentos va más allá de su desempeño como pigmentos naturales. Debido a sus características se atribuyen a estos compuestos funciones y acciones biológicas importantes, algunas de las cuales se muestran en la figura 7.4. Se ha encontrado que los de mayor actividad biológica tienen nueve o más dobles enlaces conjugados y grupos en los extremos de su estructura; los más estudiados son el β-caroteno, el licopeno, la luteína y la zeaxantina.[50,92,95,108]

Aunque los resultados no son concluyentes, algunos estudios epidemiológicos indican que el consumo de alimentos ricos en carotenoides está relacionado con un menor riesgo de incidencia de enfermedades crónicas.[82] Esto ha intensificado la investigación al respecto y, más recientemente, el interés se ha centrado en la presencia de isómeros de los carotenoides en la dieta, inducidos por el proceso y su significado fisiológico.

Durante años se ha estudiado el papel que desempeñan los carotenoides en la dieta humana y animal en relación con su capacidad como precursores de la vitamina A.[1] El compuesto más importante como provitamina A es el β-caroteno, tanto en términos

Figura 7.4 Funciones biológicas de los carotenoides.



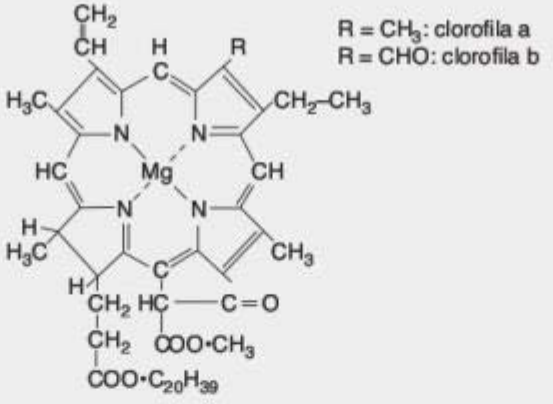
de bioactividad como de amplia incidencia. Otros carotenoides con esta característica son α-caroteno y β-criptoxantina. La condición fundamental para que posean actividad vitamínica es que tengan ciclado y sin oxidar al menos uno de los anillos de los extremos de la estructura, ya que la mucosa intestinal de los animales superiores los oxida y los transforma en retinal. Por consiguiente, varios de los carotenoides más comunes, como el licopeno, la zeaxantina y la luteína no tienen valor como provitamina A, aunque son muy importantes como pigmentos.[120]

Los radicales libres (hidroxilo y peróxido) y las formas altamente reactivas del oxígeno (oxígeno singulete, O_2) son producidas en el cuerpo durante las reacciones y procesos metabólicos normales y pueden dañar a las células. Factores como la contaminación ambiental, el humo del tabaco y la luz ultravioleta, entre otros, pueden elevar la producción de estas especies reactivas. La alta concentración de estos compuestos puede dañar el ADN, las proteínas y las membranas lipídicas. Se ha considerado que estos radicales libres están relacionados con algunas enfermedades crónicas del corazón y de los pulmones, así como artritis y cáncer.[52] Se han desarrollado diversas investigaciones sobre el papel que desempeñan los carotenoides como antioxidantes contra el efecto dañino que provocan los radicales libres producto del metabolismo celular.[50] Las dobles ligaduras inhiben el efecto del oxígeno singulete, el peróxido de hidrógeno y los radicales libres, por lo que tiene actividad inhibitoria en la oxidación de las grasas.[34,86] Se ha relacionado la aparición de algunos tipos de cáncer con la carencia de ciertos carotenoides en la dieta, de modo que son considerados compuestos anticancerígenos; estos estudios reportan que el riesgo de padecer cáncer es inversamente proporcional al consumo de vegetales y frutas ricos en carotenoides.[7] Se ha asociado el consumo de frutas y verduras con la disminución de 30 a 50% en la incidencia de varios tipos de cáncer de pulmón, estómago y piel.[161] También se ha relacionado el consumo de carotenoides con el aumento de actividad del sistema inmune y la disminución del riesgo de enfermedades degenerativas, entre ellas las cardiovasculares, la degeneración macular relacionada con la edad y la formación de cataratas.[55] Estos efectos biológicos se han atribuido también a la propiedad antioxidante de los carotenoides a través de la desactivación de los radicales libres y la captura del oxígeno singulete.[112]

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 dar paso a otros pigmentos como los carotenoides. Este mismo proceso ocurre en los frutos inmaduros, que de color verde se tornan amarillos, rojos, etc., 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 —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 autoxidación, mientras que la clorofila propicia la generación de oxígeno en estado de singulete, lo que favorece esta transformación. Por ello se ha comprobado que la fotoxidación del aceite de oliva está canalizada por la acción de la clorofila.[46]

Figura 7.5 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 postcosecha que degradan a estos pigmentos, incluso las que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento. Paralelamente se sabe que la clorofila tiene efectos benéficos para la salud, tales como la reducción de algún tipo de tumores en animales de laboratorio.[62]

En principio, a los pigmentos involucrados en la fotosíntesis de plantas superiores se les llamó genéricamente clorofilas; hoy ese nombre se extiende a todos los pigmentos fotosintéticos con estructura de porfirinas (figura 7.5). Se han reportado varias clorofilas: 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 diatomáceas, entre otras fuentes), las *d* (en algunas algas rojas), las *e* (en algas *Xanthophyta*) y las bactoclorofilas *a, b, c, d* y *e* (en bacterias *Chromatiaceae* y *Rhodospirillaceae*).[62]

Se localizan en los cloroplastos de las hojas y están formados por granas de 0.2-2 μm, estructuradas por laminillas cuyo tamaño oscila entre 0.01 y 0.02 μm; la clorofila se encuentra en esas laminillas y forman conglomerados esféricos en un arreglo cristalino unida a lípidos, proteínas, lipoproteínas y, en ocasiones, a carotenoides.[68] 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.[62]

Estructura

La estructura de las clorofilas es una dihidroporfirina, compuesta de cuatro pirroles y un anillo de ciclopentanona. 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 de 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 *a* debido a que tiene un grupo formilo que sustituye a una de las cadenas metilo lateral, mientras que la clorofila

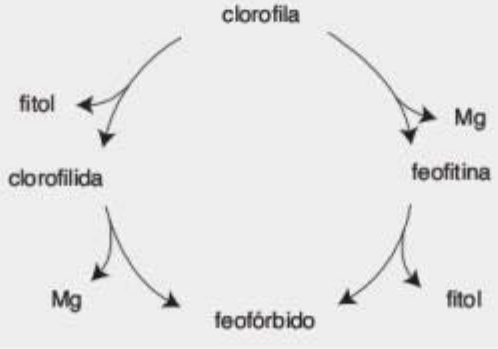
a tiene un metilo en esta posición. La cadena lateral de ácido propiónico está esterificada a un alcohol de 20 átomos de carbono, el fitol.[82] En el cuadro 7.2 se resumen los términos con los que se designa a las clorofilas y sus estructuras componentes.

CUADRO 7.2 **Componentes de las clorofilas**[62,82]

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
Feofórbido	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.[20] 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 (figura 7.6).[130]

Figura 7.6 Transformaciones de la clorofila.



Efecto del procesamiento

La importancia de la estabilidad de las clorofilas en los alimentos, se debe al deterioro que sufren durante el procesamiento de vegetales. Como aditivos las clorofilas se emplean poco, salvo por algunas pastillas o goma de mascar.[133,134] Los principales problemas de deterioro que ocurren debido a la reactividad de las clorofilas se describen en el cuadro 7.3.

CUADRO 7.3 **Problemas de deterioro en alimentos debidos a la reactividad de las clorofilas**

- Se produce fotoxidación en productos deshidratados empacados en películas transparentes.
- En productos deshidratados, la conversión de clorofila a feofitina se relaciona con el grado de escalde anterior.
- A actividades de 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 acéticas, se forman feofitinas, clorofilas y feofórbidos.

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* colores 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 feofórbido hidrosoluble con las mismas características espectrales que la feofitina (feofórbido).[134]

Otras reacciones son la ruptura del anillo isocíclico o del tetrapirrol, lo que produce un pigmento sin color, o clorinas, dihidroporfirinas de color café. La degradación por hidroperóxidos produce rancidez oxidativa.[30,132]

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 y producen un color verde brillante que, aunque no es idéntico al de la clorofila, es más brillante y atractivo que el verde olivo de la feofitina.[100] El procesamiento de chícharos en recipientes de cobre forma la feofitina cúprica, proceso que por algún tiempo se utilizó para mejorar el color de los chícharos, además de que se añadía $CuSO_4$, lo que ahora es ilegal.[82] Esta reacción puede ocurrir a temperatura ambiente con la presencia de ácidos fuertes, o debido a fermentación ácida, como el caso de los encurtidos y puede realizarse en forma secuencial.

Solubilidad

Por ser insoluble en agua este pigmento no se pierde por lixiviación. Entonces el lavado o el remojo de las frutas y hortalizas no provocan decoloración. La naturaleza no polar de la estructura hace que las clorofilas sean solubles en lípidos, dietiléter y otros solventes no polares. Las clorofilidas y feofórbidos son insolubles en grasas y solubles en agua.[133]

● 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 resulta en la transformación del verde al café-oliva típico de la feofitina. Los ácidos orgánicos, presentes naturalmente 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.[130] Tal es el caso del enlatado de chícharos y espinacas procesadas, pero se puede evitar ajustando el pH a condiciones alcalinas, aunque con esto 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.[68]

Las condiciones alcalinas producen un ablandamiento considerable del tejido por la desesterificación, transeliminación de la pectina y gelatinización y solubilización de la hemicelulosa, celulosa y otros polisacáridos, por lo que debe 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 $Mg(OH)_2$.[82]

● Presencia de enzimas

La enzima clorofilasa (clorofil clorofílido-hidrolasa) cataliza la eliminación del fitol produciendo metil clorofilida hidrosoluble, mientras que el metilester permanece intacto.[130] Esta enzima también convierte a la feofitina en feofórbido hidrosoluble.[100]

Los derivados de clorofilida se forman en las primeras etapas de la fermentación de aceitunas verdes, pero en etapas posteriores se convierten en feofórbido por el desplazamiento de magnesio. La reacción también ocurre de manera natural durante el proceso de maduración, catalizado por el etileno, así como en el almacenamiento de los vegetales frescos.[100] Por lo general, cuando el proceso se escala, la enzima se inactiva, de modo que ésta no actúa en alimentos procesados a escala industrial.[134]

Los peróxidos producidos por la lipoxigenasa de los chícharos son muy activos y pueden oxidarla fácilmente; esto ocurre cuando en los vegetales deshidratados o congelados las enzimas no fueron completamente desactivadas en el escaldado.

● Exposición a la luz

La exposición muy intensa a la luz causa cambios semejantes a los que producen las lipoxigenasas; la oxidación de la clorofila es más evidente a pH ácidos.[68]

● Tratamiento térmico

Además de promover la feofitinización, las temperaturas altas causan la degradación de los monosacáridos del producto y los transforman en ácidos como el acético. Además, la pirofeofitina se sintetiza en vegetales enlatados a partir de la feofitina, debido al calentamiento aplicado.[134,139]

Pigmentos fenólicos

Los compuestos 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 (antocianinas y taninos). Los primeros poseen un solo anillo y los flavonoides 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.

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.[73]

Son pigmentos no nitrogenados, con un esqueleto de difenilpropano derivado del ácido shiquímico. Los flavonoides pueden tener estructuras simples o muy complejas, debidas a la polimerización, como 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 proporcionan los colores amarillo y naranja a frutas como peras, fresas, manzanas, cerezas, duraznos, naranjas y limones, y en mieles,[38,106,142,149] igual que a hortalizas como cebollas y brócoli, y bebidas como el té verde, donde en gran medida son responsables de su astringencia. Otros flavonoides proporcionan el color rojizo de las hojas de otoño.[84,143] En muchos casos 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.[36]

Aunque se ha descrito que poseen propiedades benéficas para la salud, existe controversia sobre la actividad biológica de algunos flavonoides, en especial de los provenientes de las cáscaras de los cítricos; 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.[64] Sin embargo, no se han comprobado plenamente estas propiedades, de manera que todavía es materia de estudio.

Estructura

El aglucón está formado por un esqueleto consistente en dos anillos bencénicos (A y B) y uno heterocíclico con oxígeno (C); ambos forman un núcleo fenil-2-benzopirona.[36] Al aumentar el grado de oxidación, por la posición trivalente del oxígeno se producen más dobles ligaduras y, en consecuencia, mayor deslocalización de electrones, lo que hace que la estructura absorba a mayor longitud de onda.[38,84] Por tanto, el grado de deslocalización de electrones propicia la existencia de pigmentos incoloros cuando el anillo C está saturado, como en el caso de los flavonoles, o que se produzcan varias clases de coloraciones, desde los amarillos (como las flavonas, flavonoles y chalconas) hasta las antocianinas rojas y azules.[69,103]

Estos aglucones se unen a glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ácido glucurónico. Se sustituyen en posiciones 7, 5, 4', 7 y 4', 3'. A diferencia de las antocianinas, la posición más común es la 7 por ser la más ácida; pueden estar acil-sustituidos, como en el caso de las antocianinas.[162]

● Flavonoides en alimentos

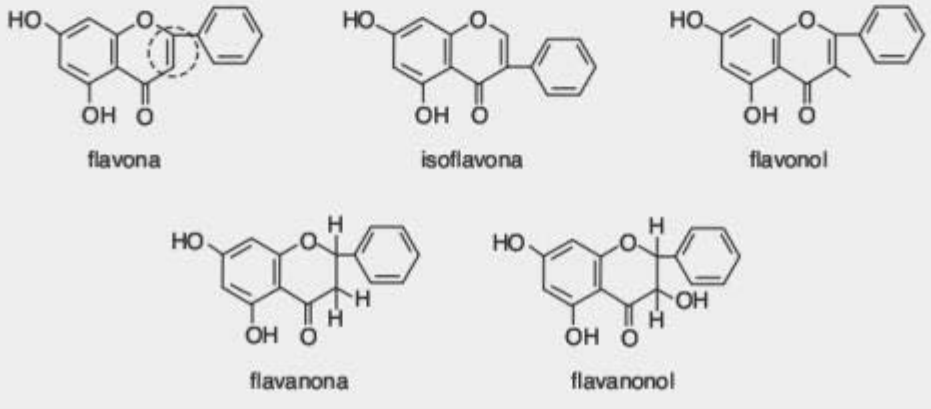
A continuación se relacionan los flavonoides de mayor importancia en los alimentos (figura 7.7).[63,157]

El grupo más importante es el de los **flavonoles**: la quercetina se encuentra en 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 debe tomarse en cuenta durante el procesamiento de esta hortaliza, sobre todo en relación con el suministro de agua potabilizada que se debe utilizar y con el tipo de lata que se requiere para este propósito.

Los **flavandioles**, aunque son incoloros, se consideran aquí por su similitud estructural con las antocianinas y en ciertas 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.

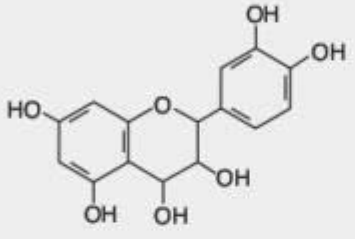
Las **isoflavonas** tienen actividad estrogénica, sobre todo la genisteína, la daidzeína y la gliciteína, que se encuentran como glucósidos en la soya, la alfalfa y otras plantas. En términos generales, su acción es reducida, pero cuando algunos animales las consumen en exceso, presentan problemas en su reproducción. Se encuentran en soya y comidas preparadas con esta leguminosa: tofu, tempeh, peche de soya, texturizados, miso, etc. Los dos isoflavonoides más abundantes son la genistina y la daidzeína.

Figura 7.7 Diferencias básicas de los aglucones de los flavonoides.

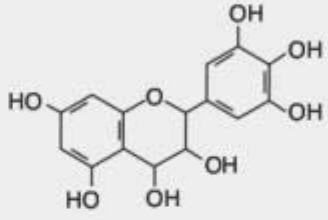


Las **protoantocianidinas** (figura 7.8), leucoantocianidinas están constituidas por unidades flavilo con diversos grados de condensación; además contienen carbohidratos y restos de aminoácidos. Se presentan en la madera, la corteza y las raíces de plantas como eucalipto, oyamel y mangle. Como reaccionan con las proteínas igual 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 7.8 Dos protoantocianidinas comunes en alimentos.



leucocianidina



leucodelfinidina

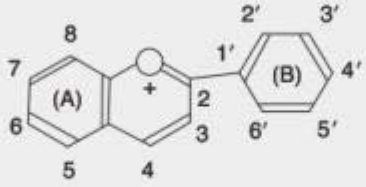
Entre las **flavonas**, **flavanonas**, **chalconas** y **dihidrochalconas** destacan la hesperidina, que se encuentra en limones, mandarinas y naranjas, y la naringina en toronjas y naranjas amargas; se pueden cuantificar mediante técnicas cromatográficas y por lo tanto identificar en los diferentes 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[8] 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 responsable, en gran medida, del sabor amargo de la naranja y 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, igual que en algunos hongos como *Aspergillus* sp., 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 más importancia debido a que tanto sus chalconas como sus dihidrochalconas tienen un dulzor de aproximadamente 2 000 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 sus efectos potencialmente negativos en la salud. Las chalconas se obtienen por un tratamiento alcalino y, cuando se reducen por catálisis con hidrógeno, se producen las dihidrochalconas, aún más dulces que las primeras.[53]

Otros flavonoides son: catequinas (catequina y epigalocatequina presentes en el té verde *Magnolia sinensis*, peras, nueces y cacao, que proporcionan astringencia), auronas (floretina y floridizina, entre otras), dihidroflavonoles y flavanoles. En la miel y el propóleo se han identificado grupos de flavanonas y flavononas/flavonoles, entre los que se encuentran pinocembrina, pinobanksina, quercetina, kaempferol, crisina y galangina; adicionalmente se identificaron el éter de 3 metil kaempferol, luteolina, éter de 7 metil luteolina, éter de 3 metil-quercetina e isorramnetina.

Antocianinas

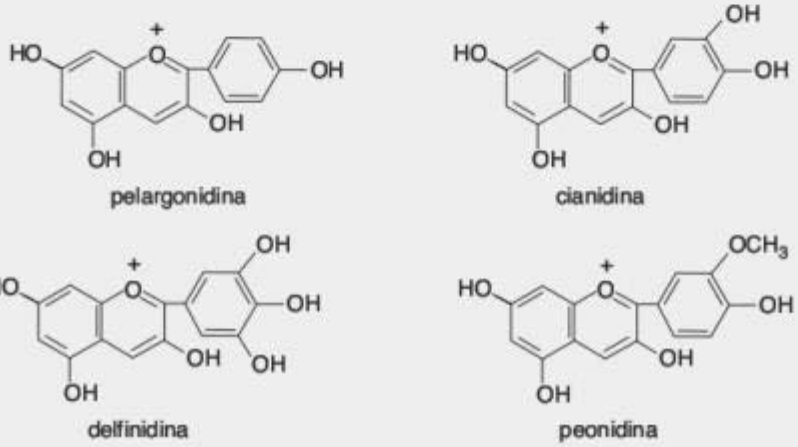
Se considera que las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) son una subclase de los flavonoides; por lo que se les conoce como flavonoides azules. Son compuestos vegetales no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides, de amplia distribución en la naturaleza. A pesar de que contienen pocos grupos cromóforos, se han identificado 300 de estos compuestos, responsables de una gama muy amplia de colores, desde el incoloro hasta el púrpura. También son responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, fresas y otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Por lo general 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, y en algunas variedades de maíz (rojo, azul y morado).

Figura 7.9 Estructura del grupo flavilo.



Como un flavonoide, 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 (figura 7.9). Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, de las que por su importancia destacan 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 referidas antes (figura 7.10). Es común que una misma antocianidina interaccione con más de un carbohidrato para formar diferentes antocianinas.

Figura 7.10 Estructura de algunas antocianinas de importancia en alimentos.



● Estructura

Las antocianinas son las formas catiónicas de flavilo; Todas 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 batocrómico, es decir, desplazamiento de la absorción máxima; por tanto, la petunidina y la malvinidina absorben a 543 y 542 nm, en lugar de 546 nm en la delfinidina.[132]

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 ellos se unen a la antocianidina, principalmente por medio del hidroxilo de la posición 3 y, en segundo término, en las posiciones 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 resulta en un efecto batocrómico, además de que aumentan la solubilidad y la estabilidad del pigmento.[35,131]

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, cafeico y ferrúlico) y con ácidos alifáticos (acético, malónico y succínico) e hidroxibenzoicos, que producen una estructura generalmente 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 comercializadas como colorantes de alimentos.[16]

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, reacción que no necesariamente causa la pérdida del color, pero con la que 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.[58]

● Estabilidad

A pesar de que las antocianinas abundan en la naturaleza, no se ha formalizado su uso como colorante 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; se pueden obtener por extracciones alcohólicas y se ha sugerido emplearlas en algunos productos deshidratados.[19]

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 al 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 de 50% del pigmento 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 hemicetal y quinoidal azules o incoloras, menos estables y más fáciles de degradarse.[39,36,53]

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).[36]

El cambio de color de los vinos, de rojo púrpura a rojo pardo, se debe a la formación de polímeros estables de antocianina-taninos, resultado de la copigmentación referida. Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (catequinas, taninos o flavonoides) o con algunos polisacáridos, debido a que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores.[53] En ocasiones, como en el caso de los vinos tintos con alto contenido de taninos, se producen grandes agregados poliméricos con tamaños y características coloidales que pueden llegar a sedimentar.[107] A medida que el vino se añeja, cambia de un tono 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.[77] En algunas frutas, como la fresa de las mermeladas, se presenta un fenómeno similar; en este caso al cabo de algunos meses su tono rojo ya no se debe a las antocianinas monoméricas, sino a las formas poliméricas.[89]

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, fierro, 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.[40]

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 Ca^{2+} o Mg^{2+} que promueven el cambio de color al formar sales. También hay que tener en cuenta las sales y los minerales propios del agua que se emplea en la preparación industrial de las frutas y hortalizas.[117]

Efecto de enzimas. Cuando la integridad del tejido se daña, las enzimas como polifenoloxidasas, peroxidasas, glicolasas y estearasas degradan a los compuestos fenólicos, transformando a los sustratos incoloros en pigmentos amarillos a través de oscurecimiento enzimático. Aunque las antocianinas no reaccionan fácilmente con las polifenoloxidadas de las plantas, sí reaccionan con las o-quinonas producidas por la oxidación enzimática de fenoles a través de la formación de quinonas. Las glucosidasas rompen la unión del aglucón, lo que genera

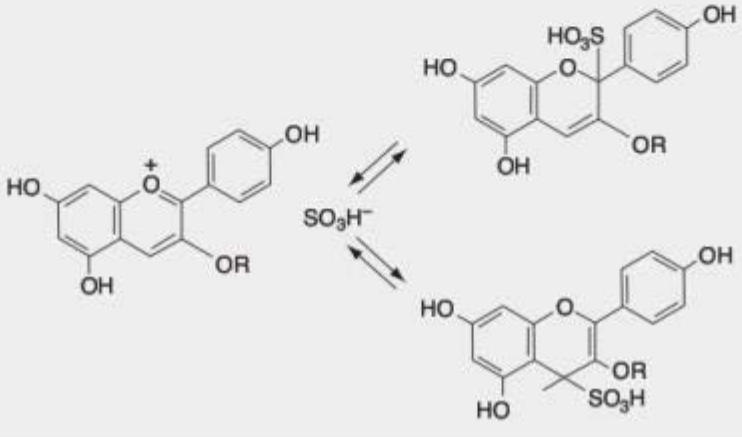
compuestos incoloros.[89] Otra causa de las pérdidas de estas sustancias son las reacciones efectuadas por enzimas endógenas o fúngicas con actividad β-glucosidasa, o antocianidasas, que hidrolizan el enlace glucosídico en posición 3 y producen el correspondiente aglucón, el cual es más inestable que 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 fierro por formación de peróxido de hidrógeno, lo que produce la degradación de ambos compuestos cuando se almacenan por tiempos prolongados. El mecanismo incluye la formación de peróxidos, producto de la 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 glutatión que actúa como antioxidante; estos pigmentos igualmente son más estables cuando forman un complejo con compuestos fenólicos, como la rutina y el ácido caféico.[89,157]

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 (figura 7.11). 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 esperarse, 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 de forma paralela un efecto estabilizador sobre el enlace glucosídico y evitan la hidrólisis de la antocianina.[35]

Presencia de oxígeno. El oxígeno disuelto tiene un efecto negativo en la estabilidad de las antocianinas,[87] 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 glucurónico. Se recomiendan espacios de cabeza muy pequeños o envasar los vinos en atmósferas inertes para evitar los cambios de color en el almacenamiento.

Figura 7.11 Reacción de antocianinas con bisulfito de sodio.



Procesamiento. Los flavonoides son, en general, más estables ante el calor y las reacciones de oxidación que las antocianinas y resisten la mayoría de los tratamientos térmicos que se utilizan en la manufactura de los alimentos enlatados. Esos tratamientos también influyen significativamente 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.[63] Tal 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} para los microorganismos y las antocianinas.

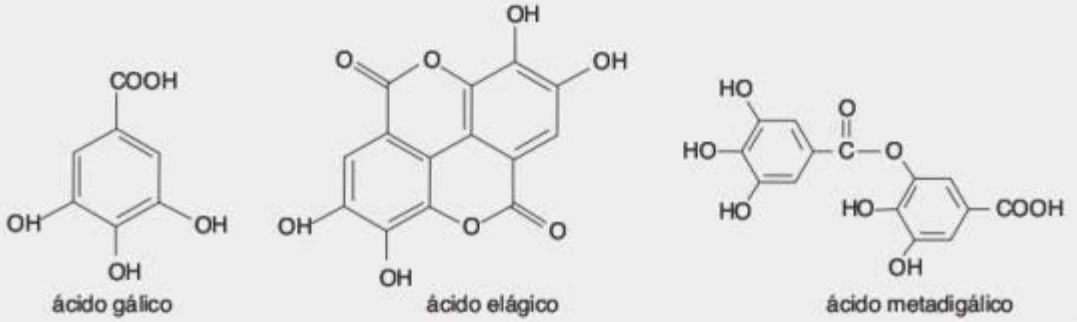
Dada su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos se pueden perder con facilidad por lixiviación; a medida que aumenta la temperatura se acelera la decoloración de las frutas, ya que se favorece la extracción, por lo que incluso se pueden obtener productos prácticamente incoloros.[362]

Taninos

El Index Merck define a los taninos como una mezcla compleja encontrada en la corteza del roble. Sin embargo, están presentes en aproximadamente 500 especies de plantas y 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, Rhyzophoraceae* 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.

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, en especial ácidos, se han dividido en dos grupos: taninos hidrolizables o pirogálicos y taninos no hidrolizables o condensados. Su peso molecular varía de 500 a 3 000 Dalton; por su estructura presentan propiedades reductoras. Los taninos hidrolizables son sustancias poliméricas complejas que, a su vez, se clasifican en galotaninos cuando contienen ácido gálico y elagitaninos cuando está presente el 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 (figura 7.12). Por su parte, los taninos no hidrolizables o condensados son generalmente 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.[36] Los taninos condensados o protoantocianidinas tienen una estructura flavonoide, por tanto se trataron en el apartado Flavonoides, de este mismo capítulo.

Figura 7.12 Estructura de los ácidos gálico, elágico y metadigálico.



● 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. Su poder astringente, fundamentalmente una reacción muy suave de precipitación de glucoproteínas de la saliva que reduce sus características de lubricación, es deseable en bebidas como el vino tinto, así como algunas jaleas y mermeladas.

Se considera que los taninos son también antioxidantes, con capacidad de atrapar los radicales libres. 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 fuerza iónica.

● Extracción de taninos

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 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 recién derribados, principalmente 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, que 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 obtener un polvo.[109]

● Taninos en alimentos

Además de proporcionar color a algunas mermeladas y jaleas, la presencia de taninos en productos alimentarios como salvia y menta, contribuyen a darles sabor. 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 cierta 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 diez moléculas; los polímeros de más de diez 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 tipo Jerez y el rosado presentan 150 y 110, respectivamente.[110] 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.

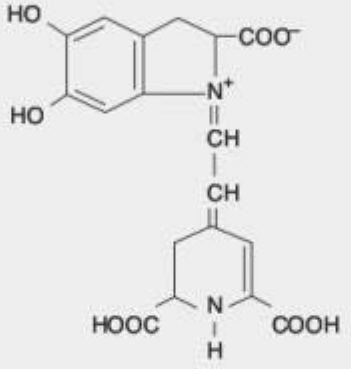
Los taninos también sirven de sustrato en las reacciones de oscurecimiento enzimático, sobre todo en productos como el café y el cacao, y son los responsables de la astringencia de muchos frutos en estado inmaduro, como el plátano, la pera, la uva, la manzana, etcétera.[8]

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 (figura 7.13).[53]

Son parecidas a las antocianinas y flavonoides en apariencia visual y anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran sólo en diez familias: *Aizoaceae, Amaranthaceae, Basellanaceae, Cactaceae, Chenopodaceae, Didiereaceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae* y *Portulaceae*.[54] También se han encontrado algunas betalaínas (de origen fúngico) que, 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.

Figura 7.13 Estructura de la betanidina.

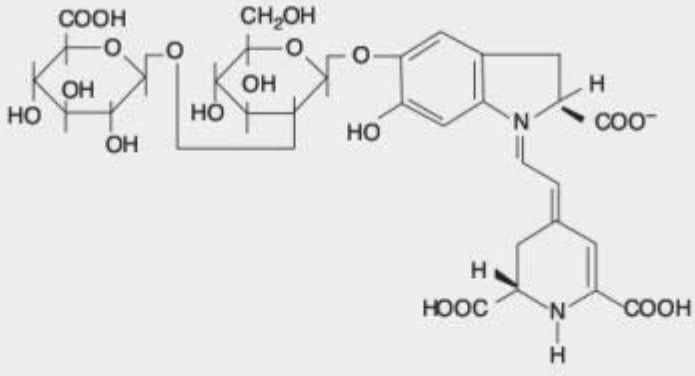


A la fecha se ha aislado una betacianina violeta, la muscapurpurina, y siete betaxantinas amarillas, las muscaurinas, del hongo venenoso *Amanita muscaria*. De las fuentes de betalaínas, sólo el betabel, el amaranto y las frutas de cactáceas (tunas rojas, pitaya, garambullo, jiotilla)[54] son productos alimentarios. En el betabel, la betalaína 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 isobetaína, respectivamente. Los pigmentos amarillos más abundantes en el betabel son vulgaxantina I y II. La presencia de betalaínas en plantas es mutuamente excluyente de la de antocianinas. La del amaranto *(Amaranthus tricolor)*, amarantina, es una de las betacianinas que últimamente ha sido motivo de investigación, se ha usado en algunos países para colorear diversos alimentos (figura 7.14).[25,69,70,148]

Igual que otros pigmentos, las betalaínas están autorizadas como aditivos por la FDA y no necesitan certificación; se comercializan como polvo de betabel, que incluye el pigmento y estabilizantes como azúcares, proteínas y antioxidantes.

Dado que existen restricciones legales relacionadas con 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 mayor contenido de betaninas.[159]

Figura 7.14 Estructura de la amarantina.



Estructura

A este grupo de pigmentos lo conforman dos subgrupos: betaxantinas y betacianinas, que se diferencian por la sustitución del anillo 1,7-diazaheptametina protonado, el aglucón cromóforo.[73] Las betaxantinas amarillas no incluyen a los grupos R y R' en el sistema resonante del anillo cromóforo; si la resonancia se extiende a los grupos R y R', se produce el tono rojo de las betacianinas. En las betaxantina, el anillo ciclodopa de la betacianina es desplazado por un grupo amino o por un aminoácido, de modo que puede haber más de 200 betaxantinas. En los frutos del cactus *Opuntia ficus indica*, la principal betaxantina es la indicaxantina que contiene un triptófano.[63] En la remolacha se encuentran las vulgaxantinas I y II, sustituidas por glutamina y ácido glutámico, respectivamente.[69]

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 15; 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 amarantoína e isoamarantina en el amaranto.[65] Sin embargo, existen también otras formas, de acuerdo con el sustituyente unido al aglucón; por ejemplo, además de betanina e isobetanina, en el betabel 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 ramnosa.[65] Puede ocurrir también la acilación si el grupo acilo está esterificado al azúcar. Los grupos acilo pueden ser: ácido sulfúrico, malónico, cítrico, 3-hidroxi-3-metilglutárico, p-cumárico, ferrúlico, cafeico y sinapico.[162]

Estabilidad

La estabilidad de las betalaínas 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.[89,154] Las betaxantinas se degradan con mayor rapidez que las betacianinas, además que por su color amarillo las betacianias u otros compuestos presentes las "disfrazan". Todas las reacciones se aceleran por la acción catalítica de algunos metales, principalmente el cobre.[70,158]

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.[156]

Efecto de la temperatura. Las betalaínas son muy sensibles a la temperatura y su degradación 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.

Efecto de radiaciones. Igual que las antocianinas, las betalaínas son muy susceptibles a la degradación iniciada por radiación de varios tipos; la degradación por fotoxidación depende del pH y ocurre con más intensidad a un pH de 3.0 que a uno de 5.0.[156] La radiación gamma incrementa la velocidad de degradación de betanina, y se pierde totalmente a dosis de 100 krad.[163]

Efecto del oxígeno. La presencia de oxígeno afecta la velocidad de fotoxidación y de degradación por temperatura; los iones metálicos (fierro, cobre, estaño, aluminio) presentes aceleran la oxidación en presencia de oxígeno.[14] La presencia de ácido ascórbico o α-tocoferol no protege a las betalaínas de la oxidación; sin embargo, el ácido cítrico y EDTA sí reducen la oxidación, quizás al neutralizar parcialmente el efecto electrofílico del núcleo.[25]

Efecto de la actividad acuosa. Son estables en productos deshidratados con una actividad de agua menor a 5.0. Los tocoferoles y la vitamina C sólo funcionan como antioxidantes de las betalaínas a 1 000 ppm, pero a esa concentración son prooxidantes que afectan al pigmento. La betanina se vuelve más inestable a medida que aumenta la actividad acuosa y el contenido de humedad del alimento; por eso los sólidos del betabel deben almacenarse con la menor cantidad de agua posible y en las condiciones más secas.[158] De igual forma, dependiendo de la actividad del agua, el oxígeno retenido en el betabel deshidratado puede causar modificaciones en la betanina.[125]

Acción enzimática. Otro mecanismo de decoloración de la betacianina y de la betaxantina, especialmente en el betabel, es por la acción enzimática que alcanza su máximo a un pH de 3.4[139] en apariencia debido a la actividad de la peroxidasa.

Hemopigmentos

El tono 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 ellos se cuentan las peroxidasas y las enzimas responsables del mecanismo del transporte de electrones, como los citocromos y las flavinas, que contienen riboflavina de color amarillo.[10]

La hemoglobina se encarga de transportar oxígeno, mientras que la mioglobina es responsable de almacenarlo hasta que se consume en 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 unos 78 g de agua y 18.5 de proteínas, constituidas por 1.2 g de globulinas, 2.3 g de albúminas y 15 g de hemoglobina.[7,164]

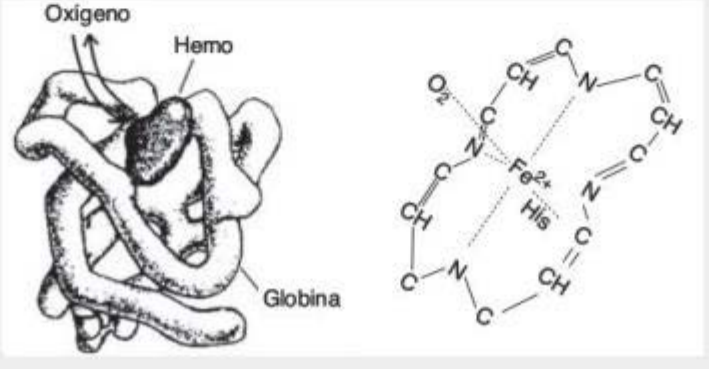
Estructura

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 Dalton, integrada por dos polipéptidos o cadenas α con 141 aminoácidos cada uno, y dos cadenas β con 146 aminoácidos; el interior de cada monómero, igual que en la mioglobina, es hidrófobo, mientras que el exterior es hidrófilo (figura 7.15). 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 hemoplanar, con un átomo de hierro en el centro y se unen entre ellas por puentes de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos.[51]

La mioglobina está presente en el músculo y forma alrededor de 20% de los pigmentos totales; está constituida por una parte proteínica, la apomioglobina o globina, y por un grupo prostético hemoconstituido por un centro de fierro, rodeado por cuatro pirroles que forman un anillo de porfirina. Al ser un metal de transición, el fierro está coordinado con cuatro nitrógenos del anillo de porfirina y a un residuo de histidina de la globina, y queda una sexta posición disponible para unirse con otro ligando, de acuerdo con el grado de oxidación del fierro y, por tanto, de esto depende el color que se produce. La fracción proteínica, la globina, es incolora, con un peso molecular de aproximadamente 17 800 Dalton, 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.[116]

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, 10% del hierro está en forma de mioglobina, mientras que después del sacrificio y desangrado del animal —con lo que se elimina la mayor parte del hierro en la hemoglobina—, 95% del hierro está presente como mioglobina.[71] Por el contrario, 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 40% del total de los pigmentos de la carne. El desangrado deficiente hace que la presión de los vasos sanguíneos aumente, lo que provoca coágulos en el músculo, llamados petequias, lo que demerita en forma importante la calidad de la carne.[79]

Figura 7.15 Estructura de la mioglobina.



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 realiza 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 y más mioglobina, entre otras características que los diferencian.[57,79] La especie animal y la edad también son determinantes de la cantidad de mioglobina presente. En general, las carnes 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.[75]

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 esa 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 fierro en estado reducido, que produce un tono rojo púrpura, la oximioglobina con el fierro en estado reducido, que da un rojo brillante, y la metamioglobina con el fierro en estado oxidado, que produce una tonalidad café-grisácea.[80,81] El color de la carne fresca depende de la relación de concentraciones de estos tres pigmentos.[23]

El fierro 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 sulfimioglobina y la colemioglobina, respectivamente; ambos pigmentos verdes pueden ser producidos por reacciones de origen químico o bacteriano.[32]

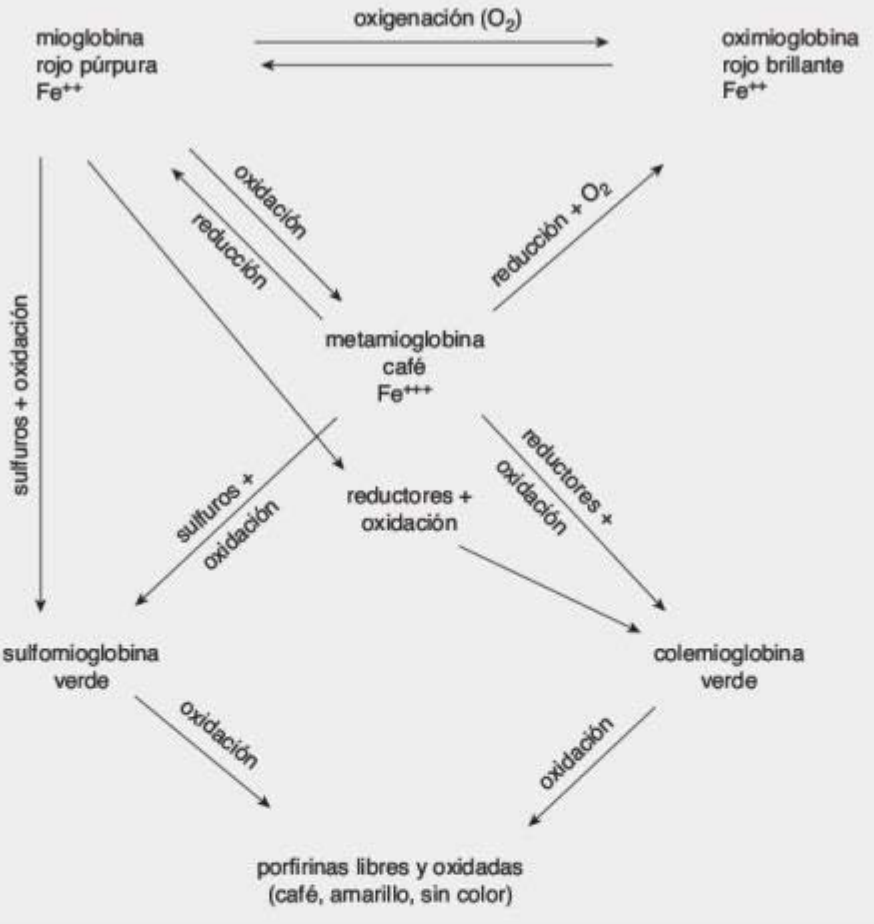
Cuando se maneja carne fresca es importante evitar cualquier agente proxidante como luz, metales o grasas oxidadas, debido a que el pigmento se oxida y se convierte en metamioglobina.[166] Si bien los tres tipos de pigmentos en la carne siempre están interconvirtiéndose, cuando la metamioglobina representa 60% del total de pigmentos, el color café es irreversible (figura 7.16).[79]

Efecto del ambiente gaseoso

Como el grado de interconversión de los pigmentos también afecta la disponibilidad del ligando, el color se ve influenciado principalmente por la composición de la atmósfera en que el producto se encuentra almacenado. Bajo condiciones anaerobias, el color de la carne es púrpura debido al estado reducido de la mioglobina; en este caso, la entrada 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.[39] 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 de lo que resulta el tono rojo brillante, que el consumidor asocia con carne de buena calidad.[90]

Si bien el empaque al vacío es el más eficiente para conservar la calidad microbiológica de la carne, si se utiliza en conjunto con la refrigeración, tiene la desventaja de que en ausencia de oxígeno no se desarrolla el tono 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.[75]

Figura 7.16 Interconversión de los pigmentos de la carne, en función del ambiente químico.



El tono 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 a menudo va 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 "disfrazar" el tono rojo. Este tinte se debe a la falta de desarrollo del estado oxigenado (reducido) que produce el tono rojo brillante o a una disminución del pH por la formación de ácido carbónico y, en consecuencia, a la precipitación de proteínas sarcoplásmicas.[37]

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.[49] En estas condiciones, el color permanece café mientras no se reduzca 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 ocurren otros cambios, como la oxidación y la polimerización de las grasas, así como diversas rutas de degradación que implican proteínas e hidratos de carbono, que contribuyen al color final de la carne cocida.[80]

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.

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.[113] Los nitratos son reducidos a nitritos por acción microbiana, especialmente por géneros de micrococos. El radical nitro reacciona con el par de electrones no apareados del radical hemo, lo que genera nitrosohemocromógenos de tono rosa estable característicos de las carnes curadas.[29]

Otros pigmentos naturales

Cúrcuma

La cúrcuma, azafrán de las Indias o turmérica (*Curcuma longa*) es una planta de la familia de las zingiberáceas, que se cultiva desde hace más de dos mil años en India, China y Oriente Medio; actualmente se encuentra también en todas las regiones tropicales del mundo.[119] Además de sus propiedades pigmentantes, la cúrcuma imparte olor intenso, picante y fresco, y su sabor es amargo y picante, con notas de almizcle, naranja y jengibre.[91,99,118] 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 obtiene de la rizoma de la planta; es insoluble en agua y soluble en lípidos; imparte un color amarillo anaranjado intenso.

La cúrcuma *cúrcuma* sp. o azafrán de las Indias, son los rizomas de una planta perteneciente a la familia de las zingiberáceas originaria del sureste de Asia y cultivada desde hace más de dos mil años en India, Jamaica, Perú, Haití, Taiwán y parte de China; actualmente se cultiva en todas las regiones tropicales del mundo. La *Curcuma longa* L. representa al turmérico, usado comercialmente como especia y pigmento E100. El contenido total de pigmentos curcuminoides, expresado como curcumina, es de 3.6%, constituidos por tres componentes amarillos curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina. El principal pigmento amarillo es la curcumina [1,7_bis-(4'-hidroxi 3' metoxi-fenil) hepta- 1-6- dieno 3,5-diona] y los derivados curcuminoides, estos tres curcuminoides presentan una absorbancia máxima entre 426 nm y 430 nm y se obtienen por extracción de la planta para producir una oleorresina y posterior purificación.[17,124]

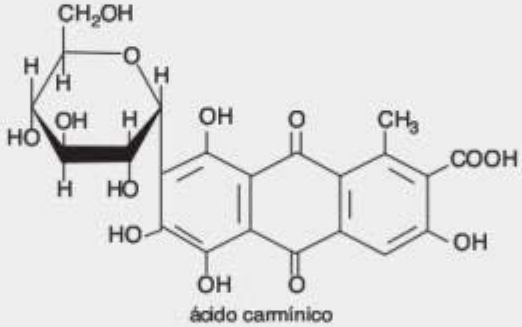
Es un pigmento soluble en aceite que está disponible bajo formas dispersables en agua, es estable al calor y se utiliza en productos de cualquier grado de acidez. Es sensible al dióxido de azufre, a niveles por arriba de 100 ppm y posee baja estabilidad en presencia de luz.

Los pigmentos curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina fueron separados e identificados por cromatografía en capa fina, utilizando como fase móvil cloroformo: ácido acético 90:10, y se obtienen valores de R_f de 0.92, 0.82 y 0.81, respectivamente.[99]

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 *Dactylous coccus* Costa, un insecto del orden Homóptera originaria del Perú, México, Centroamérica y Chile,[150] vive en varias especies de cactáceas, en especial en *Nopalea cochenillifera*.[56,114,122] El colorante se obtiene al moler a los insectos secos y extraer el principio pigmentante con agua; se necesitan 700 000 insectos hembra para producir 500 gramos de colorante.[155] 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 carmínico (figura 7.17).[97,98,161] Este color se usa en helados, yogures, bebidas no alcohólicas y confitería. Sin embargo, en enero de 2011 la FDA estableció como requisito etiquetar los productos que incluyan carmín como "color procedente de cochinilla (cocínela color)" o "color carmine", debido a que se han reportado algunas reacciones alérgicas a estos colorantes.[117]

Figura 7.17 Estructura del ácido carmínico.



ácido carmínico

La explotación comercial de la cochinilla es compleja, debido a que involucra un amplio rango de otras disciplinas, entre ellas la arqueología, la economía, la geografía, la historia, la lingüística y hasta las artes visuales. El aspecto del insecto es granular; su color varía entre gris y negro, cuando se ha eliminado la capa de cera blanca que lo cubre y que está formada por el ácido 11-oxotriacontanoico y 15-oxotetracontano.[88] Contiene aproximadamente 16% de ácido carmínico, que es el principio colorido; tiene 40% de proteína, 10% de grasas y 2% de cenizas. Existen dos calidades comerciales, la cochinilla negra, limpia y libre de cera, que ha sido tratada por calor seco, y la cochinilla plateada, gris o jaspeada que es de menor calidad.[93]

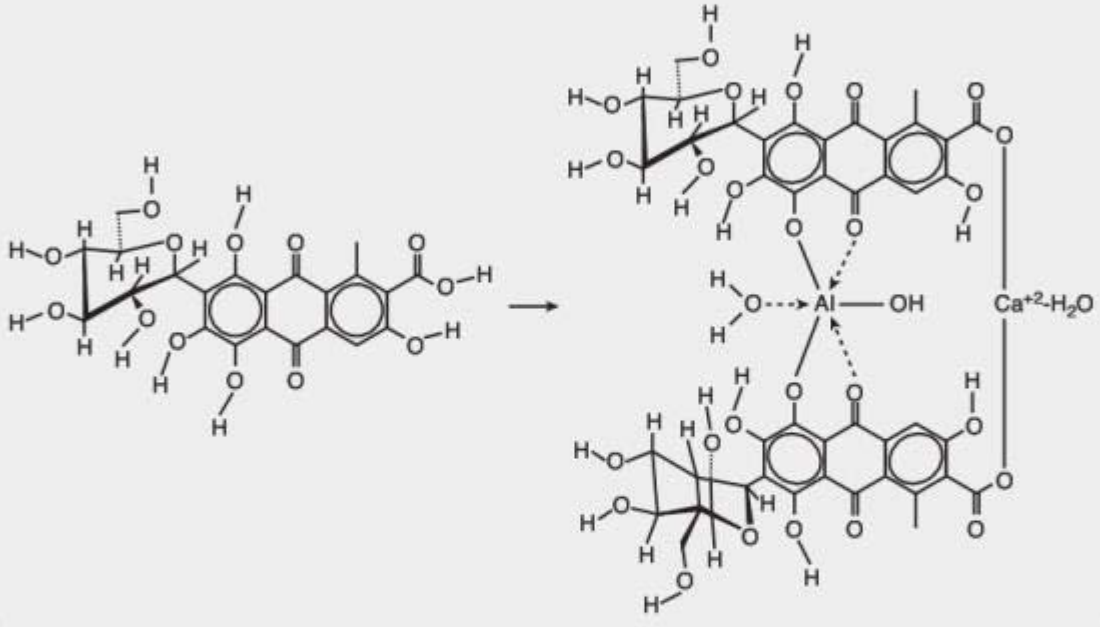
El ácido carmínico, constituyente principal de la materia colorante, es una antraquinona con estructura 7-C-D-glucopiranosil 3,5,6,8-tetrahidroxi 1-metil 9,10 dioxo, 2 ácido antracenocarboxílico.[127, 144] La configuración del C-glicosil es muy importante en la capacidad del ácido carmínico para formar complejos con una variedad de metales.

La presentación comercial es un polvo de tono rojo pardo, soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol etílico, éter etílico, ácido sulfúrico concentrado y soluciones alcalinas; es insoluble en éter de petróleo, cloroformo y benceno. Se descompone a partir de los 132 °C, de color anaranjado a pH de 4 a 8 y violeta a pH 2 a 6.[121]

● Características de los carmines

La facilidad del ácido carmínico para formar complejos con los metales es aprovechada en la manufactura de carmines. El carmín es una laca alúmino-cálcica preparada a partir de un extracto de cochinilla *D. coccus* Costa. Es una materia pulverulenta y fácilmente aglomerable de tono rojo escarlata muy vivo; una vez seco es muy higroscópico.[13,88] La estructura del complejo de aluminio del ácido carmínico se muestra en la figura 7.18.

Figura 7.18 Reacción de ácido carmínico con sales metálicas de aluminio y calcio para formar la laca complejo Al-Ca-ácido carmínico.



● Obtención y aplicaciones

La obtención de carmines se lleva a cabo desgrasando al insecto con dimetil-cetona; posteriormente el pigmento se extrae con etanol-agua y solución acuosa de metanol a 80-150 °C. a continuación se filtra, se lava y precipita con alumbre de potasio y carbonato de calcio.[28] Se ha puesto en evidencia que los procesos de obtención de carmín son muy variados y en muchas ocasiones contradictorias, lo cual se debe en gran parte a que estos procesos están patentados y los detalles se reservan como secreto industrial.

Los carmines pueden ser disuelto en soluciones alcalinas de sosa, carbonato sódico o potásico, en todo tipo de productos alimenticios con presentación en polvo como sopas, productos cárnicos, confitería, derivados lácteos, así como en formulaciones cosméticas y farmacéuticas (por ejemplo, cremas, polvos faciales, pastas de dientes y elíxires.[41] Se ha estudiado el empleo de carmín en sucedáneo de carne obtenida a partir de proteína texturizada de soya, y el color que imparte a éstos es muy semejante al de la carne natural; también en sucedáneos de salmón preparado con mojarra tilapia.

Quinonas

Las quinonas son un grupo numeroso de pigmentos; se conocen cerca de 200 que producen colores que van desde el amarillo pálido al negro. Se obtienen sobre todo de plantas superiores, aunque también están presentes en hongos, líquenes, insectos y animales marinos. En algunos casos no se relacionan de manera directa con alimentos, pero son de importancia en el campo de la tecnología de alimentos debido a que intervienen en fenómenos de oxidación; además, son sustancias biológicamente muy activas. Las quinonas son dicetonas aromáticas que provienen de la oxidación de los difenoles. Se subdividen en:

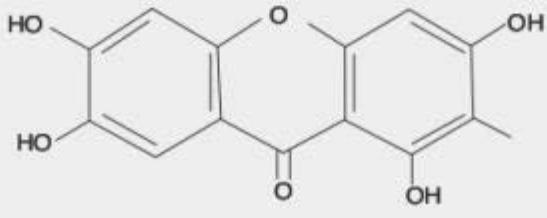
- *Benzoquinonas.* Sustancias monocíclicas que se encuentran como parte de los pigmentos de algunos hongos.
- *Naftoquinonas.* Son bicíclicas; entre ellas están la plumbagona de las droseras, la juglona del nogal, la lawsona de la henna y la vitamina K_1 presente en la alfalfa. Un subgrupo de naftoquinonas son las naftocenequinonas, pigmentos rojos presentes en los actinomicetos.
- *Antraquinonas.* El subgrupo más abundante son las antraquinonas, de las cuales muchas se han utilizado por siglos como pigmentos y purgantes naturales. Son moléculas tricíclicas, constituyen purgantes en plantas como el áloe, 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, que está presente en los champiñones.

Hay numerosas benzo y naftoquinonas con propiedades antimicrobianas, sobre todo contra bacterias Gram positivas; actúan inhibiendo a las enzimas microbianas.

Xantonas

Las xantonas son un grupo de 20 pigmentos similares a las quinonas.[53] Una xantona empleada por muchos años en fármacos de aplicación cutánea, la genciana, procede de la raíz de la *Gentiana lutea*, con un sabor amargo muy fuerte. Las xantonas son antioxidantes muy eficientes, por lo que los alimentos que la contienen se consideran como nutracéuticos. Entre ellos ha recibido especial atención el mangostán (*Garcinia mangostana* L.), planta originaria del sureste asiático, que se ha comercializado en freso o en bebidas no alcohólicas tanto en Europa como en América. La xantona más estudiada es la mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona), presente como glucósido en los mangos; se le atribuyen propiedades de protección contra la oxidación de tejidos (figura 7.19).

Figura 7.19 Estructura de la mangiferina.



Color caramelo

El color caramelo es el pigmento más utilizado en alimentos, prácticamente el 90% del total de los que se utilizan en esta industria. Existen varios métodos para fabricar este color, todos por medio de calentamiento del azúcar: caramelo natural, amoniaco, sulfito cáustico y sulfito amoniaco. El método de proceso y sus características finales los clasifican en Color Caramelo I, II, III y IV. Aunque tiene una connotación de pigmento natural, la fabricación con presencia de amoniaco produce 2-acetil-4-(5)-tetrahidroxibutil imidazol, que puede afectar al sistema inmune, por lo que el color caramelo producido por este método se limita legalmente a una ingesta diaria de 200 mg /kg de peso.[48] El color caramelo "al amoniaco" está prohibido para algunos alimentos en la Unión Europea, entre ellos ciertos tipos de pan.[44] Además de las bebidas no alcohólicas de cola, se emplea en la fabricación de caramelos, cerveza, helados, postres, sopas instantáneas y productos cárnicos.

Gluconato ferroso

Por último, el gluconato ferroso se usa casi exclusivamente para colorear aceitunas negras, formando un complejo entre el fierro y los fenoles, lo que promueve una mayor solubilidad y, en consecuencia, una difusión del pigmento dentro del fruto.[161]

Pigmentos de origen microbiano

Los pigmentos producidos por microorganismos se catalogan dentro del grupo especial conocidos como biopigmentos.[31] Existen en el mercado pigmentos de grado alimenticio obtenidos por fermentación; entre otras la astaxantina derivada de *Xanthophyllomyces dendrorhous*, la riboflavina de *Ashbya gossypii*,[140] el β-caroteno producido por *Blakeslea trispora*,[72] el licopeno producido *Erwinia uredovora*, *Fusarium sporotrichioides*[74] y *Streptomyces* sp.,[43] entre otros. Los carotenoides se producen industrialmente por *Serratia* y *Streptomyces*.[76]

Pigmentos de *Monascus*

Un caso especial es la producción de pigmentos por el hongo *Monascus* a través de fermentación de varias especies del hongo filamentoso *Monascus* sp. en medios ricos de carbohidratos, especialmente arroz, trigo, soja, maíz y otros granos. En algunos países orientales como Japón, China y Taiwán, se utiliza para producir koji, a través de la fermentación de grano de arroz del que resulta "arroz rojo", utilizado como colorante alimenticio.[146] Las principales cepas productoras de pigmentos son *M. purpureus*, *M. ruber*, *M. pilosus*, *M. anka*, *M. barkari*, *M. kaoliang*, etcétera.[102, 104]

Monascus spp. también produce una amplia variedad de pigmentos de color amarillo (monascina, ankaflavina, xabthomonascina A, xantomonascina B, monascopiridina A, monascopiridina B y amarillo II), naranja (rubropunctatina y monascorubina) y rojo (rubropunctamina y monascorubramina).[22,31,103] La composición de estos pigmentos varía de acuerdo con los nutrientes disponibles en el medio de cultivo que se produce, la fuente de nitrógeno y cepas específicas utilizadas para este fin.[102, 129]

La cantidad y calidad de pigmentos de *Monascus* son estimados por absorbancia a 490/380 nm. El análisis espectral ultravioleta-visible (UV-Vis) de los pigmentos muestra una absorbancia en la longitud de onda de 500 nm para el tono rojo[104] y a 400 nm para el color

amarillo.[165] Estos pigmentos son altamente reactivos con proteínas, amino alcoholes y ácido amino benzoico, entre otros; el producto de estas reacciones es muy soluble en medio acuoso, estable a pH ácido, a temperaturas, a luz y a soluciones salinas,[153] además, la solubilidad se incrementa con etanol. Estas características hacen a los pigmentos de *Monascus* de amplia aplicación en alimentos; adicionalmente se han utilizado como saborizantes.[104] Se han incorporado a productos cárnicos como sustituto de nitritos y nitratos para el desarrollo de color.[42,45] Estos pigmentos se emplean con buenos resultados en helados, jaleas, productos marinos, salsas y bebidas. También tienen actividad antibacteriana, en especial el pigmento rojo contra bacterias Gram positivas. Todos los pigmentos de *Monascus* presentan actividad antimalaria, antifúngica, hipocolesterolémica, antitumoral e inmunosupresivas.[4,94,102]

Pigmentos de origen marino

El medio marino ofrece una amplia cantidad de compuestos que no se han encontrado en el ámbito terrestre, porque poseen características únicas como la coloración de los organismos, que es de mayor brillantez y luminosidad, quizá debido al contenido de agua. A continuación se describen los pigmentos de tres organismos marinos, aunque hay una cantidad muy elevada de ellos que presentan elementos potencialmente útiles como pigmentos. Más aún, los compuestos aislados de organismos marinos son potencialmente útiles también como principios activos para la industria farmacéutica.

Algas

Las tres clases de pigmentos que se han encontrado en las algas marinas son clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas. Las clorofilas presentes son *a, b, c* y *d*;[9, 78] la más importante es la *a*, debido a que se involucra en la fotosíntesis y transfiere electrones hacia moléculas que generan los azúcares. El carotenoide que más se ha encontrado en las algas es la fucoxantina, responsable del color café, característico de las algas como *Sargassum fusiforme, Laminaria japonica* y *Undaria pinnatifida*. Algunos estudios han demostrado la supresión de carcinogénesis en cultivos celulares y experimentos en ratas al aplicar este carotenoide. El tercer pigmento de importancia que se ha encontrado en las algas verde-azules y rojas son las ficobiliproteínas, proteínas fluorescentes solubles en agua; contienen un grupo proteico de alto peso molecular y un grupo cromóforo. Existen tres categorías de ficobiliproteínas: ficocianinas, aloficocianinas y ficoeritrinas; se encuentran en *Rhodosorus marinus* y *Porphyridium cruentum*.[112] Las ficobiliproteínas suelen representar 1-10% del peso seco del alga, se usan como colorantes naturales en productos como gomas de mascar, lácteos y gelatinas.

Erizo

Uno de los compuestos de alto valor agregado en el erizo son los carotenoides, y se ha encontrado en las gónadas y el intestino. En las gónadas son equinenonas y beta-caroteno. En mayor concentración se ha encontrado fucoxantina, fucoxantiol y amarouciaxantina en extracto de intestino, además de otros carotenoides en menores concentraciones, como luteína e isozeaxantina. En estos organismos, como en otros sistemas acuáticos, hay una marcada influencia estacional. Se han reportado cambios[145] en la cantidad de carotenoides entre los meses de enero, abril, julio y septiembre y se ha observado que las muestras analizadas en abril presentaron mayor cantidad de α-caroteno, β-caroteno, fucoxantinol, amarouciaxantina A, luteína, isozeaxantina y equinenona.

● Abulón

El abulón es un gastrópodo muy apreciado en la acuicultura. Se ha reportado el aislamiento de pigmentos en estos moluscos, identificados como porfirinas por espectroscopía Raman.[60] Además, se aisló el pigmento azul de las conchas del abulón *Haliotis discus hannailno*, identificado como azul aquamarino, muy inestable a luz solar.[26]

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. Akihisa, T., Tokuda, H., Asukawa, K., Ukiya, M., Kiyota, A., Sakamoto, N., Suzuki, T., Tanabe, N., y Nishino, H. 2005. Azaphilones, furanoisophthalides, and amino acids from the extracts of *Monascus pilosus* fermented rice (red mold rice) and their chemopreventive effects. *J. Agric. Food Chem.* 53(3):562.
5. An, G.H., Jang, B.G. y Cho, M.H. 2001. "Cultivation of the carotenoid – Hyperproducing mutant 2A2N of the red yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous (Phaffia rhodozyma)* with molasses". *J. Biosci. Bioeng.* 92:121.
6. Anese, M., Falcone, P., Fogliano, V., Nicoli, M.C. y Massini, R. 2002. "Effect of equivalent ther-mal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees". *J. Food Sci.* 67(9): 3442.
7. Anguelova, T. y Warthesen, J. 2000. "Lycopene stability in tomato powders". *J. Food Sci.* 65(1): 67.
8. Anónimo. 1986. "Food colors". *Food Technol.* 4(1):49.
9. Arad, S. y Yaron, A. 1992. "Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics". *Trends Food Sci. Technol*, 3(4):91.
10. Aranda, V. 1994. "Short overview on raw meat colour". *Proc. 40th Int. Cong. Meat Sci. Technol.* La Haya, Holanda.
11. Armenta, R., Guerrero-Legarreta, 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.
12. Armenta, R.E. y Guerrero-Legarreta, I. 2009. "Stability studies on astaxanthin extracted form fermented shrimp by-products". *J. Agric. Food Chem.* 57:6095.
13. Arroyo-Figueroa, F., Martínez-Pérez, B.I, Vigueras-Guzmán A.L, Vargas-Rodríguez L. y Gómez-Luna B.E. 2010. "Preparación de carmines a partir del insecto *Dactylopius coccus* Costa". *Memorias del 2º Simposio Regional y 1er. Congreso Nacional de Biotecnología y Producción Agrícola Sustentable*, Jiquilpan, Michoacán, México.
14. Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. 1985. "Oxygen involvement in betaine degradation: Effect of an-tioxidants". *J. Food Sci.* 50:106.
15. Bakker, J. y Peter, P. 1992. "Strawberry juice color: the effect of sulphur dioxide and EDTA on the stability of anthocyanins". *J. Sci. Food Agric.* 60:477.
16. Baranowski, E.S. y Nagel, C.W. 1983. "Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model systems". *J. Food Sci.* 48:419.

17. Barrero, Marinela M. y Carreño, Rafael J. 1999. "Evaluación histoquímica de los rizomas de cúrcuma cultivada en Venezuela". *Agronomía Tropical* 49(3):349.

18. BASF. (2010) "Production of carotenoid preparations in the form of coldwater-dispersible powders, and the use of the novel carotenoid pigments US Patent US5968251". http://www.freepatentsonline.com/US5968251.html Fecha de la consulta: 18 de enero, 2012.

19. Baublis, A., Spomer A. y Berber-Jiménez, MD. 1994. "Anthocyanin pigments: comparison of extract stability". *J. Food Sci.* 59(6):1219.

20. Berset, C. y Caniaux, P. 1983. "Relationship between color evaluation and chlorophyllian pigment content in dried parsely leaves". *J. Food Sci.* 48:1854.

21. 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.

22. Blanc, P.C., Loret, M.O., Santerre, A.L. Pareilleux, A., Prome, D., Prome, J.C., Laussac, J.P. y Goma, G. 1994. "Pigments of *Monascus*". *J. Food Sci.* 59(4):862.

23. 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.

24. Burja, A.M., Radianingtyas, H., Windust, A. y Barrow, C.J. 2006. "Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: screening of strains and optimization of omega-3 production". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72:1161.

25. 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.

26. Cai, Z., Wu, J., Chen, L., Guo, W., Li, J., Wang, J. y Zhang, Q. 2011. "Purification and characterisation of aquamarine blue pigment from the shells of abalon (*Haliotis discus hannai* Ino)", *Food Chem*, 128:129.

27. Calvo, C. 1999. "Uso de los colorantes en el campo de la alimentación". *Alimentos, Equipos y Tecnología*. 3:79.

28. Centeno Álvarez, M.M. 2003. "Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del carmín". Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.

29. Carballo, J., Cavestany, 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.

30. 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.

31. Carvalho, J.C., Pandey, A., Babitha, S. y Soccol, C.R. 2003. "Production of *Monascus* biopigments: an overview". *Agro. Food Ind. Hi-Tech.*, 14:37.

32. Cassens, R.G., Demeyer, D., Eidelenboom, G., Honikel, K.O., Johansson, G., Nielsen, T., Renerre, 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.

33. Chaudry Q., Scotter M., Blackburn J., Ross B., Boxall A., Castle L., Watkins R., Aitken R. 2007. "Applications and implications of nanotechnologies for the food sector". *Food Add. Contam.* 25:241.

34. Chen, H.M., Meyers, S.P., Hardy, R.W. y Biede, S.L. 1984. "Color stability of astaxanthin-pigmentes rainbow trout under various packaging conditions". *J. Food Sci.* 49:1337.

35. Che-Man, Y., Haryati, H.M. Ghazali, B.T. y Asbi, B.A. 1999. "Composition and thermal profile of crude palm and its products". *J. of the Am. Oil.* Chem. 76(2):237.

36. Cheynier, V. 1999. "Structure and colour properties of anthocyanins and related pigments". *Proc. 1st Int. Cong. Pigments in Foods*. Sevilla, España.

37. Conforth, D.P., Vahabzadhe Capendter, C.E. y Bartholomew, D. T. 1986. "Role of reduced haemochromes in pink colour defect of cooked turkey". *J. Food Sci.* 51:1132.

38. Crozier, A., Lean, McDonald y Black C. 1997. "Analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery". *J. Agric. Food Chem.* 45(3): 590.

39. 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.

40. 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.

41. Del Río y Dueñas, I. 2006. "Grana cochinilla fina, regalo de México para el mundo". Primera edición, Instituto Estatal de Ecología de Oaxaca, Gobierno del Estado de Oaxaca, México.

42. Deng-Cheng, L., Shang-Wei, W., y Fa-Jui, T. 2010. "Effects of addition of Anka rice on the qualities of low-nitrite", *Food Chem.* 118(2):245.

43. Dharmaraj, S., Ashokkumar, B.Y. Dhevendaran, K. 2009. "Food-grade pigments from *Streptomyces* sp. Isolated from the marine sponge, *Callyspongia diffusa*". *Food Res Int.* 42:487.

44. European Food Information Council. http://www.eufic.org Fecha de la consulta: 13 de diciembre, 2011.

45. Fabre, C.E., Santerre, A.L., Loret, M.D., Baberian, R., Parailleux, A., Goma, G. y Blanc, P.J. 1993. "Production and food application of the red pigments of Monascus rubber", *J. Food Sci.* 58:1099.

46. 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.

47. Falco Silvia A., Martínez, Walter J., Rodríguez José L., Núñez de Villavicencio Margarita; y Sevillano, Eva. 2011. "Actividad antimicrobiana de extractos hidroetanólicos de limoncillo *(Cymbopogon citratus)* y Cúrcuma *(Cúrcuma longa)*". *Rev. Venezolana Ciencia Tecnol. Alim.* 2(1):085.

48. FAO/WHO Joint Expert Committee of Food Additives, 2003. http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/924166052x.pdf#page=623 Fecha de la consulta: 19 de enero, 2012.

49. Fernández-López, J., Pérez Álvarez, J.A., y Aranda-Catalá, V. 2000. "Effect on mincing degree on color properties in pork meat", *Color Res. Appl.* 25:376.

50. Food Navigator. 2004. "Lycopene factory from corn 'leftovers'". Available at http://www.foodnavigator.com/Science-Nutrition/Lycopene-factory-from-corn-leftovers Fecha de la consulta: 19 de enero, 2012.

51. 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.

52. 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.

53. Francis, F.J. 1999. "Colorants". *En: Practical Guides for the Food Industry*. American Association of Color Chemists. Eagan Press, St. Paul, Minnessota.

54. Franco Zavaleta, M., Cerón A., Medina, J., Soriano, J., Guerrero Legarreta, I., Pelayo, C. 2009. "Pigmentos y componentes del aroma de jiotilla y pitaya". *En: Estudio de tres cactáceos de la Mixteca baja*. Ed. por L. Yáñez, M. Armella, R. Soriano y D. Sánchez. Editorial Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F.

55. Galicia, R.M., Verde, R., Ponce, E., González, O., Saucedo, C., Guerrero Legarreta, I. 2008. "Estabilidad de licopeno en tomates CV Saladette (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sujetos a distintas condiciones de almacenamiento", *Rev. Mex. Ing. Quím.* 7(3):253.

56. González, G. M., Bárcenas O.N.G., Aquino P.E., Valdéz C. J. M., Ortega D.M. L. y Ramírez R. I. 2002. "Cultivo *in vitro* de células embrionarias de cochinilla *Dactylopius Coccus* Costa a diferentes pH", *Rev. Fitot. Mex.* 25(2):209.

57. 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.

58. Hansen, C. 2010. Chr Hansen CapColours. http://cwc.chrhansen.com/http://www.chrhansen.com/products/product_areas/natural_colors/capcolors.html Fecha de la consulta: 12 de enero, 2012.

59. 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.

60. Hedegaard, C., Bardeau, J.F., y Chateigner, D. 2006. "Molluscan shell pigments: an *in situ* resonange Raman study", *J. Molluscan Stud Adv Acc.* 72:157.

61. Hejazi, M.A., Holwerda E. y Wijffels R.H. 2004. "Milking Microalga Dunaliella salinafor β-Carotene Production in Two-Phase Bioreactors". *Biotechnol. Bioeng.* 85:476.

62. 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.

63. Hendry, G.A. y Houghton, J.D. 1996. *Natural Food Colorants*. Blackie Academic and Professional. Glasgow, Escocia.

64. Hertog M.E., Hollman, P.G. y Katan, M. 1992. "Content of potencially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands". *J. Agricul. Food Chem.* 40:2379.

65. Heuer, S., Richter, S., Metzenger, J.W., Wray, V., Nimtz, M. y Strack, D. 1994. "Betacyanins from bracts of *Bougainvillea glabra*". *Phytochem.* 37:761.

66. Hinostroza 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.

67. Hof, K., C. West, J. Weststrate y J. Hautvast. 2000. "Dietary factors that affect the bioavalability of carotenoids". *J. Nutrit.* 130(3):503.

68. Humphrey, A.M. 1984. "Chlorophyll". *NATCOL Quaterly Information Bulletin*, 4:3.

69. Huang, A.S. y von Elbe, J.H. 1985. "Kinetics of the degradation and regeneration of betanine". *J. Food Sci.* 50:1115.

70. Huang, A.S. y von Elbe, J.H. 1986. "Stability comparison of two betacyanine pigments: amaranthine and betanine". *J. Food Sci.* 51:670.

71. 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.

72. Iturriaga, E.A., Papp, T., Breum, J., Arnau, J., y Eslava, A. P. 2005. "Strain and culture conditions improvement for β-carotene production with *Mucor*". *En: Methods in Biotechnology: Microbial processes and products*. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey.

73. 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.

74. Jones, J.D., Hohn, T.M., y Leathers, T.D. 2004. "Genetically modified strains of *Fusarium sporotrichioides* for production of lycopene and β-Carotene". *Society of Industrial Microbiology Annual Meeting*, San Diego.

75. Kanner, J. 1994. "Oxidative processes in meat products: quality implications". *Meat Sci.* 36:169.

76. Kim, S.W., Seo, W.T., y Park, Y.H. 1997. "Enhanced production of β-carotene from *Blakeslea trispora* with span 20". *Biotech Letters*, 19:561.

77. 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.

78. Larkum, A.W.D. y Kuhl, M. 2005. "Chlorophyll d: The puzzle resolved". *Trends Plant Sci*, 10:355.

79. 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.

80. 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.

81. 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.

82. Lee, Y.K. y Khng H.P. 2002. "Natural color additives". *En: Food Additives*, Ed. por L.A. Branen. Marcel Dekker, Nueva York.

83. Lee, Y.N., Wiley, R.C., Sheu, M.J. y Schlimme, D.V. 1982. "Purification and concentration of betalaines by ultrafiltration and reverse osmosis". *J. Food Sci.* 47:465.

84. Lewis C., Walker, J., Lancaster J. y Sutton K. 1988. "Determination of anthocyanins flavonoids and phenolic acids in potatoes. Coloured cultivars of *Solanun tuberosum* L". *J. Sci. Food Agricul.* 77:45.

85. Liaaen-Jensen, S. y Pfander, H. 1995. "Isolation and Analysis". *En: Carotenoids*, Ed. por G. Britton. Birkhauser Verlag, Basilea, Suiza.

86. Lietz, G. y Henry, J.K. 1997. "A modified method to minimise losses of carotenoids and tocopherols during HPLC analysis of red palm oil". *Food Chem.* 60(1)109.

87. 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.

88. López Hernández E., Valadez Villarreal A., Maupoey P. F. y Chiralt Boix A. 1993. "Obtención de colorante carmín a partir de cochinilla (*Dactylopius Coccus* Costa)". *Universidad y Ciencia* 10(20):79.

89. Maccarone, E. Maccarrone, A. y Rapisarda, P. 1985. "Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice". *J. Food Sci.* 50:901.

90. MacDougall, D.B. 1982. "Changes in the colour and opacity of meat". *Food Chem.* 9(1/2):75.

91. Manjunath M.N., Sattigeri, V.D. y Nagaraja, K.V. 1989. "Curcumina in Turmeric". *Indian Spices*, 9:12.

92. Marmion D. 1984, "Handbook of U.S. Colorants for foods, drugs, and cosmetics". John Wiley & Sons. Nueva York.

93. Marmion, D.M. 1991. "Handbook of U.S. Colorants". John Wiley and Sons, Nueva York.

94. Martinkova, L., Patakova-Juzlova, P., Kren, V., Kucerova, Z., Havlicek, V. y Olsovsky, P. 1999. "Biological activities of oligoketide pigments of *Monascus purpureus*". *Food Addit Contam.* 16:15.

95. McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E., Sonuga-Barke E., Warner J.O., Stevenson J. 2007. "Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial". *The Lancet*, 370, 1560.

96. Mejia, L., Hudson, E., González, E. y Vázquez, F. 1988. "Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers *(Caspsicum annum)* as determined by HPLC". *J. Food Sci.* 53(5):1448.

97. Méndez, G.S., González, M., Lobo, M. y Carnero, A. 2004. "Color quality of pigments in cochineals (*Dactylopius coccus* Costa). Geographical origin characterization using multivariate statistical analysis". *J. Agric Food Chem*, 52:1331.

98. Merino, L. y Edberg U. 1996. "Development and validation of a quantitative method for determination of carmine (E120) in foodstuffs by liquid chromatography: NMKL collaboratory study". *J. AOAC Int* 80(5):1044.

99. Mesa, M.D., Ramírez-Tortosa, M.C., Aguilera, C.M., Ramírez-Boscá A. y Gil, A. 2000. "Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Cúrcuma longa* L. y de los curcuminoides". *Ars Pharm.* 41(3):307.

100. Minguez-Mosquera, M.I. 1997. "Clorofilas y carotenoides". *En: Tecnología de alimentos*. Editorial Universidad de Sevilla. Sevilla, España.

101. Minguez-Mosquerz, M.I. y Hornero-Méndez. 1993. "Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC", *J. Agric. Food Chem.* 41(10):1616.

102. Miyake, T., Isato, K., Nobuyuki, N., y Sammoto H. 2008. "Analysis of pigment compositions in various *Monascus* cultures". *Food Sci Technol Res.* 14:194.

103. 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.

104. Mukherjee, G. y Singh S.K. 2011. "Purification and characterization of the new red pigment from *Monascus purpureus* in submerged fermentation". *Proc. Biochem.* 46:188.

105. 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.

106. Muñoz O., Copaja S., Speisky H. y Peña R. C. 2007. "Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice de antioxidante". *Quim. Nova* 30(4):848.

107. Nagel, C.W. y Wulf, L.W. 1979. "Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxicinnamic acid esters during fermentation and aging of Merlot and Cabernet Sauvignon". *Am. J. Enol. Viticul.*, 30:111.

108. 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.

109. Norma Oficial Mexicana NOM-005-RECNAT-1997, que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de corteza, tallos y plantas completas de vegetación forestal. Archivo http://200.77.231.100/work/normas/noms/1997/05recnat.pdf Fecha de la consulta: 19 de enero, 2012.

110. 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.

111. Onyewu, P.N., Daun, H. y Ho, C.T. 1982. "Formation of two degradation products of β-carotene". *J. Agric. Food Chem.* 30:1147.

112. Pangestuti, R. y Kim, S.K. 2011. "Biological activities and health benefit effects of natural pigments derives from marine algae". *J. Func. Foods.* 3:255.

113. Pérez Alvarez, J.A., Sánchez Rodríguez, M.E., Fernández-López, J., Gago-Gago, M.A., Ruiz 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.

114. Pérez, M. y Becerra, R. 2001. "Nocheztli: el insecto del rojo carmín". *Biodiversitas.* 36(6):2.

115. Pfander H. 1992. "Carotenoids: an overview". *En: Methods in Enzymology*, Ed. por L. Packer. Academic Press Inc., Londres.

116. 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.

117. Pszczola, D.E. 2011. "Eye-catching developments for 2011". *Food Techn* 11:49.

118. Raina B., AgarwL 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.

119. Ravindran, P.N. 2007. "Turmeric-the golden spice of life, en *Turmeric. The genus Curcuma*". CRC Press, Boca Raton, Florida.

120. Rodríguez-Amaya D.B. 1999. "Carotenoides y preparación de alimentos. La retención de carotenoides, provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados". Departamento de Ciencias de los Alimentos. Facultade de Engenharia de Alimentos. Universida de Estadual de Campinas. Brasil.

121. Rodríguez L. C., Faúndez E., Seymour J., Escobar C.A. Espinoza L., Petroutsa M., Ayres A. y Niemeyer Hermann M. 2005. "Factores bióticos y concentración de ácido carmínico en la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) (Homóptera: *Dactilopiidae*)". *Agric. Téc. Chile* 65(3):323.

122. Rodríguez, L.C. y Niemeyer, H.M. 2001. "Cochineal production: A reviving Precolumbian industry". *Athena Rev* 2:76.

123. Roodembury, A., Llenen, R. y Hof, K. 2000. "Amount of fat in the diet affeets bioavailability of lutein esters but not of alfa-carotene, beta-carotene, and vitamin E in humans". *Am. J. of Clin. Nutr.* 71(5):1187.

124. Rouseff, L.R. 1998. "High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto". *J. Food Sci.* 53(6)1823.

125. 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.

126. 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.

127. Salaverry, O. 1998. *Pigmentos naturales quinónicos*. Fondo Editorial UNMSM. Lima, Perú.

128. Salinas, N. y Pacheco-Delahaye E. 2003. "Pigmentos carotenoides identificados y purificados en aceite de palma". *Agronomia Trop.* 53(4):483.

129. Santis, D.D., Moresi, M., Gallo, A.M. y Petruccioli, M. 2005. "Assessment of the dyeing properties of pigments from *Monascus purpureus*". *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 80:1072.

130. Scheer, H. 1991. "Chlorophylls". CRC Press, Boca Raton, Florida.

131. Schuck, J.A., Fratini, M., Rauber, C., Henriques, A., y Elfrides E.S. 2001. "Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*". *Rev. Brasileira Ciências Farmacêuticas*. 37(1):45.

132. Schwartz, S. J. 1994. "Pigment analysis". *En: Introduction to the Chemical Analysis of Foods*, Ed. por S.S. Nielsen. Bartlett Publishers International. Boston.

133. Schwartz, J.A. y Lorenzo, T.V. 1990. "Chlorophylls in Foods". *Crit. Rev. Food Sci. Technol.* 29:1.

134. Schwartz, S.J. y von Elbe, J.H. 1983. "Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables". *J. Food Sci.* 48:1303.

135. 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.

136. Scotter M.J. 2011. "Emerging and persistent issues with artificial food colours: natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink". *Quality Assur Safety Crops Foods*, 3:28.

137. Shahidi, F., Matusalach, A. y Brown, J.A. 1998. "Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture". *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38(1):1.

138. Shi, J. y Maguer, L. 2000. "Lycopene in tomatoes: chemicals and physical properties affected by food processing". *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40(1):1.

139. Shih, C.C. y Wiley, R.C. 1982. "Betacyanine and betaxanthine decolorizing enzymes in the beet *(Beta vulgaris)* root". *J. Food Sci.* 47:164.

140. Stahmann, K.P., Revuelta, J.L. y Seulberger, H. 2000. "Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii, Candida famata,* or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production". *App Mic Biotech.* 53:509.

141. 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.

142. Stewart, I. 1980. "Color as related to quality in citrus". *En: Citrus Nutrition and Quality,* American Chem. Soc., Washington, D.C.

143. 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.

144. Sugimoto N., Goda Y., Susuki J., Kuroyanagi M., Yantada T., Yoshihira K. y Maitani T. 1998. "Structures of minor pigments in cochineal dye". *Nat. Med.* 52(2):135.

145. Symonds, R., Kelly, M.S., Suckling, C.C. y Young, A.J. 2009. "Carotenoids in the gonad and gut of the edible sea urchin *Psammechinus miliaris*". *Aquaculture, 288*:120.

146. Takahashi, M., Matsumoto, T. y Okonogi, S. 2004. "Pigment productions on rice starches by *Monascus anka* sp". *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 51(2):67.

147. Terao L., Nagao A., Pank D. y Limb B. 1992. "A lipid hidroperoxide assay for antioxidant activity of carotenoids". *En: Methods in Enzymology,* Ed. por L. Packer. Academic Press Inc., Londres.

148. Teutonico, R.A. y Knorr, D. 1985. "Amaranth: composition properties, applications of a rediscovery food crop". *Food Technol.* 39(4):49.

149. Tomás-Barberán F. Martos I., Ferreres F., Branks S. y Anklam E. 2001. "HPLC flavonid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honey". *J. Sci. Food Agric.* 81(5):485.

150. Tovar, P.A., M. Pando M. y S.J. Méndez G. 2006. "Susceptibilidad de 15 cultivares de nopal de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* a la infestación de (*Dactylopius coccus* Costa) (Homoptera: *Dactylopiidae)*". Memorias del III Congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales. Morelia, Michoacán. México.

151. Trujillo Castillo, L.F. 2006. "Valor nutricional del aceite crudo de palma africana *(Elaeis guineensis)* y el efecto de la temperatura y tiempo de exposición sobre el contenido de antioxidantes durante la extracción no tradicional". Tesis de Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco.

152. Union Europea. 2008. Commission Directive 2008/128/EC of 22 December 2008 laying down specific purity criteria concerning colours for use in foodstuffs.

153. Velmurugan, P., Vellingiri, H.H., Seralathan, B. Kui-Jae, K.K., Sang-Myung, L., Chae, J.C., Shea, P.J. y Oh, B.T. 2011. "*Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate". *J. Biosci. Bioeng,* 112(6):590.

154. 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.

155. Vigueras G., A.L. y Portillo Martínez, L. 1997. "Cultivo de la grana o cochinilla del nopal". *En: Suculentas Mexicanas/Cactáceas.* Editorial CVS Publicaciones. CONABIO, SEMARNAP/PROFEPA, UNAM. México, D.F.

156. 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.

157. Von Elbe, J.H. y Schwartz, S.J. 2002. "Colorantes". *En:* Química de los Alimentos Fennema, O.R. (ed.). Editorial Acribia. pp. 773-854.

158. 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.

159. Weller, T.A. y Lasure, L.L. 1982. "Betalains in beet root tissue culture". *J. Food Sci.* 47:162.

160. West, C. 2000. "Meeting requeriments for vitamin A". *Nut Rev* 58(11):341.

161. Wrolstand, R.E. 2000. "Colorants". *En: Food Chemistry and Applications*, Ed. por G.L. Christen y J.S. Smith. Science Technology System, West Sacramento, California.

162. 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.

163. Wybraniec, S. y Mizrahi, Y. 2002. "Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus cacti*". *J. Agricul. Food Chem.* 50:6086.

164. 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.

165. Yongsmith, B., Krairak, S. y Bavavoda, R. 1994. "Production of yellow pigments in submerged culture of mutant of *Monascus* sp". *J. Ferm. Bioeng.* 78(3):223.

166. 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.

8

- Introducción
- Gusto
- Aromas
- Aspectos fisicoquímicos en la percepción del olor y el sabor
- Mecanismos de la generación de olores y sabores
- Precursores y desarrollo del aroma y el sabor en alimentos
- Análisis de compuestos de aroma y sabor

Referencias bibliográficas

Edith Ponce Alquicira
Héctor Bernardo Escalona Buendía

Olor y sabor de los alimentos

Introducción

La aceptación de un alimento depende de varios factores, entre los que destacan sus propiedades sensoriales como color, aspecto, sabor, olor, textura y hasta el sonido que produce al masticarlo. Hasta el capítulo anterior se han estudiado los macrocomponentes de los alimentos como el agua, los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos, así como otros que están presentes en menor proporción como vitaminas, minerales y pigmentos. Los compuestos responsables del olor (o aroma vía nasal) y del sabor (que involucra todas las sensaciones percibidas en la cavidad bucal) están en menor proporción, pero desempeñan un papel fundamental en la calidad y aceptación de los alimentos. Los hábitos alimentarios de las personas están determinados en gran medida por el olor y el sabor de los productos que consumen. Se ha demostrado que la selección de alimentos, e incluso su percepción (agradable o desagradable) dependen de factores sociales y culturales, pero las necesidades nutricionales y la salud del ser humano tienen mayor impacto al momento de la ingesta. Por ejemplo, después de mucho tiempo sin consumir sal un individuo la prueba, el gusto salado le resultará muy agradable; en cambio, cuando se ha consumido en exceso, ocurrirá lo contrario. En general, el dulzor se asocia con una fuente energética y el amargor con sustancias potencialmente tóxicas. Los niños prefieren sabores dulces sobre los amargos, y a medida que crecen aceptan otros aunque no se relacionen con sus necesidades metabólicas.

Los cambios en el patrón de consumo tradicional, así como el avance en el conocimiento de la generación de olores y sabores, han contribuido al desarrollo de nuevos alimentos. Si bien el mercado de nuevos productos se basa en campañas de publicidad, los consumidores los aceptarán o rechazarán básicamente en función de sus características de olor y sabor, de manera independiente de su calidad nutricional, toxicológica o de otras ventajas que perciba. Por esta razón, para desarrollar nuevos productos es necesario conocer los factores involucrados en la generación y estabilidad del olor y el sabor, así como de la correcta adición de aromatizantes y saborizantes que se emplean para restituir y conservar las características sensoriales que los alimentos tienen en su forma natural, con lo que se garantiza su consumo y aceptación.[55]

Se prevé un incremento anual de 4.3% en el mercado mundial de los saborizantes y fragancias con ventas de 23.5 billones de dólares para 2014. En 2009, América del Norte, Europa Occidental y la región Asia-Pacífico representaron el 30, el 28 y el 26%, respectivamente, del mercado global en este sector. Asimismo, se pronostica un crecimiento más rápido en las regiones de Asia, Centro y Sudamérica, Europa Oriental y África. La región Asia-Pacífico superará a Europa Occidental para convertirse en el segundo mayor consumidor regional de sabores y fragancias, detrás de América del Norte. En este sector, los países con mayor crecimiento serán China, India, Brasil, México y Chile.[61,62,63] Asimismo, las tendencias indican que los aceites esenciales, los extractos naturales y los sabores complejos desplazarán a los productos sintéticos. Esto significa 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 de los componentes del alimento, sea tradicional o funcional, bajo en grasa, carbohidratos o sodio, o si se trata de bebidas energéticas, nutracéuticos, alimentos infantiles y geriátricos, suplementos alimenticios, etcétera.[61,62]

Si bien el olor y el sabor de los alimentos son fenómenos fisiológicos estrechamente relacionados entre sí, los compuestos responsables de las estimulaciones olfativas y gustativas tienen propiedades físicas y químicas diferentes; las sustancias asociadas al sentido del gusto tienen mayor peso molecular, no son volátiles, son solubles en agua y están en menor número que las relacionadas con el aroma, las cuales deben ser volátiles para que lleguen a los centros olfativos. Otra característica básica es la naturaleza quiral de estos compuestos, debido a que los receptores químicos de los compuestos del olor y sabor son capaces de distinguir entre las diversas formas enantioméricas. En este capítulo se revisarán las características de las moléculas asociadas con el olor y el sabor de los alimentos, los mecanismos que intervienen en su generación y los métodos para analizarlos.

Gusto

El gusto forma parte del sabor de los alimentos. El sabor implica una percepción global integrada por excitaciones de los sentidos del gusto y el olfato, y en muchas ocasiones también de estímulos dolorosos, visuales, táctiles, sonoros y hasta de temperatura. Hablar de sabor es referirse a una respuesta compuesta por muchas sensaciones, cuyo resultado es aceptar o rechazar el producto. En sentido estricto, es la conjunción del aroma que se percibe en la boca vía retronasal, junto con la sensación que producen ciertos compuestos en la superficie de la lengua, el paladar y en los receptores trigeminales. Una persona puede percibir cientos de sabores distintos, pero todos ellos son combinaciones de sensaciones primarias, tal como sucede con la percepción del color.

Las sensaciones percibidas por el sentido del gusto se consideran un fenómeno multidimensional, integrado por cinco gustos primarios: dulce, amargo, salado, ácido y *umami*. Este último se incluyó recientemente como parte de los gustos primarios, debido al hallazgo de receptores gustativos específicos. Cada uno de los gustos básicos corresponde a un determinado tipo de compuesto; así, el gusto dulce es producido por diferentes compuestos como azúcares, aldehídos, alcoholes y cetonas; el gusto amargo es producido principalmente por alcaloides; el salado se debe sobre todo a la presencia de sales de sodio; el ácido es generado por iones hidrógeno y el *umami* por aminoácidos como el glutamato monosódico.[110,144]

Identificar cada sensación gustativa es función de la lengua y el paladar, específicamente en los botones gustativos ubicados dentro de las papilas gustativas. Estas últimas son de cuatro tipos: fungiformes, filiformes, foliadas y calciformes; y se localizan en zonas más o menos definidas de la lengua, y cada una de ellas contiene entre 1-15 botones gustativos. Alrededor de 100 células conforman la estructura de los botones gustativos, pero sólo algunas actúan como receptoras del gusto y se localizan alrededor de una terminal nerviosa. Las células receptoras responden sólo a uno de los cinco gustos primarios, aunque en un mismo botón existen células receptoras para todos ellos, en diferente proporción, por lo que cada botón responde a un sabor específico.[111] Para percibir el gusto de una sustancia, ésta debe disolverse en la saliva e interactuar físicamente con el receptor gustativo en un proceso análogo al de llave y cerradura, o bien difundirse a través de un canal que se ubica en la parte superior del poro gustativo. Sustancias como sales y otros compuestos de bajo peso molecular (< 6000 Dalton) se difunden rápidamente hacia los receptores, a diferencia de otras moléculas de mayor tamaño como proteínas que, en general, carecen de sabor. Cuando alguna sustancia presente en la superficie de la lengua llega a las células receptoras, ésta interactúa con las proteínas receptoras de la membrana celular que están acopladas a las proteínas G (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 al inicio de una cascada de señales bioquímicas como 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. En seguida la información se envía a la corteza cerebral, donde la sensación es identificada 3×10^{-3} segundos después. Las proteínas G en estado inactivo por lo general 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 a 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.[89]

Los receptores del gusto son proteínas transmembrana (T1Rs) formadas por siete dominios, de los cuales uno es extracelular (VFDs). Estas proteínas T1Rs se unen a los compuestos del sabor sólo cuando éstos se encuentran en solución; 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.[86,110] 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 sobre todo en los márgenes laterales del tercio posterior de la lengua, lo amargo en la parte posterior, lo salado

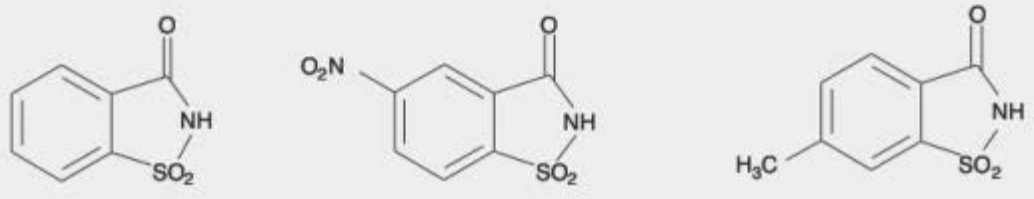
en la punta y en los lados y lo dulce en la punta. El cerebro detecta el tipo de gusto, según la proporción de estimulación de las diferentes papilas gustativas.[47] Por eso los catadores profesionales de vino mueven lentamente la bebida desde la punta de la lengua hacia los lados y hacia atrás para así poder apreciarlo en su conjunto. Las células receptoras tienen una vida promedio relativamente corta y son remplazadas por nuevas células, pero su número se reduce a medida que aumenta la edad del individuo.

En este proceso influyen factores como la temperatura, la textura o las propiedades reológicas del alimento y la presencia de otros compuestos. La interacción de dos o más gustos primarios puede aumentar o disminuir la intensidad de uno de ellos, como ocurre con el 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 está genéticamente determinada. Un hombre adulto tiene la capacidad de identificar la sacarosa en concentraciones de 0.1%, mientras que la quinina en tan sólo 5×10^{-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 ciertas sensaciones gustativas difiere de los adultos; en general, los niños tienen mayor preferencia por los gustos dulces y ácidos, que parece estar ligada a factores genéticos, culturales, sociales y a su disposición para probar sabores nuevos asociados a estímulos visuales intensos.[87] Con la edad y el uso de algunos medicamentos disminuye el nivel de percepción, debido principalmente a la disminución del flujo salival, a la 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 de 1%, es decir diez veces superior a la de los jóvenes y adultos, para diferenciar una solución de azúcar, y que además presentan una reducción significativa en la percepción del gusto salado.[47] Algunos individuos pueden percibir gustos más intensamente, debido a que poseen más papilas gustativas que otros.

Gusto dulce

La estereoquímica de los agentes saporíferos es lo que provoca una sensación específica; por ejemplo, la sacarina es casi 300 veces más dulce que la sacarosa, pero su metilación en posición *para* reduce este poder edulcorante a la mitad; más aún, cuando se convierte en *m*-nitrosacarina por medio de una nitración, presenta un amargor tan pronunciado como el de la quinina (figura 8.1).

Figura 8.1 Estructura de la sacarina, *m*-nitrosacarina y *p*-metilsacarina.



sacarina dulce | *m*-nitrosacarina amarga | *p*-metil-sacarina dulce

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 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 del gusto dulce y el amargo.

CUADRO 8.1 **Gusto de algunos aminoácidos en sus formas isoméricas**

Aminoácido	L-Isómero	D-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

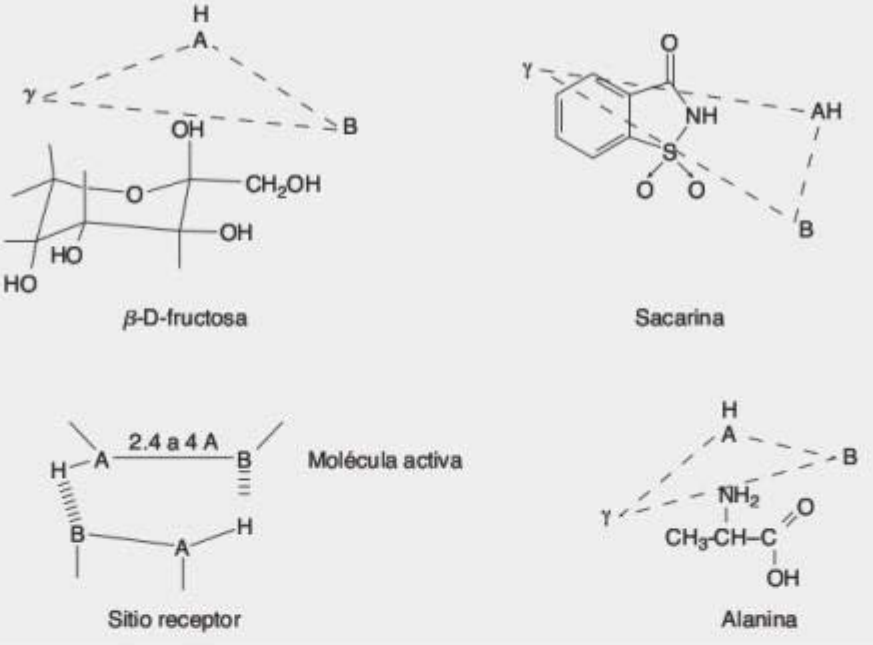
Cada compuesto tiene una cierta capacidad para provocar estas sensaciones y por eso se realizan análisis sensoriales para cuantificar su poder o intensidad soporífera. Así, en el caso de los sabores dulces la capacidad o poder edulcorante se mide en relación con la sacarosa, a cuyo dulzor subjetivamente 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. En relación con la sacarosa, el cuadro 8.2 muestra el poder edulcorante de varios compuestos sintéticos y naturales. Esta información puede obtenerse comparando sensorialmente las capacidades de amargor, salado o ácido de algunos grupos de compuestos.

Después de haberse propuesto varias teorías sobre el mecanismo de percepción del sabor dulce, se llegó a la teoría AH/B, que al parecer se puede extrapolar a otros sabores. En ella, 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 por la adición de un hidrógeno como AH y actúa como donador de protones, en tanto que el átomo B actúa como aceptor (figura 8.2). El átomo AH de la molécula se une a la región B del receptor mediante un puente de hidrógeno; manera similar, la región B de la sustancia activa se une a la región AH del receptor bucal. La formación de los puentes de hidrógeno genera un cambio en el potencial, que se transmite al sistema nervioso.[8,31]

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, establecen 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), pero sólo la neohesperidina, el aspartame, el acesulfamo K, la sacarina, el ciclamato y los esteviósidos son permitidos como

Figura 8.2 Representación esquemática de las unidades AH, B y γ en diferentes compuestos químicos.[8]



edulcorantes de alta potencia en bebidas y alimentos bajos en azúcar. Sin embargo, ninguno de ellos tiene las propiedades funcionales ni el perfil de sabor del azúcar, que presentan un retraso en la percepción del gusto dulce, resabios amargos y medicinales, mayor persistencia y limitaciones en las condiciones de uso. No obstante, es común la combinación de varios edulcorantes no calóricos debido a su efecto sinérgico y obtención de perfiles de sabor más parecidos a los del azúcar común.[13]

Para explicar la percepción del gusto dulce generado por los edulcorantes no calóricos se modificó la teoría AH/B y se añadió el llamado factor γ. La teoría AH/B/γ sugiere que existen tres componentes básicos en la estructura de un endulzante que adoptan un arreglo triangular, la distancia ente los átomos A y B varía entre 2.4 a 4 Å, pero si la distancia es diferente, la molécula generará un gusto amargo (figura 8.2). A diferencia de los átomos A y B, la zona γ corresponde a una parte hidrofóbica del endulzante 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.[34,69,128] Con este modelo se explica el alto dulzor de la fructosa con su grupo metileno, $-CH_2-$, 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 otros edulcorantes sufre pequeñas transformaciones, se provocan grandes alteraciones, ya que pasan con facilidad de dulce a amargo; esto incluso puede observarse con la sacarina, ya que algunas personas consideran que es una combinación de los

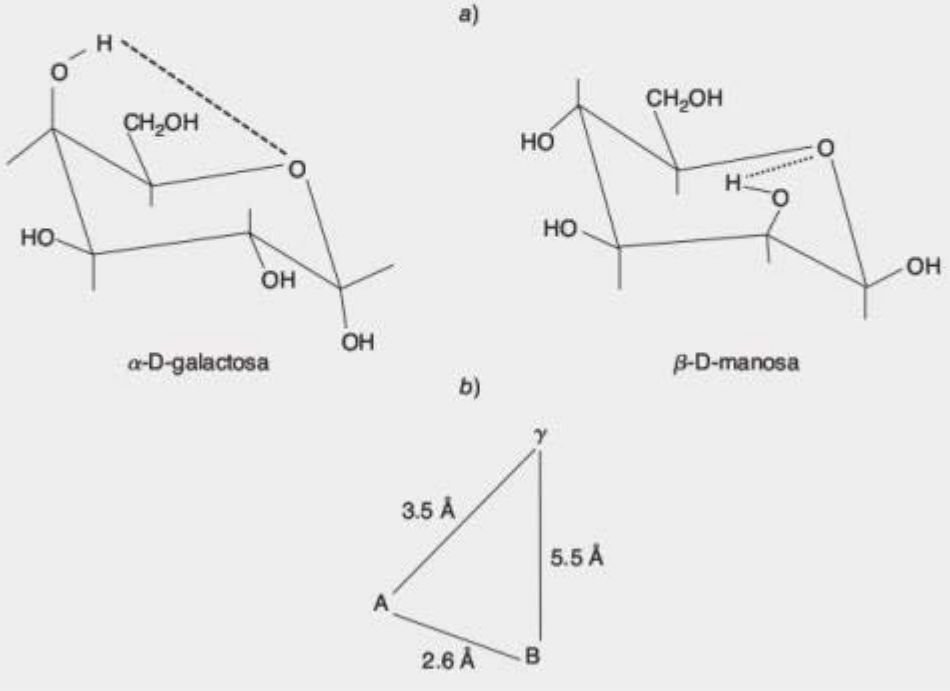
CUADRO 8.2 **Poder edulcorante de algunos compuestos en relación con la sacarosa**[120,121]

Compuesto	Potencia
Lactosa	0.27
Dulcitol	0.4
Sorbitol	0.5
Maltosa	0.5
Dianhídridos de di-d-fructosa (DAFs)	0.55
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
p-Anisilurea	18
Ciclamato (ciclohexisulfamato de sodio)	30-80
Cloroformo	40
Gliciricina	50-100
Dulcina (*p*-etoxi fenil urea)	70-350
Aspartamo (metiléster de aspartilfenilalanina)	160-200
6-Clorosacarina	100-350
5-Nitro-2-metoxianilina	167
Acesulfamo K	130-200
5-Metilsacarina	200
Sacarina de sodio	200-270
n-Hexicloromalonamida	300
Esteviósidos	200-300
Naranginina dehidrochalcona	350
Filodulcina	400
Glucósidos de la fruta Lo-Han-Ko	400
Sucralosa	500-750
1-Bromo-5-nitroanilina	700
5-Nitro-2-etoxianilina	950
Hernandulcina	1000
Perillaldehído antio-aldoxima	2000
Neohesperidina dehidrochalcona	1500
Alitamo	2000
Monelina	2000-2500
Taumatina	2500
5-Nitro-propoxilanilina (P-4000)	4000
Neotamo	7000-13000

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.[8,9]

Mediante el estudio de modelos computacionales en combinación con trabajos de biología molecular y mutagénesis, recientemente se ha propuesto que las proteínas T1R2 y T1R3 que actúan como receptores del sabor dulce poseen cinco sitios de unión. Esto permite explicar la percepción del gusto dulce generado por moléculas con diferente naturaleza estructural, así como el efecto sinérgico que presentan algunas combinaciones de edulcorantes. El dominio N-terminal de T1R2 es el sitio de unión para los carbohidratos, así como para la sucralosa y péptidos (aspartamo y alitamo). Mientras que la proteína T1R3 posee tres sitios de unión: uno para los edulcorantes de naturaleza proteica como la taumatina, monelina; el dominio N-terminal de T1R3 para la interacción con las N-sulfonamidas (sacarina y acesulfame), mientras que el dominio transmembrana (TMD) de este receptor se une a las sulfamidas como el ciclamato. El quinto sitio de unión es inespecífico y permite la interacción con los esteviósidos y otros edulcorantes.[31,32]

Figura 8.3 *a*) Puentes de hidrógeno intramoleculares que impiden la interacción del azúcar con los sitios receptores. *b*) Localización del factor hidrófobo con respecto a los grupos AH, B.[128]



Gusto amargo

La percepción del gusto amargo es similar a la del dulzor debido a su dependencia estereoquímica de las moléculas que desencadenan este estímulo. La mayoría de las sustancia 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; esto 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. Sin embargo, otros autores señalan que, a diferencia de los edulcorantes, algunos compuestos amargos sólo poseen las regiones AH/γ y carecen de la región B. Por otra parte, los receptores del gusto amargo son una familia de 25 proteínas transmembrana (T2Rs), sin embargo hay evidencia de que estas proteínas forman hetero- y homodímeros por lo que el número de T2Rs se amplía hasta 325 proteínas. Este hecho demuestra la difícil tarea de "enmascarar" o reducir el gusto amargo.[31]

La mayor parte de las sustancias responsables del gusto amargo son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y alcaloides, presentes en fármacos y sustancias potencialmente tóxicas. Cuando la intensidad del gusto amargo es muy elevada, puede provocar rechazo y vómito, por lo que se le atribuye una función de defensa para ayudar a la sobrevivencia.[87]

Gusto salado

La sensación de lo salado se debe sobre todo a las interacciones de los cationes y los aniones con los receptores de la lengua, así como sucede con el gusto amargo. Las sales tienen sabores complejos, que combinan gustos dulce, amargo, ácido y salino. Los cationes causan el sabor salado y los aniones lo inhiben; además, a concentraciones bajas las sales pueden producir un sabor dulce. Las sales con diámetros iónicos inferiores a 6,5 Å tienen un gusto puramente salino. Las sales inorgánicas de sodio (NaCl = 5,56 Å) y litio (LiCl = 4,98 Å) producen únicamente sabores salinos, mientras que el potasio y otros iones producen notas salinas y amargas. A medida que aumenta el diámetro iónico de los componentes de la sal, el sabor salado se reduce y se incrementa lo amargo; así, el KCl (6.28 Å), el CsCl (6.96 Å) y el $MgCl_2$ (8.5 Å), 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 compleja sensación de sabor que se describe como jabonosa, o básica.

El cloruro de sodio se toma como referencia exclusiva del gusto salado y, a diferencia de otras sales, incrementa la salivación y la percepción del dulzor; además, enmascara o disminuye notas metálicas y amargas. La exclusividad del sodio en generar el gusto salado se debe al mecanismo de transducción específica en el que participan los canales epiteliales de sodio (ENaCs) de las células receptoras. Se reconocen dos subtipos de ENaCs, uno específico para el sodio que se activa a bajos niveles de este catión, y el segundo ENaCs que es permeable a múltiples cationes y también activado por altas concentraciones de sodio, aunque algunos autores sugieren que el segundo ENaCs se asocia a la presencia de una variante del receptor transmembrana TRPV1t.[31,75] La percepción del gusto salado ocurre cuando la concentración de sodio es suficientemente alta para activar los receptores y producir un impulso eléctrico que transmiten las neuronas al cerebro, donde el gusto salado es finalmente interpretado.[75] Para explicar la percepción diferenciada del gusto salado que producen diferentes sales, se ha señalado que la difusión del ion sodio depende del tamaño del contra-ion, los aniones de mayor radio reducen la velocidad de difusión del sodio y generan una hiperpolarización que inhibe la difusión del sodio a través de la canales iónicos de las células gustativas y, por lo tanto, la intensidad del gusto salado.[31]

Aunque el sodio es esencial para el funcionamiento del cuerpo humano, un elevado consumo de este catión se asocia al incremento de la presión sanguínea y a otras enfermedades cardiovasculares, así como al desarrollo de cáncer gástrico, a un decremento de la densidad

ósea y a la obesidad, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda para los adultos una ingesta diaria de NaCl menor a 5g. El 70% del consumo de sodio proviene de alimentos procesados, por lo que se recomienda la reducción de los niveles de ese elemento en productos procesados, lo que no es una tarea fácil, ya que además de mejorar la palatabilidad de los alimentos, desde el punto de vista tecnológico, el cloruro de sodio mejora las propiedades de jugosidad y textura y reduce la actividad del agua. Algunas estrategias recomendadas para la reducción de sodio en productos procesados incluyen:[29,75]

a) Reducción del sodio aportado por fuentes adicionales como conservadores, agentes leudantes, bases de colorantes y saborizantes, etcétera.
b) Sustitución de sal refinada por sal marina que naturalmente contiene cloruro de potasio y otras sales minerales y sustitución de 20-40% del cloruro de sodio por mezclas de otras sales como cloruro de potasio, cloruro de calcio y sulfato de magnesio, entre otras. Aunque estas sales se emplean como sustitutos del NaCl, se sabe que imparten notas amargas, metálicas y astringentes, debido en parte a que activan al segundo ENaC no específico y amplifican de esta forma también la percepción de notas desagradables. Así, el empleo de sustitutos va acompañado de la adición de edulcorantes como la sacarosa y la taumatina que actúan como bloqueadores del gusto amargo.
c) Empleo de los ácidos cítrico, acético y láctico, entre otros, incrementa la percepción del gusto salado. Esta respuesta tiene un comportamiento hiperbólico, ya que la percepción del gusto salado aumenta proporcionalmente con la concentración de ácidos hasta valores de 0.15 a 0.3%, pero disminuye radicalmente a concentraciones superiores. El uso de ácidos para aumentar el gusto salado está limitado por la presencia de notas ácidas, además depende del tipo de alimento ya que los ácidos pueden afectar de manera negativa la estructura de la matriz del producto.
d) Adición de glutamato monosódico, salsa de soya, extracto de levadura y de hierbas y especias, que actúan como potenciadores del gusto salado.
e) Modificación física de cristales de cloruro de sodio. Al modificar el tamaño y la forma de los cristales es posible aumentar la velocidad de disolución y por lo tanto modificar el perfil del sabor. Se sabe que la sal fina es de rápida disolución y de alto impacto en la intensidad del salado. En esta estrategia se incorpora sal compactada en forma de copos o de hojuelas, o bien, cristales con una estructura tridimensional de pirámide u otras formas irregulares, cuya mayor superficie facilita la disolución y genera una respuesta explosiva y prolongada del gusto salado, con una menor cantidad de cloruro de sodio añadido.[66]

Gusto ácido

Se considera el gusto ácido como el más simple de todos los sabores y es causado por muchas sustancias que en solución generan iones hidrógeno; el ácido clorhídrico se emplea como estándar del gusto ácido. Sin embargo, cada sustancia puede 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 los minerales; sin embargo a valores de pH de 6.5 la diferencia en el sabor es mínima.[57] La percepción del gusto 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. Se ha señalado que la intensidad del gusto 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, y que el cambio en el pH al interior de las células receptoras puede ser la principal señal del gusto ácido.[65]

Los ácidos fuertes inducen un cambio en el pH intracelular por el flujo de protones (H_3O^+) en los canales de protones. En tanto que los ácidos débiles, que a diferencia de los ácidos fuertes están parcialmente disociados inducen un cambio en el pH intracelular mediante dos vías. La primera se debe al flujo de protones (H3O+) y la segunda vía, que tiene un mayor impacto, es la difusión pasiva de las moléculas del ácido no disociadas a través de la membrana de las células sensibles, en el interior de la célula, los ácidos débiles se disocian reduciendo el pH.

A diferencia de los gustos dulce, amargo y *umami*, no se ha demostrado la presencia de receptores específicos para el gusto ácido; aunque recientemente se reportaron dos proteínas transmembrana, PKD2L1 y PKD1L3, presentes en las células receptoras y que podrían constituir parte de los receptores específicos del gusto ácido.[31]

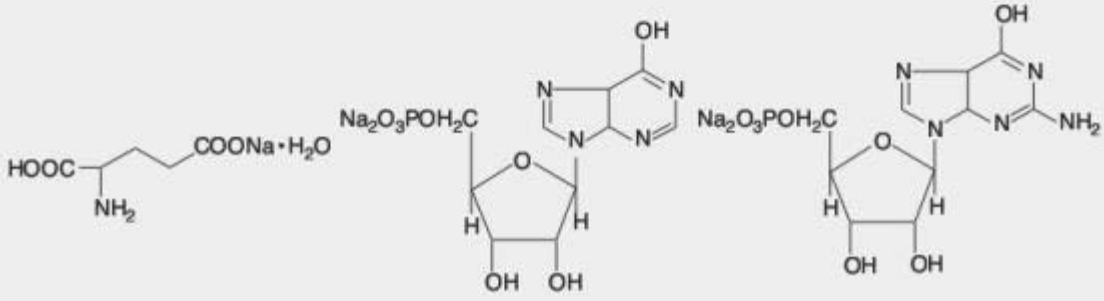
Umami

El *umami* es una sensación única, difícil de describir y que se asocia al glutamato monosódico y a nucleótidos como inosinato y guanilato de sodio (figura 8.4). Este gusto 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 adenosin-monofosfato (AMP), que fue aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) como bloqueador del sabor amargo, también se relaciona con el grupo de compuestos responsables del *umami*.[144]

El receptor del *umami* es un heterodímero constituido por las proteínas transmembrana T1R1 y T1R3, aunque se ha sugerido la posible presencia de homo-dímeros $(T1R1)_2$ y $(T1R3)_2$ y homo-oligómeros del tipo $(T1R1)_n$ y $(T1R3)_n$. Los nucleótidos estimulan la respuesta de los receptores T1R1 y T1R3, por lo que quizá forman parte de los receptores del *umami* junto con otros probables receptores de este sabor como el mGluR4 y mGluR.[31]

Figura 8.4 Estructura de los principales compuestos responsables de la percepción del *umami*.[144]



glutamato monosódico — inosín-5'-monofosfato disódico — guanosín-5'-monofosfato-disódico

Fenómenos de percepción asociados con los gustos básicos

Existen otros fenómenos en la percepción del sabor como astringencia, pungencia, gusto metálico y efecto refrescante.[147] 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 la presencia de 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. Con frecuencia se confunde 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; se sabe que los compuestos del aroma pueden ser mediadores de la astringencia.[3,145] Además, este fenómeno confiere notas desagradables en frutos como el plátano y es un indicativo de una maduración insuficiente.[65]

Compuestos como capsaicinoides, piperina y gingeroles, producen el efecto picante que está presente en especias y vegetales como la pimienta negra, el jengibre, la mostaza, el rábano, la cebolla, el ajo, el clavo y el chile. La pungencia se describe como un conjunto de sensaciones trigeminales no específicas que producen dolor quemante, aguijoneo, irritación y lagrimeo que en conjunto se conoce 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. Otros compuestos que participan en menor grado son la nordihidrocapsaicina, la homodihidrocapsaicina y la homocapsaicina.[137] La figura 8.5 muestra la estructura de los principales capsaicinoides.[19]

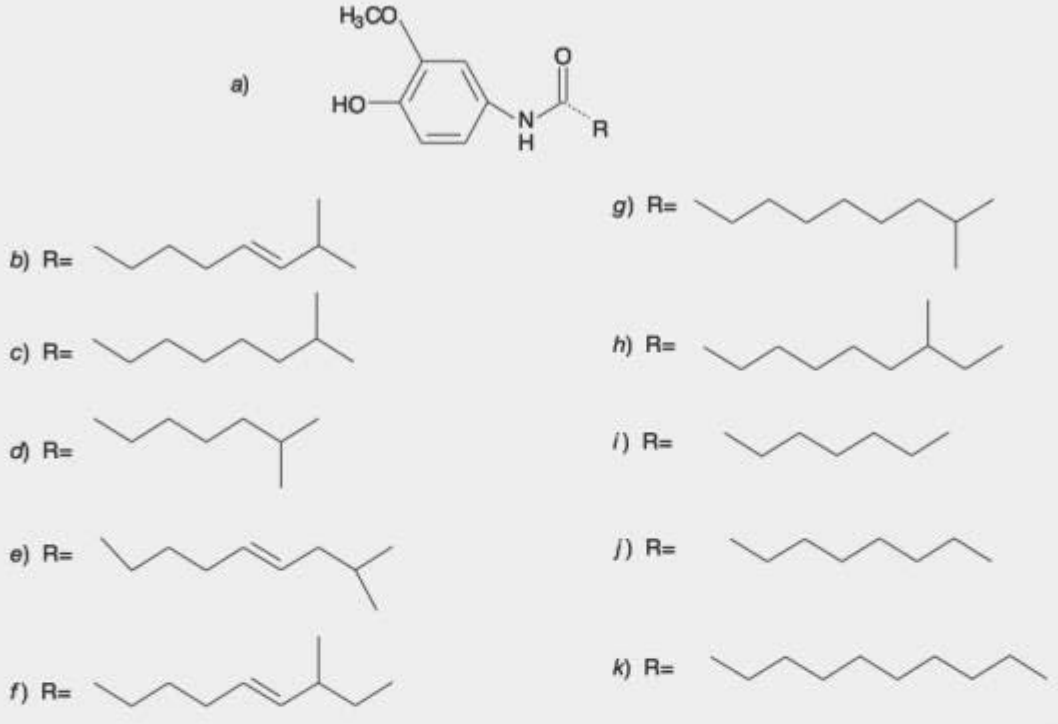
Por otra parte, el efecto refrescante se produce cuando ciertos compuestos como la menta, la hierbabuena y el xilitol estimulan receptores específicos del gusto y el olfato. El gusto metálico que por lo general se asocia con la oxidación, es resultado de sales de mercurio, plata, hierro, cobre o estaño.[147]

Moduladores del gusto

Los moduladores del gusto comprenden a una amplia variedad de compuestos cuya función es equilibrar esa percepción, dentro de los cuales se pueden citar los potenciadores de sabor, los agentes enmascaradores, los sustitutos de sal, los bloqueadores del amargor, así como los extensores, potenciadores e inhibidores del dulzor, entre otros. No existe una solución única, por lo que en la formulación y desarrollo de alimentos es común incluir una mezcla o un sistema de moduladores acordes a cada producto, ya que estos compuestos actúan en sinergia con los agentes saporíferos. Los saboristas deben identificar las características del producto, el impacto del proceso, la estabilidad del alimento y del agente saborizante, los mecanismos que alteran el sabor y las restricciones en el uso de aditivos dentro de la estrategia del desarrollo de alimentos. La viabilidad comercial de los moduladores de sabor depende de seis factores que deben cumplirse a cabalidad: seguridad en su uso, calidad del sabor, solubilidad, estabilidad y costo.[111]

La modulación del dulzor es uno de los factores clave para la producción de alimentos bajos en azúcar o con edulcorantes no calóricos. Destacan los moduladores alostéricos positivos del sabor (PAM´s, por sus siglas en inglés) que por sí solos no poseen sabor, pero que intensifican la percepción del gusto dulce debido a que refuerzan la unión de los edulcorantes con los receptores específicos T1R2. El uso combinado de PAM´s con algunos azúcares y aminoácidos incrementa la intensidad del gusto dulce, y con ello permiten reducir la

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.[19]



concentración de estos endulzantes, sin demérito del gusto dulce. Algunos compuestos que actúan como moduladores positivos son el almidón soluble, la D-catequina, la alapiridaína (N-(1-carboxi-etil)-6-hidroxi-metil-piridinio-3-ol), la neohesperidina dihidrochalcona, el ácido 2,4dihidro-benzoico y el ácido salicílico, entre otros; aunque hay discrepancia en los reportes encontrados. En particular la adición de 375 mg/L de ácido 2,4 dihidrobenzoico (DHB) demostró un incremento de 30% en la intensidad del gusto dulce generado por una solución de sacarosa al 6%, pero este compuesto no ejerció ningún efecto en combinación con la glucosa. Un efecto potenciador fue reportado para el ácido salicílico en soluciones de sacarosa y fructosa, además mejoró el gusto dulce que produce el aspartame. Otros moduladores alostéricos incluyen al 4-amino-5,6 dimetiltieno[2,3-D]pirimidin-2(1H) o ADTP que incrementó de 3 a 8 veces el gusto dulce de la sucralosa, así como el 3-[(4-amino-2,2-dioxido-1H-2,1, 3-benzotiadiazina-5-il)oxi]-2,2-dimetil-N-propil-propanamida (ADBT) que duplicó el dulzor de la sacarosa. Estos dos compuestos, el ADTP y ADBT pertenecen a la categoría de aditivos GRAS por lo que están aprobados para su uso en alimentos.[31,111]

La principal desventaja del uso de edulcorantes de alta potencia, no calóricos, es la presencia de gustos residuales amargos o medicinales, así como el retraso en la percepción y la persistencia del dulzor. Se ha identificado al ácido 4-((1R,3S/1S,3R)-cis 2,2,3 trimetilciclopentenil)-benzoico como un modulador del resabio amargo generado por la sacarina, aunque su efectividad es baja, debido quizás a la complejidad en los receptores del gusto amargo (apartado 8.2.2). Asimismo, se ha señalado que el retraso en la percepción del gusto y persistencia del dulzor generado por esteviósidos, glucósidos obtenidos de

las hojas del arbusto *Stevia rebaudiana bertoni* como el rebaudiósido A, se debe a la presencia de sitios de unión no específicos en la membrana celular de la cavidad bucal. Cuando el edulcorante en solución es ingerido se une de forma inespecífica con sitios no-receptores. Este fenómeno retrasa la interacción con los receptores y la percepción del gusto dulce; a medida que se rompen los enlaces entre los esteviósidos con los sitios no-receptores y, debido a su baja permeabilidad a través de las células receptoras, las moléculas libres del rebaudiósido A se unen una y otra vez con los dominios transmembrana del gusto dulce (T1R3), con lo que aumenta la persistencia del gusto dulce. Estas características pueden reducirse al incorporar cloruro de sodio, cloruro de potasio, y eritriol, debido a que la presencia de estas sales atenúa las uniones no específicas y promueve la interacción con los receptores específicos en una forma más parecida al gusto generado por azúcares.[31,32]

Por otra parte, los receptores del *umami* (T1R1/T1R3) y los receptores del gusto dulce (T1R2/T1R3) comparten la subunidad T1R3, por lo que también se suguiere la presencia PAM´s para este gusto. Por años se ha señalado un efecto de sinergia entre el glutamato monosódico (GMS) y el monofosfato de inosina (IMP), pero se ha demostrado que en realidad el IMP actúa como un modulador alostérico (PAM) que potencia de 30 veces la percepción del *umami*.[111]

Aromas

Por definición, el olor es una sustancia volátil percibida por el sentido del olfato y por la acción de inhalar. El término *aroma* puede definirse de varias formas, pero es importante resaltar que también se asocia con la percepción olfativa por la liberación de volátiles dentro de la cavidad bucal, como parte del sabor de un alimento. En muchas ocasiones, el término *olor* tiene una connotación de desagradable, debido a que los considerados agradables reciben los nombres de aromas. Sin embargo, se puede considerar el aroma como el término genérico asociado a la percepción olfativa, independientemente de si su percepción es nasal o bucal, y el olor se puede relacionar sólo con la percepción nasal.

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, incluido el hombre. Un olor también puede propiciar que alguien evoque alguna situación emocional en un instante, por lo que en algunos países como Japón y Estados Unidos se emplean olores específicos para aumentar la motivación en áreas de trabajo, hogares y lugares de recreación. El aroma juega un papel indiscutible en la elección y aceptación de alimentos, si un aroma indeseable es percibido o no corresponde a las expectativas del consumidor, el producto será rechazado.[77]

Para que pueda percibirse algún olor, la molécula estimulante debe ser volátil (de bajo peso molecular); 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 unos 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 para otro, o incluso en el mismo día. Además, el cerebro no sólo puede captar y reconocer los miles de compuestos odoríferos; también puede almacenar la información y recodarla después de mucho tiempo. Igual que en el sabor, se distinguen siete olores primarios descritos como alcanforado, etéreo, mentolado, floral, pungente, pútrido y almizcle o perfumado.[147]

El ser humano tiene de 10 a 20 millones de receptores olfativos localizados en una superficie de 10 cm^2 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 que, igual que en la percepción del sabor, depende de la estructura química de la sustancia en cuestión, lo que genera 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 anterior, cuando el compuesto activo llega al epitelio olfativo, genera un patrón de activación específico que se transmite al bulbo olfativo, donde la información se reorganiza para crear un mapa exclusivo del olor que se está percibiendo y que permite al cerebro reconocer la naturaleza de cada aroma.[150] 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 muy pequeños en la calidad y 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.[68]

CUADRO 8.3 **Umbrales de detección de algunos aldehídos en alimentos[68]**

Aldehído	Descripción	Umbral (mg/kg)	
		Olor	Sabor
	Plátano	0.3	0.04
	Rancio	10	0.5
	Manzanas podridas	4	0.055
	Nuez	1	0.15
	Grasa de pollo	2	0.25
	Pepino	2.5	0.35
	Manzana	2.5	0.35
	Tomate	0.15	0.15
	Naranja	34	5.5
	Melón	5	1

Aspectos fisicoquímicos en la percepción del olor y el sabor

El proceso de percepción es, en realidad, la integración de la percepción simultánea de las distintas modalidades sensoriales. Aquí no sólo se incluyen el olor y el sabor, sino también otras modalidades sensoriales como la quimiostasis y la sensación táctil en la boca. Por lo anterior el reto para la industria de los sabores es producir la misma nota del olor y el sabor 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 yogur) o sólidos (como caramelo macizo). La percepción del olor y el sabor está directamente asociada con la estructura, naturaleza química y propiedades fisicoquímicas (como hidrofobicidad, solubilidad, volatilidad, etc.) 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 cualquiera 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.[102,134]

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 después conducidos a través de la garganta por la vía retronasal hasta los receptores del olfato. La intensidad del estímulo depende de la fracción de los componentes del olor y el gusto que pueda acceder a los centros receptores. Sin olvidar que la velocidad con la que estos 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, etc.). 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 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 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.[56, 134]

$$P_{gL} = C_g/C_L \qquad \text{(ecuación 1)}$$

$$1/k = 1/k_g + P_{gL}/k_L \qquad \text{(ecuación 2)}$$

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.

$$k_L = D_L / h_L \qquad \text{(ecuación 3)}$$

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 (K_{ge}) depende de la transferencia de masa entre las fases de vapor (C_g) y la emulsión (C_e), como sigue:

$$K_{ge} = C_g / C_e \qquad \text{(ecuación 4)}$$

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):

$$C_e = (1 - \Phi_d)\, C_c + \Phi_d\, C_d \qquad \text{(ecuación 5)}$$

Así, la concentración de volátiles en la fase de vapor (C_g) en el equilibrio, puede expresarse en términos de la ecuación 5 como sigue:[56]

$$C_g = K_{ge} C_c [(1 - \Phi_d) + \Phi_d K_{dc}] \qquad \text{(ecuación 6)}$$

reordenando,

$$K_{ge} = K_{gc} / 1 + (K_{dc} - 1)\, \Phi_d \qquad \text{(ecuación 7)}$$

donde:

K_{gc} = coeficiente de partición en el equilibrio entre la fase de vapor y la fase continua.
K_{dc} = coeficiente de partición en el equilibrio entre la fase dispersa y 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 del gusto y el 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 el olfato, debido a que una parte de éstos se une a las glucoproteínas presentes en la saliva, lo que modifica la intensidad del estímulo (ecuación 8). Además del efecto de dilución, algunos compuestos pueden permanecer más tiempo en las cavidades bucal y retronasal, debido a que quedan retenidos en la mucosidad que recubre la boca, garganta y nariz.

$$S = K_S C^{ns} \quad ; \quad P = K_P C^{np} \qquad \text{(ecuación 8)}$$

donde:

S = intensidad.
P = persistencia.
K_S y K_P = constantes asociadas con la facilidad de acceso entre el compuesto y el receptor.
^{ns} y ^{np} = superíndices asociados con la interacción del compuesto con el receptor.

Este último fenómeno se denomina persistencia (*P*), y es deseable en algunos productos; por ejemplo el mentol, que es uno de los compuestos de mayor persistencia y se emplea como ingrediente activo en chicle, pasta y enjuague bucal, entre otros productos.[134]

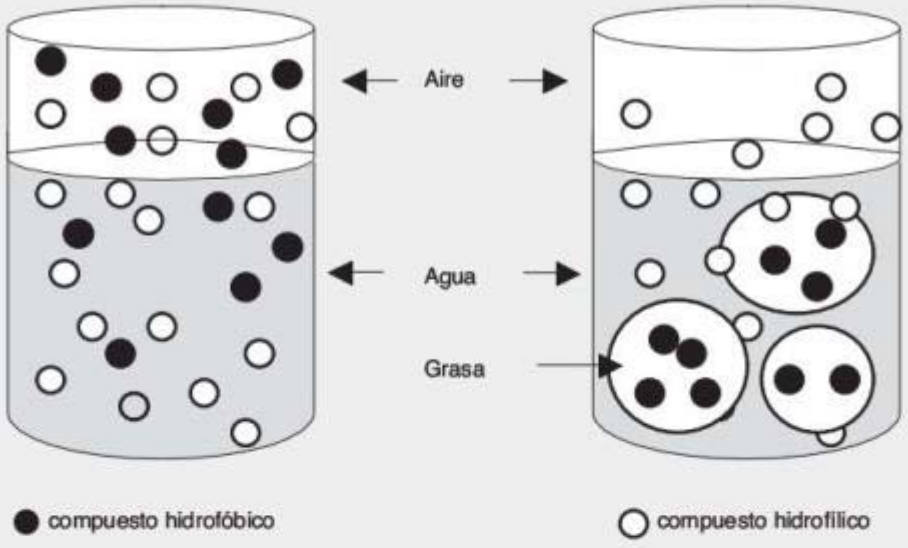
Efecto de macromoléculas en la percepción del sabor

La liberación de los compuestos del aroma depende también del grado de unión y afinidad 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.

● 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 sintetiza 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 hidrófobos 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 del gusto y el olfato, lo que explica en parte la rápida extinción de la percepción del sabor en los productos bajos en grasa, así como la necesidad de emplear saborizantes encapsulados.[22,86,134]

Figura 8.6 Papel de los lípidos en la concentración de compuestos volátiles en la fase de vapor en equilibrio.[22]



Los lípidos también son responsables de la estabilidad física y química del aroma y el sabor. Al reducir el contenido de lípidos, los compuestos hidrófobos 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.[22]

● Papel de los carbohidratos en la percepción del sabor

Igual que los lípidos, los carbohidratos tienen un papel preponderante en las características de olor y sabor. Como vimos antes, los carbohidratos incluyen compuestos de bajo peso molecular que participan directamente como agentes del gusto, así como a oligosacáridos y polisacáridos. Estos últimos carecen de sabor, pero modifican el patrón de percepción. Además, gran cantidad de compuestos del olor y el sabor provienen de la degradación de carbohidratos que se produce mediante las reacciones de oscurecimiento no enzimático. Las gomas y el almidón, en particular, se emplean como extensores, espesantes o gelificantes; incrementan la viscosidad del sistema y retrasan la velocidad de liberación de los agentes del aroma. Por ejemplo, la pectina y el almidón reducen la volatilidad y extracción de compuestos del aroma en yogur, así como la intensidad del gusto dulce de la sacarosa.[23,86]

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, menor difusión. Si además hay aumento en la viscosidad del sistema, la velocidad de difusión será menor, y se inducirá un cambio en el perfil del olor y el sabor, 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 concentración 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 amilasa, las ciclodextrinas y en menor grado la amilopectina, forman complejos de inclusión molecular, estabilizados por interacciones hidrofóbicas, en las que 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.[46,134]

● Papel de las proteínas en la percepción del sabor

Es necesario recordar que la percepción del olor y el 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 del aroma y el 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 tanto, 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 desnaturalizado, 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 del aroma 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 del aroma con proteínas depende en gran medida de factores como pH, temperatura y fuerza iónica que afectan la conformación de la cadena polipeptídica.[42,105,134]

Microencapsulación y nanoemulsiones

La encapsulación es un proceso mediante el cual sustancias activas, como sabores y aceites esenciales, son introducidas en una matriz o sistema de pared para reducir su volatilidad y protegerlas del deterioro por efecto del procesamiento y empacado, o para evitar su interacción con otros componentes del alimento durante el almacenamiento prolongado. Los sabores y aromas encapsulados son especialmente apreciados en productos sometidos a tratamientos térmicos severos. La combinación de calor, humedad y energía mecánica aplicada durante el procesamiento de alimentos, incrementa la volatilidad de compuestos aromáticos que puede llevar a la aparición de perfiles indeseables. Particularmente el desarrollo de nuevas combinaciones de sabores y aromas incrementa la necesidad de mejorar los mecanismos de protección y liberación para aumentar su vida útil en aplicaciones en sistemas acuosos y no acuosos.[108]

Se han desarrollado diversas técnicas para la elaboración de microcápsulas; el tipo de proceso depende de las propiedades del agente encapsulante y del compuesto activo, así como el método de liberación deseado y el costo. Los métodos de encapsulado empleados en alimentos, pueden dividirse en tres grupos: procesos físicos (secado por aspersión, aspersión por enfriamiento, extrusión, liofilización, recubrimiento por aspersión y nanoencapsulación), procesos fisicoquímicos (coacervación simple o compleja y atrapamiento en liposomas) y procesos químicos (polimerización interfacial e inclusión molecular).

El método de secado por aspersión es uno de los más usados a nivel industrial, debido a que es económico y eficiente. Consiste en que los materiales activos se mezclan con los agentes acarreadores o de pared, y después la mezcla es alimentada al secador donde se atomiza. Una variante de este proceso es la aspersión por enfriamiento; en este caso el material de pared es de naturaleza lipídica, en la primera etapa se forma una emulsión con el material activo que después se atomiza por medio de una corriente de aire frío, la reducción en la temperatura produce una solidificación del lípido de pared y el atrapamiento del agente activo dentro de la cápsula; este método es recomendado para compuestos sensibles al calor y materiales insolubles en agua.

La extrusión es el segundo proceso más empleado en la encapsulación de sabores; involucra el paso de una emulsión del material de pared, con el saborizante a través de un dado a alta presión, extrudiendo la mezcla en forma de pellets.

En el proceso por lecho fluidizado, las partículas del agente saborizante se suspenden en una corriente de aire a alta velocidad dentro de una cámara con temperatura y humedad controlada, donde el material de pared es atomizado, esta técnica se aplica a coberturas que funden fácilmente como los aceites vegetales hidrogenados, o a coberturas solubles de maltodextrinas y gomas.

Los liposomas son vesículas que se forman cuando los fosfolípidos se dispersan en una solución acuosa del agente activo, de manera similar a las membranas naturales. La liberación del compuesto se realiza por difusión a través de la bicapa, por destrucción de la vesícula, por medio de la adición de iones calcio o por un cambio de pH.

La microencapsulación por coacervación se induce por agregación del material de pared en una solución coloidal, atrapando el material disperso a encapsular; la coacervación puede iniciar por cambios en el pH, temperatura o fuerza iónica. Esta técnica se vislumbra como una de las más prometedoras para encapsular sabores, pero su limitación radica en los altos costos de producción.[108,146]

Recientemente se ha señalado a la nanotecnología, mediante la formación de nanoliposomas y nanoemulsiones, como una opción eficiente para mejorar la biodisponibilidad, estabilidad y vida de anaquel de diversos agentes activos, incluidos los saborizantes y aromas.[94] Cabe recordar que las emulsiones son sistemas conformados por dos fases inmiscibles, una dispersa en forma de pequeñas gotas dentro de una matriz continua. El radio (r) de la fase dispersa en las emulsiones convencionales es de 100 nm a 100 μm; en contraste, las nanoemulsiones ($r < 100$ nm) y las microemulsiones ($r < 10$ nm) presentan valores radios mucho menores.

Las microemulsiones son sistemas termodinámicamente estables, además presentan mayor superficie interfacial, razón por la cual pueden generar cambios en la textura y reología de la matriz del alimento. Por otra parte, las emulsiones normales tienden a ser ópticamente opacas, debido a que las gotas de la fase dispersa provocan una fuerte dispersión de la luz, en tanto que las nanoemulsiones y microemulsiones son transparentes o translúcidos, ya que el tamaño de las partículas dispersas es menor a la longitud de onda de la luz. Esta característica les permite emplearse incluso en la elaboración de bebidas transparentes o translúcidas. Los procesos para la generación de nanoemulsiones comprenden métodos de alta energía como homogeneizadores de alta presión, microfluidizadores y el ultrasonido de alta energía (> 20 kHz). Otros métodos de baja energía, aplicables a la formación de nanoemulsiones, son los métodos de emulsión espontánea e inversión de fase, donde se forman pequeñas gotas que son posteriormente atrapadas en un estado metaestable.[81,85,113]

El proceso de liberación puede ser controlado por difusión de la pared de la cápsula. En general, los mecanismos de liberación de los compuestos activos incluyen la disolución normal en un medio acuoso, el esfuerzo de cizalla, un incremento en la temperatura, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica.[146]

Materiales de empaque

Los empaques tienen como principal función contener el producto, facilitar su manejo, actuar como barrera de protección que evite el ingreso de agentes contaminantes y prolongar la vida útil del alimento. Desde la perspectiva de la química del sabor, también 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 alimento.[11] Se estima que 70% de los alimentos y bebidas están en contacto directo con materiales de empaque en algún momento durante el proceso de distribución. Considerando que el sabor es una delicada mezcla de diversos compuestos, cualquier cambio en algún constituyente puede considerarse como un factor de deterioro.

Las poliolefinas, que constituyen los plásticos comunes como el polipropileno de alta densidad y el polipropileno de baja densidad, entre otros, que por su naturaleza lipófila pueden retener compuestos no polares y afectar negativamente el perfil sensorial. La absorción de compuestos del sabor depende de fenómenos de partición y difusión a través del material plástico, los cuales varían en función de las características del material de empaque y de la naturaleza de los compuestos del sabor. Varios estudios han demostrado la absorción de ésteres, cetonas y aldehídos en materiales fabricados a base de polipropileno, en los que se señala que al aumentar el peso molecular de los compuestos saporíferos también aumenta su afinidad y absorción hacia el material plástico. Respecto al material de película, las propiedades de polaridad, cristalinidad y densidad, así como el espacio libre de cabeza y la superficie de contacto, la humedad relativa y la temperatura influencian este fenómeno. Por su carácter lipófilo, las poliolefinas no se recomiendan para empacar lípidos ni compuestos aromáticos. En tanto materiales como el poliéster, que es más polar, tiene menos afinidad por los compuestos no polares. Por arriba de la temperatura de transición vítrea (Tg) los polímeros plásticos como el polietileno y el polipropileno son más flexibles pero presentan mayor afinidad por los compuestos no polares. Asimismo, las regiones cristalinas u ordenadas, igual que las regiones de alta densidad en los polímeros plásticos, actúan como barreras disminuyendo la absorción de compuestos del sabor.[14]

Mecanismos de la generación de olores y sabores

El número de compuestos volátiles descritos en la literatura aumenta continuamente, en gran parte debido al desarrollo de técnicas de extracción y análisis instrumentales cada vez más sensibles, que son capaces de detectar a los compuestos odoríferos presentes en concentraciones extremadamente pequeñas. En la actualidad se han reportado más de 10 000 diferentes compuestos responsables del aroma en más de 400 productos, de los cuales un elevado porcentaje 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.[142] Por ejemplo, el gusto dulce aumenta la percepción del olor a fresa, en tanto que el gusto salado incrementa la percepción del olor de productos como la salsa de soya.[27]

Las principales reacciones en la generación de los compuestos responsables del aroma son la hidrólisis y la oxidación de lípidos, entre ellas tres tipos de reacciones: enzimáticas, de oscurecimiento no enzimático y fotoquímicas. Los compuestos del sabor son moléculas

que pueden ser no volátiles (con baja presión de vapor como sacarosa, glucosa, capsaicina, etc.) o volátiles que, al entrar en la boca, se volatilizan y generan aromas; las primeras sólo estimulan el sentido del gusto, mientras que las segundas tanto el gusto como el olfato; estos compuestos derivan principalmente 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 gustos dulce, salado, amargo, ácido y *umami* en alimentos y bebidas.

Por otra parte, los compuestos del aroma son 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 (frescos y 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 el aroma de muchos productos.[80,97,132] 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).

Se pueden reunir 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 aromas/sabores en alimentos[124]**

Nombre	Mecanismo	Características
Biosintético	Metabolitos secundarios sintetizados durante el desarrollo normal de tejidos.	Los aromas son terpenos y ésteres como en la menta, los cítricos, la pimienta y el plátano.
Acción enzimática directa	Los aromas 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 aromas se forman por la oxidación de los precursores del sabor, mediante agentes oxidantes generados de forma enzimática.	
Pirolítico	Los aromas se forman de precursores, al someter el alimento a tratamientos térmicos.	Los sabores se caracterizan por la presencia de pirazinas, derivados furánicos y otros.

En el segundo caso están considerados los cambios que sufren los alimentos cuando se someten a tratamientos térmicos, por ejemplo cocción, freído y esterilización. Los productos crudos de origen animal, como la leche y la carne, tienen olores y sabores muy pobres y sólo después de que 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 olores 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.[132] A continuación se explicarán los dos mecanismos de síntesis de las sustancias responsables del sabor y del aroma de la mayoría de los alimentos.

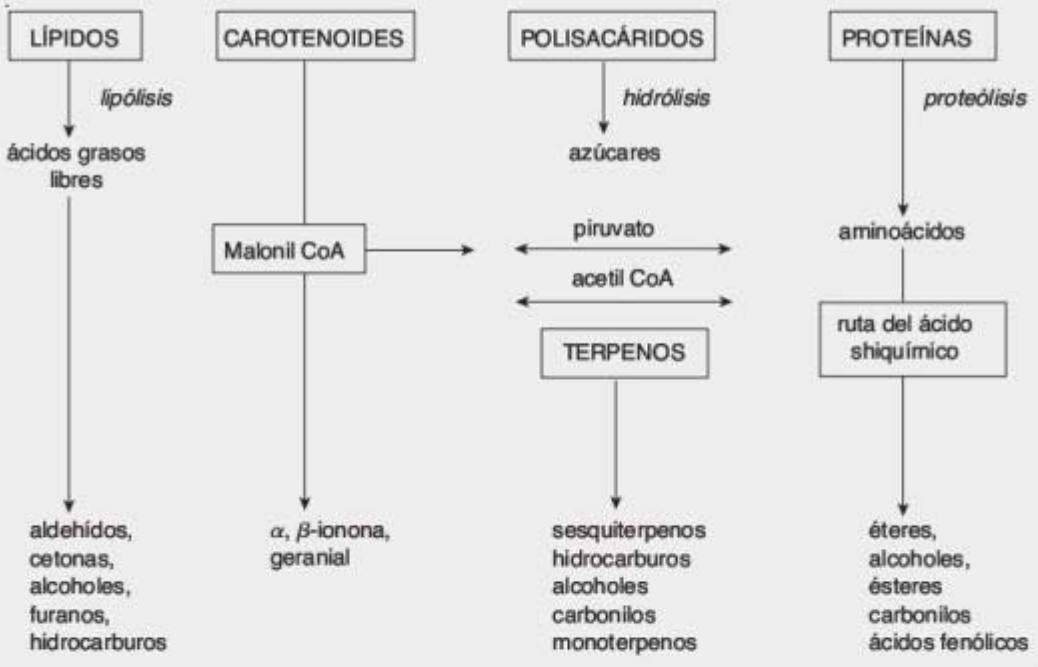
Biosíntesis

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. Vegetales como frutas, verduras, hojas, flores, etc., son productos que en estado natural contienen mayor cantidad de compuestos volátiles y no volátiles, generados por el metabolismo celular. Procesos bioquímicos como la glucólisis, el 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, limonina de los cítricos, etc.; *b*) ácidos, como los ácidos ascórbico, cítrico, fumárico, acético, láctico, málico, etc.; *c*) pungentes como la capsaicina de los chiles (ají, pimentón, etc.) y la piperina de la pimienta; además de un gran número de sustancias volátiles responsables del aroma. Estas sustancias no están distribuidas de forma homogénea en el tejido, de modo que es común que las propiedades sensoriales de frutos y vegetales varíen dentro del mismo producto.[122]

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 a diferentes concentraciones. Además de los aspectos genéticos, las condiciones climatológicas (temperatura, humedad, tiempo de exposición a la luz solar, etc.), tipo de suelo (pH, disponibilidad de nutrimentos, etc.) y las prácticas culturales (rotación de cultivos, riego, fertilización, adición de hormonas, formación de injertos, etc.) así como el manejo post-cosecha también influyen de manera decisiva. En general, cuando una planta se cultiva en circunstancias desfavorables como ante la falta de agua o a temperaturas extremas, tiene un bajo rendimiento y frutos pequeños, pero con una alta concentración de compuestos de bajo peso molecular, que incluyen compuestos del aroma y sus precursores.[43] La calidad de los frutos también depende de las condiciones en las que se efectúe su maduración, dado 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 en vista de que, acorde con la temperatura y la disponibilidad de oxígeno, se favorece un ciclo bioquímico específico que repercute en la síntesis de ciertos volátiles.[30] 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 ocurrió 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.[76]

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. 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 sustancias que provienen de estos mecanismos.[122,138]

Figura 8.7 Esquema de las principales reacciones involucradas en la síntesis del aroma y sabor en frutas.[138]



CUADRO 8.5 **Algunos aromas generados por el metabolismo de los principales constituyentes de los alimentos**

Componente	Aroma
I. Carbohidratos: glucosa, fructosa, sacarosa.	*a*) Ácidos orgánicos: pirúvico, acético, propiónico, acetoacético, butírico, hexanoico, octanoico. *b*) Ésteres: piruvatos, acetatos, propionatos, butiratos, acetoacetatos, hexanoatos, octanoatos. *c*) Alcoholes: etanol, propanol, butanol, hexanol, octanol. *d*) Aldehídos: acetaldehído, propanal, butanal, hexanal, octanal. *e*) Terpenos: linalol, limoneno, pinenos, citronelal, citral, geranial.
II. Aminoácidos: alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, serina, treonina, glicina, cistina, cisteína, serina.	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, *p*-hidroxibenzaldehído, *p*-hidroxi-fenilacetaldehído, *p*-hidroxi-cinamaldehído, tiazoles, glioxal.
III. Ácidos grasos: linoleico.	*trans*-2-*trans*-decadienal, hexanal, *trans*-2-octenal, *trans*-2-pentanal, *trans*-2-hexenol, *cis*-3-hexenal, *cis*-3-hexenol, propanal.
IV. Ácidos orgánicos: cítrico, málico, oxalacético, láctico.	Ácido pirúvico, acetaldehído, etanol.
V. Carotenoides: β-caroteno.	β-ionona.

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.[20] Esta hormona induce la maduración, 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, etc.) y frutas no climatéricas (uvas, fresas, cítricos, sandía, etc.). Las frutas crecen en la planta hasta alcanzar un máximo, para dar inicio a la maduración; en las frutas climatéricas este proceso va acompañado por un aumento en la tasa de 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 distribuirlas 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; hay frutas climatéricas que tienen una actividad respiratoria baja y pueden almacenarse por más tiempo, como la manzana. 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 este compuesto y muestra un cambio en la coloración de verde a amarillo, en demérito de sus características de calidad.[24,25]

En el proceso de maduración del jitomate, un fruto climatérico, el etileno promueve la expresión de genes que están involucrados en los cambios de color, textura, sabor, aroma y características nutricionales durante esta etapa de desarrollo. Como ocurre con diversas señales hormonales, las respuestas al etileno pueden estar moduladas tanto por cambios en los niveles de etileno (biosíntesis y/o degradación) como por los niveles de receptores y/o cambios en su afinidad y por elementos que participan en las vías de transducción de esta señal.[143] Se ha propuesto que en frutos climatéricos operan dos sistemas de regulación de la biosíntesis del etileno. El sistema I funciona durante el crecimiento vegetativo normal y es responsable de mantener los niveles basales de etileno detectados en todos los tejidos (incluidos los de frutos no climatéricos). El segundo sistema opera durante la maduración de frutos climatéricos y la senescencia de pétalos de flores; en él, la producción de etileno es autocatalítica. La maduración usualmente empieza en una región del fruto y se esparce a regiones vecinas a medida que el etileno difunde libremente de célula a célula hasta alcanzar la maduración de todo el fruto. A medida que la maduración se inicia o progresa, se incrementa la expresión de muchos genes. El análisis de la expresión génica relacionada con la maduración, en mutantes o plantas transgénicas, ha indicado la presencia de dos tipos de regulación génica, la dependiente y la independiente de etileno.[96] Aunque la regulación génica dependiente de etileno es la dominante en jitomate, se ha sugerido que ambas vías de regulación coexisten en el proceso de maduración en frutos climatéricos y no climatéricos.[26]

● 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, con lo que inicia el climaterio y la maduración. Por otra parte, las frutas no climatéricas se caracterizan por que su patrón de respiración permanece prácticamente constante una vez cortadas de la planta o del árbol; a diferencia de las anteriores, estas normalmente permanecen en el árbol hasta que maduran.[24,25]

Aun en concentraciones muy bajas, del orden de 0.1 ppm, el etileno causa una fuerte alteración a los sistemas genéticos, induce la síntesis de un gran número de enzimas como proteasas, lipasas, 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, las pectinas, la clorofila, etc.; con esto, el fruto verde, duro, astringente, y carente de sabor, adquiere características sensoriales aceptables.[20,24,25] Cabe indicar que el periodo preclimatérico puede incrementarse para mantener la fruta inmadura por más tiempo, y reducir la cantidad de oxígeno disponible para la respiración, así como mantener la temperatura a 15 °C; por debajo de eso 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, 70% de éstos en el plátano 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 muestra el cuadro 8.6.

CUADRO 8.6 **Compuestos volátiles del aroma del plátano**

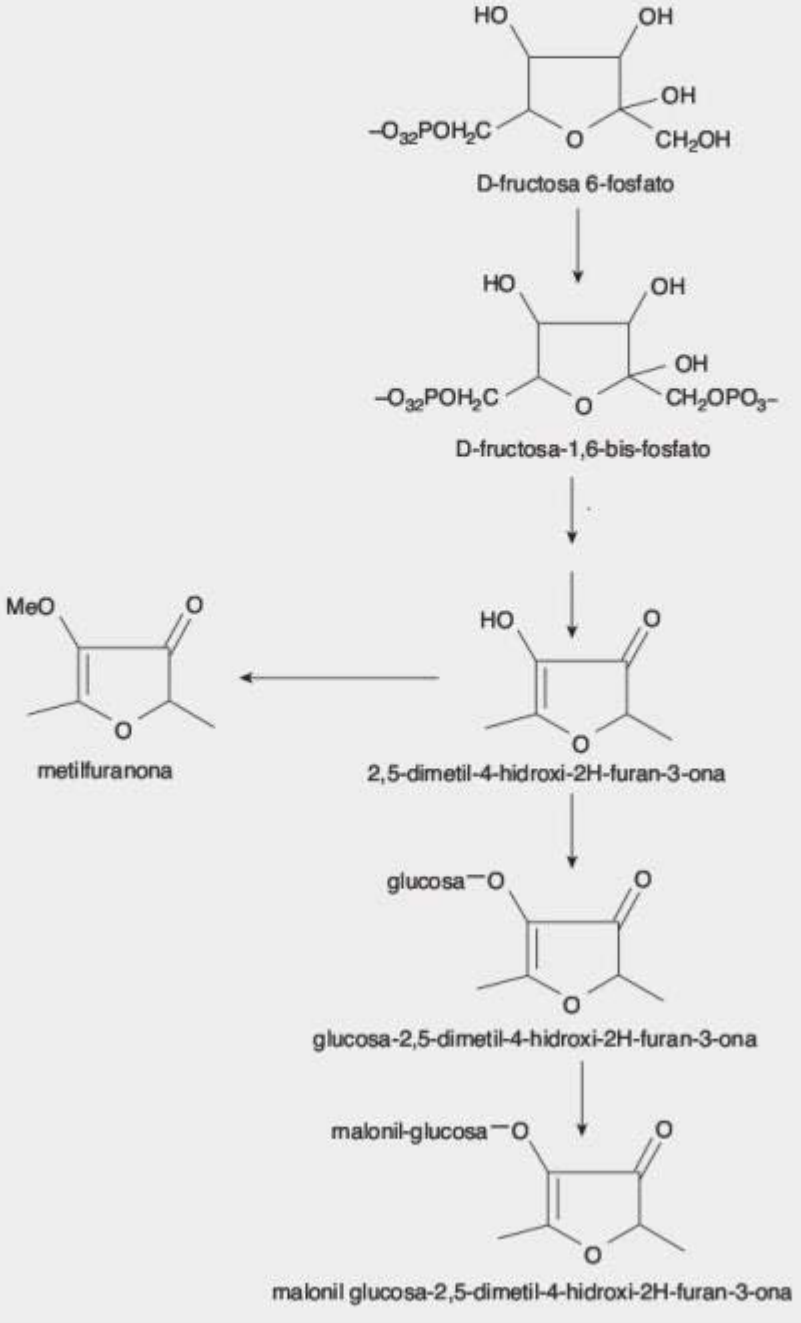
Acetato 3-metil-butílico	Butirato amílico
Acetato isoamílico	Eugenol
Propionato amílico	Acetato metílico
Butirato amílico	Pentanona
Alcohol hexílico	Butanol
Acetato butílico	Alcohol amílico
Butirato butílico	Éter metílico del eugenol
Acetato hexílico	

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 deshidrogenada (ADH) o lipoxigenasa (LOX).[20,24,25] La compleja gama de compuestos que se encuentran en el aroma de frutas se sintetiza según cinco 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 linolénico y generación de hexanal y nonanal y los oxiácidos de 9 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.[12,137]

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-hidroxifuranona (DMHF), que tiene un gran impacto en el sabor de fresas, debido a

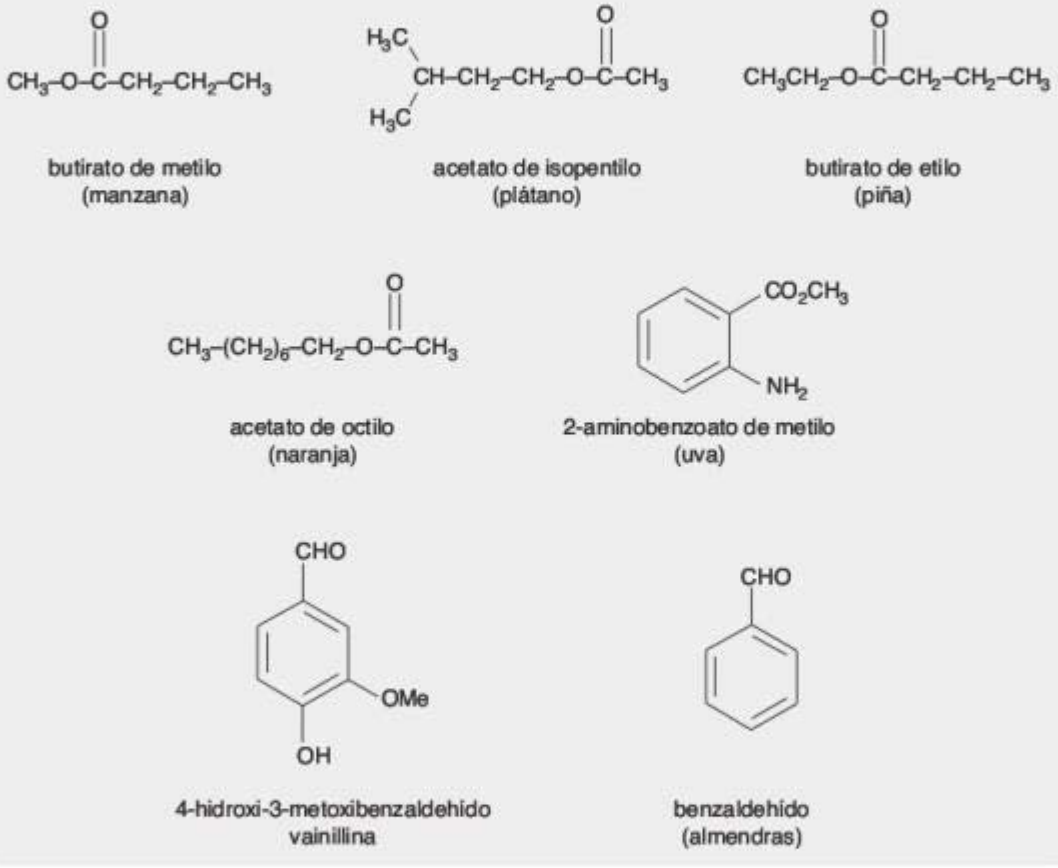
su bajo nivel de detección de hasta 4×10^{-5} mg/kg (figura 8.8).[12] Forman parte importante de los compuestos aromáticos en frutas los aldehídos, entre ellos la vainillina y el benzaldehído (figura 8.9); este último es el principal componente del aroma de almendras amargas y se encuentra también en durazno, ciruela y chabacano. Ambos aldehídos se producen por la acción de las enzimas beta-glucosidasa e hidroxilasa, a partir de glucósidos cianogénicos.

Figura 8.8 Síntesis de furanonas a partir de fructosa, durante los procesos de maduración de la fresa.[12]



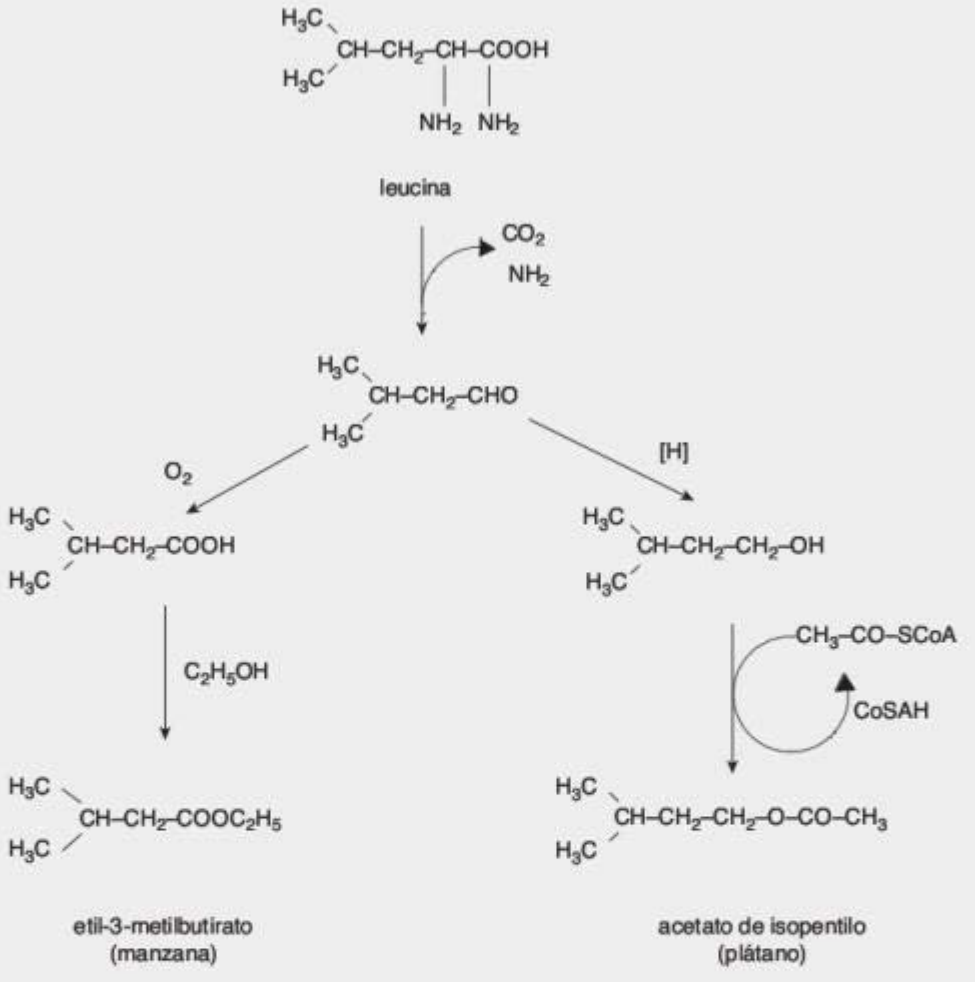
b) Conversión de aminoácidos. El contenido de alanina, leucina, isoleucina y valina se incrementa considerablemente en el climaterio, gracias a la acción de las proteasas; a su vez, estos aminoácidos son sustratos en transformaciones de desaminación, decarboxilación, reducción y esterificación, con lo 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 las figuras 8.9 y 8.10.[147]

Figura 8.9 Ésteres y aldehídos presentes en frutas.[8]



En frutos no climatéricos como la fresa, el contenido de aminoácidos libres se asocia con la formación de ésteres, 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.[12] Es interesante que aun dentro de un mismo fruto, cada aminoácido es utilizado en diferentes fracciones celulares; por ejemplo, en el caso del jitomate, los sistemas enzimáticos solubles actúan sobre la leucina, mientras que la mitocondria utiliza la alanina y el ácido aspártico.[148] 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.

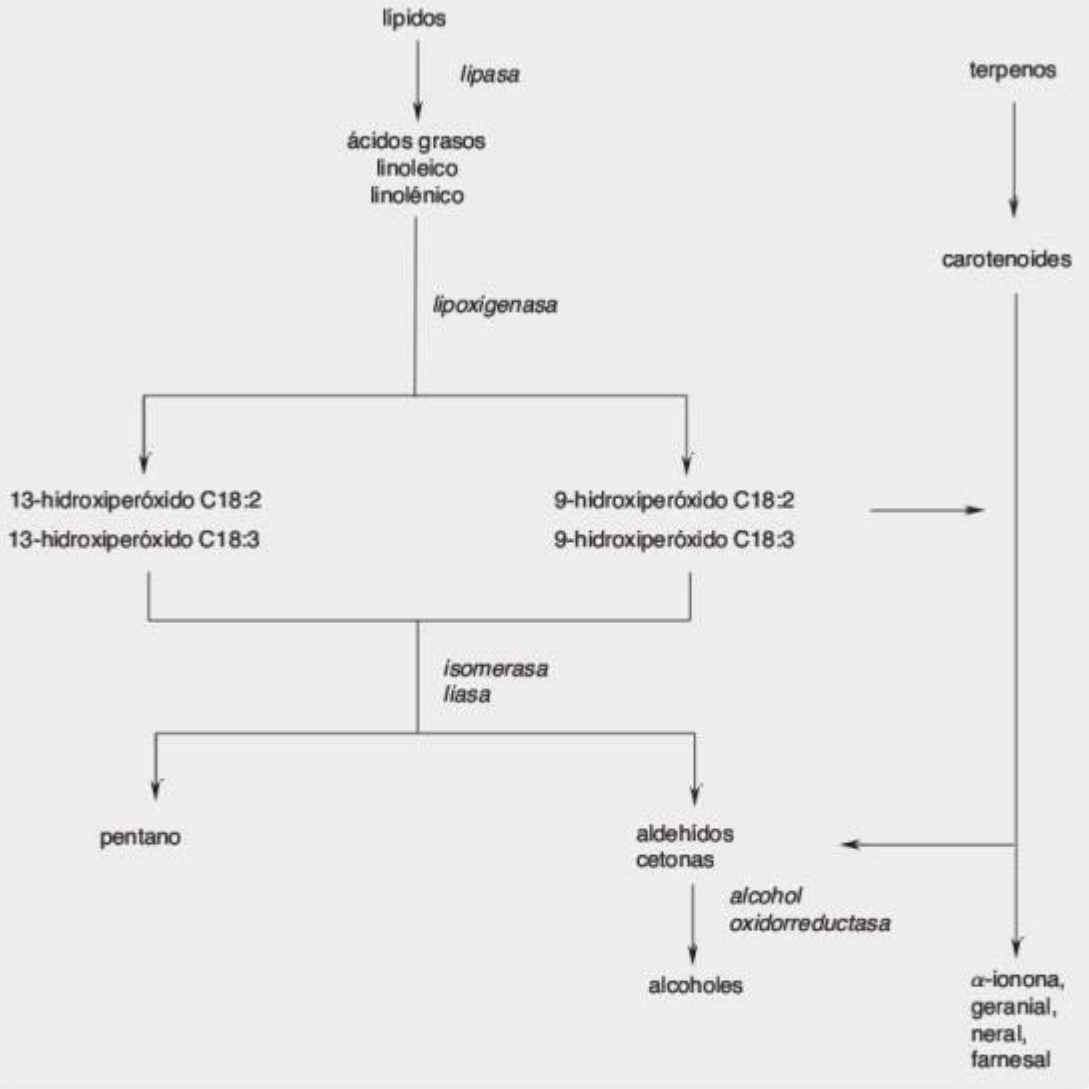
Figura 8.10 Transformación de la leucina en moléculas aromáticas.[8,12,58,147]



c) 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. Como primer paso para su utilización, debe haber una actividad lipásica que los libere de los triacilglicéridos. Los ácidos grasos poliinsaturados que se localizan 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.[95] Una vez libres, los ácidos linoleico y linolénico entran en la *β*-oxidación y la oxidación por la lipoxigenasa. Este conjunto de transformaciones trae consigo la síntesis de aldehídos, alcoholes, cetonas, ésteres, ácidos, lactonas, etc., todos de bajo peso molecular, que se han identificado en la fracción volátil de muchas frutas (figura 8.11).

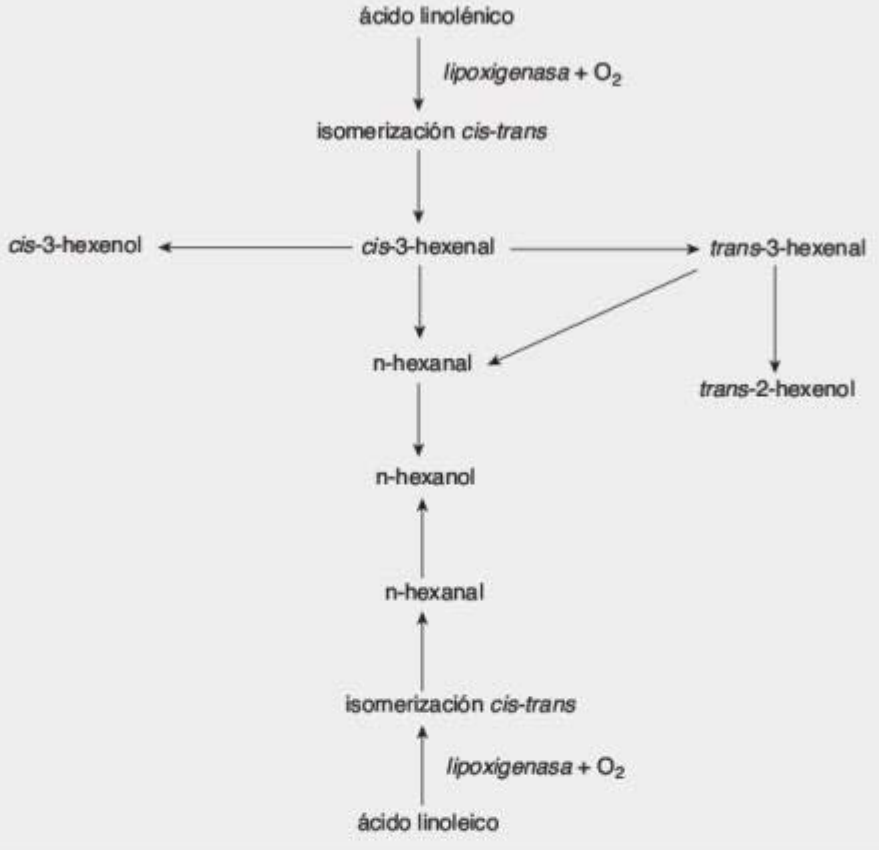
La acción de la lipoxigenasa es igualmente decisiva en la síntesis de los aromas, ya que de ella se deriva la mayoría de los componentes volátiles. La lipoxigenasa es importante en muchos vegetales, pero en cada caso su acción es muy especial; por ejemplo, oxida los ácidos grasos y produce los correspondientes hidroperóxidos, que en el caso del ácido linoleico

Figura 8.11 Formación de aromas a partir de ácidos grasos insaturados.



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.[44] 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 ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CHO$), 3-hexenal ($CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CHO$) y 2-hexenal ($CH_3CH_2CH_2CH{=}CHCHO$); el primero a partir del ácido linoleico, y los dos restantes del ácido linolénico (figura 8.12).[17] 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 tanto, tampoco se producen los ácidos grasos libres que sirven de sustrato a la enzima oxidativa.

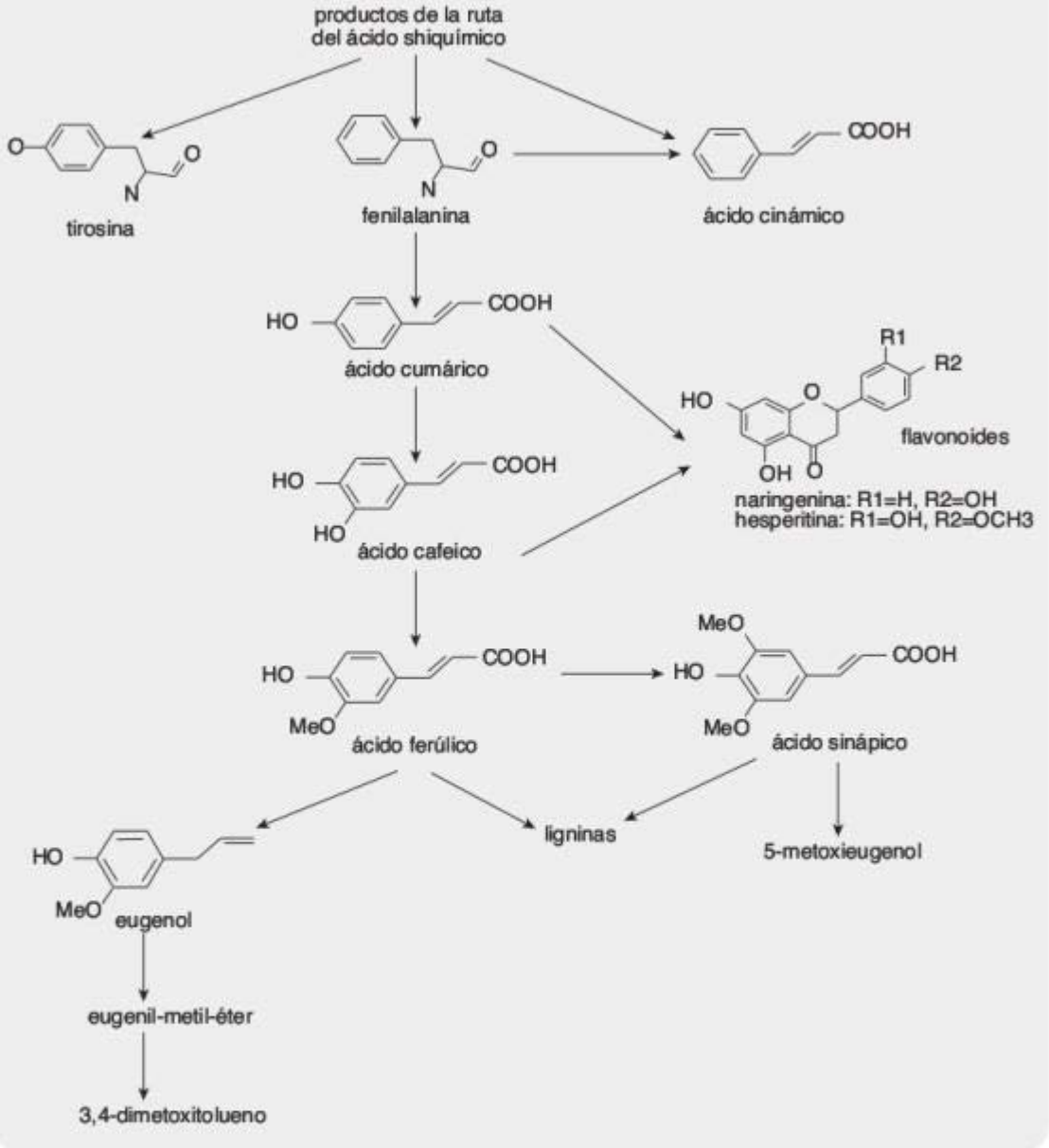
Figura 8.12 Formación de aldehídos y alcoholes a partir de ácidos grasos del jitomate.



Cuando los hidroperóxidos 9 también se rompen, como en el caso del pepino, se producen otras sustancias igualmente importantes, tales como 2,6-nonadienal ($CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH_2CH{=}CHCHO$) y 2-nonenal ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH{=}CH\ CH{=}CHCHO$). Otros aldehídos que también se han identificado son el 2,4-heptadienal ($CH_3CH_2CH{=}CHCH{=}CHCHO$), el 2,4-decadienal ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH{=}CHCH{=}CHCHO$), el 2-heptanal ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH{=}CHCHO$) y el 2-octenal ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH{=}CHCHO$). A su vez, estos aldehídos pueden transformarse en alcoholes por medio de la enzima alcohol deshidrogenasa, o bien, en ácidos mediante la correspondiente oxidación; los ésteres derivan de la reacción entre estos alcoholes y ácidos. Estos mecanismos se presentan en frutas como el mango, cuyo aroma y sabor están relacionados con su composición de ácidos grasos, de donde derivan alrededor de 100 compuestos que constituyen 25% del total de volátiles actualmente identificados.[6,104]

d) 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 se observa en 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.



e) 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 biosíntetico, dado que derivan de la condensación de pirofosfato isopentenílico, que se trasforma a pirofosfato de geranilo, como muestra la figura 8.14.[45,74] 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.[74]

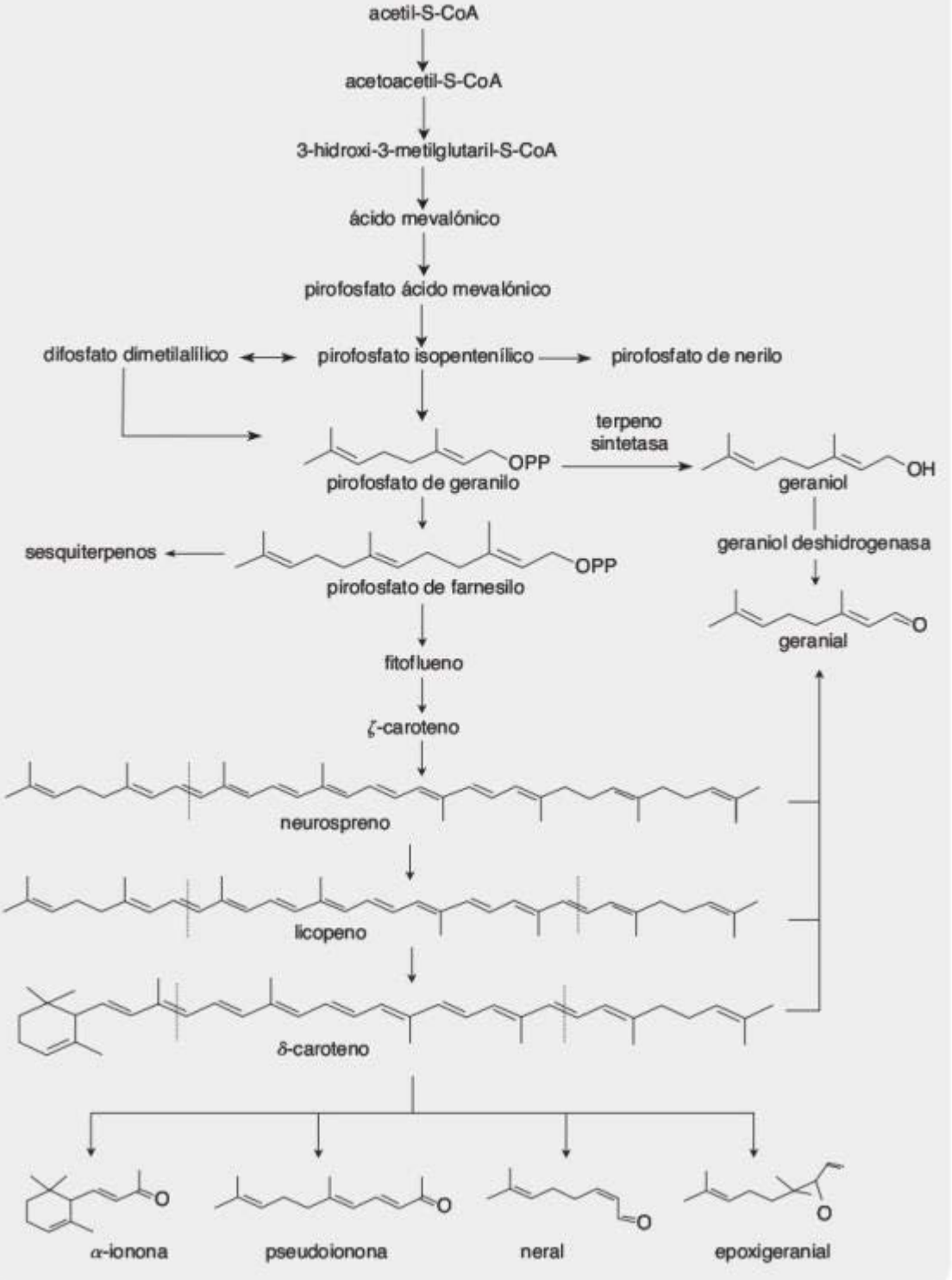
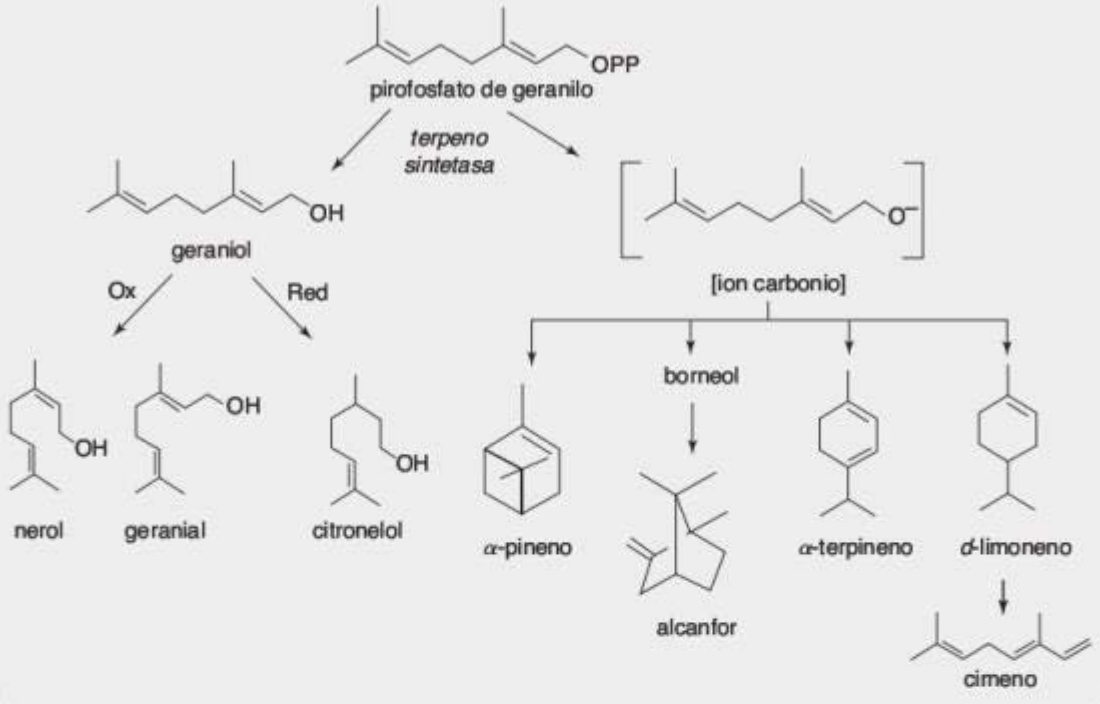


Figura 8.15 Síntesis de terpenos a partir del pirofosfato de geranilo.



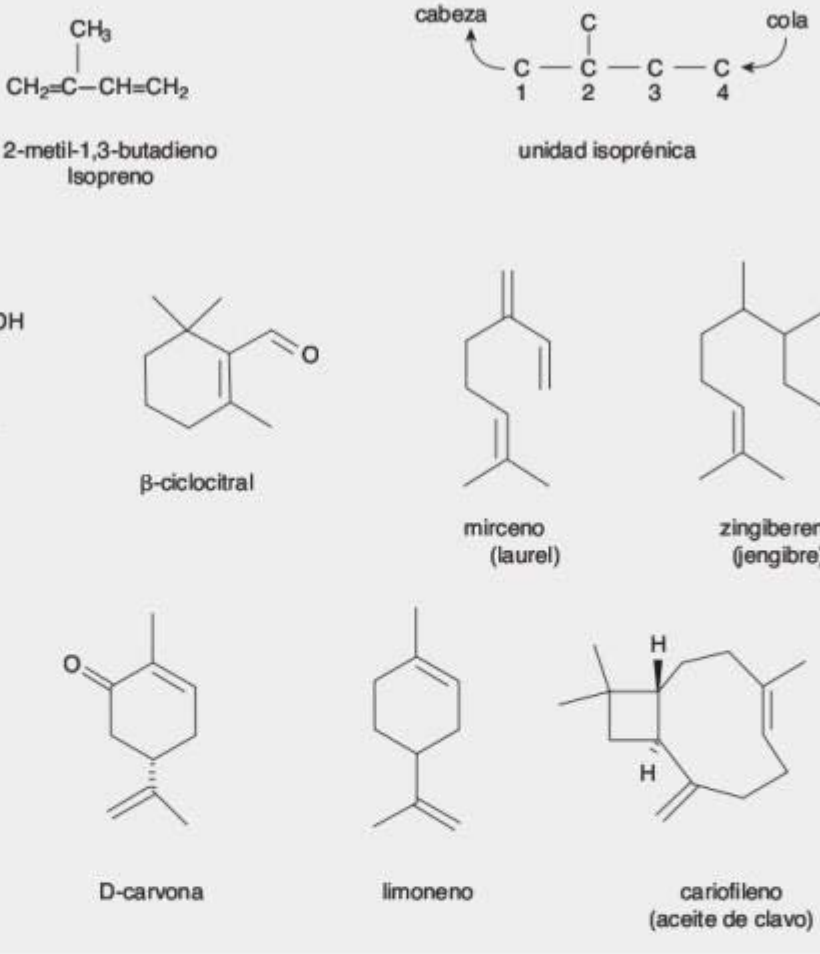
En particular, los cítricos deben su aroma a la presencia de diversos terpenoides (figura 8.16); éstos se sintetizan en las glándulas que están distribuidas en forma heterogénea en las capas pigmentadas del flavedo y que producen aproximadamente 12 ml del correspondiente aceite esencial por cada 100 cm^2 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*, uno y medio), diterpenos, triterpenos y tetraterpenos, respectivamente (cuadro 8.7).

CUADRO 8.7 **Clase de terpenos en la naturaleza**

	Unidades de isopreno	Fórmula condensada	Ejemplo
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.[15]

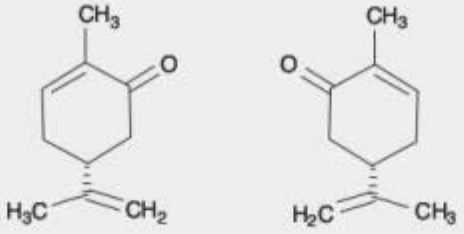


Las moléculas de isopreno se unen, por lo general en un arreglo tipo cabeza-cola, como ocurre con los monoterpenos, pero también existen en forma de cola-cola, para integrar las dos partes de los carotenoides. Sólo los terpenoides volátiles (principalmente monoterpenos y en segundo término los sesquiterpenos) 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.

Tanto los monoterpenos como los sesquiterpenos pueden estar oxigenados en forma de aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos y ésteres; en realidad los derivados oxigenados son responsables de los aromas de los cítricos. Por ejemplo, en el aceite de limón hay 95% de limonero 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, etc., 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*, 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, etc.), pero difieren en aroma.[33]



L-carvona D-carvona

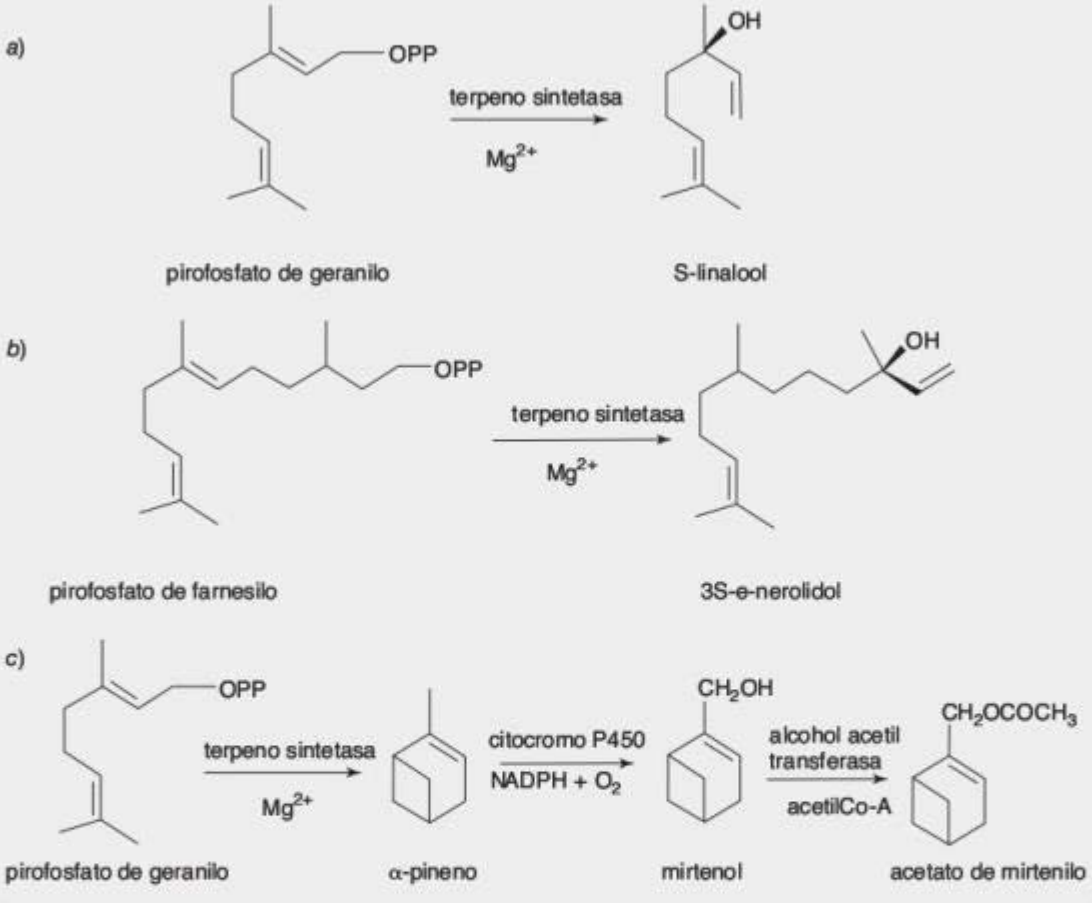
Entre los sesquiterpenos, el β-selineno, el α-eudesmol y la notcatona se encuentran en los aceites esenciales de apio, eucalipto y naranja, respectivamente. Cabe indicar que, por tener una cadena mayor de átomos de carbono, los sesquiterpenos tienen temperaturas de ebullición más altas que las de los 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 olefínicos 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 9 a 13 carbonos derivados de la degradación de carotenos (C_{40}), tienen un límite de detección muy 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; aunque estos compuestos contribuyen con 8% del total de la intensidad del aroma, representan el 78% del aroma floral del jugo de naranja.[82]

● Aroma en las verduras

Las frutas se caracterizan por producir ésteres, y las verduras por sintetizar diversos compuestos derivados del azufre, lo que para muchos son olores desagradables y no aromas. En 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, etc., 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. 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 por lo general 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, escaldado, etc.) que rompe su estructura celular, una enzima glucosidasa se pone en contacto con el precursor y lo hidroliza, liberando la fracción volátil odorífica.[95]

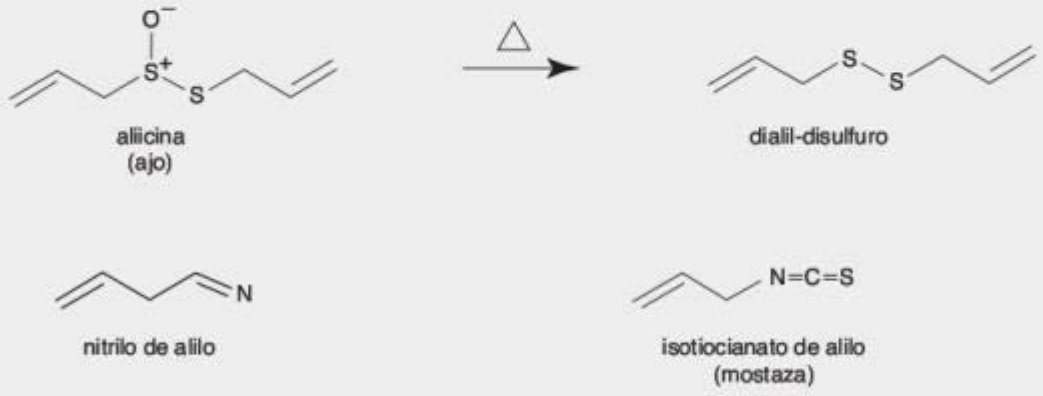
Figura 8.18 Síntesis de terpenos en fresa por acción de la enzima terpeno sintetasa: *a*) Alcohol monoterpeno linalool; *b*) Sesquiterpeno nerolidol. *c*) Síntesis de pineno por acción de la terpeno-sintetasa, formación de mirtenol por hidroxilación en el C-10 por la enzima citocromo P450, y producción de acetato de mirtenol por la alcohol-acil-transferasa.[1]



Algunos sistemas enzimáticos tienen la peculiaridad de regenerar el aroma perdido de vegetales que han sido sometidos a un tratamiento térmico. Por ejemplo, en el proceso de deshidratación del brócoli, la zanahoria, la cebolla y el rábano, 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 esos precursores y liberan los aromáticos volátiles. Como vimos antes, 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 unas 420 moléculas que contienen azufre y que han sido identificadas en diversos alimentos;[129] en forma natural muchas están presentes en algunos productos, otras se sintetizan cuando se someten a un tratamiento térmico, y otras más se generan por alguno de los mecanismos que se explican a continuación.

***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), efectúa la ruptura de estas moléculas. La acción de la aliinasa en la cebolla genera amoniaco, ácido pirúvico y ácido sulfénico; este último es muy inestable y se descompone sin intervención enzimática, en monosulfuros ($CH_3CH{=}CHSH$), disulfuros ($CH_3CH{=}CHS{-}SCH{=}CHCH_3$) y trisulfuros ($CH_3CH{=}CHS{-}S{-}SCH{=}CHCH_3$), así como en óxido de S-tiopropanal ($CH_3CH_2CH{=}S{=}O$, agente lacrimógeno), en mercaptanos y en tiofenos (cuadro 8.8). Además, en una segunda etapa el óxido de S-tiopropanal reacciona con el piruvato y sintetiza propanol y 2-metil-pentanal-2. Cabe aclarar que una proporción del sustrato en la cebolla 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-glutamil-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 maduras, por lo que en estas últimas, la aliinasa sólo utiliza una fracción del sulfóxido.[125,147] En el caso del ajo, el sulfóxido de S-2-propenil cisteína se convierte en amoniaco, ácido pirúvico y tiosulfinato de dialilo; este último, también llamado aliicina (figura 8.19), se convierte en diferentes sulfuros y disulfuros de metilo y de alilo, característicos de los volátiles del ajo.[147]

Figura 8.19 Isotiocianatos presentes en vegetales.[147]



Además de los productos del género *Allium*, existen otros de la familia brasica 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 μg/L.

Otro ejemplo de este mecanismo de generación de aromas mediante sulfóxidos es el hongo *Letinus 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-glutamil-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, compuesto cíclico responsable del aroma.

CUADRO 8.8 **Compuestos azufrados presentes en aceites esenciales de ajo y cebolla[90]**

Monoazufrados	Disulfuros	Trisulfuros
Metil-alilsulfuro	Dimetil disulfuro	Trimetil disulfuro
3-alil tio-ácido propiónico	Metil-propil-disulfuro	2-propenil-metil- trisulfuro
Metanetiol	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-tioglucosa, responsable del aroma y la pungencia de estos vegetales. Entre los principales están la singrina, la sinalbina y la mirosina, que se encuentran en productos como la col, el rábano y la mostaza, entre otros.[135] 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.

● Tratamientos postcosecha

Los objetivos del tratamiento postcosecha son conservar las características de calidad de productos vegetales frescos recién cosechados, para su posterior proceso o comercialización. Los procesos varían e incluyen operaciones de lavado, aplicación de recubrimientos, empaque en sistemas permeables al oxígeno o en atmósferas modificadas y refrigeración, entre otros. Estas operaciones permiten controlar la velocidad de la actividad respiratoria, transpiración, producción y acción de etileno, además de reducir el riesgo de ataque de agentes microbianos causantes de enfermedades. Para obtener la mayor vida útil de los productos procesados debe tomarse en cuenta la naturaleza del producto, el desarrollo o madurez, la composición, la susceptibilidad a enfermedades, etc., así como las condiciones de operación de las cámaras de almacenamiento (temperatura, humedad relativa, velocidad del aire, concentración de gases (O_2, CO_2, C_2H_4, tipo y material de envase, estibamiento, etc.). Los procesos postcosecha, como la baja temperatura y las atmósferas modificadas con bajas concentraciones de O_2 y elevadas de CO_2, también ejercen cierto nivel de estrés en los productos hortofrutícolas, lo que induce la producción de piruvato y su conversión posterior a otros metabolitos mediante un metabolismo fermentativo. En la fermentación etanólica, el piruvato es transformado a acetaldehído en una reacción catalizada por la enzima piruvato descarboxilasa, y posteriormente a etanol por la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), reacciones que llevan a un incremento en los niveles de acetaldehído y etanol, los cuales pueden tener un impacto negativo en el perfil de sabor, si sus concentraciones sobrepasan los valores umbral de percepción, o si se induce la síntesis de otros compuestos odoríferos. El piruvato también puede propiciar la síntesis de alanina mediante la acción de la enzima alanino-aminotransferasa, o a acetil-CoA por la enzima piruvato-deshidrogenasa (PDH).[98,112,133]

La manzana *Golden delicius* (*Malus domestica*) almacenada en una atmósfera de 0.05% O_2 y 0.2% CO_2 cambió su perfil de olor durante el almacén debido a la producción de acetaldehído y etanol en altas concentraciones, los cuales actuaron como sustrato de otros compuestos volátiles. En la fresa *Camarosa* almacenada en una atmósfera enriquecida con CO_2, se encontró la acumulación de metabolitos de fermentación como ésteres etílicos y otros volátiles.[101] Fenómenos similares también se han reportado en productos como champiñón *Pleurotus ostreatus*[40] y el melocotón (*Prunus persica* L.). La resistencia al estrés ocasionado por los procesos postcosecha también depende de la variedad. Por ejemplo, al estudiar el efecto de la atmósfera modificada los cambios en el perfil de aroma de nopales de las variedades Milpa Alta y Atlixco, en una atmósfera con nitrógeno a 4 °C, se reportó que la variedad Atlixco produjo concentraciones más bajas de acetaldehído y etanol y no se generaron olores indeseables.[98] Por otra parte, el almacenamiento del jitomate Saladette (*Solanum lycopersicum*) a 10 °C provocó un cambio de los volátiles a partir del día seis de almacenamiento; en particular, se observó un incremento en los niveles de trans3-hexenol, además de otros al-coholes y aldehídos, lo que aumentó la relación aldehído/alcohol de algunos de ellos (3-metilbutanal/3-metilbutanol y hexanal/hexanol).[26]

● Generación de aroma y sabor por enzimas microbianas

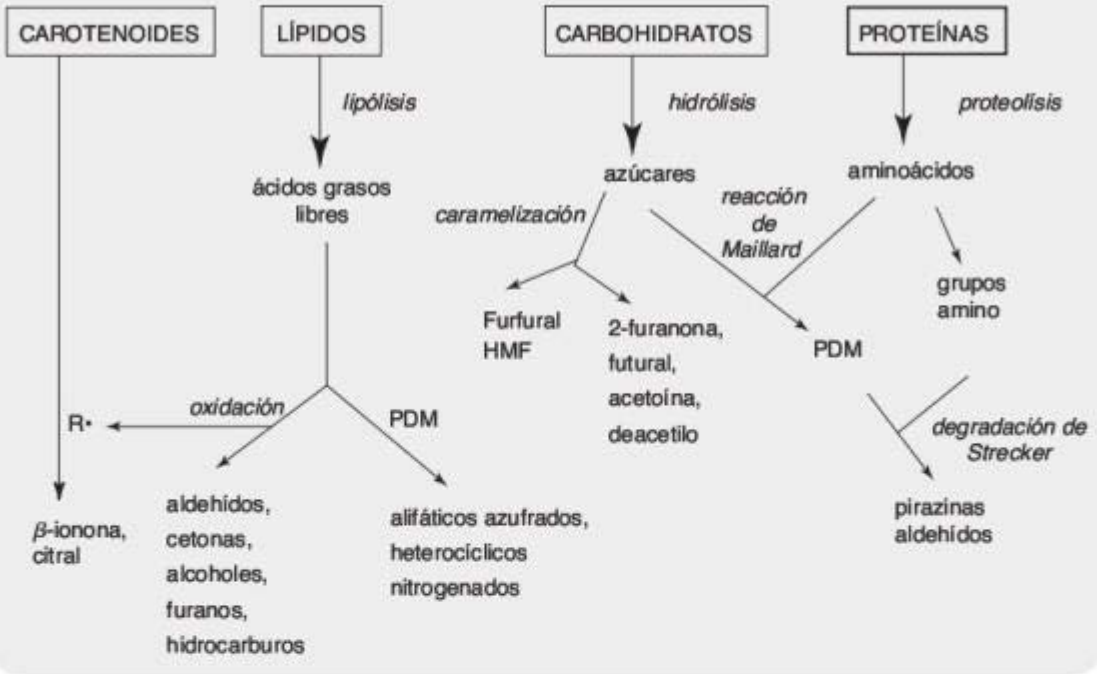
En contraste con los vegetales y las frutas, donde la acción de enzimas endógenas es responsable de las características sensoriales de los productos, los lácteos y las carnes fermentadas, masas de panadería, vino, cerveza, etc., deben su aroma y sabor a la acción de enzimas endógenas y exógenas, estas últimas por lo general de origen microbiano. De igual 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 triptófano se genera indol. Asimismo, por descarboxilación se generan aminas con olores putrefactos muy desagradables, como cadaverina a partir de lisina, putrescina a partir de glutamina, histamina a partir de histidina y tiramina a partir de tirosina, etc., de modo que es fundamental controlar adecuadamente los procesos enzimáticos que tienen lugar durante el almacenamiento y procesamiento de alimentos.[51,54]

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.[53]

Generación de aromas por el efecto de tratamiento térmico

Los productos crudos de origen animal como leche, carne, huevo, pescado, así como cereales y oleaginosas por lo general son insípidos. La aplicación de un tratamiento térmico mejora su textura, aroma y sabor y los vuelve más apetitosos. En la generación del aroma y el sabor por efecto del tratamiento térmico intervienen varios mecanismos como la pirólisis o degradación térmica, la caramelización, la degradación de ribonucleótidos y tiamina, la reacción de Maillard y la degradación térmica de lípidos (figura 8.20).[91,92,93]

Figura 8.20 Esquema de las principales reacciones involucradas en la síntesis del aroma y el sabor por efecto de tratamiento térmico. (PDM = Productos de la reacción de Maillard).[132]



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 gran número de sustancias volátiles. Ambas reacciones son complejas y no se conocen con exactitud los procesos de síntesis de muchas sustancias que resultan de ellas. La sola descomposición térmica de la glucosa genera unos 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 solo aminoácido dentro de la reacción de Maillard, por lo que se explicará con mayor amplitud (cuadro 8.9).[67]

● Reacción de Maillard

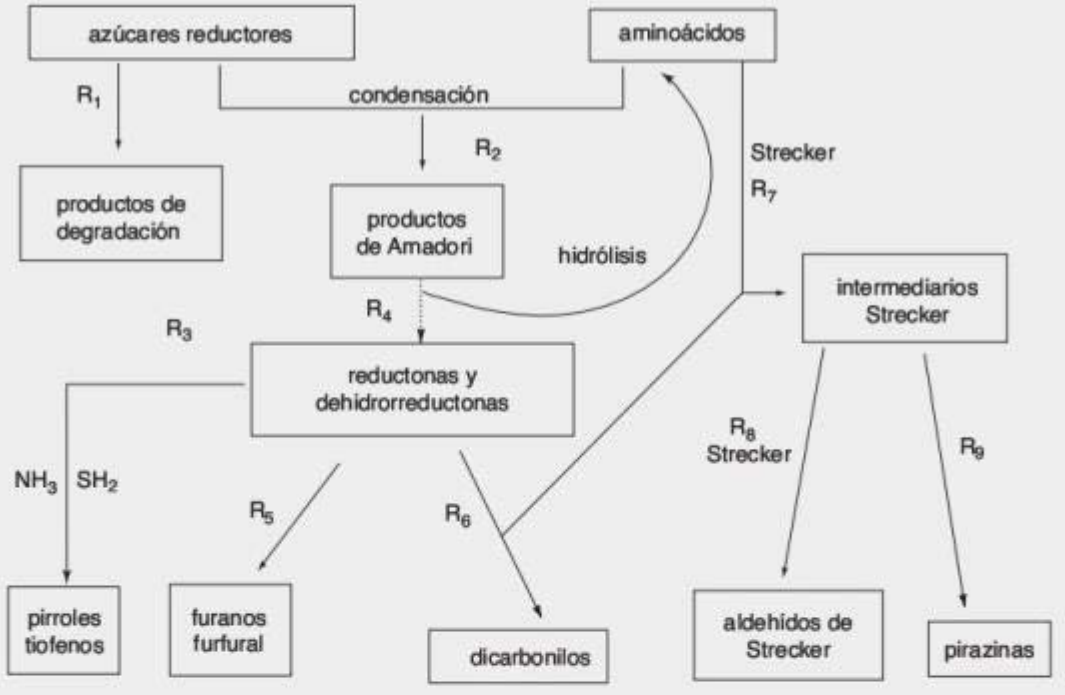
Esta reacción tiene diversas vías que resultan en la formación de gran número de compuestos de bajo peso molecular. Los principales compuestos volátiles derivados de la reacción de Maillard son aldehídos, cetonas, dicetonas y compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno, nitrógeno y azufre; entre estos últimos destacan pirazinas, piridinas, pirroles, porrolidinas, pironas, pirrolizinas, piperazinas, furanos, furanonas, oxazoles, oxazolinas, tiofenonas, tiazoles, ditioles, ditianos, ditiinas, triotiolanos, tiazolinas, tiazolidinas y tretatianos.[91,92,93] Un esquema simplificado de la generación de compuestos del aroma y el 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.[67] Los compuestos volátiles generados por la reacción de Maillard se pueden dividir en tres grupos: *a*) pro-

CUADRO 8.9 **Principales compuestos producidos por reacciones de oscurecimiento no enzimático**

Caramelización (glucosa)	Reacción de Maillard (alanina y glucosa)[67]
Monóxido de carbono	*Pirazinas*
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
Glicoaldehído	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
Piruvaldehído	2-Etil-6-metilpirazina
5-Metil-2-furaldehído	*Carbonilos*
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	*Compuestos heterocíclicos*
Acetoína	2,3-dihidro-5-hidroxi-6-metil-4(H)piranona
Diacetilo	Furanol
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	*Compuestos heterocíclicos nitrogenados*
5-(Hidroxi-metil)-2-furaldehído	2-acetil-pirrol
Isomaltol	Dimetil-1(H)-benzimidazol
2-Furil-hidroximetil-cetona	2,3-dihidro-1-metil-4(H)-piridina

ductos 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.[67]



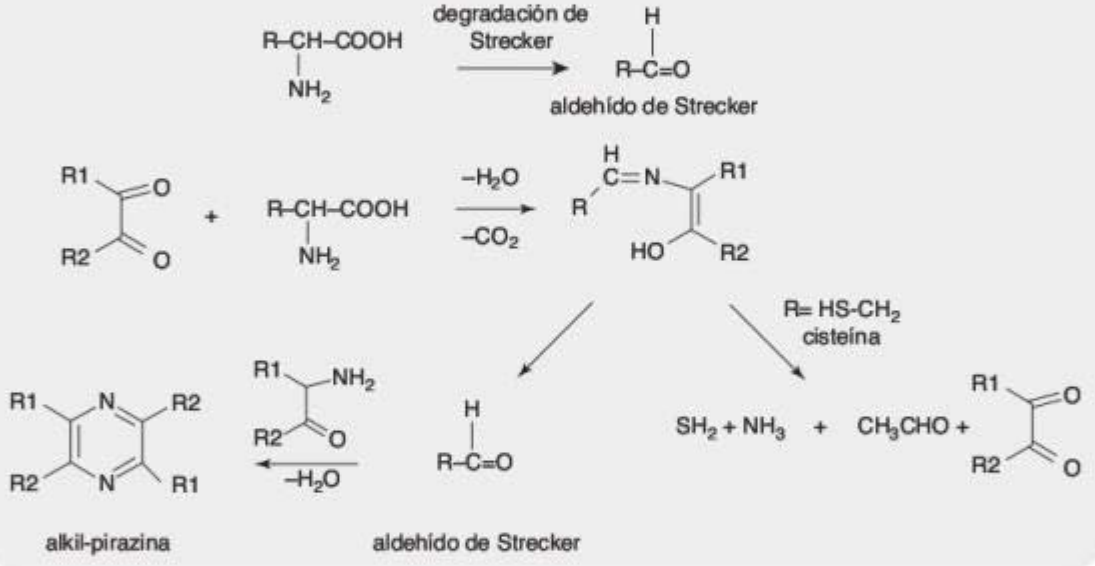
CUADRO 8.10 **Energía de activación y velocidad de reacción según el modelo de Arrhenius para las diversas rutas de la reacción de Maillard presentadas en la figura 8.21[67]**

Mecanismo	Ea (kJ/mol)	Velocidad de reacción	
		20 °C	100 °C
R1 (s^{-1})	150	3.6×10^{-13}	1.9×10^{-7}
R2 (Ms^{-1})	128.8	7.9×10^{-10}	6.7×10^{-5}
R3 (s^{-1})	73.3	1.4×10^{-7}	8.7×10^{-5}
R4 (s^{-1})	52.9	8.3×10^{-7}	8.8×10^{-5}
R5 (s^{-1})	109.3	3.1×10^{-9}	4.8×10^{-5}
R6 (s^{-1})	56.5	1.9×10^{-7}	2.7×10^{-5}
R7 (Ms^{-1})	99.7	5.9×10^{-4}	3.8×100
R8 (s^{-1})	115	3.1×10^{-11}	7.7×10^{-7}
R9 (s^{-1})	-	-	-

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 la temperatura que se alcance en un sistema, será la vía degradativa que prevalezca y la generación de un cierto tipo de compuestos. En un alimento con una composición compleja, podría haber cientos de líneas semejantes integrando un sistema de muy difícil estudio.[58]

La reacción de Strecker, que forma parte del mecanismo de oscurecimiento no enzimático, involucra la desaminación 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 también sulfuro de hidrógeno, amoniaco y acetaldehído; estos últimos son, a su vez, intermediarios en la formación de compuestos altamente odoríferos, como el amoniaco que actúa como sustrato en la formación de pirazinas (figura 8.22).[58] En el cuadro 8.11 se muestran algunos aldehídos derivados de aminoácidos, mediante la transformación de Strecker.

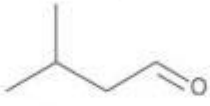
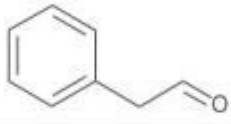
Figura 8.22 Formación de alquil-pirazinas a partir de la degradación de aminoácidos vía la reacción de Strecker, así como la formación de sulfuro de hidrógeno, amoniaco y acetaldehído a partir de cisteína.[92,93]



Las pirazinas son un grupo de sustancias muy importantes y claramente relacionadas con los aromas de los productos fritos, cocidos y horneados, por ejemplo papas, café, nueces, cacao, galletas, etc. También se han identificado en diversos vegetales en estado fresco; son tan potentes que su umbral de detección por lo general está 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:

a) *Alquil-pirazinas.* Incluyen compuestos como la 2,5-dimetil-pirazina, la 3-etil-2, 5-dimetil-pirazina y la 2-etil3,5-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.

CUADRO 8.11 **Aldehídos derivados de aminoácidos mediante la degradación de Strecker[8]**

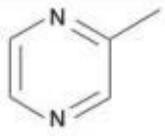
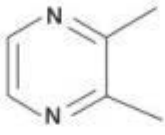
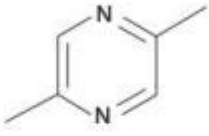
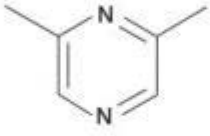
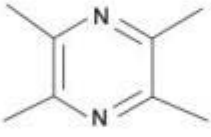
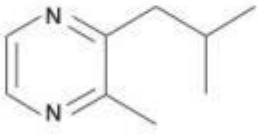
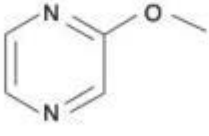
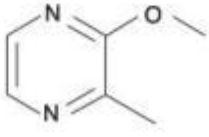
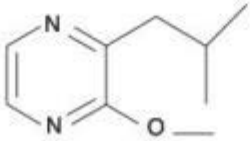
Aminoácido	Aldehído	Estructura	Aroma	Límite de detección ($\mu g/L$)
Glicina	Formaldehído	CH_2O		50×10^3
Alanina	Acetaldehído		Frutal, dulce	8.7
Isoleucina	2-Metil-butanal		malta	1.3
Leucina	3-metil-butanal		malta	0.4
Fenilalanina	Fenil-acetaldehído		Floral, miel	4

b) *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 $\mu g/L$.
c) *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 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.
d) *Otras pirazinas*. Este grupo incluye muchas otras pirazinas de menor importancia, tales como la acetonil-pirazina y las pirazinas bicíclicas.

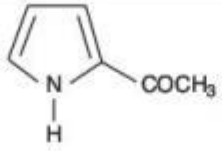
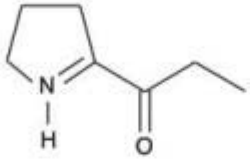
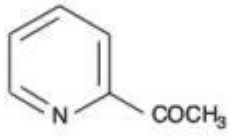
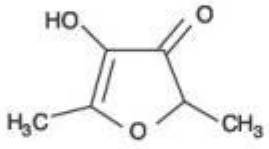
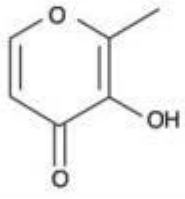
Por su parte, los pirroles son compuestos nitrogenados que derivan de la prolina y de la hidroxiprolina por la degradación de Strecker; sin embargo, también se pueden formar mediante un mecanismo distinto, que requiere de otros aminoácidos y de azúcares de seis átomos de carbono. Entre los más conocidos 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.[345]

CUADRO 8.12 **Estructura y umbral de detección de algunas pirazinas[8,62]**

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (μg/L)
2-metil-pirazina		Hierba, nueces, cocoa, papa, amoniaco	60 000
2,3-dimetil-pirazina		Hierba, nueces, papa, cocoa, café, caramelo, carne	2500
2,5-dimetil-pirazina		Chocolate, nueces tostadas, tierra	800
2,6 dimetil-pirazina		Chocolate, nueces tostadas, papa frita	200
2,3,5,6-tetrametil-pirazina		Nuez, chocolate	1000
2-isobutil-3-metil-pirazina		Hierba, tierra	35
2-metoxi-pirazina		Nuez, dulce, cocoa	400
2-metoxi-3-metil-pirazina		Cacahuate, nuez, almendra	3
2-isobutil-3-metoxi-pirazina		Pimiento verde	0.002

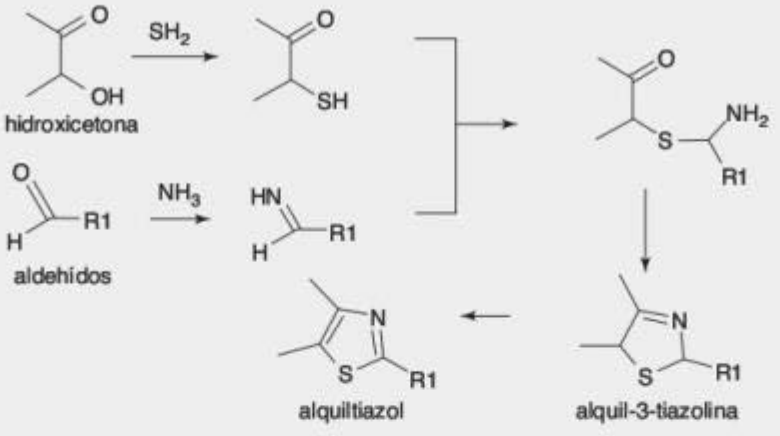
CUADRO 8.13 **Estructura de piridinas y furanos derivados de la reacción de Maillard[8,62]**

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	35 000

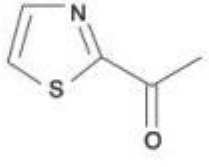
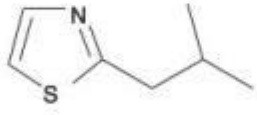
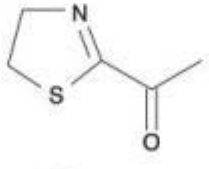
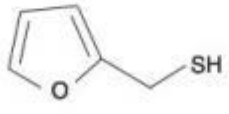
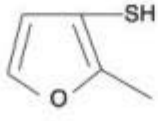
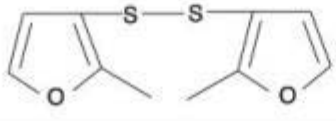
Los compuestos heterocíclicos azufrados redilados de la reacción de Maillard incluyen tiazoles y tiofenos, además de tritiolanos, tiazolinas, tetratianos y otros; éstos se sintetizan por la reacción entre la metionina, la cistina, la cisteína o el anhídrido sulfuroso (proveniente de la descomposición de la cisteína), con diferentes compuestos intermedios tales como aldehídos, amoniaco y otros (figura 8.23).

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.[91,92,93]

Figura 8.23 Síntesis de tiazolinas y tiazoles a partir de la reacción de hidroxicetonas y aldehídos con amoniaco y sulfuro de hidrógeno.[91]

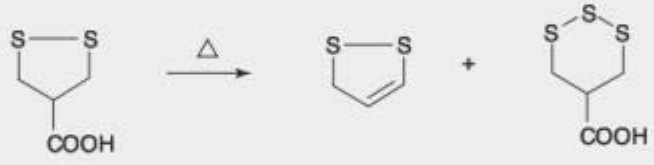


CUADRO 8.14 **Tiazoles y otros compuestos azufrados derivados de la reacción de Maillard**[8,62]

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-3-furfuril		Cacao, carne cocida	0.007
bis(-2-metil-3-furfuril)disulfuro		Carne cocida	2×10^{-5}

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 μg/L y en concentraciones hasta de 0.5 μg/L da la nota agradable de café, pero a más de 5 μg/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. Al mismo tiempo se genera el compuesto cíclico 1,2-ditiaciclopentano, proveniente de la descarboxilación del ácido asparagúsico (figura 8.24), cuya biosíntesis ya se describió.[136,137,138]

Figura 8.24 Degradación térmica del ácido asparagúsico.[136]



ácido asparagúsico 1,2-ditiaciclo-pentano

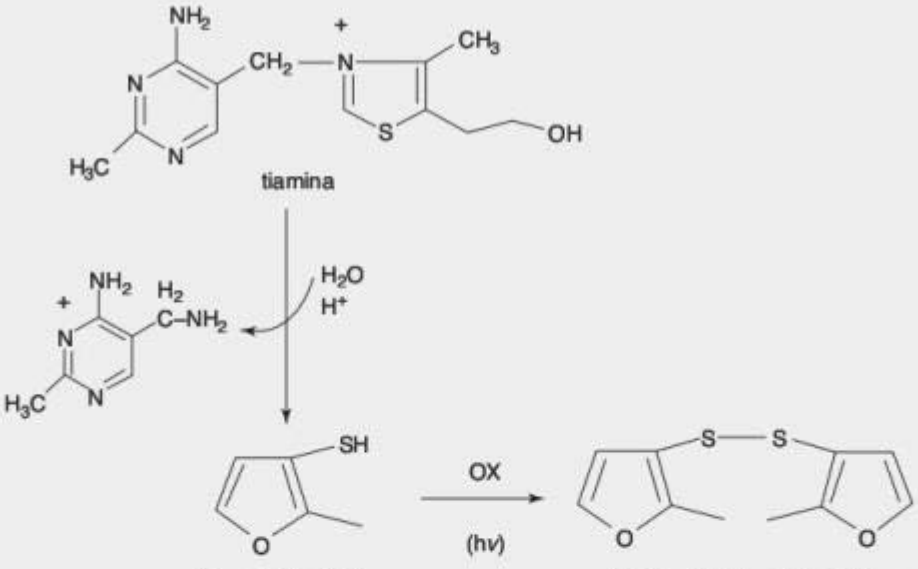
● Degradación de la tiamina

La tiamina o vitamina B1 es un compuesto bicíclico (figura 8.25) formado por una pirimidina sustituida y un anillo de tiazol unidos mediante un enlace metilénico que puede romperse por efecto del tratamiento térmico a un pH ≥ 4.5; la porción de pirimidina es estable pero el derivado metil-tiazólico es susceptible de 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 a carne de res y pollo. Se ha reportado que la degradación térmica de la tiamina genera una concentración veinte veces mayor del 2-metil-3-furfuril que la ribosa, cuando reacciona con cisteína a un pH de 5.7.[41,93]

● 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 de que 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 el sabor provienen de la degradación de lípidos, e incluyen a hidrocarburos alifáticos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas

Figura 8.25 Compuestos azufrados derivados de la degradación térmica de la tiamina.[8,127,147]



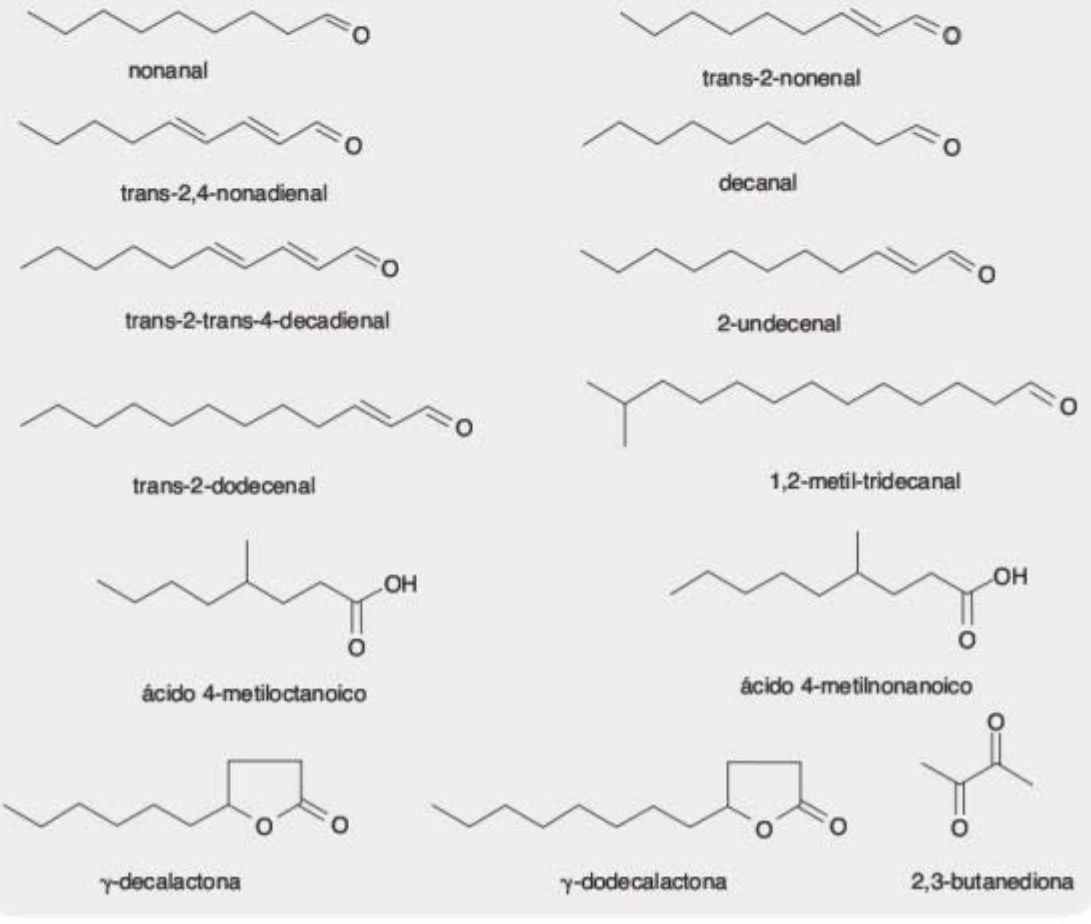
y alquilfuranos.[41,91,93] El tratamiento térmico puede inducir la ruptura del enlace éster de los triacilglicéridos con la consecuente liberación de ácidos grasos; además acelera oxidación de las cadenas alifáticas, donde las grasas insaturadas son más susceptibles a la reacción de autooxidación que 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.[37] Del mismo modo, el colesterol es también susceptible a la oxidación cuando se expone a la luz, el calor y el 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.[73]

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, donde un lípido RH es activado por el calor, la 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 formar 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 y cetonas, además de ra-

dicales libres que reingresen 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.[35,37,41]

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 en 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 autoxidación. Sin embargo, se ha demostrado

Figura 8.26 Estructura de compuestos alifáticos.[37,41]



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 y monóxido de carbono, entre otros compuestos de bajo peso molecular.[36,37,41,127] 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 6 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.

CUADRO 8.15 **Umbral de detección de algunos aldehídos saturados[8,62]**

Nombre	Estructura	Aroma	Límite de detección (μg/L)
Propionaldehído	C_3H_6O	Café tostado, hierba	9.5
Butiraldehído	C_4H_8O	Frutal, plátano, hierba	9
Pentanal	$C_5H_{10}O$	Acre, pungente, chocolate	12
Hexanal	$C_6H_{12}O$	Hierba, pasto, grasa, fruta	4.5
Heptanal	$C_7H_{14}O$	Grasa, rancio, nuez, coñac	3
Octanal	$C_8H_{16}O$	Grasa, rancio, fruta, cítrico	0.7
Nonanal	$C_9H_{18}O$	Grasa, floral, cera, cítrico	1
Decanal	$C_{10}H_{20}O$	Grasa, dulce, naranja, cítrico	0.1
Undecanal	$C_{11}H_{22}O$	Dulce, rancio, grasa, cera, floral	5
Dodecanal	$C_{12}H_{24}O$	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 mayor cantidad de compuestos volátiles derivados de la oxidación térmica de lípidos en el aroma de la carne de diversas especies animales, con mayor concentración de alcoholes y aldehídos saturados e insaturados, n-alcanos, 2-alquenos, 1-alcanoles y alquilfuranos de 4 a 9 carbonos.[36,37,38] 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:

$$ROOH + Fe^{2+} \rightarrow RO\cdot + OH^- + Fe^{3+}$$

$$ROOH + Fe^{3+} \rightarrow ROO\cdot + Fe^{2+}$$

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).[64]

Precursores y desarrollo del aroma y el sabor en alimentos

Carne y sus derivados

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, donde la naturaleza de los compuestos generados depende básicamente 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, desempeñan un papel muy importante 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.[35,93,104,127]

La ribosa es uno de los azúcares más importantes de la carne; en mayor proporción se encuentra como parte del nucleótido inosin 5'-monofosfato, y en menor cantidad se encuentra como ribosa 5-fosfato o ribosa libre. El inosin-5'-monofosfato se forma vía defosforilación enzimática y deamidación del ATP durante la etapa postmortem. La ruptura enzimática del inosin-5'-monofosfato puede contribuir 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-5-metil-3-furanona y 1-deoxipentasona. Esta furanona puede generar tiofuranos y tiofenos al reaccionar con el sulfuro de hidrógeno producido por la degradación de cisteína.[92]

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 postmortem, temperatura y método de cocción, adición de especias, saborizantes, otros aditivos no cárnicos, etc.[106] 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 esto da lugar a una mayor proporción de aldehídos volátiles insaturados, por lo que se supone que estos aldehídos son los principales compuestos asociados con el olor de las diferentes especies animales.[127] La carne de oveja es rica en ácidos grasos ramificados con grupos metilo, como 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.[118] El 1,2-metiltridecanal, presente sobre todo 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 aunque en menor proporción también se han detectado en carne de pollo y cerdo.[35,41,46,127]

Los productos cárnicos procesados incluyen en su formulación nitrito de sodio, junto con el cloruro de sodio, fosfatos y agentes reductores, entre otros. Además estabilizar el color de la carne e inhibir el crecimiento de *Clostridium botulinum*, los nitritos 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.[70,71,104,106]

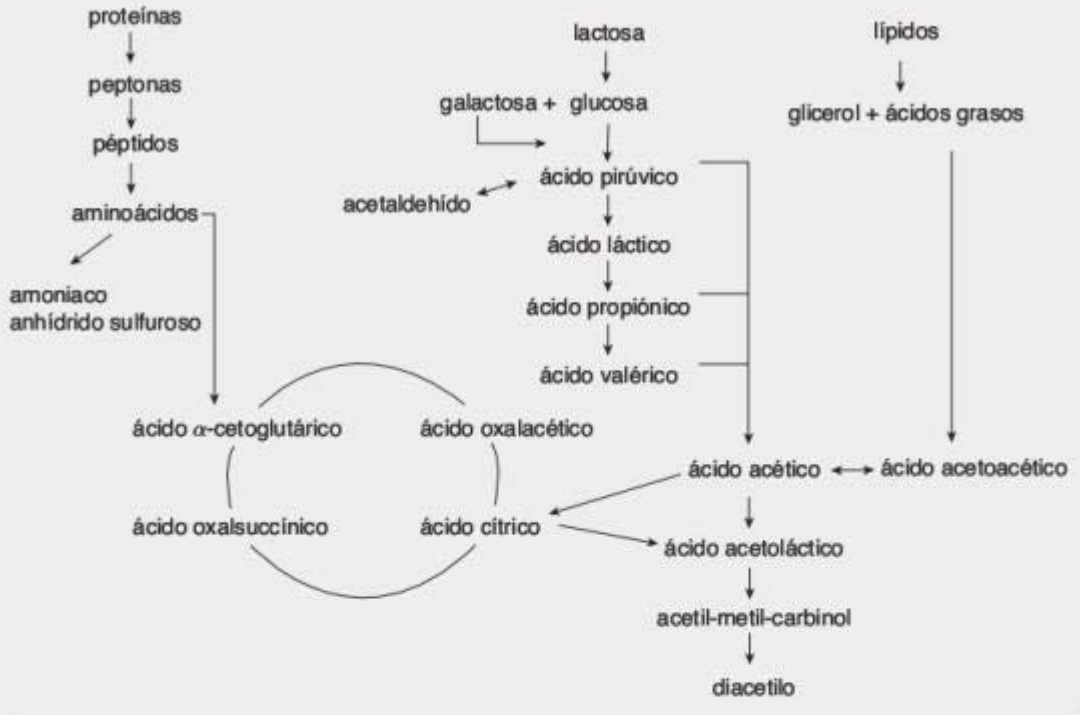
Leche y sus derivados

El sabor de productos lácteos como el queso, la crema, el yogur y la mantequilla, está asociado hasta cierto grado con la hidrólisis de lípidos y proteínas, y la generación de ácidos grasos de cadena corta, ésteres etílicos, aldehídos, etc. Lo anterior requiere de 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 de forma adecuada, se obtiene un producto que no será aceptado por su mala calidad. 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 de los ácidos láctico y acético. En los quesos madurados, la cuajada se somete a un proceso de maduración que puede durar varios meses, e incluso años, tiempo en el que 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 4 a 10 átomos de carbono y los de cadena mayor se convierten mediante la β-oxidación en metilcetonas como pentanona; los insaturados se transforman en ésteres metílicos y aldehídos y, por último, 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 propiónico.

Bebidas alcohólicas

El olor y el sabor de las bebidas alcohólicas, como en muchos de los alimentos, se genera desde la materia prima, pasando por los procesos fermentativos y hasta las operaciones finales. En general las bebidas alcohólicas se pueden agrupar en no destiladas y destiladas. El vino y la cerveza se pueden considerar como las bebidas alcohólicas no destiladas más populares. En ambos casos la calidad y las operaciones realizadas en la materia prima, seguida de la fermentación, proporcionan las notas aromáticas y bucales principales a cada producto.

Figura 8.27 Rutas metabólicas de las fermentaciones de la lactosa y el citrato.[53]



● Vino

El carácter sensorial del vino está asociado al tipo y calidad de la uva con la que se produzca. Cada variedad, tinta o blanca, tiene características aromáticas definidas, además, por las condiciones climáticas y las propiedades del suelo de la región. Así, las uvas con un balance adecuado de luz solar y lluvia tienen a su vez un balance adecuado entre azúcares y compuestos aromáticos, mientras que las uvas cultivadas en zonas muy calientes y con muchas horas de luz producen uvas con alta cantidad de azúcares pero poca riqueza volátil.

La uva proporciona compuestos tipo terpénicos, ésteres, lactonas, aldehídos y cetonas, igual que ácidos orgánicos y carbohidratos que contribuyen al sabor del vino; sin embargo, las operaciones que sufre en la preparación del mosto o jugo también serán determinantes en las propiedades sensoriales del producto final. El eugenol, un potente odorante, también puede estar presente por contribución de los fenoles, específicamente de la uva *Cabernet sauvignon*, rica en pirazinas características de esta variedad.[18]

Para producir vino blanco, las uvas solamente se prensan para extraerles el jugo, pero al hacerlo no se extraen cantidades importantes de compuestos polifenólicos de las cáscaras y las semillas (taninos), y por tanto se mantiene el perfil aromático de la uva y el producto final no tendrá un carácter astringente.[52,114,115]

Por otro lado, para el vino tinto se procura la extracción de las antocianinas y taninos de la cáscara de la uva; esto se hace por medio de diferentes procesos de vinificación en los que se hace la molienda y maceración de los hollejos (restos de cáscaras y semillas) para obtener un mosto colorido por las antocianinas y el tanino que le otorgará astringencia y cuerpo al vino.

La fermentación, realizada por *Saccharomyces cereviseae* como cepa dominante porque no se esteriliza el mosto, no sólo produce el etanol, sino que también enriquece aromáticamente al vino con la producción de alcoholes superiores, entre ellos el 3 y 2 metil-butanol (alcoholes amílicos), y otros como hexanol, octanol y decanol. También se producen acetatos de etilo y de isoamilo, así como ésteres etílicos (derivados de los ácidos de 4 a 10 átomos de carbono). También se forman acetales y hemiacetales derivados de aldehídos generados en un ambiente alcohólico. Todos estos compuestos proporcionan los aromas característicos de las bebidas alcohólicas, como el carácter vinoso de los alcoholes superiores y las notas frutales que complementan el bouquet del vino proveniente de la uva. Es importante mencionar que en los vinos tintos, después de la fermentación alcohólica se promueve una fermentación maloláctica que puede proveer de algunas notas asociadas al diacetilo y al lactato de etilo; sin embargo, esta fermentación debe mantenerse bajo control, ya que una desviación o un exceso pueden producir exceso de ácidos butírico y componentes asociados a lácteos, lo que genera un defecto en el producto.[59]

Las operaciones posteriores a la fermentación, como la clarificación y la maduración, también contribuyen al olor y al sabor finales del vino.[141] Mientras que las operaciones de clarificación y estabilización mejoran la apariencia, el color y el gusto del vino, también es factible que puedan retirar algunos compuestos aromáticos. Una vez más, el vino blanco que proviene de un mosto fermentado más limpio requiere de una clarificación menos severa, de modo que se mantengan las notas aromáticas de la uva. Por su parte, dependiendo del proceso de maceración el vino tinto requiere de la clarificación y, por tanto, el carácter final lo va proporcionando la historia completa de operaciones a las que se haya sometido.

La maduración en vino puede ser en botella o en barrica de roble. En el primer caso consiste en un proceso reductivo[18] con el que se logra una disminución de ésteres de acetato, un incremento de ésteres dicarboxílicos (referencia), y un decrecimiento de alcoholes monoterpérnicos (linallol, geraniol y citronellol), además de que se incrementan los óxidos terpénicos (como los de linalool y nerol.[48,115] En cuanto a la maduración en barrica, es un proceso más complejo, de carácter oxidativo, aunado a la extracción de componentes de la madera. La barrica provee de taninos elágicos muy astringentes, pero que reaccionan con los taninos propios del vino y forman polímeros que se oxidan a lo largo de la maduración.[130] Esta formación de polifenoles proporciona cuerpo al vino y logra un balance en su astringencia. Respecto al perfil volátil, la barrica proporciona compuestos como la vainillina, las lactonas del roble, furfural y siringaldehído, entre otros, con lo que proporciona las notas típicas de la madera, pero el proceso oxidativo también promueve la formación de acetatos, acetaldehído y otros ésteres, lo mismo que la pérdida por oxidación y/o evaporación de compuestos terpénicos y otros aromas provenientes de la uva.[16,130]

● Cerveza

En el caso de la cerveza también se han explorado por diversos métodos su composición volátil, su composición química y la del lúpulo como una materia prima complementaria, pero que es muy importante por las propiedades sensoriales que imparte.[21,60,119] Como principal materia prima, la cebada se somete al proceso de malteado, secado y, dependiendo del tipo de cerveza, algún grado de tostado. La malta provee diversos carbohidratos que una vez sometidos al malteado forma oligosacáridos de glucosa y maltosa, que son consumidas en la fermentación, de modo que aportan levemente un gusto dulce. Por otro lado, los glucanos y las dextrinas proporcionan cuerpo y viscosidad a la cerveza. La malta puede proveer ácidos orgánicos mayores a 10 carbonos y compuestos azufrados que tienen impacto al sabor final. El secado y el tostado generan productos de caramelización, Maillard y pirólisis que proporcionan notas tostadas, caramelizadas y, en algunos casos, quemadas

y gustos amargos. La combinación de mezclas de maltas con diferente grado de tostado y actividad amilolítica produce un balance adecuado entre cuerpo, azúcares fermentables y el carácter aromático esperado desde cervezas muy claras y ligeras hasta las oscuras con notas ahumadas y pirolíticas (llamadas también torrefactas, asociadas a un tostado oscuro o muy intenso).

Para elaborar el mosto previamente a la fermentación, se realiza una maceración en agua caliente de la malta triturada, la cual lleva un tiempo de hervido para extraer los azúcares fermentables y dispersar los dextranos, glucanos y otros oligosacáridos. En esa operación se añade el lúpulo como otra materia prima esencial para la cerveza, dado que proporciona compuestos aromáticos tipo terpénicos como linalool y otros que aportan notas herbales, florales e incluso cítricas. Asimismo, del lúpulo se extraen las humulonas o iso-α-ácidos que producen el gusto amargo característico de la cerveza. Estas humulonas sufren reacciones de polimerización que modifican su nivel de amargor, así que un balance adecuado entre la extracción y la polimerización proporcionará un gusto amargo adecuado al estilo.[21] Por tanto, la operación de cocción del mosto donde ocurre la maceración, el hervido y la adición de lúpulo, proporciona la integración y el desarrollo de olores y sabores típicos de cada estilo de cerveza.

La fermentación puede ser de dos tipos: laguer o ale. La primera es más controlada y se realiza a temperaturas bajas con una levadura (*Saccharomyces carlbergensis*) que genera la producción del etanol, alcoholes superiores y otros derivados como ésteres etílicos. A la fermentación ale se le llama también fermentación alta y en este caso se inocula una cepa cervecera de *Saccharomyces cereviseae* como iniciadora, pero también involucra cepas nativas en el mosto. El nombre de fermentación alta proviene del hecho que se realiza sin control de temperatura, la cual incluso se incrementa por efecto de la fermentación. En este caso se produce una mayor complejidad de compuestos aromáticos, incluidos los mismos alcoholes superiores, acetatos de etilo e isoamilo y ésteres etílicos de los ácidos a partir de 4 carbonos, entre otros.[21] La nota de plátano del acetato de isoamilo puede ser promovida o tratar de evitarse, según el tipo de cerveza; los ésteres de los ácidos hexanoico, octanoico y decanoico dan notas frutales, pero al incrementarse el número de carbonos del ácido la nota puede migrar a jabonosa. Otros compuestos que son promovidos durante los procesos de fermentación son del diacetilo y el dimetil disulfuro (DMS), que están presentes en la cerveza, pero un exceso se considera también un defecto ya que el DMS tiene un olor típico a vegetales cocidos.[21,83] Una desviación en las etapas de proceso, maduración y almacenamiento (por efecto de la luz) puede generar exceso de otros compuestos azufrados que resultan en olores que recuerdan al ajo, la cebolla, el huevo y el compuesto 3-metilbutanotiol que proporciona la nota asociada a lo que se conoce como el quemado de la cerveza.[7,83]

La cerveza también lleva una maduración, en frío (laguer) o a temperatura ambiente. La maduración en un tiempo logra una integración de los aromas y promueve la polimerización de las humulonas para equilibrar el amargor de la cerveza.[21,60]

● Bebidas destiladas

Las bebidas destiladas parten igualmente de una materia prima rica en azúcares, de la cual se obtiene un mosto para su fermentación alcohólica, y posteriormente se realizan al menos dos destilaciones donde se recupera el etanol obtenido y los compuestos volátiles que le proporcionarán identidad a la bebida. Una correcta destilación permitirá recuperar etanol para un rendimiento adecuado, así como la diversidad y concentración correcta de compuestos aromáticos. También es importante que la destilación permita retirar el exceso de alcoholes superiores, furfural y metanol cuando éste se produce, por cuestiones de toxicidad. Ejemplos de bebidas son el brandy, como un destilado de mosto de uva, el whisky que proviene de la destilación de mosto de malta fermentado, el ron que proviene del jugo de caña fermentado y las

bebidas destiladas de agave. Para los propósitos de este capítulo se revisarán a detalle el mezcal y el tequila, bebidas alcohólicas mexicanas que cuentan con Denominación de Origen (DO), que se obtienen por fermentación de cabezas de diferentes especies de *Agave*.

El tequila se obtiene de acuerdo con la norma mexicana NOM 006-SCFI-1994, principalmente de la región de Tequila, Jalisco, a partir del *Agave tequilana Weber* var. Azul; se produce además en algunos municipios de Michoacán, Guanajuato, Nayarit y Tamaulipas. Puede ser blanco, reposado, añejo y extra-añejo.

Por su parte, el mezcal se obtiene del *Agave salmiana*, o de otras variedades según la región de que se trate. Los más conocidos son los de los estados de Oaxaca, Guerrero y San Luis Potosí. En función del tiempo de almacenamiento, las mezclas se clasifican en: joven, reposado y añejo, y pueden estar ornamentadas con gusano.[39,50]

Las etapas de elaboración incluyen cosecha, cocimiento y molienda, en ese orden. El *Agave tequilana Weber* var. azul contiene agua (60%), carbohidratos tipo fructanos (24%), fibra (11%), azúcares reductores (1.5%), proteínas (0.02%) y cenizas (2.7%). Los carbohidratos presentes en el agave, de la familia de las fructanas, tienen una estructura similar a la inulina de achicoria pero con ramificaciones tipo levanas, 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 y los terpenos se encuentran en mayor proporción.

El mosto tequilero que se obtiene de la molienda y cocción (en autoclaves u hornos) contiene compuestos como 5-hidroximetilfurfural, 2-metil-2-furoato, furfuril, 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 desempeñan un papel muy importante en el aroma del producto (cuadro 8.16). Asimismo, el mosto contiene del 4 a 10% de azúcares simples, principalmente fructosa y algo de glucosa.

CUADRO 8.16 **Compuestos volátiles presentes en diversas etapas de la elaboración del tequila[39]**

	Jugo crudo (mg/L alcohol anhidro)	Mosto	
		Cocido (mg/L alcohol anhidro)	Fermentado (mg/L alcohol anhidro)
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

La segunda etapa es la fermentación, sea espontánea o por adición, de un inóculo de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. La velocidad de este proceso depende de la temperatura, la composición del mosto y las condiciones de operación, pero sobre todo de la cepa empleada. Esta etapa puede durar de 20 horas a 3 días, a una temperatura óptima de 35 °C. Si la temperatura sobrepasa los 40 °C se detiene la fermentación por desactivación 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 *Pediococus*.[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 (cuadro 8.16). Los alcoholes superiores como isoamílico, isobutanol, 1-propanol, 1-fenil-1-propanol 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 destrozamiento, donde el mosto se destila hasta obtener una concentración alcohólica de 20 a 30% de alcohol volumen. La segunda etapa, también llamada de rectificación, enriquece el contenido alcohólico hasta en 55% de alcohol volumen para depurar el producto, donde en cada paso se separan las cabezas y colas (primera y última fracciones del desliado). 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, igual que algunos ácidos grasos y sus ésteres de 8 a 14 carbonos con aroma jabonoso.

Por último, durante el añejado o la maduración en barricas de madera de roble o de 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 el ácido acético y siringaldehído, pirazinas y pirroles, entre otros). De igual manera, 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.[39]

Análisis de compuestos de aroma y sabor

El estudio de los compuestos volátiles responsables del aroma resulta muy complejo, por varias razones:[88,116]

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 1960 sólo se conocían unos cuantos cientos de esos compuestos, pero hoy en día la cifra supera los 10 000. Gracias al avance de la ciencia y la tecnología, actualmente se dispone de una gran cantidad de sistemas de extracción y técnicas instrumentales cada vez más sensibles y confiables, que permiten evaluar desde diferentes ángulos a los componentes del aroma y el sabor de los alimentos.[116]

b) La concentración de cada componente no siempre es indicativa de su influencia en el aroma y el sabor, dado que un solo compuesto, incluso en baja concentración,

puede provocar una fuerte estimulación sensorial. Por ello se hace necesario analizar cada componente en relación con su concentración y con el umbral de detección. Este último se define como la mínima cantidad de un compuesto que genera un olor o un sabor detectable por un número específico de evaluadores.[76] Como nota aclaratoria, es muy importante distinguir el concepto de partes por billón (ppb) en el sistema de medición de Estados Unidos del que se usa en México y en otros países que emplean el sistema métrico decimal: en aquel país, un billón equivale a mil millones (10^9), mientras que en México representa un millón de millones (10^{12}).

c) Los métodos utilizados 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-hidroxidecanoato de etilo y el 5-hidroxioctanoato de etilo presentes 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 de preparación diferente para su análisis. Como ya se indicó, en los volátiles se encuentran diversos grupos de sustancias, por ejemplo aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, mercaptanos, etc., y para analizarlos es preciso manejarlos de maneras diferentes. El análisis de los compuestos del aroma y el 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 que se emplean comúnmente en la separación e identificación de los constituyentes del aroma, incluyen 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.[39]

Extracción de compuestos del aroma y el sabor

Un punto clave para el éxito del análisis de compuestos del aroma y el 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 el 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 inicialmente no se encontraban 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, etc.) de los compuestos de interés, por lo que pueden mostrar una imagen diferente del aroma y el sabor de cada alimento.[33, 39, 53, 88]

● Técnicas de extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido se basa en el fenómeno de distribución de un soluto entre dos fases inmiscibles. El solvente se selecciona con base en la polaridad, miscibilidad, toxicidad, costo y, acorde con la facilidad con la que éste se elimina después de la extracción, generalmente se emplean solventes orgánicos de alta pureza inmiscibles con el agua, ya que la presencia de contaminantes puede alterar el resultado del análisis. 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, 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.[39] Otras alternativas a técnica de extracción líquido-líquido que son más amigables con el medio ambiente incluyen la extracción con fluidos supercríticos y la extracción asistida por microondas y ultrasonido.

a) La extracción con fluidos supercríticos es una tecnología alternativa para separar sustancias disueltas o incluidas dentro de una matriz. Los fluidos supercríticos son líquidos o gases en condiciones ambientales, como el dióxido de carbono que, llevados a condiciones de presión elevada y temperatura moderada (31 °C, 80-400 bar), por encima de su punto crítico, es decir estado supercrítico, presentan un elevado poder disolvente. Los fluidos supercríticos tienen una baja viscosidad, alto coeficiente de difusión y baja tensión superficial, que les permite disolver materiales rápidamente. Dentro de los fluidos supercríticos más empleados se encuentran acetileno, acetona, agua, dióxido de carbono, etano, etileno, metano, metanol y propileno; dentro de ellos el dióxido de carbono es el que más se utiliza debido a que no deja residuos porque se eliminan por evaporación, al llevar la muestra a condiciones normales de presión atmosférica. Esta tecnología de extracción con fluidos supercríticos se considera una de las más amigables con el medio ambiente, además de que no representan ningún riesgo para la salud del analista y garantizan una calidad superior de los productos extraídos. Algunas aplicaciones comerciales de FSC incluyen la obtención de aromas y sabores de especias y hierbas aromáticas, café y té sin cafeína. Además, varios procesos se encuentran en fase de expansión, como la obtención de bebidas sin alcohol, productos animales sin colesterol y aceites de semillas. 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.[39,140,147]

b) Las microondas son ondas de alta frecuencia electromagnética (0.3-300 GHz). En la extracción asistida por microondas, la irradiación causa el movimiento de moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a una rápida transferencia de energía al solvente y a la muestra desde el interior y hacia el exterior del cuerpo. El calentamiento por este medio tiene gran número de aplicaciones en la actualidad, desde el secado de productos naturales o sintéticos hasta fuente de energía en las reacciones químicas. Ofrece varias ventajas, entre ellas la gran intensidad de energía por unidad de volumen, la selectividad de calentamiento y equipos muy compactos. Dentro de los métodos que emplean microondas, destaca la extracción sin disolventes (o *Solvent Free Microwave Extraction*, SFME), un proceso que elimina la necesidad de aporte de solventes o agua externa (vapor) por lo que reduce considerablemente el gasto energético. La utilización de esta tecnología en la extracción de aceites esenciales ha disminuido los tiempos de extracción y el consumo de energía con mayor eficiencia que la destilación por arrastre de vapor. La calidad de los aceites obtenidos es similar a la de los métodos tradicionales.[2,140]

c) La extracción asistida por ultrasonido utiliza ondas de sonido de alta frecuencia (>16 kHz) que provocan la vibración y aceleración de las partículas sólidas; como resultado los solutos pasan rápidamente de la fase sólida al líquido.[2]

● Técnicas de extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida es donde el analito se extrae de la muestra al adsorbente en fase sólida o líquida, e integra las fases de muestreo, extracción y enriquecimiento en una sola etapa, sin la aplicación de tratamiento térmico y el tiempo de extracción es muy corto en comparación con la extracción tradicional líquido-líquido; además, reduce la exposición a solventes, lo que permite un manejo más seguro. Esta tecnología se basa en el uso de adsorbentes (cuadro 8.17) que atrapan y preconcentran los compuestos del aroma y el sabor en forma selectiva, el componente de interés queda retenido en la fase sólida, mientras que los otros materiales se eluyen. En la extracción en fase sólida se reconocen tres métodos, el estudio del espacio de cabeza, la microextracción en fase sólida (SPME) y otras técnicas de microextracción como la extracción dinámica en fase sólida (SPDE), la extracción por sorción en barra agitadora (SBSE), la microextracción en película delgada (TFME), la microextracción en aguja empacada (PNME) y la microextracción en adsorbente empacado (MEPS). El cuadro 8.18 muestra un resumen de las principales características de las técnicas de microextracción.[4,30]

CUADRO 8.17 **Clasificación de adsorbentes empleados en la extracción en fase sólida**[4,139]

Naturaleza de la matriz del adsorbente	Características
Hidrofóbica/fase reversa	Constituidas por una matriz de sílice C18 unidas a cadenas alquílicas y aromáticas que mediante fuerzas de Van der Waals se unen a compuestos de polaridad media y baja. Los grupos silanoles libres del adsorbente actúan como sitios secundarios de unión que favorecen las interacciones polares.
Hidrofílicos	Constituidos por una matriz de alúmina, Florisil (silicato de magnesio) o sílice modificado químicamente por grupos polares (amino, ciano o diol). La retención se debe a la formación de interacciones polares (puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo, etc.) entre el analito y la superficie matriz del adsorbente.
Par iónico o intercambio iónico	La retención de intercambio iónico se basa en la interacción iónica entre el analito y los grupos funcionales del adsorbente, que dependen del pH y de la fuerza iónica. Los adsorbentes aniónicos contienen aminas cuaternarias y se emplean para retener compuestos con carga negativa. Los adsorbentes catiónicos contienen grupos sulfónicos y se usan para la extracción de compuestos con una o más cargas positivas.
Inmunoadsorbente	Es altamente selectiva, se basa en interacciones antígeno-anticuerpo. Estos últimos están unidos de manera covalente al adsorbente, que extrae y aísla al analito específico de matrices complejas en una sola etapa.
Grabado molecular	La síntesis del adsorbente se realiza formando un complejo entre el analito (molécula molde) y el monómero de la matriz del adsorbente; después de la polimerización se elimina la molécula molde, dejando una cavidad o "huella molecular" con la forma, tamaño y funcionalidad química del analito. El adsorbente reconoce y se une selectivamente a la molécula molde por un proceso de reconocimiento molecular.

a) Estudio del espacio de cabeza. Esta técnica se enfoca en el aislamiento de los compuestos volátiles de la fase de vapor del alimento, ya sea en un sistema estático o uno dinámico, y tiene como principal ventaja el que mantiene la concentración relativa de los compuestos volátiles en una relación similar a la que se obtiene durante la inhalación, sin 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 (N_2, He o CO_2) que arrastra los volátiles a una trampa tenax recubierta de un adsorbente, donde éstos son atrapados; después los compuestos se desorben térmicamente y se llevan a una trampa criogénica, donde pasan de manera directa a la columna del cromatógrafo de gases. Variaciones a esta técnica incluyen el uso de polímeros porosos como Porapak, chromosrob o carbón activado.[4,39,147]

b) Microextracción en fase sólida. La microextracción en fase sólida (o SPME por las siglas en inglés de *Solid Phase Micro Extraction*) ha sido ampliamente usada desde la década de 1990. En esta técnica se emplean fibras de sílice de 1 a 2 cm, cubiertas con una capa del adsorbente de 5 a 100 μm de espesor. En este caso los adsorbentes más comunes son el polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA), carboxeno (CAR), carbowax (CW) y divinilbenzeno (DVB), los cuales se emplean solos o combinados; la principal limitante es su estrecho intervalo de polaridad y, por tanto, baja eficiencia en la extracción de compuestos de alta polaridad. La fibra se coloca directamente en la muestra acuosa o en el espacio de cabeza por encima de la muestra sólida o líquida. Esta técnica ha cobrado gran interés por su facilidad y eficiencia en la recuperación de compuestos del aroma y sabor, en muestras sólidas o líquidas. La microextracción se basa en procesos de adsorción/desorción; además, es de fácil manejo, reproducible, económica, 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.[39,76,147]

c) Extracción por sorción en barra agitadora. Recientemente ha surgido otra alternativa conocida como SBSE (siglas en inglés de *Stir Bar Sorptive Extraction*) o Twister, que es una barra de agitación magnética recubierta con polidimetilsiloxano (PDMS) como un polímero absorbente. Este agitador magnético se sumerge en la solución o dispersión y el recubrimiento absorbe compuestos no polares y semipolares, y en algunos casos tiene mayor recuperación que la SPME por recolección en la fase de vapor. Como ventajas sobre esta última, la barra de agitación SBSE puede colectar compuestos en solución que posiblemente no se podrían liberar en suficiente cantidad para detectarse en la fase de vapor y es factible lograr una mejor cuantificación del compuesto en la matriz empleando estándares internos y externos. Por otro lado, su desventaja sobre la SPME es que no aplica para el análisis de la fase vapor o *headspace*, que es más representativa del olor de un alimento o bebida, ya que sólo los compuestos que son liberados de la matriz serán percibidos durante la olfacción.[4,5,123,149] Comercialmente sólo están disponibles barras recubiertas con el compuesto no polar PDMS, que es inerte, no retiene agua y permite la detección de niveles muy bajos de analitos desde ppt a ppm. Existen reportes del uso de esta técnica en el análisis de diversos productos como frutas y vegetales, infusiones, destilados, vinagres, salsas y agua.[4,30,88]

CUADRO 8.18 **Comparación de las técnicas de microextracción[30]**

Características	SPME	SBSE	MEPS	PNME
Tamaño de muestra (mL)	0.5-20	1-100	0.01-0.1	1-100
Tipo de muestra	G, L y S	G y L	L	G y L
Tiempo de extracción (min)	10-90	30-200	2-10	1-300
Factor de enriquecimiento	Alto	Alto	Moderado	Moderado
Disponibilidad comercial	S	S	S	N

SPME (microextracción en fase sólida), SBSE (extracción por sorción en barra agitadora, Twister), MEPS (microextracción en adsorbente empacado), PNME (microextracción en aguja empacada). G = gas, L = líquido, S = sólido.

Identificación de compuestos del aroma y el 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 las etapas 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 después 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.[39, 88]

La identificación de los compuestos del aroma y el sabor presentes en alimentos, permite identificar las notas desagradables, verificar la calidad de los productos y evaluar la vida de anaquel, así como las posibles fuentes de contaminación y adulteración.

Cromatografía de líquidos y gases

La cromatografía es un método físico de separación, donde la separación 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, 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 el sabor.[39, 107]

Los últimos avances en la cromatografía líquida han sido la introducción de los sistemas de ultracromatografía o UPLC (siglas en inglés para *Ultra Performance Liquid Chromatography*), que trabajan a presiones 4-6 veces superiores a las habituales, permiten separaciones entre 5 y 10 veces más rápidas que las que se obtienen en los sistemas tradicionales y pueden acoplarse a sistemas de espectrometría de masas. Estos sistemas de UPLC permiten ahorrar tiempo de análisis por la reducción de reactivos y la generación de residuos. Este sistema se ha empleado con éxito para el análisis de compuestos fenólicos de bebidas alcohólicas.[99]

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. Éste mide la concentración de cada componente separado por la columna y presente en la corriente del gas acarreador, y genera una señal eléctrica o un pico cuya altura es proporcional a la concentración. Después, el registrador genera un cromatograma que muestra el tiempo de retención (o tiempo 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 (TCD), ionización de flama (FID), captura de electrones (ECD), fotoemisión (PID), emisión atómica (AED), o un espectrómetro de masas (MS).[8,15,39,147]

El espectrómetro de masas es un sistema de baja presión (10^{-6} mbar), en el que las moléculas en fase gaseosa son ionizadas mediante el bombardeo de electrones:

$$M + e^- \rightarrow [M - 1e^-]^+ + 2e^-$$

El impacto electrónico (IE) produce iones moleculares $[M - 1e]^+$ 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 a 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).[107] Si bien la CG-MS es una potente herramienta que ha hecho posible la separación e identificación de gran cantidad de compuestos del aroma y el sabor, ningún instrumento analítico es capaz de reproducir la percepción del aroma y el 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 este tema, no sólo en alimentos sino también en áreas como perfumería, farmacia, etc. 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 su intensidad. 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.[39,77,78] En el GC-O los compuestos separados que eluyen de la columna cromatográfica son sensorialmente evaluados por una persona *(sniffer)*, empleando la nariz como un auténtico detector analítico, que es mucho más sensible que cualquier detector analítico conocido, por lo que es común observar grandes diferencias, tanto cualitativas como cuantitativas, entre los dos métodos de detección químico y biológico. Estas diferencias se deben 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.[77]

Variaciones a la CG convencional es la cromatografía multidimensional que hace uso de dos o más columnas acopladas para conseguir separaciones de moléculas afines no alcanzables con un sistema único. En este arreglo multidimensional se combinan varias etapas de separación independientes dentro de un mismo equipo. Los sistemas multidimensionales pueden incluir combinaciones de HPLC × HPLC, CG × CG o HPLC × CG, generalmente acoplados a un espectrómetro de masas.

El sistema bidimensional de cromatografía de gases (GC × GC), emplea dos columnas para la separación de mezclas complejas basadas en la volatilidad y la polaridad de los analitos. El efluente de la primera columna cromatográfica es reanalizado por una segunda columna con una fase estacionaria de diferente selectividad. El sistema cromatográfico está compuesto de dos hornos independientes, cada uno con una de las columnas analíticas, por lo general con un detector FID para la primera columna y un espectrómetro de masas en la segunda. Debido a la rapidez en la elución y la elevada resolución de los picos cromatográficos obtenidos, esta técnica requiere de detectores que permitan un escaneo muy rápido y sensible, como los espectrómetros de tiempo de vuelo (TOF-MS). Existen dos variantes de los sistemas multidimensionales, (1) la cromatografía de gases multidimensional, convencional o *heart-cut* (GC-GC) donde sólo parte del efluente de la primera columna es analizado en la segunda columna, y (2) la cromatografía de gases multidimensional, comprensiva o completa, donde todo el efluente de la primera columna es cromatografiado en la segunda. Es común combinar la detección olfatométrica simultánea para una mayor capacidad de discriminación de los componentes de interés, esta última recientemente empleada para analizar de manera simultánea más de 350 volátiles del vino.[79,109]

● 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 grupo 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).[15]

● Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

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.[15]

Una variante en el uso de esta herramienta es el análisis de imágenes por resonancia magnética funcional (fMRI) que permite visualizar *in vivo* las partes del cerebro humano que son activadas por compuestos del aroma y sabor. Si bien se encuentra en fase experimental, esta herramienta permitirá evaluar aspectos en la percepción del sabor.[33]

● Análisis de enantiómeros

Como vimos 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 enatiomérica es capaz de generar un sabor o aroma específico, debido a que los receptores del gusto y el 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 el 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 conservarla 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 el 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.[8,33,49]

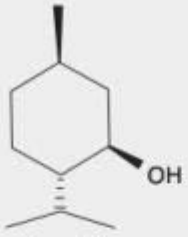
Por ejemplo, los enantiómeros *D* y *L*-carvona poseen propiedades físicas idénticas, pero producen un aroma completamente diferente: la *D*-carvona genera una nota a eneldo, a diferencia de la *L*-carvona que tiene un aroma similar a la menta. La molécula de mentol tiene tres carbonos asimétricos con 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 para cada componente, como parámetro de calidad en la síntesis de aromas idénticos a los naturales.[49]

● Análisis sensorial

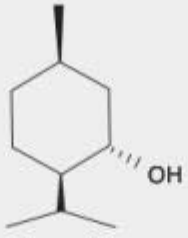
Hasta ahora no existe ningún instrumento capaz de reproducir la imagen de sabor y aroma, textura y apariencia que generan nuestros sentidos, junto con el sistema nervioso, por lo que los métodos sensoriales se utilizan como una herramienta cada vez más eficiente, que permite evaluar la calidad de los alimentos. Los métodos sensoriales pueden dividirse en dos grupos: métodos discriminativos y métodos descriptivos. El propósito de la discriminación es únicamente indicar si los productos que están siendo evaluados se perciben como diferentes; mientras que los métodos descriptivos son más similares a los análisis químicos y permiten, por ejemplo, determinar la presencia o la intensidad de una característica particular.[28,100]

Los ensayos discriminantes son los que tienen el propósito de establecer si entre dos o más muestras existe o no diferencia en alguna característica, o teniéndolas en cuenta todas conjuntamente. En este tipo de pruebas existe gran variedad de métodos específicos, algunos de ellos bien conocidos —como la prueba triangular o la de la comparación pareada— y otros no tan conocidos.[100]

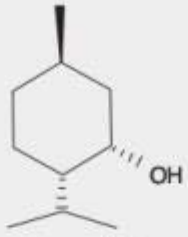
Figura 8.28 Umbral de detección para aroma, sensación refrescante y sabor amargo para los ocho estereoisómeros del mentol.[33,49]



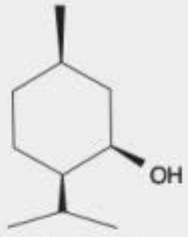
l-mentol



d-isomentol

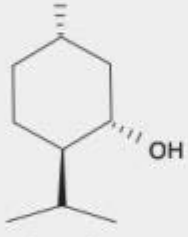


d-neomentol

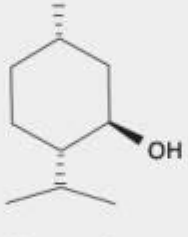


d-neoisomentol

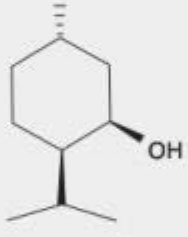
Umbral de detección (ppm)				
Aroma	0.4	0.7	0.5	0.2
Refrescante	0.8	7	3	>25
Amargo	10-20	20	20-30	>25



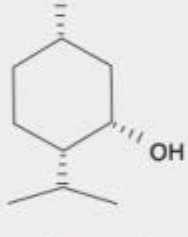
d-mentol



l-isomentol



l-neomentol



l-neoisomentol

Umbral de detección (ppm)				
Aroma	0.3	0.6	0.65	1.0
Refrescante	3	30	20-30	6
Amargo	20-30	50	30	>25

La metodología basada en la investigación y la cuantificación de los descriptores constituye lo que se denomina análisis sensorial descriptivo, o simplemente perfil sensorial, cuya elaboración es bastante compleja; quien la haga debe ser consciente de que puede dar buenos resultados, pero antes necesita hacer una investigación profunda en tiempo de preparación, cálculos y número de sesiones.

Esta técnica requiere de un panel sensorial bien entrenado que opere como cualquier otro instrumento analítico de laboratorio, uno que suministre datos sobre la intensidad o el nivel de una serie de atributos sensoriales de los productos. Tales atributos se seleccionan porque pueden variar durante un tratamiento (almacenamiento en refrigeración) y porque pueden afectar la aceptación del consumidor. Se denominan descriptores y contribuyen, como su nombre lo indica, a describir la impresión global del producto, por lo que deben ser precisos, discriminantes, exhaustivos e independientes. Su número puede ir desde 5 hasta 15

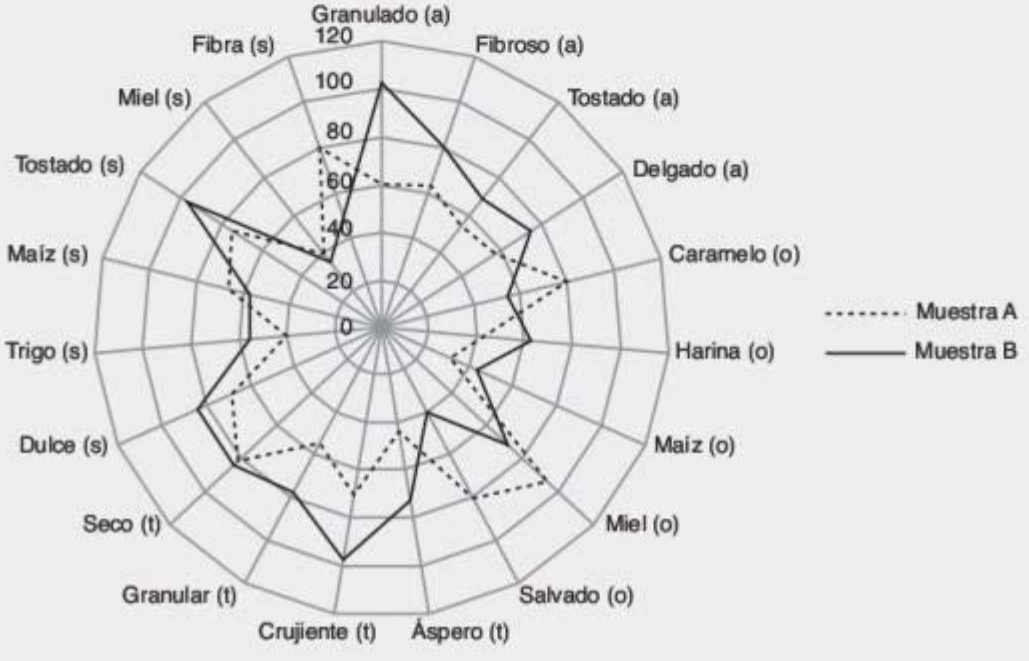
y en ciertos casos más que eso. Los métodos descriptivos incluyen: prueba de perfil del sabor, prueba de perfil por dilución, prueba de perfil de textura y prueba del análisis descriptivo cuantitativo (o QDA, por sus siglas en inglés) (figura 8.29). El objetivo del QDA es identificar y cuantificar las características sensoriales de un producto mediante un panel entrenado. La información generada sirve para construir un modelo multidimensional cuantitativo que perfila los parámetros que definen o describen uno o varios productos.[100]

Un tercer grupo de pruebas sensoriales son las pruebas afectivas que se emplean para medir el gusto o preferencia de un producto. La preferencia es la expresión de atraernos hacia un producto contra otro y puede ser medida directamente por comparación de dos o más productos con algún otro. La medida indirecta de preferencia es aplicada para determinar cuál producto es mejor calificado que otro en una prueba con varios productos. Las pruebas afectivas pueden clasificarse en pruebas de aceptación, pruebas de preferencia y pruebas de nivel de agrado.

La medición es crítica para cuantificar la respuesta a estímulos con el propósito de utilizar estadística descriptiva e inferencial, que proporciona bases racionales para tomar decisiones sobre los productos que son evaluados y los sujetos que realizaron la evaluación. La escala debe ser de fácil uso, porque de lo contrario puede ser una fuente de error. Existen cuatro tipos de escalas:

a) *Escalas nominales:* Para uso de clasificación. Definen el tipo o categoría de una percepción y no indica una relación cuantitativa entre las categorías. Con frecuencia los datos se usan para definir respuestas en términos de categorías que no tienen ningún tipo de implicación, por ejemplo asignar 0 a masculino y 1 a femenino.

Figura 8.29 Ejemplo de un perfil sensorial obtenido por el Análisis Descriptivo Cuantitativo de cereales para desayuno, evaluando apariencia (a), olor (o), textura (t) y sabor (s).



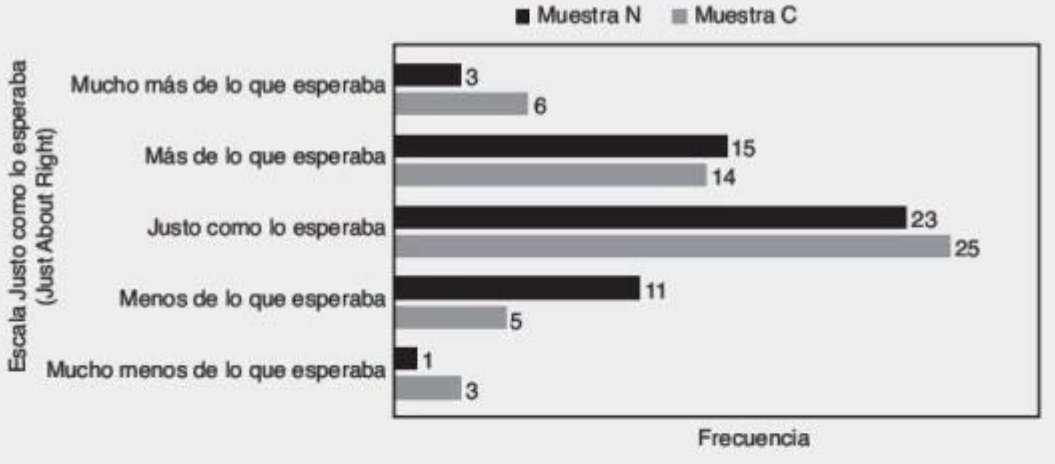
b) *Escalas ordinales:* Las escalas ordinales usan números o letras para organizar de alto a bajo, mucho o poco, etc., con respecto a un atributo o producto. El número asignado se incrementa a medida que incrementa la cantidad o intensidad sensorial percibida. Las escalas ordinales son consideradas básicas para medir la percepción de intensidad.
c) *Escalas de intervalos:* Para medición de magnitudes, asumiendo distancias iguales entre los puntos de la escala. Consiste en unidades de intervalos iguales y sucesivos que indican la magnitud de un atributo del producto. A las unidades se les asignan números que aumentan según lo haga el grado de la magnitud del atributo.
d) *Escalas de proporción:* Para medición de magnitudes, asumiendo equidad de proporción entre puntos. El estímulo se cuantifica en una escala que posee un cero verdadero como la cuantificación de masa, longitud o temperatura. Se asume que se tiene una relación lineal entre la intensidad del estímulo o sensación percibida y la respuesta numérica dada.[131]

De todas las escalas y métodos de prueba, la escala hedónica de nueve puntos ocupa un lugar único en términos de aplicación general para medir la aceptación-preferencia de un producto. Es una escala simple para describir y, como consecuencia, fácil de utilizarse. Para la evaluación sensorial, los resultados provenientes del uso de esta escala son los que generan más información. La información adicional sobre las diferencias entre productos se obtiene del análisis de varianza o la prueba t y sus pruebas equivalentes no paramétricas (Wilcoxon, Prueba del signo y Prueba de Friedman), dependiendo del número de productos y el número de respuestas por producto por sujeto.[72,131]

Ejemplos de estas escalas son:

a) *Escala hedónica.* Por lo general consiste en siete categorías en las que se presentan términos de nivel de agrado como "extremadamente agradable", "muy agradable", etc.; un término neutral que indica que "no gusta ni disgusta", y niveles de desagrado que pueden ir desde "ligeramente desagradable" hasta el numero de niveles que se requieran, dependiendo de la información disponible del producto a evaluar.[72]
b) *Escala justo como lo esperaba (Just-About-Right).* Esta escala es una de las más encontradas en pruebas de consumidor (figura 8.30). Lo usual es que estas escalas bipolares tengan cinco categorías ancladas con afirmaciones de "más de lo que esperaba", "demasiado", "poco menos", "muy debajo de lo que esperaba", y el punto central o "justo como lo esperaba" para cada uno de los atributos.[72]
c) *Escalas de intensidad.* Esta escala contiene, además de los puntos extremos, uno o más intermedios, por lo que se resuelve el problema de la subjetividad de los jueces. Este tipo de escalas suelen constar de 3, 4, 5 o más puntos.[72,126]

Figura 8.30 Ejemplo de resultados de una prueba afectiva de nivel de agrado en sabor empleando una escala Justo como lo esperaba.



Referencias bibliográficas

1. Aharoni, A., Giri A.P., Verstappen W.A., Bertea C.M., Sevenier, R., Sun, Z., Jongsma, M.A., Schwab, W. y Bouwmeester, H.J. 2004. "Gain and loss of fruit flavour compounds produced by wild and cultivated strawberry species". *Plant Cell.* 16:3110.
2. Azuola, R. y Vargas, P. 2007. "Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EU)". *Tecnología en Marcha.* 20:30.
3. Bajec, M.R. y Pickering, G.J. 2008. "Astringency: mechanisms and perception". *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 48:858.
4. Baltussen, E., Cramers, C.A. y Sandra, P.J.F. 2002. "Sorptive sample preparation- a Review". *Anal. Bioanal. Chem.* 373:3.
5. Baltussen, E., Sandra, P., David, F. y Cramers, C.A. 1999. "Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles". *J. Micro. Sep.* 11:737.
6. Bandyopadhyay, C. y Gholap, A.S. 1973. "Relationship of aroma and flavour characteristics of mango (*Mangifera inica* L.) to fatty acid composition". *J. Sci. Food Agric.* 24:1497.
7. Baxter, E.D. y Hughes, P.S. 2004. "Cerveza: Calidad, higiene y características nutricionales". Acribia Zaragoza, España. ISBN 84-200-1021-9.
8. Belitz, H.D y Grosch W. 2009. "Food Chemistry". 4a. Ed. Springer-Verlag, Alemania.
9. Belitz, H.D. Chen W. Jugel, H., Stemph, H., Treleano, R. y Wieser, H. 1983. "QSAR of bitter tasting compounds". *Chem. Ind.* 1:23.
10. Bliss, M.L. y Patt, H.K. 1979. "Effect of ethylene, mature and attachment to the parent plant on production of volatile compounds by muskmwelons". *J. Amer. Soc. Hort.* 104:273.
11. Blumenthal, M.M. 1997. "How packaging affects food flavor". *Food Technol.* 51:71.
12. Bood, K.G. y Zabetakis, I. 2002. "The biosynthesis of strawberry flavour (II): biosynthetic and molecular studies". *J. Food Sci.* 67:2.
13. Borrego, F. 2000. "Edulcorantes de alta intensidad en bebidas refrescantes". *Alim. Equip. y Tecnol.* 115.
14. Brody, A.L. 2007. "Flavor scalping in plastic packaging". *Food Technol.* 4:82.
15. Brown W.H. 2002. "Introducción a la química orgánica". Compañía Editorial Continental. México.
16. Chatonnet, P., Boidron, J.N. y Pons, M. 1990. "Maturation of red wines in oak barrels: Evolution of some volatile compounds and their aromatic impact". *Sciences des Aliments.* 10:565.
17. Chen, G., Hackett, R., Walker D., Taylor A., Lin Z. y Grienson D. 2004. "Identification of a specific isoform of tomato lipoxigenasa (TomoloxC) involved in the generation of fatty acid-derived compounds". *Plant Physiol.* 136:2641.
18. Cole, V.C. y Noble, A.C. 1995. "Flavour chemistry and assessment". *En: Fermented Beverage Production.* Ed. por Piggott, J.R. y Lea, A.G. Blackie Academic Professional, Londres. 361.

19. 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.

20. 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 flavour complex in apple fruit". *Transgenic Res.* 13:373.

21. De Keukeleire, D. 2000. "Fundamentals of beer and hop chemistry". Química Nova. 23:108.

22. De Ross K.B. 1997. "How lipids influence food flavor". *Food Technol.* 51:60.

23. 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.

24. 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.

25. 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.

26. Díaz de León-Sánchez, F., López, L., Rivera-Cabrera, F., Pelayo-Zaldívar, C., Buentello, B., Fernández F.J., Pérez-Flores L.J., Escalona, H.B. y García, A. 2008. "Effect of storage at 10 °C on the aroma of tomato (Lycopersicon esculentum) Saladette grown in Mexico". *Acta Hort.* 768:509.

27. Djordjevic J., Zatorre R.J. y Jones-Gotman M. 2004. "Odor-induced changes in taste perception". *Exp. Brain Res.* 159:405.

28. Domínguez-García, M. 2011. "Evaluación sensorial de productos cárnicos reducidos en sodio y fosfato". Tesis de Licenciatura en Química en Alimentos. Facultad de Química. UNAM.

29. Doyle, M.E. y Glass, K.A. 2010. "Sodium reduction and its effect of food safety, and human health". *Comprenh. Rev Food Sci.* 9:44.

30. Duan, C., Shen, Z., Wu, D. y Guan, Y. 2001. "Recent developments in solid-phase microextraction for in-site sampling and sample preparation". *Trends in Anal. Chem.* 30:1568.

31. DuBois, G.E. 2011. "Validity of early indirect models of taste active sites and advances in new taste technologies enabled by improving models". *Flavour Fragr.* 26:239.

32. DuBois, G.E. 2011. "Replicating the taste of sugar". *Food Technol.* 65(9):30.

33. Duxbury, D. 2005. "Flavour analysis integral to product development". Food Technol. 59:60.

34. Eggers, S.C., Acreeb, T.E. y Shallenbergerb, R.S. 2000. "Sweetness chemoreception theory and sweetness transduction". *Food Chem.* 68:45.

35. Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M. y Mottram, D.S. 2002. "Effect of lipid composition on meat like model systems containing cysteine, ribose and polyunsaturated fatty acids". *J. Agric. Food Chem.* 50:1126.

36. 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.

37. 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.

38. 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.

39. Escalona Buendía, H.B., Villanueva Rodríguez, S.J., López Ramírez J.E., González Herrera, R.M.C., Campo Barba, T.M., Estarrón Espinosa, 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.

40. Eun-Kyoung, L., Bong-Su, N. y Gun-Hee, K. 2007. "Minimization of off-flavour occurrence during the storage of modified atmosphere packaged *Pleurotus ostreatus*". *J. Food Sci. Nutr.* 12:222.

41. Farmer, L.J. 1999. "Poultry meat flavor". *En: Poultry Meat Science*, Ed. por R.I. Richardson y G.C. Mead. CAB Internacional. Reino Unido.

42. Fischer, N. y Widder, S. 1997. "How proteins influence food flavour". *Food Technol.* 51:68.

43. Freeman, G.G. y Mossadeghi, N. 1972. "Influence of sulphate nutrition on flavour components of three cruciferous plants: Radish (*Raphanus sativus*), cabbage (*Bassica capitata*) and white mustards (*Sinapsis alba*)". *J. Sci. Food Agric.* 23:387.

44. Galliard, F. y Matthew, J.A. 1977. "Lipoxygenase-mediated cleavage of fatty acids to carbonyl fragments in tomato fruits". *Phytochem.* 16:339.

45. George-Nascimento, C. y Cori, O. 1971. "Terpene biosynthesis from geranyl and neryl pyrophosphates by enzymes from orange flavedo". *Phytochem.* 10:1083.

46. Godshall, M.A., 1997. "How carbohydrates influence food flavor". Food Technol. 51:63.

47. González-Carnero, J., de la Montaña-Miguélez, J. y Míguez-Bernárdez, M. 2002. "Estudio de la percepción de sabores dulce y salado en diferentes grupos de la población". *Nutr. Hosp.* 17:256.

48. González-Viñas, M.A., Pérez-Coello, M.S., Salvador, M.D., Cabezudo, M.D. y Martín-Álvarez, P.J. 1996. "Changes in gas-chromatographic volatiles of young Airen wines during bottle storage". *Food Chem.* 56:399.

49. Green C., Pucarelli, F., Mankoo, A. y Manley, C. 2005. "Recreating flavours from nature". *Food Technol.* 58:28.

50. Gschaedler-Mathis, A.C., Ramírez-Córdova, J.J., Díaz-Montaño, 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.

51. Guillén-Velasco, S., Ponce-Alquicira, E., Farrés-González Saravia, A. y Guerrero-Legarreta I. 2004. "Histmine production by two enterobacteriacea strains isolated from tuna *(Thunnus thynnus)* and Jack Mackarel *(Trachurus murphyii)*". *Int. J. of Food Prop.* 7:91.

52. Guth, H. 1997. "Identification of character impact odorants of different white wine varieties". *J. Agric. Food Chem.* 45:3022.

53. Gutiérrez Rojas M. y Revah-Moiseev S. 1999. "Aromas y sabores". *En: Biotecnología Alimentaria*. Ed. por García Garibay M., Quintero Ramírez R. y López Murguía Canales A. Limusa, México.

54. Halász, A., Bárat, A., Simon-Sarkadi, L. y Holzapfel W. 1994. "Biogenic amines and their production by microorganisms in food". *Trends Food Sci. Technol.* 55:42.

55. Hall, R.L. y Merwin, E.J. 1981. "The role of flavours". *Food Technol.* junio. p. 46.

56. Harrison, M., Hills, B.P., Bakker, J. y Clothier, T. 1997. "Mathematical models of flavour release from liquid emulsions". *J. Food Sci.* 62:653.

57. Hartwig, P. y MacDaniel, M.R. 1995. "Flavour characteristics of lactic, malic, citric, and acetic acids at various pH levels". *J. Food Sci.* 60:384.

58. Heath, H.B. y Reineccius, G. 1989. Flavour Chemistry and Technology, The Avi Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut.

59. Henick-Kling, T. 1993. "Malolactic fermentation". Capítulo 10. *En: Wine Microbiology and Biotechnology*. Ed. por Fleet, G.H. Switzerland: Harwood Academic Publishers. p 314.

60. Horák, T., Kellner,V., Culík, J., Jurková, M. y Cejka, P. 2007. "Determination of Some Beer Flavours by Stir Bar Sorptive Extraction and Solvent Back Extraction". *J. Inst. Brew.* 113:154.

61. http://www.freedoniagroup.com/brochure/26xx/2673smwe.pdf. *Fecha de la consulta:* diciembre de 2011.

62. http://www.leefingwell.com. *Fecha de la consulta:* mayo, 2005.

63. http://www.nutraceuticalsworld.com/ Functional Foods in Asia Pacific—Technology Benchmarking and Stakeholder Analysis. *Fecha de la consulta:* diciembre, 2011.

64. 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.

65. 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.

66. Johnson, J. 2011. "Challenges of formulating products to meet desired sodium targets". *Food Technol.* 6:42.

67. Jousse, F., Jongen, T., Russel, S. y Bratt P. 2002. "Simplified kinetic of flavour formation by the Maillard Reaction". *J. Food Sci.* 67:2534.

68. Keppler, J.G. 1977. "Twenty-five years of flavour research in a food industry". *J. Am. Oil Chem Soc.* 54:474.

69. Kier, L.B. 1972. "A molecular theory of sweet taste". *J. Pharm. Sci.* 61:1394.

70. Kristensen L. y Purslow P. 2001. "Effect of heat denaturation on the pro-oxidative activity of metmyoglobin in linoleic acid emulsions". *J. Agric. Food Chem.* 45:7.

71. Kristensen L. y Purslow P. 2001. "The effect of processing temperature and addition of mono- and divalent salts on the heme- nonheme-iron ratio in meat". *Food Chem.* 73:433.

72. Lawless, H.T. y Heymann, H. 1999. "Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices". Kluwer, Plenum, Nueva York, EU.

73. 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.

74. 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.

75. Liem, D.G., Miremadi, F. y Keast, R. 2011. "Reducing sodium in foods: the effects on flavour". *Nutrients* 3:694.

76. Liu, T.T. y Yang, T.S. 2002. "Optimization of solid-phase microextraction analysis for studying change of headspace flavour compounds of banana during ripening". *J. Agric Food Chem.* 50:653.

77. López, M.G. 2001. "Una sinfonía de aromas". *Avance y perspectiva*. 20:421.

78. López, R. y Cacho, J. 2011. "Avances en cromatografía de gases aplicada al análisis de compuestos volátiles en el vino". *Acenología*, 125. http://www.acenologia.com/ *Fecha de la consulta:* diciembre, 2011.

79. López, R., Ferreira, V., Hernández, P. y Cacho, J.F. 1999. "Identification of impact odorants of young wines made with Merlot, Cabernet Sauvignon and Grenache grape varieties: a comparative study". *J. Sci. Food Agric.* 79:1461.

80. Maarse, H. 1984. Volatile Compounds in Food, Quantitative Data, vol. 1-3, Division for Nutrition and Food Research, TNO, Zeist, Países Bajos.

81. Magnuson B., Jonaitis, T.S. y Card, J.W. 2011. "A brief review of the occurrence, use and safety of food related nanomaterials". *J. Food Sci. 76*:R126.

82. 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.

83. Malfliet, S., Van Opstaele, F., De Clippeleer J., Syryn E., Goiris K., De Cooman L. y Aerts G. 2008. "Flavour Instability of Pale Lager Beers: Determination of Analytical Markers in Relation to Sensory Ageing". *J. Inst. Brew.* 114:180.

84. 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.

85. McClements, D.J. 2011. "Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance". *Soft Matter 7*:2297.

86. 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.

87. Mennella, J.A., Pepino, Y.M. y Reed, R.D. 2005. "Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences". *Pediatrics* 115:e216.

88. Mermelstein, N. 2009. "Flavour analysis". *Food Technol.* 1:62.

89. Montmayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H. y Buck, L.B. 2001. "A candidate taste receptor gene near a sweet taste locus". *Nat. Neurosci.* 4:492.

90. Morales López, J. 1999. "Efecto bacteriostático de aceites esenciales de ajo y cebolla sobre los microorganismos presentes en carne". Tesis de Maestría en Biotecnología. UAM.

91. Mottram, D.S. 1998. "The chemistry of meat flavor". *En: Flavour of meat, meat products and seafoods*. Ed. por F. Shahidi. Blackie Academic & Professional. Reino Unido.

92. 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.

93. Mottram, D.S., 1998. "Flavour formation in meat and meat products: a review". *Food Chem.* 62:415.

94. Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou, S. y Demetzos, C. 2008. "Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology". *J. Liposome Res.* 18:309.

95. 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.

96. Oeller, P.W., Wong, L.M., Taylor, L.P. Pike, D.A. y Theologis, A. 1991. "Reverse inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA". *Science*, 254:437.

97. Ohloff, G., Flament, I. y Pickenhagen, W. 1985. "Flavour chemistry". Food Reviews International, 1:99, Marcel Dekker, Nueva York.

98. Osorio-Córdoba, J. 2011. "Identificación de compuestos aromáticos de diferentes variedades de nopal, verdura y su respuesta a la atmósfera modificada como método de conservación". Tesis de Doctorado en Biotecnología. UAM, México.

99. Palma-Lovillo, M. y Guillen-Sánchez, D. 2011. "La cromatografía líquida en la enología". *Acenologia*, 125, http://www.acenologia.com/ *Fecha de la consulta:* diciembre 2011.

100. Pedrero D. L. y Pangborn R.M. 1989. "Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos". 1a. Edición, Alhambra Mexicana, México, D.F.

101. Pelayo-Zaldívar, C., Ben Adba, J., Ebeler, S.E. y Kader, A.A. 2007. "Quality and chemical changes associated with flavour of *Camarosa* strawberries in response to a CO_2 enriched atmosphere". *Hort Sci.* 42:299.

102. Philippe E., Seuvre A.M., Colas, B., Langendorff V., Schippa C., y Voilley, A. 2003. "Behavior of flavour compounds in model food systems: a thermodynamic study". *J. Agric. Food Chem.* 51:1393.

103. Pino, J.A., Mesa J., Muñoz, Y., Marti, M.P. y Marbot, R. 2005. "Volatile components from mango (*Manguifera indica* L.) cultivars". *J. Agric Food Chem.* 53:2213.

104. Ponce Alquicira E. 2006. "Aroma de la carne". *En: Ciencia y tecnología de carnes*. Ed. por Y.H. Hui, I. Guerrero, M. Rosmini. Editorial Limusa, México, D.F. 199.

105. Ponce, E. 2004. "Flavour 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.

106. Ponce, E. 2004. "Poultry: Canned Turkey Ham". *En: Food Processing- Principles and applications*. Ed. por JS Smith y H Hui. Blackwell Publishing, Iowa, 417.

107. Ponce, E. y Taylor, A.J. 2000. "Extraction and ESI-CID-MS-MS analysis of myoglobins from different meat species". *Food Chem.* 69:81.

108. Porzio, M. 2007".Flavour delivery and product development". *Food Technol.* 1:22.

109. Pozo, Bayon M. 2011. "Descifrando las claves químicas que explican el aroma del vino". *Acenología* 127. http://www.acenologia.com/ *Fecha de la consulta:* diciembre 2011.

110. Pszczola, D.E. 2004. "A Changing perception of taste perception". *Food Techol.* 58:56.

111. Pszczola, D.E. 2010. "Taste modulation: A new sense". *Food Techol.* 64:44.

112. Purvis, A.C. 2004. "Regulation of oxidative stress in horticultural crops". *HortSci.* 39:930.

113. Rao, J. y McClemnts, D.J. 2011. "Formation of flavour oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: influence of composition and preparation method". *J. Agric. Food Chem.* 59:5026.

114. Rapp, A. 1998. "Volatile flavour if wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception". *Nahrung* 42:351.

115. Rapp, A. y Mandery, H. 1986. "Wine aroma". *Experientia* 42:873.

116. Reineccius, G.A. y Anandaraman, S. 1984. "Analysis of volatile flavours". *En: Recent Advances in the Chromatographic Analysis of Organic Compounds in Foods*, Ed. J. Lawrence, Marcel Dekker, Nueva York.

117. Reyes Escogido, M.L., González Mondragón, E.G. y Vázquez Tzompantzi, E. 2011. "Chemical and pharmacological aspects of capsaicin". *Molecules* 16:1253.

118. Rhee, K.S., Cho, S.H., Kim, J.O. y Kim, N.M. 1998. "Lipid classes, fatty acids, flavour and storage stability of washed sheep meat". *J. Food Sci.* 63:168.

119. Robin, C., McKellar, J.C., Young, A., Johnston, K.P., Knight, X.L. y Buttenham, S.2002. "Use of the Electronic Nose and Gas Chromatography–Mass Spectrometry to Determine the Optimum Time for Aging of Beer: MBAA". *Tech. Quaterly* 39:99.

120. Rodríguez Palacios, F.J., Iturbe Chiñas, F.A. y Valle Vega, p. 1986. "Edulcorantes". *Tecnol. Alim.* 21:12.

121. Saito, K. y Timita, F. 2000. "Difructose Anhydrides: Their mass-production and physiological functions". *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64:1321.

122. Salankhe, D.K. y Do, J.Y. 1976. "Biogenesis of aroma constituents of fruits and vegetables". *CRC Crit. Reu. Food Sci. and Nutr.* 161.

123. Salinas, M.R., Zalacain, A., Pardo, F. y Alonso, G.L. 2004. "Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening". *J. Agric. Food Chem.* 52:4821.

124. Sanderson, G.W. y Graham, N.H. 1973. "The formation of black tea aroma". *J. Agric. Food Chem.* 21:576

125. Schwimmer, S. y Austin, S.J. 1971. "Glutamyl transpeptidase of sprouted onion". *J. Food Sci.* 36:807.

126. Severiano-Pérez, P., Gómez, A.D., Méndez, G.C., Pedrero, F.D., Utrera, A.M., Silva, G.D., Barrios, L.E., Cardena, A.A. y Carmona, E.R. 2009. "Manual del taller de evaluación sensorial". Facultad de Química, UNAM.

127. Shahidi, F. 1994. "Flavour of meat and meat products –an overview". *En: Flavour of meat and meat products*. Ed. por F. Shahidi. Blackie Academic Professional, Chapman & Hall.

128. Shallenberger, R.S. y Birch, G.G. 1975. "Sugar Chemistry". The Avi Publishing, Westport, Connecticut.

129. Shankaranarayana, M.L., Raghavan, B., Abraham, K.O. y Natarajan, C.P. 1982. "Sulfurcompounds in foods". *En Food Flavours. Part A. Introduction*, Ed. pot I.D. Morton y A.J. MacLeod, Developments in Food Science, Elsevier, Londres.

130. Singleton, V.L. 1995. "Maturation of wines and spirits: Comparisons, facts, and hypothesis". *Amer. J. Enol. Vitivin.* 46:98.

131. Stone H. y Sidel J.L. 2004. "Sensory Evaluation Practices". 3a. Ed. ELSEVIER Academic Press, California, E.U.

132. Sucan M.K.2004. "Identifying and preventing off-flavours". *Food Technol.* 58:36.

133. Tadege, M.; Dupuis, I. y Kuhlemeier, C. 1999. "Ethanoic fermentation: new functions for an old pathway". *Trends in Plant Sci.* 4:320.

134. Taylor, A.J. 2002. "Release and transport of flavours in vivo: physicochemical, physiological, and perceptual considerations". *CRFSFS*, 1:45.

135. Tookey, H., Van Etten, C.H. y Daxenbiichler, M.E. 1980. "Glucosinolates". *En: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, Ed. por I.E. Liener, Academic Press, Nueva York.

136. Tressl, R. 1977. "Formation on flavour components in asparagus. 1. Biosynthesis of sulfur-containing acids in asparagus". *J. Agric. Food Chem.* 25:455.

137. Tressl, R. y Drawert, F. 1973. "Biogenesis of banana volatiles". *J. Agric. Food Chem.* 21:560.

138. 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.

139. Vasapollo, G., Del Sole, R., Mergola, L., Lazzoi, M.R., Scardino, A., Scorrano, S. y Mele, G. 2011. "Molecular imprinted polymers: present and future prospective". *Int. J. Mol. Sci.* 12:5908.

140. Velasco R.J., Villada H.S. y Carrera J.E. 2007. "Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria". *Inf. Tecnol.* 18:53.

141. Voilley, A., Lamer, C., Dubois, P. y Feuillat, M. 1990. "Influence of macromolecules and treatments on the behavior of aroma compounds in a model wine". *J. Agric. Food Chem.* 38:248.

142. Volatile Compounds in Foods 8.1. 2005. Nutrition and Food Research Institute. TNOweb. http://www.voeding.tno.nl/VCF/VCFNavigate.cfm. *Fecha de la consulta:* mayo, 2005.

143. White, P.J. 2002. "Recent advances in fruit development and ripening: an overview". *J. Exp. Botany*, 53:1995.

144. Yamaguchi. T. 1981. "The umami test". *En: Food taste chemistry*. Ed. por Boudreau J.C. American Chemical Soc. Washington D.C.

145. Yamanishi, T. 1981. "Tea, coffee, cocoa and other beverages". *En: Flavour Research, Recent Advances*, Ed. por R. Terenishi, R.A. Flath y H. Sigasawa, Marcel Dekker, Nueva York.

146. Yáñez Fernández, J., Salazar Montoya, J.A., Chaires Martínez, L., Jiménez Hernández J., Márquez Robles M. y Ramos Ramírez E.G. 2002. "Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación". *Avance y perspectiva*. 21:303.

147. Yaylayan, V.A. 1999. "Flavour Chemistry". *En: Encyclopedia of Food Science and Technology*. Ed. por F. Frederic. Wiley. Nueva York. 834.

148. Yu, M.H. y Spencer, M. 1969. "Conversion of L-leucine to certain keto acids by a tomato enzyme preparation". *Phytochem. 8*:1173.

149. Zalacain, M., Alonso, G.L., Lorenzo, C., Íñiguez, M. y Salinas, M.R. 2004. "Stir bar sorptive extraction (SBSE) for the analysis of wine cork taint". *J. Chrom. Part A*. 1033:173.

150. Zozula, S., Echeverri, F. y Trieu, N. 2001. "The human olfactory receptor repertoire". *Genome Biol.* 2:1.

9

- Introducción
- Aspectos legales
- Conservadores
- Emulsionantes
- Polioles o polialcoholes
- Potenciadores del sabor
- Acidificantes, alcalinizantes y reguladores de pH
- Secuestradores o quelantes
- Edulcorantes
- Gasificantes para panificación
- Acondicionadores de panificación
- Antiaglomerantes
- Antiespumantes
- Colorantes
- Clarificantes
- Sustancias para masticar
- Humectantes
- Sustitutos de grasas
- Saborizantes
- Otros aditivos

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Aditivos

Introducción

La aceptación de un alimento depende de muchos factores, entre los que resaltan sus cinco atributos principales, a saber color, sabor, textura, valor nutritivo y seguridad o inocuidad, además del costo, la disponibilidad, la facilidad de preparación, la vida de anaquel y hasta el sonido que produce al consumirlo. Tanto los macrocomponentes —agua, hidratos de carbono, proteínas y lípidos— como los microcomponentes —vitaminas, minerales, pigmentos, sabores y los agentes bioactivos— influyen en estas características. Sin embargo, en muchas ocasiones se les deben añadir ciertos compuestos para que los alimentos adquieran algunos de esos atributos.

Un aditivo, natural o sintético, es una sustancia (o mezcla de varias sustancias) que se adiciona durante la producción o en el consumo de los alimentos para mejorarlos; como es obvio, tales sustancias no consideran elementos contaminantes indeseables, por ejemplo plaguicidas, fumigantes, metales pesados y otros dañinos a la salud humana.

Por definición, aditivo es "cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición al producto con fines tecnológicos en sus fases de producción, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente)

por sí o sus subproductos, en un componente del producto o un elemento que afecte a sus características (incluidos los organolépticos)". Esta definición no incluye contaminantes o sustancias añadidas al producto para mantener o mejorar las cualidades nutricionales.[35]

Existe controversia sobre su uso, sobre todo entre quienes desconocen los aspectos legales y las ventajas que representa su adecuada aplicación. Aditivos y coadyuvantes deben emplearse como apoyo en la producción 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.[5,12]

Tanto la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos, como la Unión Europea, y el Codex Alimentarius difunden información sobre usos, recomendaciones y toxicidad de estas sustancias; este último organismo internacional, resultado del esfuerzo conjunto de la FAO (Food and Agriculture Organization de la ONU) y el WHO (World Health Organization de la Organización Mundial de la Salud), han creado el JECFA o Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios, que ha establecido la Ingesta Diaria Admisible (IDA),[11] una estimación de la cantidad de aditivo expresada en relación con el peso corporal, que una persona puede ingerir cada día durante toda la vida sin riesgo para su salud.[35]

Dentro de la categoría de aditivos se incluyen muchos que se deben utilizar sólo de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF); representan "la cantidad de un aditivo que se añade al producto, limitándose a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado, a condición de que no altere la naturaleza, sustancia o inocuidad del producto".[35]

En la preparación de los alimentos también se añaden coadyuvantes, que por definición son la "sustancia o materia, excluidos aparatos, utensilios y aditivos, que no se consume como ingrediente alimenticio por sí misma, y se emplea intencionalmente en la elaboración de materias primas, productos o sus ingredientes, para lograr una finalidad tecnológica durante el tratamiento o la elaboración, que puede dar lugar a la presencia, no intencionada pero inevitable, de residuos o derivados en el producto final".[35]

Para determinar la toxicidad de estas sustancias se efectúan pruebas agudas, en las que a los animales de laboratorio se les administran sobredosis, 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. La reglamentación permite usar los aditivos en concentraciones máximas que previamente se establecen, según los resultados de los análisis toxicológicos; con frecuencia esos máximos son menores que las dosis que causan afecciones a los animales.

Si se considera aditivo a cualquier sustancia que se añade a los alimentos, entonces la sacarosa, o azúcar de mesa, la sal común, el ácido acético del vinagre, el ácido cítrico de los cítricos y muchos otros quedarían en esta categoría. Desde hace muchos siglos todos estos aditivos se utilizan para conservar y mejorar las propiedades sensoriales de los alimentos, además de que se encuentran de forma natural en muchos de ellos;[19] debido a su comprobada inocuidad, no se restringe su empleo y la única limitación se relaciona con aspectos de aceptación por el consumidor. Este reconocimiento se hace mediante el listado GRAS (siglas de *Generally Recognized As Safe*) de aditivos de los Estados Unidos.[37,38]

Sin embargo, algunos aditivos como los sulfitos, la tartrazina y el glutamato monosódico, son conocidos por provocar alergias a personas sensibles, de modo que es importante que el consumidor sepa de su presencia en los alimentos que adquiere.

Los aditivos se aplican básicamente para la preservación de los alimentos con los conservadores, antioxidantes, agentes que reducen la actividad del agua y antiendurecedores, y para mejorar sus propiedades sensoriales, con saborizantes, colorantes, edulcorantes, espesantes, espumantes, gelificantes y emulsionantes.

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 presentan cierta actividad antimicrobiana; además de reducir el pH, los acidulantes funcionan como secuestradores; los espesantes, como gomas o proteínas, también estabilizan emulsiones de aceite en agua al incrementar la viscosidad y provocan una sensación de saciedad;[29] los diversos fosfatos comerciales (fosfatos, metafosfatos, hexametafosfatos, tripolifosfatos y pirofosfatos) actúan como amortiguador de pH, emulsionante, antiaglomerante, secuestrador y dispersante.

En este capítulo se describen los aditivos que no han sido revisados en otras secciones. Los antioxidantes se estudian en el capítulo 4; espesantes como los polisacáridos y las proteínas, en los capítulos 2 y 3; y las enzimas en el capítulo 5.

Aspectos legales

Los aditivos no se pueden usar en los siguientes casos: *a*) para ocultar defectos de calidad; *b*) para encubrir alteraciones y adulteraciones en la materia prima o en el producto terminado; *c*) para disimular materias primas no aptas para el consumo humano; *d*) para ocultar técnicas y procesos defectuosos de elaboración, manipulación, almacenamiento y transporte; *e*) para reemplazar ingredientes en los productos que induzcan a error o engaño sobre la verdadera composición de los mismos, y *f*) para alterar los resultados analíticos de los productos en que se agreguen.

En el cuadro 9.1 se indican los grupos de aditivos autorizados por la Secretaría de Salud de México.[35] De las 3 704 sustancias aprobadas, 3 095 corresponden a saborizantes, 250 a coadyuvantes, 19 a edulcorantes, 53 a enzimas, 4 a bases para gomas, 30 a colorantes y 253 a otros aditivos.

CUADRO 9.1 **Grupos de aditivos permitidos en México[35]**

Clase funcional	Definición	Función tecnológica (subclases)
Acidificantes	Sustancias que modifican o mantienen la acidez de los productos	Acidulante
Acondicionadores o tratamiento de harinas o de masa	Sustancias que se utilizan en panificación para mejorar diversas cualidades de la harina o masa	Agentes de tratamiento de harinas Blanqueadores de harinas Mejoradores de harinas Acondicionadores de masa Reforzadores de la masa
Antiaglomerantes o antiaglutinantes (antihumectantes)	Sustancias, o mezcla de sustancias, que reducen la tendencia de los componentes de un alimento a cohesionarse o adherirse unos a otros	Agentes aglutinantes Agentes antiadherentes Agentes de secado Polvos para empolvar Antihumectantes
Antiespumantes	Sustancia o mezcla de sustancias que, adicionada durante la elaboración de los productos, inhibe o disminuye la formación de espuma	Eliminadores de espuma Reductores de espuma

(continúa)

CUADRO 9.1 *Continuación*

Clase funcional	Definición	Función tecnológica (subclases)
Antioxidantes	Sustancias que prolongan la vida de almacén de los productos, protegiéndolos del deterioro ocasionado por la oxidación	Antioxidantes Sinérgicos de antioxidantes Agentes de antipardeamiento
Clarificante	Sustancia que elimina la turbidez en un líquido, dejándolo claro	Clarificante
Conservadores	Sustancias, o mezcla de sustancias, que previenen, retardan o detienen cualquier alteración causada por microorganismos	Sustancias conservadoras Conservadores Antimicrobianos Agentes antimicóticos Agentes de control bacteriófagos Agentes fungistáticos, agentes inhibidores de mohos y hongos filamentosos Sinergistas antimicrobianos
Emulsificantes o emulsionantes (antisalpicantes, enturbiadores)	Sustancias, o mezcla de sustancias, que forman o mantienen una emulsión uniforme en un producto	Emulsionantes Agentes dispersantes Agentes tensoactivos Antisalpicantes Inhibidores de la cristalización, correctores de la densidad (de los aceites aromatizantes en las bebidas) Estabilizadores de una suspensión Agentes enturbiadores Sales emulsionantes, sales de mezcla, sales fundentes Plastificantes Surfactantes
Endurecedores	Sustancias que vuelven o mantienen los tejidos de frutas u hortalizas firmes o crocantes o que actúan junto con agentes gelificantes para producir o mantener un gel	Agentes endurecedores
Espesantes	Sustancias que incrementan la viscosidad de los productos	Espesantes Agentes de soporte Aglutinantes Agentes texturizadores
Espumantes	Sustancias que posibilitan la formación o el mantenimiento de una dispersión uniforme de una fase gaseosa en un producto líquido o sólido	Agentes espumantes Agentes de batido Agentes de aireación

Estabilizantes	Sustancias que posibilitan el mantenimiento de una dispersión uniforme de dos o más sustancias	Estabilizadores Estabilizadores de espuma Estabilizadores coloidales Aglutinantes
Gasificantes	Sustancias, o mezcla de sustancias, que se utilizan para introducir dióxido de carbono en un producto.	Gasificantes Agentes fermentadores
Gelificantes	Sustancias que dan textura y/o consistencia a un producto mediante la formación de un gel	Agentes gelificantes
Glaseado	Sustancias que, cuando se aplican en la superficie exterior de un producto, le confiere un aspecto brillante o lo revisten con una capa protectora	Agentes de glaseado Agentes sellantes Agentes de revestimiento Agentes de acabado de superficie Agentes de abrillantado Agentes formadores de película
Humectantes	Sustancias, o mezcla de sustancias, destinadas a prevenir la pérdida de humedad de los productos	Agentes humectantes Agentes de retención de humedad
Incrementadores de volumen	Sustancia diferente del aire y del agua que aumenta el volumen de un producto sin contribuir significativamente a su valor energético disponible	Incrementadores del volumen Agentes de relleno
Potenciadores de sabor	Sustancia, o mezcla de sustancias, destinadas a realzar los aromas o los sabores de los productos, excepto el cloruro de sodio o sacarosa	Potenciadores o acentuadores de sabor o aroma Saborizantes o aromatizantes sinergistas Modificadores de sabor o aroma Ablandadores
Propulsores	Gases diferentes del aire que expulsan un alimento de un recipiente	Propulsores Gases propelentes
Reguladores de pH	Sustancia que modifica o mantiene la acidez o alcalinidad de los productos	Reguladores de acidez Ácidos Acidificantes Álcalis Bases Soluciones reguladoras Agentes reguladores Agentes de regulación de pH Corrector de acidez Agentes reguladores
Retención de color	Sustancias que estabilizan, retienen o intensifican el color de un producto	Agentes de retención de color Fijadores de color Estabilizantes de color Complementos de color
Secuestrantes	Sustancia que forma complejos químicos con iones metálicos	Secuestrantes

(continúa)

CUADRO 9.1 *Continuación*

Clase funcional	Definición	Función tecnológica (subclases)
Colorantes	El Codex Alimentarius propone la siguiente definición: "Sustancia que da o restituye color a un producto"	Pigmentos de coloración y decoración Colorantes de superficie Lacas Pigmentos
Decolorantes	Sustancias utilizadas (no en las harinas) para decolorar un producto. Los decolorantes no contienen pigmentos	Decolorante Oxidante
Edulcorantes	Sustancias diferentes de los mono y disacáridos, que imparten un sabor dulce a los productos	Edulcorantes naturales Edulcorantes artificiales
Gases de envasado	Sustancias gaseosas, introducidas en un envase antes, durante o después de su llenado con un producto, con la intención de proteger el producto, por ejemplo, de la oxidación o descomposición	Gases de envasado
Leudante	Sustancia o mezcla de sustancias que liberan gas y, de esa manera, aumentan el volumen de una masa	Leudantes Agentes fermentadores Aglutinante Gasificante
Saborizante (aromatizante)	Sustancia, o mezcla de sustancias, con o sin otros aditivos que se utilizan para proporcionar o intensificar el sabor o aroma de los productos Saborizante sintético artificial (sustancia que no ha sido aún identificada en productos naturales, procesados, y que son aptas para su consumo) Saborizante idéntico al natural (sustancia químicamente aislada partir de materias primas aromáticas u obtenidas de forma sintética, químicamente idénticas a la sustancias presentes en productos naturales, procesados o no, y que son aptas para el consumo humano) Saborizante natural, preparación de sustancias o sus mezclas obtenidas exclusivamente por procesos físicos, a partir de vegetales o de materias primas de origen animal en su estado natural, o procesadas, o por fermentación, y que son aptas para consumo humano	Saborizante Aromatizante
Enzimas	Una enzima es una proteína que cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo. Las enzimas actúan sobre las moléculas conocidas como sustratos y permiten el desarrollo de los diversos procesos celulares	Catalizadores biológicos

Los aditivos se comercializan en forma de polvos, emulsiones, soluciones, gases, etc., y algunos se encuentran disponibles como nanopartículas cuya incorporación al alimento es más simple y efectiva.[8,32]

A continuación se revisan sólo los grupos de aditivos más importantes; el listado completo de compuestos permitidos en México se puede consultar en el documento de referencia.[35]

Conservadores

La finalidad de estos agentes es inhibir el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Debido a que muchos de los conservadores se encuentran de manera natural en algunas hierbas y especias, su empleo se remonta a muchos siglos.[7,28,41] Otros más se han desarrollado, incluidos los que provienen de fermentaciones.[31]

Existen métodos para medir su efectividad, porque no cualquiera de ellos es adecuado para todos los alimentos. Los factores implicados son: *a*) *especificidad de acción,* algunos tienen un espectro amplio de actividad, mientras que otros son específicos contra un determinado microorganismo; *b*) *composición del alimento,* pH, *Aa* y nutrimentos, que favorece o inhibe el crecimiento microbiano; *c*) *nivel inicial de la contaminación:* los productos muy contaminados no se controlan con la adición normal de conservadores, y *d*) *manejo y distribución del producto terminado:* la conservación no sólo recae en los aditivos, sino que se requiere un manejo adecuado para evitar recontaminaciones.[17]

Los microorganismos también se controlan al reducir el pH y la *Aa*, por lo que además de ejercer una acción saborizante y de espesante, los acidulantes, las gomas, la sacarosa y el cloruro de sodio controlan el crecimiento microbiano.[9]

En la categoría de conservadores destacan los ácidos benzoico, sórbico, acético y propiónico y sus sales, los parabenos, los sulfitos, los nitritos y nitratos, los antibióticos, el pirocarbonato de etilo y los epóxidos. Con excepción de estos últimos, que tienen un efecto bactericida (destruyen las bacterias), todos los demás actúan básicamente como inhibidores (bacteriostáticos) del crecimiento microbiano.[39]

Ácido benzoico y benzoatos

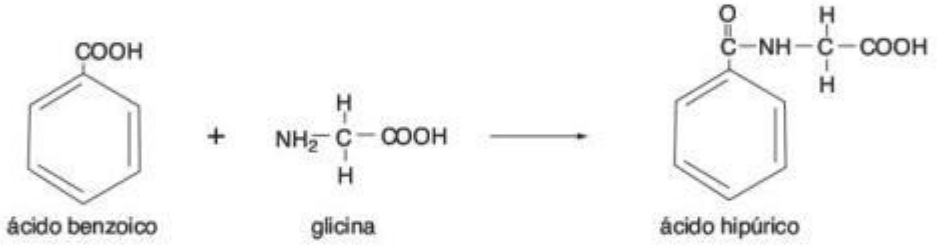
La sal sódica del ácido benzoico (ácido bencencarboxílico o ácido fenilfórmico) se utiliza ampliamente y es uno de los conservadores más comunes en la industria. En forma natural, el ácido benzoico se encuentra en la canela, el clavo, las ciruelas (0.05% de concentración) y otras frutas, y en algunas flores; igual que sucede con otros conservadores, la forma no disociada del ácido es la que presenta actividad antimicrobiana, por lo que el pH del alimento define su efectividad. En el cuadro 9.2 se observa que a un pH < 4.0 existe una proporción alta sin disociar y esto hace que actúe de manera óptima en estas condiciones. En productos ácidos como jugos de frutas, bebidas carbonatadas, postres, alimentos fermentados y mermeladas controla el crecimiento de levaduras y bacterias, y en menor grado el de hongos.

Debido a que la solubilidad del ácido es baja (3.4 g/L a 25 °C), en su lugar se utiliza el benzoato de sodio (550 g/L), 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 no son tóxicos para el hombre cuando se

CUADRO 9.2 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

ingieren en las concentraciones que se permiten en los alimentos (0.05 a 0.1% en peso), ya que se eliminan en la orina como ácido hipúrico (benzoíl-glicina), al reaccionar con la glicina en una reacción de detoxificación. Sólo cuando se consume de manera excesiva, y en casos extremos, provoca convulsiones de tipo epiléptico.



ácido benzoico glicina ácido hipúrico

Ácido sórbico y sorbatos

Este ácido alifático monocarboxílico ($CH_3CH{=}CHCH{=}CHCOOH$) y sus sales de sodio y de potasio se usan en menos de 0.3% en peso para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras en los alimentos con un pH de hasta 6.5; su efectividad aumenta al reducir el pH, es decir, la forma sin disociar es la activa (cuadro 9.2). Se emplean en quesos, encurtidos, jugos de frutas, pan, vino, pasteles, mermeladas y otros. No son tóxicos para el hombre debido a que se metabolizan como cualquier 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 porque son 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. Debido a sus dobles ligaduras, el ácido sórbico está sujeto a reacciones de oxidación semejantes a las que describe el capítulo 4, lo que produce radicales libres que atacan la membrana de la célula e inducen reacciones secundarias que inhiben el crecimiento microbiano.[13]

Algunos microorganismos, como el *Penicillium roqueforti*, los utilizan como sustrato y producen hidrocarburos que tienen olor a gasolina, como el 1,3-pentadieno, $CH_3{-}CH{=}CH{-}CH{=}CH_2$ que se forma por su descarboxilación y que ocurre en los quesos cuya superficie ha sido tratada con el conservador.

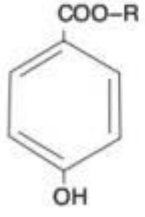
El sorbato de potasio es la sal que más se utiliza para controlar hongos. Sus soluciones se emplean para rociar o sumergir piezas de distintos tipos de carne (por ejemplo, de pollo y de res); las tortillas de maíz también se protegen con estos conservadores. En algunas aplicaciones, su acción mejora cuando se combina con otros ácidos, como el cítrico o el láctico.

Ácido acético y acetatos

Este ácido (CH_3COOH) es el agente activo del vinagre, 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. 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.[1] No es tóxico en las concentraciones que se emplean comúnmente (muy variables, pero no mayor de 3%). Los acetatos de sodio, potasio y calcio, así como el diacetato de sodio, $CH_3COONa{\cdot}CH_3COOH{\cdot}1/2H_2O$, se emplean en diversos productos de la panificación en concentraciones de hasta 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 hilante o correoso, sin afectar a las levaduras que llevan a cabo la fermentación panaria.

Parabenos

Son ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico con cadenas de metilo, etilo, propilo, butilo o heptilo, utilizados de 0.05 a 0.1% en peso para controlar hongos y levaduras y, en menor grado, de bacterias, especialmente Gram negativas (*Salmonella*, *E. coli*). Su actividad se incrementa al aumentar el tamaño de la cadena, pero de manera paralela 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, después de haberse hidrolizado el enlace éster se eliminan en la orina como ácido hipúrico, igual que los benzoatos. Se emplean en cremas, pastas, jarabes, bebidas y otros productos con pH cercanos a la neutralidad.



R = CH_3, metilparabeno
R = CH_2–CH_3, etilparabeno
R = CH_2–CH_2–CH_3, propilparabeno
R = CH_2–CH_2–CH_2–CH_3, butilparabeno
R = CH_2–CH_2–CH_2–CH_2–CH_2–CH_2–CH_3, heptilparabeno

Ácido propiónico y propionatos

El ácido propiónico (CH_3CH_2COOH) 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, al que le confiere aroma. Es más efectivo a medida que el pH se reduce (cuadro 9.2), 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 hilante o correoso, tal como hacen los acetatos; se prefiere el derivado cálcico sobre el sódico (aunque tienen la misma funcionalidad), 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 CO_2. La concentración usada (0.3% en peso) no causa ningún problema en el hombre, ya que los metaboliza como cualquier ácido graso.

Sulfitos y dióxido de azufre

Con el nombre de sulfitos se agrupan compuestos muy hidrosolubles que en solución acuosa ácida liberan ácido sulfuroso (H_2SO_3) y los iones sulfito (SO_3^{-2}) y bisulfito (HSO_3^-); destacan los sulfitos de sodio y de potasio (Na_2SO_3 y K_2SO_3), los bisulfitos ($NaHSO_3$ y $KHSO_3$) y los metabisulfitos ($Na_2S_2O_5$ y $K_2S_2O_5$). El dióxido de azufre o anhídrido sulfuroso (SO_2) es un gas incoloro de fuerte olor que se genera por la combustión del azufre. Su uso se remonta a la época de la Roma antigua, en donde las piedras de azufre se quemaban para generar dióxido de azufre que desinfectaba las bodegas y conservaba los vinos.

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 SO_2 cumplen funciones como las siguientes: *a*) inhiben el oscurecimiento no enzimático de Maillard al bloquear y evitar que los carbonilo libres de los azúcares interaccionen 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 su reducción, e *iii*) interferencia del bisulfito con los mecanismos de respiración de los microorganismos en los que interviene el dinucleótido de nicotinamida.[13]

Debido a que interactúan 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 como conservador), o como reversible e irreversiblemente unidos (que no actúan como conservador).

En las concentraciones que por lo general se utilizan (de 200 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, algunos individuos, en especial quienes padecen de asma, son sensibles a los sulfitos y sufren de broncoespasmos al consumirlos; en realidad, aun personas sanas pueden padecer constricciones bronquiales cuando los ingieren en exceso. Esta hipersensibilidad se relaciona directamente con los sulfitos libres y no con todos ellos. Por esta razón, los sulfitos se consideran alérgenos y, en consecuencia, para seguridad de los consumidores se debe indicar su presencia en las etiquetas de los productos.

Los sulfitos destruyen la tiamina, interactúan con las antocianinas y pueden transformarlas en productos incoloros, como sucede en los vinos, además de que alteran el color de algunos colorantes sintéticos.[4] Su olor es fuerte y puede alterar el de los alimentos que los contengan, además de que reaccionan con el hierro de la hojalata y producen puntos negros de óxido ferroso.

Nitritos y nitratos

En la elaboración de embutidos cárnicos se utilizan las sales de curación a base de 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 a *Clostridium botulinum*. Además, dadas sus propiedades antioxidantes, contribuyen a estabilizar el sabor.

Para la generación del color, el óxido de nitrógeno (NO) es el agente activo, y se genera de la siguiente manera:

$$NaNO_3 \xrightarrow{\text{bacterias}} NaNO_2 + O_2$$

$$NaNO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{pH 5.4-5.8}} HNO_2 + NaOH$$

$$HNO_2 \longrightarrow NO + H_2O + HNO_3$$

$$NO + \text{mioglobina} \longrightarrow \text{nitrosilmioglobina (rojo)}$$

$$\text{nitrosilmioglobina} \xrightarrow{\text{calor}} \text{nitrosilhemocromo (rosado)}$$

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. 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 > 60 °C, este segundo se desnaturaliza y se convierte en el pigmento nitrosilhemocromo más estable y responsable del color rosado típico de las salchichas y los jamones.

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.

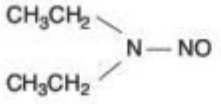
Actúan contra *C. botulinum*, microorganismo anaerobio muy peligroso por las neurotoxinas que sintetiza, de alto grado de mortalidad. Por su naturaleza de ácido débil, los nitritos son más efectivos a pH de 5.5; en caso de que el pH sea superior, las concentraciones utilizadas en los cárnicos (200 ppm de nitritos y 500 ppm de nitratos) serán insuficientes; hay una sinergia cuando se mezcla con NaCl y, al igual que ocurre 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 catalizadas por el Fe de la mioglobina.

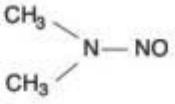
Las concentraciones que se utilizan no causan problemas de toxicidad en el hombre; sin embargo, un consumo excesivo produce cianosis en los niños, debido a la metahemoglobina sintetizada en la sangre, que es el producto de la oxidación de la hemoglobina y que no tiene la capacidad de combinarse y transportar el oxígeno. Vegetales como las espinacas contienen gran cantidad de nitritos, lo que puede tener implicaciones en la salud; esta cantidad se incrementa si se producen en suelos ricos en nitrógeno.

Por otra parte, 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, lo que favorece su interacción.



N-nitrosodietilamina



N-nitrosodimetilamina

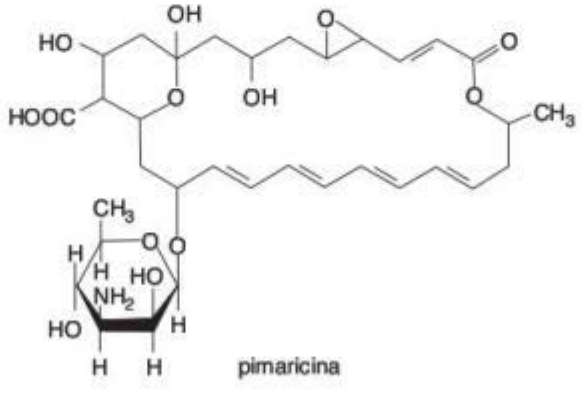
Sin embargo, la baja concentración de nitrosaminas que se encuentra en los embutidos comerciales, así como la ingesta normal de estos derivados cárnicos, hace que esos agentes cancerígenos no representen un riesgo importante para el hombre (vea el capítulo 11).

Antibióticos

En medicina los antibióticos se utilizan para controlar infecciones microbianas, aunque algunos de ellos sirven como conservadores, pero con muchas restricciones. Entre los más importantes están la nisina y la pimaricina o natamicina, aun cuando en algunos países se aplica la clorotetraciclina y la oxitetraciclina.

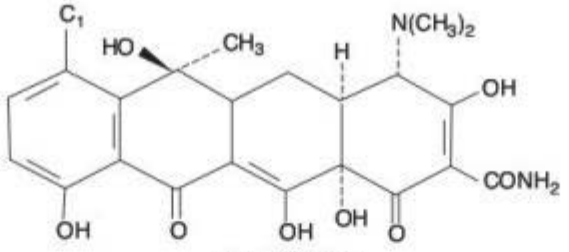
La nisina, proteína producida por *Lactobacillus lactis* y *Streptococcus lactis*, actúa contra las bacterias Gram positivas, en especial *Clostridium* spp. Es estable en pH ácidos y algo termosensible; el organismo humano la degrada y no produce resistencia cruzada con otros antibióticos, por lo que no es tóxica para el hombre; se usa principalmente en vinos y quesos en concentración de 12-13 ppm, así como también en cárnicos, aderezos y mayonesas.

La pimaricina es producida por *Streptomyces natalensis* y se usa contra hongos y levaduras hasta en 40 ppm en la superficie de quesos y otros derivados fermentados, donde no interfiere con la microflora deseada; su penetración no es mayor de 5 mm dentro del producto.

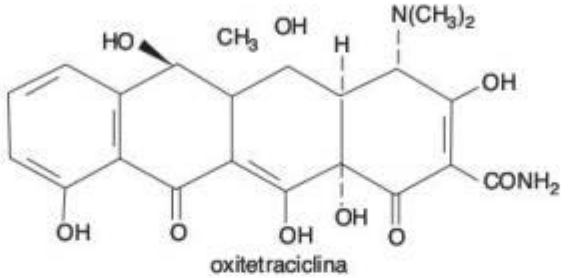


pimaricina

La clorotetraciclina es producida por *Streptomyces aureofaciens*; actúa contra las bacterias Gram positivas y negativas, es sensible al calor, se permite en algunos países hasta en 10 ppm 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 sinérgico. 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; en algunos países se aplica en carnes frescas debido a que la cocción posterior la destruye.



clorotetraciclina



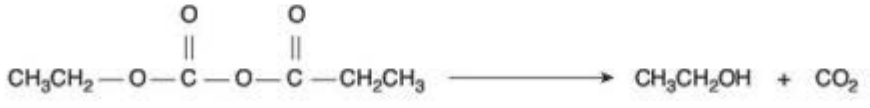
oxitetraciclina

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.

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 amoniaco o de aminas produce etil carbamato o uretano, $NH_2COOCH_2CH_3$, con potencial carcinógeno, razón por la cual algunos países lo prohíben.[15]

En concentraciones de hasta 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.



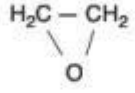
pirocarbonato de dietilo — etanol

Epóxidos

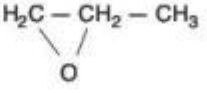
Un epóxido es un compuesto que tiene un oxígeno como puente entre dos átomos de carbono contiguos; los más importantes, que se utilizan como conservadores, son los óxidos de etileno y de propileno. A diferencia de los agentes antes descritos, que son inhibidores del

crecimiento microbiano (bacteriostáticos), éstos son letales (bactericidas) para los microorganismos. Al tratamiento con epóxidos también se le llama "esterilización en frío", debido a que ésta puede lograrse sin emplear temperaturas elevadas. Se usan en alimentos que no pueden calentarse, como 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 evacúa para eliminar el exceso de gas, lo que puede mejorarse mediante un ligero calentamiento.



óxido de etileno



óxido de propileno

El óxido de etileno es un gas incoloro, sus vapores son tóxicos y las mezclas con aire, explosivas; con cloruros, como el de la sal común, produce clorhidrinas tóxicas, $HOCH_2CH_2Cl$, cuyo contenido residual en los alimentos está regulado en algunos países. Destruye toda clase de microorganismos en concentración de 700 ppm, es más efectivo que el de propileno y, por ser muy inflamable, de forma comercial 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, debe agitarse el producto para favorecer su acción; la humedad le hace perder fuerza.

Su acción se debe a la capacidad de producir reacciones de alquilación con derivados hidroxietílicos del metabolismo celular. Estos gases destruyen diversas vitaminas, sobre todo la piridoxina, la riboflavina y la niacina.

Otros conservadores

Además de los agentes mencionados, que son los que se utilizan más en la industria, existen muchos compuestos que también inhiben el crecimiento microbiano mediante diferentes mecanismos. Algunos de ellos se encuentran en forma natural en diversos productos, como aceites esenciales, plantas y especias.

Los extractos de las semillas de toronja y de otros cítricos tienen un espectro amplio de actividad, debido a que alteran las membranas celulares.

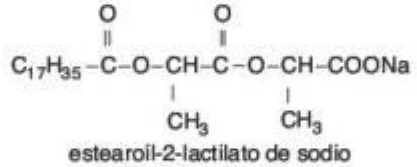
El anhídrido carbónico (CO_2) se usa en la conservación de carnes y sus derivados en cámaras de atmósferas controladas y refrigeradas, donde la disponibilidad del oxígeno se reduce y con ello se evita el crecimiento de microrganismos aerobios.

En algunos países, el peróxido de hidrógeno se aplica en leche, carne y pescado. Los ácidos orgánicos, cítrico, tartárico y fumárico que se tratan en la sección Acidificantes, alcalinizantes y reguladores de pH, también influyen 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 igualmente han mostrado tener un efecto inhibidor, así como el eritorbato de sodio.

Emulsionantes

También llamados emulsificantes, emulsivos o emulgentes, son compuestos que estabilizan las mezclas de líquidos inmiscibles, como las emulsiones que se revisan en los capítulos 4 y 10, evitando la sinéresis o separación de fases y por eso contribuyen a una mejor percepción sensorial de los alimentos.[40] 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 (anglicismo para *surfactant*, a su vez contracción de *surface active agent*).

Estos aditivos son tensioactivos que reducen la tensión superficial y hacen que las dos fases se estabilicen e interactúen al lograr un contacto estrecho.[6,20] Como ejemplo, 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 estearoíl-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.



estearoíl-2-lactilato de sodio

En este apartado sólo se estudiarán los emulsionantes sintéticos, aun cuando existen muchos de origen natural; entre estos últimos están los de carácter iónico (por ejemplo, lecitina) y los no iónicos (por ejemplo, gomas). La lecitina es el agente que más se emplea y se obtiene de la refinación del aceite de soya (capítulo 4).

En el cuadro 9.3 se muestran algunos de los emulsionantes sintéticos más empleados, pero se siguen desarrollando nuevos compuestos que cumplen esta función.[33] En los iónicos se incluye al estearoíl-2-lactilato de sodio y las sales de ácidos grasos, como el oleato de sodio, mientras que el resto 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.

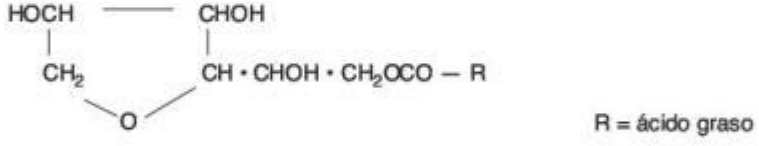
Siendo iónicos, el estearoíl-2-lactilato de sodio y el oleato de sodio son muy reactivos y tienen el inconveniente de que interactúan con diferentes iones y con moléculas cargadas de signo opuesto, lo que ocasiona la neutralización de su carga eléctrica y de sus propiedades emulsionantes. Esto no ocurre con los no iónicos, como los mono y diacilglicéridos y sus derivados; los ésteres del propilenglicol; los ésteres poliglicéridos de ácidos grasos; los ésteres del sorbitol; los derivados del ácido láctico y los sacaroésteres y sacaroglicéridos.

Los mono y diacilglicéridos son, por mucho, los agentes más empleados y se fabrican mediante la interesterificación de grasas descrita en el capítulo 4. A partir de los monoacilglicéridos destilados de alta pureza (> 90%) se obtienen derivados con ácidos orgánicos (ácidos grasos, 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, $CH_3CH(OH)CH_2OH$, 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 (por ejemplo 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 a base de chocolate.

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 (por ejemplo, 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 polioxietilen sorbitol.



Span

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.

CUADRO 9.3 **Algunos emulsionantes empleados en la industria alimentaria y sus valores BHL**

	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 lactoílo	8.1
Monolaurato de sorbitol	8.6
Monolaurato de polioxietilen sorbitol	14.9
Monooleato de polioxietilen sorbitol	15.0
Oleato de sodio (jabón)	18.2
Estearoíl-2-lactilato de sodio	21.5

Los ésteres de la sacarosa (o sacaroésteres), se obtienen mediante la reacción del disacárido con un ácido graso.

La lista de emulsionantes comerciales es muy grande, 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 hacer esa 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 (o *HLB*, siglas de *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 tienen un valor de 7 son tanto hidrosolubles como liposolubles; los de menos de 7 son más solubles en aceite y más de 7, más solubles en agua y adecuados para las espumas y emulsiones de aceite en agua, como es el caso de la lecitina. Las mezclas de los distintos emulsionantes ofrecen una alternativa cuando no se tiene uno con el BHL deseado para un alimento en particular.

Estos aditivos se emplean en emulsiones como aderezos, cárnicos, salsas, lácteos, chocolates, postres, margarinas y otros más en los que es preciso estabilizar ambas fases. De manera particular, inhiben el endurecimiento de la miga del pan al interactuar con la amilosa y evitar la retrogradación del almidón;[14] 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 eflorecimiento 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 aceite en agua al incrementar la viscosidad de la fase acuosa; 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 agua en aceite; los aminoácidos hidrófobos (por ejemplo, leucina, fenilalanina y triptófano) e hidrófilos (por ejemplo, glicina, treonina y cisteína), se orientan en las dos fases inmiscibles, por lo que actúan como un emulsionante típico de las emulsiones aceite en agua.

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 (vea las fórmulas en la sección Aminoazúcares, desoxiazúcares y polioles, en el capítulo 2). Son más solubles en agua 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. Establecen puentes de hidrógeno y retienen agua, propiedad humectante que se aprovecha en los alimentos de humedad intermedia; debido a esta alta capacidad de hidratación tienen un efecto laxante, como se comprueba al masticar chicles sin azúcar, pero con polioles, o al consumir ciruelas por su alto contenido de sorbitol.

Entre los principales polioles están el glicerol, el propilenglicol, el eritritol, el manitol (de la manosa), el sorbitol (de la glucosa), el xilitol (de la xilosa), el maltitol (de la maltosa), el lactitol de la lactosa y el isomaltol; este último proviene de la isomaltulosa (o isomaltosa) que es una glucosa unida a una fructosa, y derivada de la sacarosa.

Su alta capacidad de hidratación los hace muy adecuados para elaborar alimentos de humedad intermedia (vea el 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, alde-

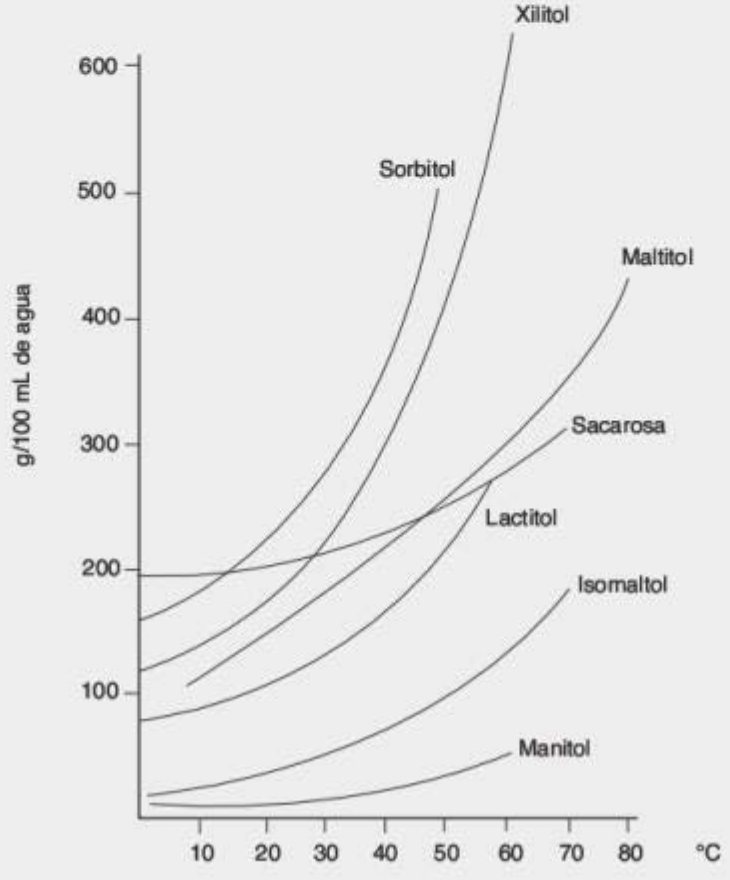
hídos o cetonas, no intervienen en reacciones de Maillard. Además, modifican la viscosidad y la textura, ayudan en la rehidratación de los productos secos y funcionan como humectantes al retener humedad.

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 es una sustancia que, una vez absorbida, 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.

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; 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 en exceso presentan efectos laxantes y diuréticos.

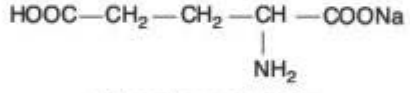
Figura 9.1 Solubilidad de varios polioles.



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 acentúa y prolonga, y aumenta la palatabilidad de los alimentos. Entre los más conocidos están el glutamato monosódico, GMS (o *MSG*, por las siglas de *Monosodium Glutamate*), 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 nucleótidos) que intensifican los sabores salados y el sabor *umami*[24] y el maltol y el etil maltol que actúan igual en el caso de los sabores dulces. Sin embargo, existen otros menos empleados y algunos prohibidos, como la isovalina, el aspartato sódico, los ácidos L-tricolómico y L-iboténico, el dioctil-sulfosuccinato sódico y la *N,N'*-di-o-toliletilendiamina; algunos de ellos realzan sabores muy específicos, como los de vainilla, café, etcétera.

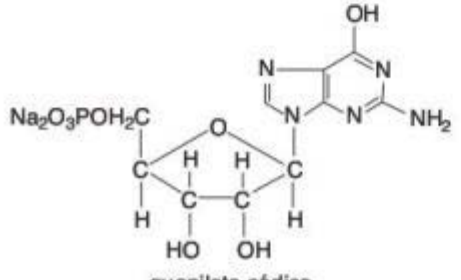
El GMS es un sólido insípido o con ligero sabor dulce-salado, muy soluble en agua y en soluciones ácidas, e insoluble en etanol; una disolución acuosa al 5% produce un pH de 6.7 a 7.2. Realza los sabores de carnes, sopas, aderezos, pescados, salsas, condimentos y muchos otros productos, en concentraciones muy variadas, hasta 2% como ocurre en ciertos condimentos. No se conoce bien 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.



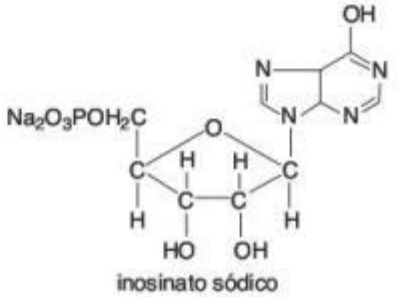
glutamato monosódico

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 china o la japonesa.

Por su parte, los nucleótidos están integrados 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 resulta en problemas como la gota.



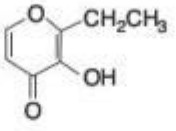
guanilato sódico



inosinato sódico

La estabilidad del GMS a las altas temperaturas es mayor que la de los nucleótidos, como ocurre en los alimentos enlatados que se someten 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.

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.



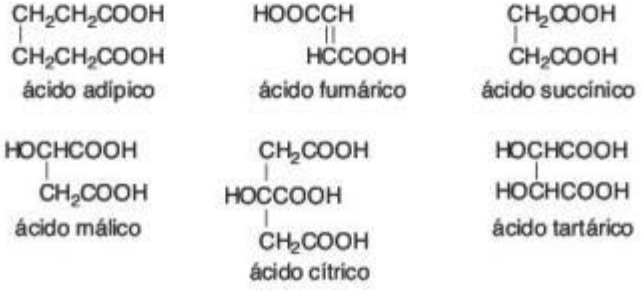
etil-maltol

Debido a los problemas que conlleva un consumo excesivo de sodio (vea el capítulo 6), se han desarrollado diversos sustitutos que tienen la peculiaridad de provocar una sensación semejante, pero sin causar el daño a la salud como lo hace este catión; entre los principales se encuentra el cloruro de potasio, aun cuando deja un residuo metálico que no es aceptado por muchos consumidores, igual que varios potenciadores de sabor, como el glutamato monosódico y los ribonucleótidos.[18]

Acidificantes, alcalinizantes y reguladores de pH

Además de reducir el pH, los acidificantes o acidulantes cumplen otras funciones, entre ellas: amortiguador de pH; conservador; saborizante; promotor de reacciones de curado en los cárnicos;[34] 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, etcétera.[10]

En esta categoría de aditivos se encuentran varios compuestos, entre los que destacan los ácidos orgánicos: acético, adípico, benzoico, cítrico, fumárico, láctico, málico, propiónico, sórbico, succínico y tartárico, muchos de los cuales son policarboxílicos. El fosfórico (H_3PO_4) es el ácido inorgánico más común y se utiliza en las bebidas de cola; el clorhídrico (HCl) se utiliza para catalizar algunas reacciones de hidrólisis.



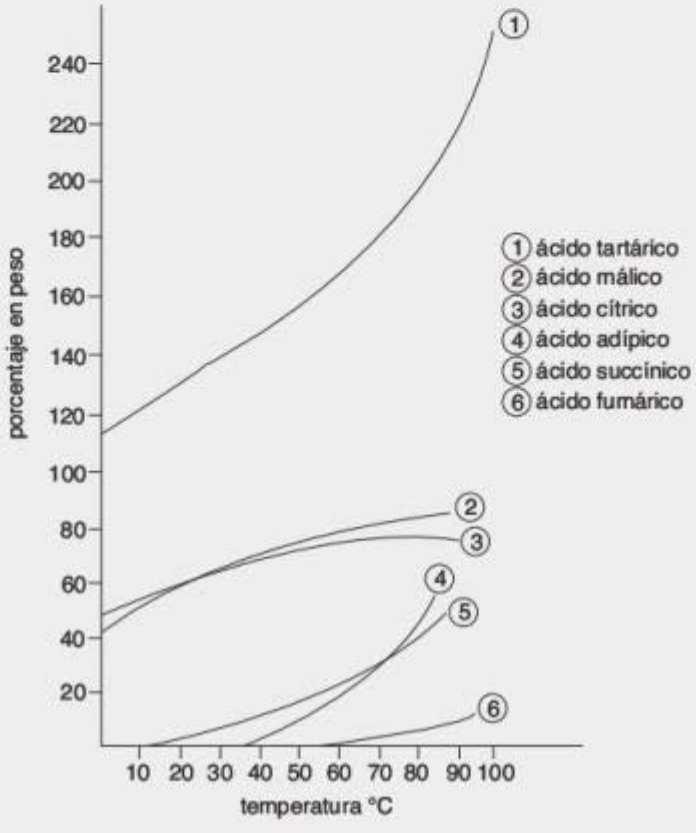
Muchos de los ácidos se encuentran de manera natural en diversos vegetales como parte de su metabolismo y contribuyen a la acidez y al sabor típico. Por ejemplo, las manzanas, los plátanos, las peras, las papas y las zanahorias contienen una alta proporción de ácido málico, mientras que el tartárico está presente en aguacates, uvas y toronjas; por otra parte, prácticamente todos los vegetales, sobre todo los cítricos, contienen ácido cítrico.

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 el apartado 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).

La selección de un acidulante está determinada por varios factores, como su funcionalidad, solubilidad, compatibilidad con los otros constituyentes de los alimentos, costo y sabor, y no todos ellos cumplen cada una de tales funciones con los mismos resultados.

El ácido adípico tiene un poder acidificante semejante al del cítrico, se utiliza como amortiguador de pH de 2.5 a 3.5, y por no ser higroscópico, se prefiere al tartárico en los gasificantes 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.

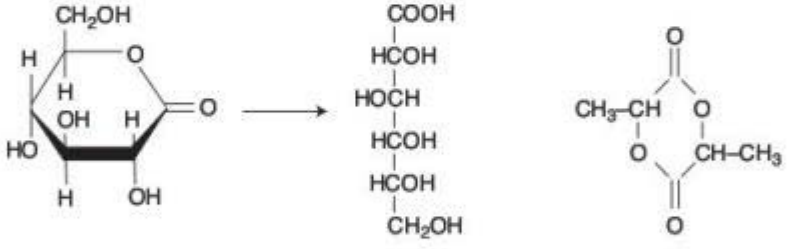
Figura 9.2 Solubilidad en agua de varios ácidos orgánicos.



Todos tienen un sabor ácido propio, aunque de diferente intensidad, y además provocan de manera paralela 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 en las bebidas de frutas; en este caso, el ácido málico presenta la peculiaridad de retardar la velocidad de evaporación y de retener los compuestos volátiles, con lo que conservan las propiedades sensoriales del producto.

Los ácidos no son propiamente antioxidantes, pero ejercen un efecto sinérgico cuando se emplean con el BHA, BHT y TBHQ (vea el capítulo 4); en este caso, su acción está estrechamente relacionada con su capacidad de secuestrar Cu y Fe, metales que inician la oxidación, y con el hecho de que afectan el sistema de oxidorreducción, con lo que favorecen el equilibrio redox hacia la forma reducida del antioxidante.

Además de esos ácidos, 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, que se utilizan 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 con lentitud y produce ácido láctico en los alimentos con alto contenido de humedad.



glucono-δ-lactona ácido glucónico lactida

Por su parte, los alcalinizantes se usan para regular el pH, para generar CO_2 en los gasificantes para panificación, en el pelado alcalino de vegetales, en la estabilización del color verde de las aceitunas y en la obtención de proteínas de soya. 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, hace biodisponible la niacina y el triptófano y es fuente de calcio. 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 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* en inglés y *tampones* en francés, son por lo general 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.

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 para *sequestrants*). Tienen la peculiaridad de que el metal que contiene no desarrolla funciones catalíticas como lo podría hacer si estuviera libre o no quelado.

Son comunes en la naturaleza los quelatos, entre los que destaca 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 B_{12}, 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 y solubilidad favorece la integración del complejo.

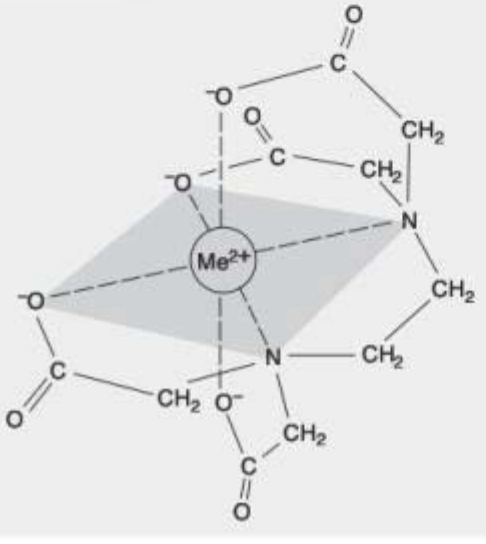
$$M + L \rightleftarrows ML; \qquad K = \frac{[ML]}{[M]\ \ [L]}$$

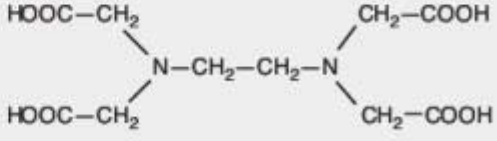
K = constante de equilibrio
M = ion metálico
L = ligando (agente secuestrador)
ML = complejo metálico

La constante K es específica para cada secuestrador con respecto a los diferentes metales; cuanto más grande, mayor será la cantidad del complejo que se produzca y menor la concentración del metal que permanezca en solución y que ejerza una acción catalítica.

Estos compuestos se usan en la industria con la finalidad de evitar la acción 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 hexametafosfatos, 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 con mayor detalle en el quelato que establece el EDTA, como se observa en la figura 9.3.

Figura 9.3 Quelato del EDTA.





ácido etilendiaminotetracético

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 interactuar con los pigmentos y en la textura al reaccionar con las pectinas y endurecerlas. Estas transformaciones negativas se evitan añadiendo secuestradores como el EDTA o algún otro, antes de efectuar el escaldado.

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, pero este metal se vuelve indisponible como catalizador por la acción de 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 minerales indispensables, como el Fe y Zn propios de los alimentos y que son fundamentales para el buen funcionamiento del organismo humano. Por este motivo, se deben cumplir las regulaciones sobre las concentraciones permitidas para no reducir el valor nutritivo de los alimentos en donde se aplican.

Edulcorantes

La sensación de dulzor en las personas puede ser provocada por un gran número de compuestos de estructuras químicas muy diferentes (vea el capítulo 8) y desempeña una función muy importante en la aceptación de los alimentos.[16,22] Una manera de clasificarlos es conforme a su potencia y valor nutritivo, de lo que resultan dos categorías:

1. *Edulcorantes nutritivos de poder edulcorante semejante a la sacarosa*
   a) mono y oligosacáridos: sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa, isoglucosa, miel de abeja, azúcar invertido, jarabes de glucosa y de fructosa.
   b) polioles: sorbitol, xilitol, eritritol, lactitol, isolmaltosa, maltitol, manitol.
2. *Edulcorantes no nutritivos y de mayor poder edulcorante que la sacarosa*
   a) sintéticos:
      sulfoamidas: acesulfame K, ciclamato, sacarina
      péptidos: aspartame, alitame y neotame
      clorosacáridos: sucralosa
   b) de origen vegetal:
      glucósidos: glicirricina, esteviósido
      proteínas: taumatina, monelina y miraculina
      dihidrochalconas: neohesperidina

En el mercado existen muchos productos naturales de sabor dulce porque contienen los anteriores agentes activos, como los derivados de la inulina, los extractos de frutas, las maltodextrinas y los néctares del agave que igualmente se emplean como edulcorantes.[27,30]

La capacidad de una sustancia para causar la sensación de dulzura, o poder edulcorante, se mide subjetivamente tomando como base de comparación la sacarosa, a la que se le da un valor arbitrario de 1. Cabe indicar que en este poder edulcorante influyen factores como la temperatura de evaluación, la acidez y la composición del alimento, entre otros.

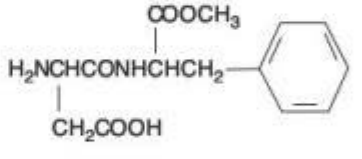
La sustitución de la sacarosa por los edulcorantes sintéticos no siempre es sencilla, ya que este azúcar desempeña, además, otras funciones en el alimento, como conservador y para conferir una textura y consistencia adecuadas; esto se observa en las mermeladas y en alimentos semejantes en los que el 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 4 Kcal/g 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 *acesulfame K* (o acesulfamo K), es el derivado potásico de los ácidos acetoacético (CH_3COCH_2COOH, ACEsulfame) y sulfámico (NH_2SOOOH, aceSULFAME), con una estructura química semejante a la sacarina. Su poder edulcorante es de 150 a 200 veces el de la sacarosa, que es intermedio entre el del ciclamato y el de la sacarina; 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 elimina en la orina y se emplea en bebidas refrescantes, lácteos, panificación, dulces y muchos otros. Tiene un efecto sinérgico con el aspartame, la sucralosa y la fructosa.



acesulfame K



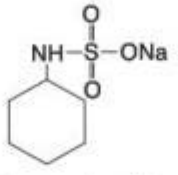
aspartame

El *aspartame* (o aspartamo) es el éster metílico del dipéptido L-aspartil-L-fenilalanina y, consecuentemente, se metaboliza como cualquier otro péptido. Es estable a pH 3-5 y pierde 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 intramolecular que da origen a la dicetopiperazina, agente que no es tóxico. Además, por su carácter proteínico, cuando se calienta en presencia de azúcares reductores está sujeto a reacciones de Maillard. Es de 150 a 200 veces más dulce que la sacarosa y no tiene resabio amargo. Su empleo se restringe a productos ácidos que no se someten a fuertes tratamientos térmicos, como las bebidas, refrescos y jugos.

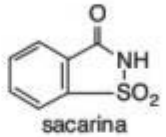
El consumo del aspartame está restringido para las personas que son fenilcetonúricas o intolerantes a concentraciones elevadas de fenilalanina debido a la carencia de la 4-monooxigenasa, enzima relacionada con el metabolismo de este aminoácido en el hígado; la acumulación de la fenilalanina o de sus 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.

El *ciclamato* de sodio se produce por la sulfonación de la ciclohexilamina, y es de los primeros edulcorantes sintéticos que se emplearon en la industria alimentaria. En la década de 1960 muchos países prohibieron su uso, debido a 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 lo permiten en productos muy específicos; tiene un poder edulcorante de hasta 30 veces el de la sacarosa, con la ventaja de que no deja el resabio amargo que produce la sacarina. Por su parte, el ciclamato de calcio se presenta como cristales solubles en agua (210 g/L) muy resistentes a las temperaturas elevadas.



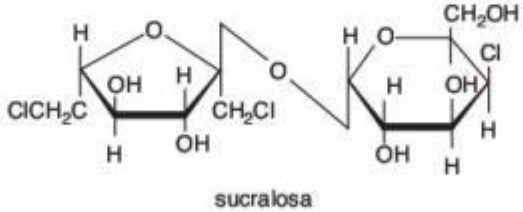
ciclamato de sodio



sacarina

La *sacarina* se obtiene a partir de la *o*-toluensulfonamida o de los anhídridos ftálico y antranílico; tiene un dulzor 300 a 400 veces el de la sacarosa, con el inconveniente de un resabio amargo metálico, sobre todo en altas concentraciones. Comercialmente se encuentra tanto en la forma sódica como en la cálcica y potásica, 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 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.

La *sucralosa* es un derivado clorado que se sintetiza a partir de la sacarosa y es 500-600 veces más dulce que el propio 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.



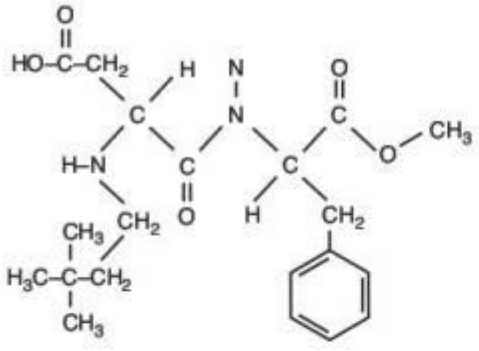
sucralosa

El *alitame* (o alitamo) deriva de los aminoácidos D-alanina y ácido aspártico, adicionados de una amida. Comparado con el aspartame, no contiene fenilalanina y tiene mayor estabilidad; es muy soluble en agua, con un poder edulcorante de 2 000 veces el de la sacarosa.

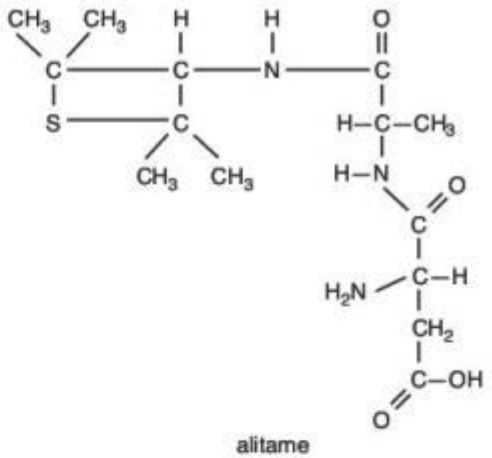
El *neotame* tiene una estructura química semejante al aspartamo y presenta el poder edulcorante más grande, de hasta 13 000 veces el de la sacarosa.

Además de estos edulcorantes, existen otros compuestos que causan la sensación de dulzor, algunos que igualmente se emplean como aditivos.

La glicirricina y el esteviósido tienen la estructura de glucósido que se revisa en el capítulo 2. La glicirricina o ácido glicirrícico es un derivado amoniacal de las saponinas encontrada en la raíz del regaliz *(Glycyrrhiza glabra)*, 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 pH <4.5.



neotame



alitame

El *esteviósido* y los rebaudiósidos son glucósidos encontrados en las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* descubierta por el botánico español Pedro Esteve; tiene 300 veces el poder edulcorante de la sacarosa, presenta un ligero resabio amargo, es más estable a pH < 4 y resiste tratamientos térmicos. Debido a que su núcleo de esteviol semeja las estructuras de las hormonas esteroides, se sospecha que puede tener actividad de antiandrógeno.[25]

Por su parte, en las proteínas se incluye a la taumatina, monelina y miraculina, que igualmente se revisan en el capítulo 3.

Las *taumatinas I* y *II* son proteínas hidrosolubles que se extraen de la parte gelatinosa que cubre el fruto del árbol katemfe *(Thaumatococcus daniellii)* y tienen un poder edulcorante de hasta 1 600 veces el de la sacarosa. Sus moléculas están estabilizadas por enlaces disulfuro que le confieren alta resistencia a la desnaturalización térmica y soportan el horneo; sin embargo, son sensibles a pH < 3.5 y pierden su capacidad edulcorante.

La *monelina* (o *monellina*) es una proteína de la pulpa de la baya *Dioscoreophyllium cumminsii*, con un poder edulcorante de 2 500 el de la sacarosa; es inestable a pH ácidos y a las altas temperaturas. Su uso está 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.

Finalmente, la *dihidrochalcona* neohesperidina se obtiene de las flavononas amargas de los cítricos; una vez hidrogenada, la naringina amarga se convierte en un potente edulcorante 2 000 veces más dulce que la sacarosa (vea el capítulo 7); es inocua, inestable a pH ácidos, soluble en agua y en etanol y muy adecuada para emplearse en productos secos.

Gasificantes para panificación

Estos productos, también llamados polvos para hornear, leudantes o esponjantes químicos, son mezclas de un álcali con un ácido que, al contacto con agua, generan bióxido de carbono; esta reacción es también responsable de la efervescencia de las bebidas en polvo. El esponjamiento del pan se debe a cuatro mecanismos, tres de los cuales ocurren simultáneamente: por la presión de vapor generado en el horneo; por el desprendimiento y expansión de las burbujas del aire atrapado en la masa por efecto de las altas temperaturas; por el CO_2 producido en la fermentación a cargo de las levaduras, o por el CO_2 producido por los polvos para hornear. Estos

gases, vapor, aire y bióxido de carbono, ejercen una presión en el interior de la red tridimensional conformada por las proteínas del gluten y las hace expandir creando la estructura del pan.

El bicarbonato de sodio, $NaHCO_3$, es el álcali más común, altamente soluble en agua y se disocia con facilidad. Por su parte, los ácidos y las sales ácidas, tienen diferentes solubilidades, lo que se refleja en su velocidad de reacción, de tal forma que se dividen en rápidos y lentos; entre más soluble, más acelerada la reacción. Con base en esto se pueden diseñar gasificantes para panificación con un desprendimiento del gas, de acuerdo con las necesidades. Entre los principales agentes ácidos se encuentra el ácido tartárico, tartrato ácido de potasio (bitartrato o cremor tartaro), sulfato sódico-alumínico, fosfato mono y dicálcico, pirofosfato ácido de sodio y la glucona-δ-lactona; esta última no es propiamente un ácido, pero su lenta descomposición genera ácido glucónico, que actúa como agente activo. 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 panificación**

		Velocidad de reacción	Partes requeridas para neutralizar una de bicarbonato
Ortofosfato monocálcico	$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	Rápida	1.25
Tartrato ácido de potasio	$KHC_4H_4O_6$	Media	2.25
Pirofosfato ácido de sodio	$Na_2H_2P_2O_7$	Media	1.33
Fosfato ácido sódico-alumínico	$Na_2H_{14}Al_3(PO_4)_8 \cdot 4H_2O$	Baja	1.00
Glucona-δ-lactona	$C_6H_{10}O_6$	Baja	2.12
Ácido adípico	$C_6H_{10}O_4$	Baja	0.87

En el cuadro 9.5 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 fórmula. Cada producto comercial genera un determinado volumen de gas con diferente velocidad, de tal modo que hay gasificantes para cada necesidad de la industria. El carbonato de amonio produce amoniaco y sólo se utiliza en galletas o en masas con muy bajo contenido de humedad. El $KHCO_3$ se emplea en productos sin sodio, pero deja un resabio amargo.

CUADRO 9.5 **Formulaciones de gasificantes para panificación**

	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 hidratado	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						47.0			
Ácido tartárico						6.0			
Lactato de calcio							2.5		

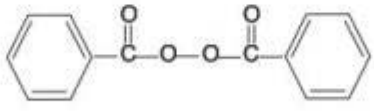
Acondicionadores de panificación

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 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.

Las proteínas del trigo desempeñan un papel muy importante en la fabricación del pan y sus derivados; estos polímeros son los que hacen que la masa se esponje y se establezca la estructura tridimensional a base de enlaces disulfuro (–S–S–) por efecto de las presiones del vapor, del aire ocluido y del CO_2 proveniente de las levaduras o de los gasificantes para panificación. Sin embargo, no todos los trigos presentan las mismas propiedades viscoelásticas 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 $(NH_4)_2S_2O_8$; el bromato de potasio, $KBrO_3$; el yodato de potasio, KIO_3; el yodato de calcio, $Ca(IO_3)_2$; y la azodicarbonamida, $NH_2–CO–N{=}N–CO–NH_2$. Se emplean en una concentración que depende del tipo de trigo, pero que por lo general varía entre 10 y 150 ppm. El establecimiento de los disulfuros hace que la masa tenga mejores propiedades viscoelásticas y facilita el proceso de panificación; sin embargo, una excesiva oxidación da origen a panes de mala calidad y de escaso volumen. Su acción se inicia 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; 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 NO_2, el dióxido de cloro ClO_2 y el cloruro de nitrosilo, NOCl. A excepción del primero, que sólo actúa como blanqueador, los demás también funcionan como mejoradores. Por lo general 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 último es el agente activo oxidante que actúa en los pigmentos y los transforma en compuestos incoloros. Es muy reactivo en estado seco, y puede explotar de manera espontánea, por lo que sus formulaciones comerciales contienen almidones, sulfatos y carbonatos. Su acción es lenta y puede llevar varias horas.

En presencia de agua, el dióxido de nitrógeno se convierte en ácido nitroso NHO_2 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, blanquea las harinas de trigo debido a que la enzima oxida los pigmentos (capítulo 13).

Antiaglomerantes

Este grupo de aditivos tiene la función de evitar la adherencia o la aglomeración de polvos, y así ayudar a que éstos fluyan con facilidad; por esta razón, a los antiaglomerantes también se les conoce como antiaglutinantes, antiapelmazantes, auxiliares de flujo y lubricantes.

El huevo, el azúcar, la sal, las harinas, los vegetales, los quesos, las sopas, las especias, los saborizantes, los colorantes y muchos otros alimentos deshidratados tienden a crear aglomerados mediante la unión de muchas partículas pequeñas. Esa aglomeración se puede presentar por someter el polvo a una alta presión (por ejemplo 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 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, lo que facilita 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 polvos, como el dióxido de silicio, SiO_2, y todos sus derivados; el silicato de aluminio, Al_2SiO_5; el silicoaluminato de sodio $Na_2Al_2Si_2O_8$; los estearatos de calcio, $[CH_3(CH_2)_{16}COO]_2Ca$ y de magnesio; los almidones; el fosfato tricálcico, $Ca_3(PO_4)_2$, y la celulosa microcristalina. También se usa el ferrocianuro de potasio, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, principalmente para la sal de mesa.

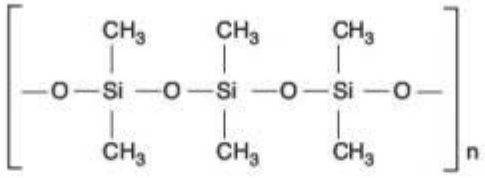
Los estearatos de calcio y de magnesio lubrican los polvos y reducen la fricción entre partículas, y hacen que éstas fluyan con mayor facilidad. El ferrocianuro de potasio actúa muy específicamente alterando la cristalografía del cloruro de sodio; si la sal se hidrata y después se seca, el tipo de cristal que se produce es tan frágil que se rompe de inmediato y no se crean aglomerados rígidos.

Los antiaglomerantes tienen una densidad aparente menor de 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; por lo general se emplean en una concentración de hasta 2%, suficiente para cubrir la superficie de los sólidos que se desea proteger.

Antiespumantes

Son aditivos que se añaden a los líquidos para evitar que formen espumas durante su agitación, como ocurre con diversos jugos de frutas en los que su presencia 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, dióxido de silicio, los ácidos grasos laúrico, 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, $(CH_3)_2SiO$, 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 por varias horas.



Colorantes

El color de los alimentos es muy importante para el consumidor debido a que, siendo el primer contacto que tiene con ellos, es determinante para la aceptación o el rechazo de los mismos. En México se permiten 45 colorantes, algunos naturales y otros sintéticos.

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 betalaínas, clorofilas, azafrán, ácido carmínico, annato, cochinilla y curcumina; muchos de ellos se aplican en los alimentos en forma de jugos de frutas y de verduras, de deshidratados de zanahoria, espinaca, cúrcuma, pimentón (páprika), uva (enocianina) y betabel, de oleorresinas, de aceites y de extractos.

Dentro de esta categoría de colorantes naturales está el caramelo, que estudiamos en el capítulo 2, empleado ampliamente (desde amarillo ligero hasta negro), la harina de algodón tostada y parcialmente desengrasada, la riboflavina y otros. El dióxido de titanio (TiO_2) proveniente del mineral "rutilo", se usa para impartir un color blanco; también se emplea el lactato de hierro y el óxido ferroso.

Los colorantes sintéticos son principalmente derivados azoicos (tartrazina, azorrubina, rojo allura, etc.), pero también quinoles, derivados del trifenilmetano y otros.

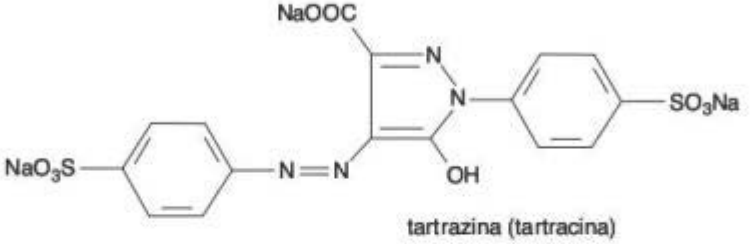
En el cuadro 9.6 se muestran algunos de los principales colorantes sintéticos que se emplean en la actualidad y se indica su equivalencia con las clasificaciones de la FDA, de

CUADRO 9.6 Principales colorantes sintéticos usados en México

Colorante	Otro nombre	FDA	UE
Tartrazina	Amarillo núm. 5	FD&CYellow 5	E 102
Amarillo Sunset	Amarillo núm. 6 Amarillo Ocaso	FD&CYellow 6	E 110
Rojo Ponceau 4R	Rojo 7 Rojo Cochinilla	-----	E 124
Rojo No. 40	Rojo Allura	FD&C Red 40	E 124
Carmoisina	Azorrubina Rojo núm. 3	-----	-----
Eritrosina	Rojo núm. 14	FD&C Red 3	E 122
Azul Brillante FCF	Azul núm. 1	FD&C Blue 1	E 133
Azul Indigotina	Azul núm. 2 Índigo Carmín	FD&C Blue 2	E 132

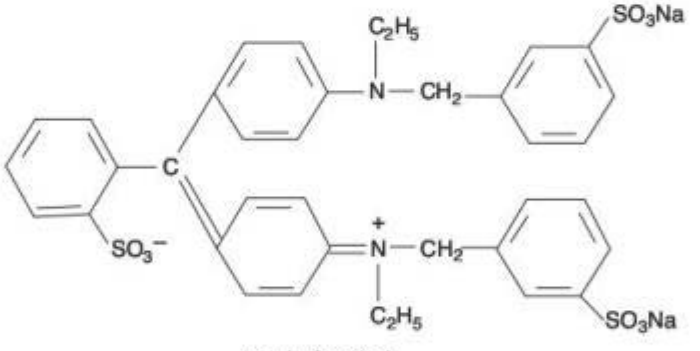
Estados Unidos, y de la Unión Europea (UE). Cabe resaltar que, a partir de estos colorantes primarios, pueden elaborarse muchos otros, llamados secundarios, mediante las mezclas adecuadas para lograr el color deseado.

La tartrazina (tartracina) o amarillo número 5, es un polvo brillante amarillo-naranja, inodoro, higroscópico, estable en ácidos, soluble en agua (20g/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.



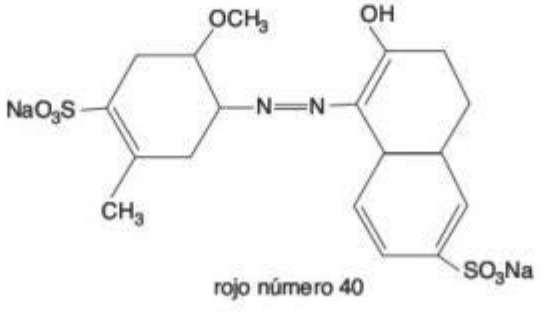
tartrazina (tartracina)

El azul número 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.



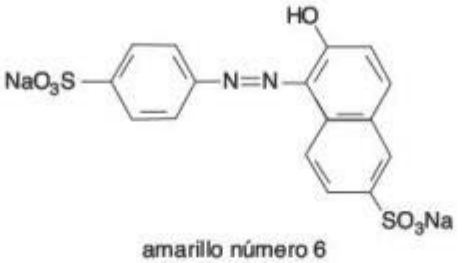
azul número 1

El rojo número 40 es un polvo oscuro, estable a pH ácidos, soluble en agua (22 g/100 mL) y en etanol al 50%.



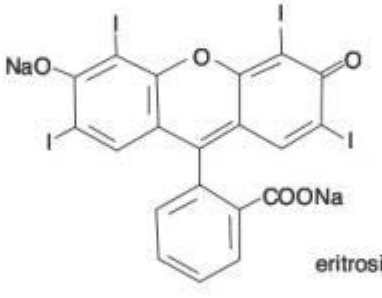
rojo número 40

El amarillo número 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.



amarillo número 6

La eritrosina o rojo número 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.



eritrosina

El verde número 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).



verde número 3

La solubilidad en agua de los colorantes es muy distinta y en ocasiones es necesario emplearlos como lacas, que son dispersiones del colorante en un sólido a base de derivados del aluminio de tamaño de partícula muy pequeña; con esto se asegura su distribución en el alimento, proporcionando un color homogéneo y estable. También se emplean otros disolventes, sobre todo algunos polioles, como glicerina o propilenglicol. De forma comercial, los colorantes se encuentran como líquidos, polvos, granulados, lacas y pastas.

Clarificantes

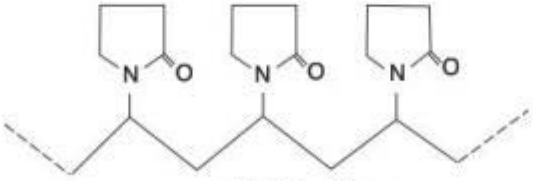
En la elaboración de productos líquidos, como cervezas, vinos y jugos de frutas y en la obtención de sacarosa, se llega a presentar una turbiedad que causa un aspecto desagradable y que debe eliminarse; esto es provocado principalmente por diversos sólidos poliméricos coloidales en suspensión, tales 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, entre los que destacan las enzimas pécticas y proteolíticas, las proteínas (por ejemplo, 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 lo que 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 (por ejemplo, gelatina) como clarificante; por el contrario, cuando la turbiedad es causada por una proteína, se pueden emplear los taninos como agentes clarificantes.

La bentonita es una arcilla que forma suspensiones coloidales tixotrópicas, de las que su principal componente es 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, en consecuencia, 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 de forma paralela 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 amoniaco a altas temperaturas. Tiene una función semejante de acomplejante y precipitante de las proteínas y los taninos; su uso es común en las industrias de la cerveza y del vino, así como en la del azúcar, previo a la cristalización del disacárido.



polivinilpirrolidona

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, hidrogenación de terpenos o condensación del butadieno-estireno. Este último, conocido como SBR, es muy común aunque únicamente los de bajo contenido de sólidos se emplean para esta aplicación.

Humectantes

Por definición, son compuestos destinados a prevenir la pérdida de humedad en los alimentos al retener el agua mediante puentes de hidrógeno; destacan los polioles y distintos polímeros como gomas, dextrinas y gelatinas. En el caso específico del pan, diversos emulsionantes interactúan con la amilosa y provocan que no se lleve a cabo la retrogradación del almidón (capítulo 2) y la consecuente pérdida de agua; los mono y diacilglicéridos y algunos de sus derivados, al igual que el estearoíl-2-lactilato de sodio se emplean con este propósito.

Sustitutos de grasas

Como vimos 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 relacionados con el sobrepeso, incluidas enfermedades del corazón. Por esta razón, en el mercado existen diversos productos que se pueden emplear como sustitutos de las grasas; sin embargo, hacerlo es necesario considerar su influencia en el alimento, ya que es parte integral de la textura, viscosidad, lubricación, etc., características de cada producto[2,23] y que los sustitutos no proveen de los ácidos grasos indispensables requeridos.

Los principales sustitutos de grasas están formulados a base de proteínas, como la gelatina y las del suero de leche, de almidones modificados, de gomas (hemicelulosa, celulosa, carragenina, pectinas y polidextrosa), de mezclas de polisacáridos y proteínas y de triacilglicéridos modificados. En su caso, cuando las proteínas y los hidratos de carbono se metabolizan generan 4 kcal/g (16.7 kJ/g) en lugar de 9 kcal/g (37.5 kJ/g) de las grasas.

El producto comercial llamado Simplesse 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, que 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 y provocan que su uso se limite a ciertas aplicaciones.

Existen muchos sustitutos basados en hidratos de carbono, como las maltodextrinas de la papa o de la tapioca que forman un gel termorreversible en una concentración de 15% o más, de textura cremosa y suave semejante a las grasas; el N-Oil es una de las marcas

comerciales disponibles. 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, Litesse, una marca comercial conocida, posee una estructura que no es totalmente metabolizable, produce sólo 1 kcal/g y por su gran estabilidad y versatilidad puede tener muchas aplicaciones, incluidas las de las gomas (vea el capítulo 2). Los polímeros fabricados a partir de sacarosa junto con ácidos grasos, como el Olestra, también se han usado con este propósito.

La inulina, polímero lineal de fructosas unidas $\beta(2\text{-}1)$, presente en diversos vegetales, también se emplea con este fin, 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. La celulosa microcristalina y la carboximetilcelulosa se usa como estabilizante y emulsionante y sus geles son tersos.

Otro grupo de sustitutos de grasas son los triacilglicéridos de cadena media y corta elaborados con ácido esteárico junto con los ácidos acético, propiónico, butírico, caprílico, caproico y cáprico; producen hasta 40% menos de calorías que una grasa común debido a que, por peso, sus cadenas más cortas generan menos calorías que las cadenas 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, entre ellos Caprenin y Salatrim.[36]

Saborizantes

Es muy amplia la gama de saborizantes, o aromatizantes, que se emplean en los alimentos y que se definen como la sustancia o mezcla de sustancias con o sin otros aditivos que se utilizan para proporcionar o intensificar el sabor o aroma de los productos. Se dividen en tres grandes grupos:[35] *saborizante natural*: preparación de sustancias o sus mezclas obtenidas exclusivamente por procesos físicos, microbiológicos o enzimáticos a partir de vegetales o de materias primas de origen animal en su estado natural o procesadas o por fermentación y que son aptas para consumo humano; *saborizante sintético artificial:* sustancia que no ha sido aún identificada en productos naturales procesados o no y que son aptas para su consumo; *saborizante idéntico al natural:* sustancia químicamente aislada a partir de materias primas aromáticas u obtenidas de forma sintética, químicamente idénticas a la sustancias presentes en productos naturales procesados o no y que son aptas para consumo humano.

La legislación mexicana considera 3 095 compuestos, cuya naturaleza química es de aldehído, cetona, ácido, hidrocarburo, éster, alcohol, pirazina o derivado azufrado. De forma comercial 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 debe tomarse 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. Con esta amplia gama de sustancias se puede igualar o desarrollar sabores que la industria requiera para cualquier aplicación.

Otros aditivos

Aun cuando en algunas legislaciones los nutrimentos y los nutracéuticos no se consideran aditivos, es importante mencionar algunos de sus aspectos. La adición de estos agentes 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 por lo general no están presentes.[3] En cualquier caso, siempre debe tomarse en cuenta su biodisponibilidad en el alimento, para asegurar que cumplan su cometido.[21,26]

Los que más se emplean son vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos y minerales, y para que tengan efecto se añaden cuando: *a*) el consumo del nutrimento es bajo en la dieta de un número significativo de personas; *b*) el alimento base se consume en cantidades importantes para que contribuya en la población; *c*) la adición no provoca un desequilibrio de nutrimentos; *d*) el compuesto añadido es estable, inocuo y fisiológicamente disponible.

Además de todos los aditivos mencionados, en el comercio existen diversos compuestos que cumplen otras funciones.

Los *abrillantadores* para confitería y chocolatería son emulsiones elaboradas con gomas (por ejemplo, arábiga) y ceras, que le dan brillo y protegen estos productos de las altas humedades.

Los llamados *encapsulantes* son polímeros, como el almidón o las gomas, que se emplean para encapsular vitaminas, sabores, etc., mediante la elaboración de una emulsión que más adelante 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; esta categoría incluye varias proteínas (por ejemplo leche, trigo, soya) adicionadas de mono y diacilglicéridos y de algunas gomas.

Los *aglutinantes* son polisacáridos que cumplen funciones de espesante y de estabilizante. También están los *espumantes*, que promueven la formación de espumas.

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, existen los *enturbiantes* (aceite vegetal bromado), los formadores de película, los *ligantes*, los *texturizantes*, los *endurecedores*, los *gasificantes* para refrescos que cumplen una función de conservador, los *hidrolizantes* y muchos otros aditivos.

Referencias bibliográficas

1. 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.
2. 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, pp. 197-236.
3. 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, pp. 33-81.
4. Bakker, J. y Peter, P. 1992. "Strawberry juice color: the effect of sulphur dioxide and EDTA on the stability of anthocyanins". J. Sci. Food Agric. 60:477.
5. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, Berlín, cap. 4.
6. Bergenstahl, G. 1997. "Physiochemical aspects of an emulsifier functionality". *En: Food Emulsifiers and Their Applications*. Ed. G.L. Hassenhuettl. Chapman and Hall, Nueva York, cap. 5.
7. Brewer, M.S. 2000. "Traditional Preservatives- Sodium Chloride". *En: Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol. 3, Ed. Robinson, R., Batt, C y Patel, P. pp. 1723-1728. Academic Press. Londres.
8. Bugusu, B. 2010. *Exploring Food Nanomaterials*. *Food Technol.* 10:44-49.
9. Coultate, T.P. 2002. "Food The Chemistry of its Components". The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
10. 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, pp. 13-14.
11. FAO-WHO. 2006. "Understanding the Codex Alimentarius". 3a. ed. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Ginebra, Suiza.
12. *Food Additives*. 2002. Ed. Branen, L. *et al.* Marcel Dekker Inc., Nueva York.
13. Goddard, S.J. y B.L. Wedzicha. 1992. "Kinetics of the reaction of sorbic acid with sulphite species". *Food Additives Contam.* 9:485-492.
14. Gray, J.A. y J.N. BeMiller. 2003. Bread staling: molecular basis and control, *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety* 2:1-21.
15. Haddon, W.F., Mancini, M.L., McLaren, M., Effio, A., Harden, L.A., Degre, R.L. y Bradford, J.L. 1994. "Ocurrence of ethyl carbamate (urethane) in U.S. and Canadian breads". *Cereal Chem.* 71:297-315.
16. Horn, G. 2009. Harmonizing Sweetness & Taste. *Food Technol.* 12:20-29.
17. Jay, J.M. 2000. Modern Food Microbiology. 6a. ed. Aspen, Gaithersburg, Md.
18. Johnson, J. 2011. Challenges of Formulating Products to Meet Desired Sodium Targets. *Food Technol.* 7:42-48.
19. Kotamballi, N., Chidambara, M., Ravendra, P.S. y Guddarangavana, K.J. 2002. "Antioxidant activities of grape *(Vitis vinifera)* pomace extracts". *J. Agric. Food Chem.* 50:5909.

20. Krog, N.J. y Sparso, F.V. 2004. "Food Emulsifiers: their chemical and physical properties". *En: Food Emulsions*. Ed. S. Friberg. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. Cap. 2.

21. Land, D. 2010. "Optimizing Bioactive Ingredients". *Food Technol.* 10:50-56.

22. Lindsay, R.C. 2008. "Aditivos alimentarios". *En: Química de los Alimentos*, Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

23. Lucca, P.A. y Tepper, B.J. 1994. "Fat replacers and the functionality of fat in foods". *Trends Food Sci. Technol.* 5:12-19.

24. Marcus, J.B. 2009. "Umami". *Food Technol.* 9:23-36.

25. McQuate, R.S. 2011. "Ensuring the Safety of Sweeteners From Stevia". *Food Technol.* 4:42-49.

26. Mermelstein, N.H. 2011. "Addressing Bioavailability and Digestibility". *Food Technol.* 3:76-79.

27. Milo, L.O. 2011. "Nutritional News. Natural Sweetness". *Food Technol.* 8:94-101.

28. Naidu, A.S. 2000. *Natural food antimicrobial systems*. CRC Press, Florida.

29. Paeschke, T. M. y Aimutis, W. R. 2011. "Formulating for Satiety with Hydrocolloids". *Food Technol.* 3:24-35.

30. Pszczola, D.E. 2008. "Sweeteners for the 21th Century". *Food Technol.* 11:49-57.

31. Pszczola, D.E, 2011a. "Fermenting New Concepts. Natural Antimicrobial Derived from Fermentation". *Food Technol.* 6:75-90.

32. Pszczola, D.E. 2011b. "A Progressive Potpourri. It´s Time to Deliver". *Food Technol.* 7:77-89.

33. Pszczola, D.E.2011c. "Reborn on the Bayou. Emulsifying Excellence". *Food Technol.* 8:54-81.

34. Sebranek, J.G. 2009. "Basic curing ingredients in ingredients in meat products". Cap. 1, *En: Ingredients in Meat Products*, ed. R. Tarté, pp. 1-23, Springer, Nueva York.

35. Secretaría de Salud, México. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2011. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. México, D.F.

36. 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.

37. Smith, R.L., Waddell, W.J., Cohen, S.M., Feron, V.J., Marnett, P.S., Portoghese, P.S., Rietjens, I.M., Adams, T.B., Lucas Gavin, C., McGowen, M.M., Taylor, S.V. y Milliams, M.C. 2009. "GRAS Flavoring Substances 24". *Food Technol.* 6:46-62.

38. Smith, R L. *et al.* 2011. "GRAS Flavoring Substances 25". *Food Technol.* 7:44-75.

39. Sofos, J.N. 1993. "Antimicrobial agents". *En: Food Additives Toxicology*, Ed. J.A. Maga y T.T. Anthony, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp. 501-529.

40. Van Vliet, T. 2002. "On the relation between texture perception and fundamental mechanical parameters for liquids and time-dependent solids". *Food Quality Pref.* 13: 111-118.

41. Zaika, L.L. 1988. "Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination". *J. Food Safety*, 9:97-118.

10

- Introducción
- Clasificación de los coloides
- Estabilidad de los coloides
- Soles
- Geles
- Espumas
- Emulsiones
- Nuevas tendencias para elaborar alimentos emulsionados bajos en calorías

Referencias bibliográficas

José Gerardo Montejano Gaitán

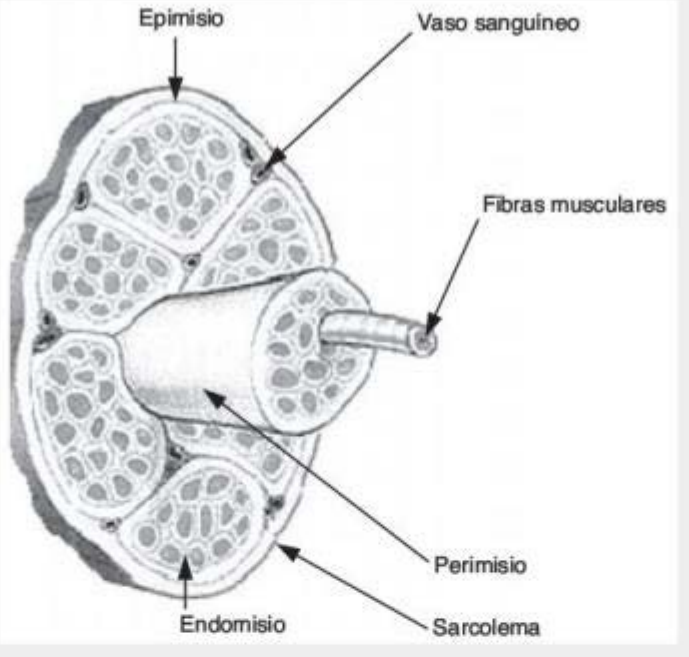
Estado de dispersión

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: *a*) tejidos celulares intactos y *b*) 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 proteínicas paralelas, formadas por miosina y actina. Cada fibrilla está rodeada por tejido conjuntivo que forma una capa denominada endomisio y, a su vez, 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).

Figura 10.1 Diagrama del corte transversal de una fibra muscular.



Una dispersión o coloide es un sistema de multifases no homogéneas en equilibrio. 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 μm 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 μm). 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 esas 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 entre sí, 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.

Clasificación de los coloides

Los coloides se clasifican de dos maneras: *a*) con base en la afinidad entre las partículas de las fases que integran al coloide, y *b*) 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]

En cuanto 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 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 muestra la figura 10.2. El puente de hidrógeno permite a la molécula de la fase dispersa solvatarse, es decir, rodearse de las partículas de la fase dispersante, y simultáneamente permite que la molécula permanezca en dispersión sin precipitarse, ya que no puede agruparse con otras moléculas.

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 capa[2] 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

Figura 10.2 Ilustración de interacciones electrostáticas en un coloide liofílico.

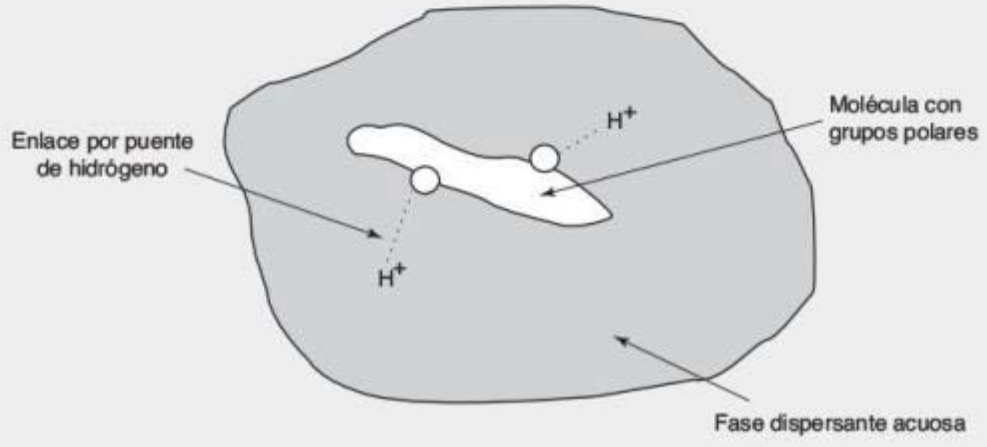
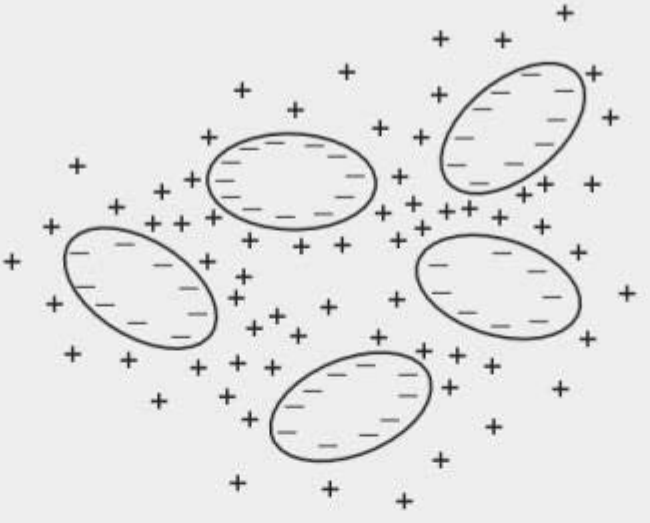
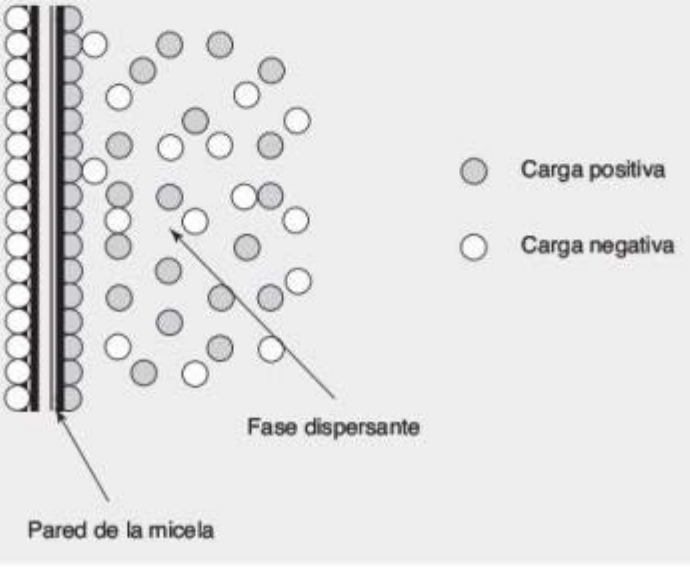


Figura 10.3 Interacciones electrostáticas en un coloide liofóbico.



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

Figura 10.4 Representación esquemática de la doble capa.



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 zeta disminuye por la adición de electrolitos 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 zeta particular que, entre otros factores, es función de la valencia, concentración y tamaño de los iones (cargas) de cada fase.

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 tamaños mayores o menores a los coloidales (por 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 a la fase continua, por lo general 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.

CUADRO 10.1 Clasificación de sistemas coloidales de dos fases

Fase dispersa	Fase dispersante	Nombre	Ejemplos
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

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 de forma espontánea 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, para la preparación y mantenimiento de los coloides, es de vital importancia 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 de la interfase) se reduce al mínimo. Las fuerzas que causan esta reducción en área se denominan tensión superficial o tensión interfacial, respectivamente, y ocasionan que las moléculas del borde tiendan a pasar al interior, con lo que 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 el agua, ambas fuerzas son importantes, mientras que con materiales no polares, como los lípidos, sólo se presentan las fuerzas de Van der Waals.

Cuando dos materiales no miscibles entre sí se ponen 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 describirán 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, además de depender del factor eléctrico de las partículas, la barrera energética estabilizante 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 así recibe el nombre de coloide protector.

Soles

Un sistema coloidal muy común en los alimentos es el que forma 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 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, reducir su tamaño. El aumento se logra por medio de agregar las moléculas de manera controlada, para garantizar que se obtenga el tamaño, forma y distribución de partículas que se requieren para ser suspendidas en la fase dispersante y formar un sol estable. Ejemplos de procesos de agregación son la precipitación isoeléctrica, la cristalización y la desnaturalización térmica de proteínas. Cuando las partículas son grandes, una reducción de tamaño que asegure su dispersión puede lograrse por varios métodos. Al proceso de reducción se le conoce genéricamente como peptización y puede lograrse por: *a*) 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. *b*) Métodos eléctricos que alteran la distribución y número de cargas. *c*) Aplicación de calor. *d*) Remoción de agentes floculantes para separar complejos macromoleculares a partículas de menor peso molecular. *e*) Empleo de medios mecánicos tales como molienda, trituración y/o picado, por ejemplo la preparación de soles cárnicos al solubilizar las proteínas en soluciones salinas por medios mecánicos, como 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, algo que puede ocurrir por simple enfriamiento o por mantenerse sin alteración por un corto periodo. 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, por ejemplo los soles de almidón, pectina, gomas y proteínas utilizados en aderezos

para ensalada, sopas, bebidas, etc. Al gelificar, estos mismos soles actúan como agentes estructurales en los alimentos sólidos, ya que añaden firmeza y elasticidad al producto final, como ocurre con los embutidos, rellenos para pastelillos, jaleas, huevo cocido, etcétera.

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 cm^2 y separados por una distancia de 1 cm. Así, 1 poise es igual a 1 g/cm·s; en sistemas poco viscosos, como el agua, se emplea el centipoise (cp). La fuerza tangencial por unidad de área se define como esfuerzo cortante (τ); al aplicar uno solo de estos esfuerzos a un fluido, se presentará una distribución de velocidades que disminuye su valor a medida que 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/m^2 o Pa)
η = coeficiente de viscosidad (Pa-s)

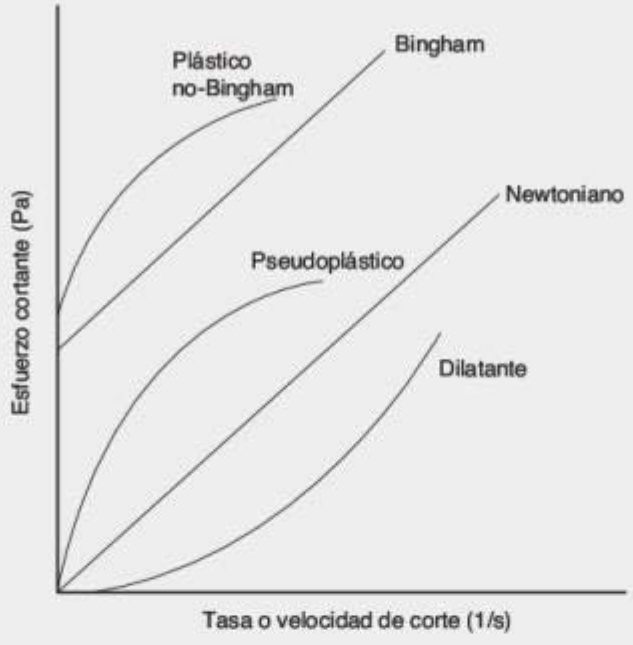
$\left(\frac{dv}{dy}\right)$ = tasa o velocidad de corte (1/s)

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 se aprecia en la figura 10.5.

Los fluidos no-newtonianos se denominan "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_o) antes de que presenten flujo. En los soles pseudoplásticos y plásticos no-Bingham se presenta una disminución de la viscosidad a medida que aumenta la tasa de corte; en los dilatantes, la viscosidad se incrementa al aumentar la tasa de corte; y los plásticos de Bingham presentan una viscosidad constante una vez que se logra el flujo.

Figura 10.5 Comportamiento reológico de los fluidos.



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 *ketchup*, purés de frutas, pastas proteicas concentradas, masa de gluten y masa de maíz, presentan un flujo a plástico no-Bingham. El comportamiento dilatante, aunque no muy común, se ha observado en dispersiones de almidón en agua. El flujo en plásticos Bingham no es común en soles alimenticios. La desviación de la idealidad de estos fluidos se atribuye a *a*) la naturaleza de la superficie de las partículas; *b*) tamaño, forma y distribución de las partículas; *c*) peso molecular de las partículas, y *d*) volumen de la fase dispersante.

Existen varias ecuaciones y modelos propuestos para analizar a los fluidos no-newtonianos.[8] El 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/m^2 o Pa)
κ = coeficiente de consistencia $(Pa\text{-}s)^n$
$\left(\frac{dv}{dy}\right)$ = 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 al aplicar

una regresión lineal a la pendiente se obtiene 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 de forma experimental aplicando un valor constante 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, que 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.

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. Como se explicó antes, un gel 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 a 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 e incluso 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 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;* entre los ejemplos que de éstos se pueden citar están 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: *a*) iones, como el calcio para gelificación de gomas; *b*) ácidos orgánicos e inorgánicos, para la elaboración de carne reestructurada; *c*) enzimas, como la transglutaminasa bacteriana, utilizada en productos a base de surimi, y *d*) 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 por lo general 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: *a*) 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; *b*) 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 mantequilla ésta muestra sinéresis por medio de gotas de líquido depositadas en su superficie; *c*) la presión ejercida sobre un gel contribuye a su sinéresis; *d*) 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*. Al ponerse en contacto con agua, muchas sustancias sólidas, sean de origen proteínico (gelatina, albúmina) o de polisacáridos (pectina, almidones solubles), comienzan a absorberla aumentando su volumen, es decir, presentan imbibición, cuya tasa por lo general 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 proteínicos 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.

Espumas

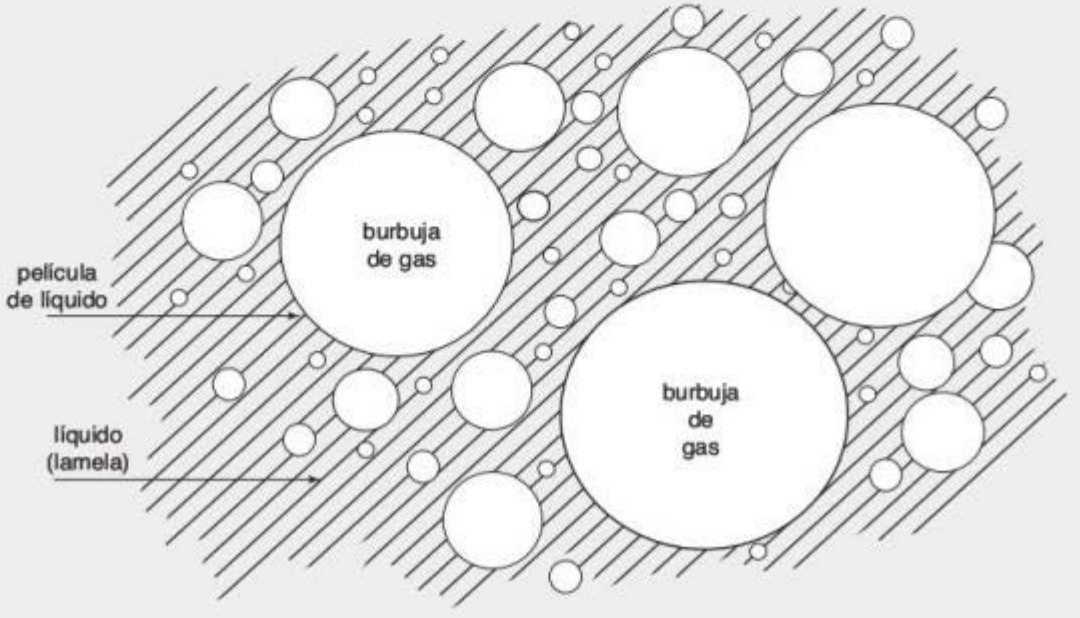
Las espumas son dispersiones coloidales de un gas, o mezcla de gases, suspendidos en una fase dispersante formada por un líquido viscoso o un semisólido. En la mayoría de las espumas alimenticias el gas es aire. El líquido rodea a las burbujas de aire y las separa una de otra. Esta barrera o pared líquida 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 μm 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 μm; cuando ésta es menor de 0.05 μm, el sis-

tema 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 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.

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 coloide con una estructura bastante compleja. Se puede describir al helado como una espuma parcialmente congelada con un contenido de aire de 40 a 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 forma de emulsión. Los glóbulos de grasa en la emulsión son tan pequeños que se ha estimado un tamaño de 0.04 a 3 mm, mientras que los cristales de hielo tienen un tamaño promedio de 34 mm y los glóbulos de aire de 60 mm. Un gramo de helado puede contener alrededor de 8 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 malvaviscos 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

Figura 10.6 Esquema de la estructura de una espuma.



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 solución de azúcar a una temperatura de unos 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 que 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, antes de dispersarle el aire primero debe adicionarse el agente espumante o estabilizante a la fase líquida o semisólida. Ese agente 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. Éste puede incorporarse de dos formas diferentes: por dispersión o por condensación. En el primer caso, se inyecta directamente en el líquido, por medio de boquillas o 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 se libera la presión, 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 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.

Emulsiones

Una emulsión es una dispersión coloidal de un líquido dentro de otro, 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 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 un esquema del 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 que se forme 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 soluciones 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 lipófobo, y por consiguiente, presentará una mayor afinidad por el agua o por los aceites, característica que se conoce como balance hidrófilo-lipófobo, o BHL (HLB, en inglés), y es una propiedad importante que debe tomarse en cuenta al seleccionar un emulsionante.

Figura 10.7 Esquema de los procesos de floculación, coalescencia y separación en dos fases de una emulsión.

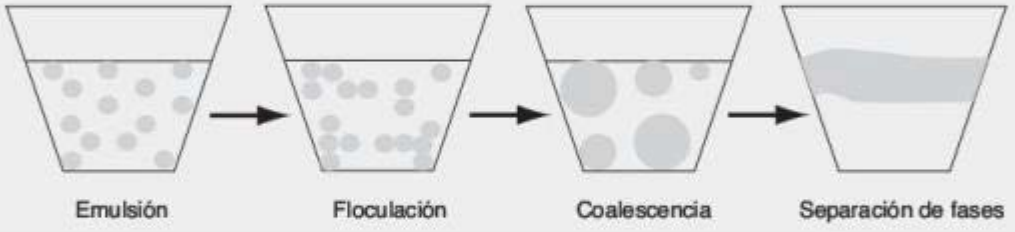
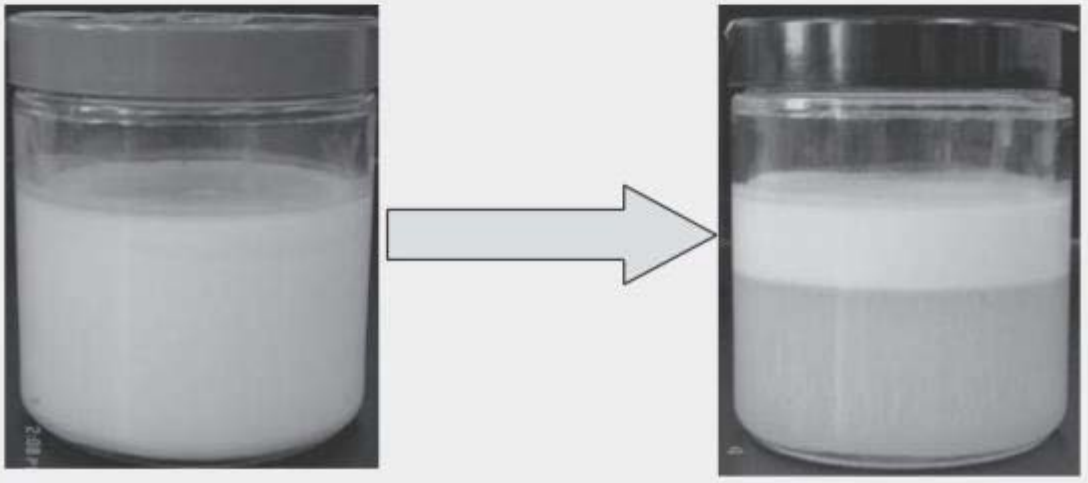


Figura 10.8 Emulsión no estabilizada que se separa en sus fases componentes después de algún tiempo.



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. Al dispersarse una en la otra, estas dos fases dan lugar a la formación de dos tipos de emulsiones: *a*) las de aceite en agua (A/H) que consisten en pequeñas gotas de aceite como fase dispersa contenidas en el agua como fase continua o dispersante, y *b*) 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, por ejemplo la mayonesa, los aderezos para ensalada, la leche, la crema, la base para helados y los sustitutos de crema para café; los 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:

a) *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.

b) *Método del colorante*. Se basa en la habilidad de un colorante para disolverse en la fase dispersante. Una pequeña cantidad de colorante, 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.

c) *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.

d) *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.

e) *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 y causar 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. 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 que se forme 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]

Diversos dispositivos pueden proporcionar la agitación mecánica. Los más utilizados son las batidoras o los 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. Ultrabatidoras 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, además de que consumen gran cantidad de energía, por lo que su uso es todavía limitado.

Lo que se desea durante la elaboración de productos alimenticios, en algunos casos, es la destrucción de una emulsión (desemulsificación), como sería el desnatado, la destrucción y la inversión de la leche para obtener mantequilla.[5] Romper una emulsión alimenticia, es decir separarla en sus fases inmiscibles, varía desde lo muy fácil hasta lo imposible. La agitación mecánica, así como ayuda a la formación de emulsiones, también puede utilizarse para su rompimiento.[13] Por ejemplo, a veces la mayonesa se separa cuando se manipula de manera brusca y agitada. Los métodos mecánicos para romper emulsiones incluyen la centrifugación, la destilación y la filtración. Otro método utiliza el principio de acción antagónica de los agentes emulsionantes; la adición de agentes que estabilizan emulsiones H/A tiende 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.

Nuevas tendencias para elaborar alimentos emulsionados bajos en calorías

Como se ha descrito antes, las grasas desempeñan un papel fundamental en la estructura y textura de alimentos coloidales. Ante el aumento de la obesidad en diversos países del mundo,[14] la industria de alimentos investiga y produce ingredientes novedosos que permitan obtener alimentos bajos en calorías, sin que pierdan sus atributos sensoriales. Es común que alimentos bajos en calorías no tengan la aceptación del consumidor por presentar deficiencias al ser comparados con los productos sin reducción energética. Ante esto, elaborar alimentos emulsionados con menor contenido de grasas pero de alta aceptabilidad es de gran interés industrial y comercial.

Además de sus características estructurales en alimentos coloidales, las grasas contribuyen a su palatabilidad. Las grasas tienen además un papel fundamental en alimentos que requieren una espuma estable, como el caso de los helados. Estas espumas se forman por medio de partículas de grasa con coalescencia parcial que atrapan aire formando una matriz que da la textura y estructura a los alimentos. Al disminuir el contenido de grasa las espumas se vuelven inestables y se afecta la textura del producto.

Estudios recientes[15,16,17] han mostrado que las denominadas genéricamente Emulsiones Rellenas de Aire (ERA o AFE por sus siglas en inglés) permiten disminuir la cantidad de lípidos requeridos para formar emulsiones estables en diversos alimentos y elaborar productos con reducido contenido energético. Las ERA se caracterizan por contener burbujas de aire de tamaño micrométrico (1 a 200 μm) atrapadas por una película proteínica que actúa como un agente estabilizador. Debido al tamaño de las microburbujas, es necesario que el agente estabilizador tenga una resistencia que evite una coalescencia de ellas debido a sus altos valores de presión de Laplace, así como la solubilidad del agua en el aire. Varias proteínas pueden actuar como agentes estabilizantes, entre las que se encuentran proteínas ricas en cisteína como albumina sérica bovina (ASB) y albumen de huevo (AH).[16] Sin embargo, la que mejor potencial ha mostrado es la hidrofobina.[15] Las hidrofobinas son una familia de proteínas hidrofóbicas de secreción, de pequeño tamaño molecular, cercano a 100 aminoácidos y se han encontrado recubriendo las paredes de los hongos. Exhiben capacidad para autoensamblarse y para unirse a una interfase hidrofílica/hidrofóbica que forman una película anfipática (un extremo hidrofílico y otro hidrófobo). La familia de hidrofobinas se divide en dos categorías, denominadas Clase I y Clase II, que se distinguen por su diferente solubilidad acuosa. Las de Clase I son insolubles en agua, mientras que las de Clase II son solubles en soluciones acuosas de dodecil sulfato de sodio o en etanol. Ambas clases de hidrofobinas tienen muchas similitudes, y la más importante presenta ocho residuos de cisteína con un patrón específico en su estructura primaria.[18] La solubilidad en soluciones acuosas es importante para preparar las ERA, por lo que las hidrofobinas clase II se utilizan con este fin.

Las ERA se forman al disolver cualquiera de las proteínas ricas en cisteína y sujetar la solución a un tratamiento con ultrasonido bajo inyección de aire para formar las microburbujas iniciales. Posteriormente se incrementa la temperatura a valores entre 50 y 55 °C y se aplica un proceso de sonicación con valores entre 15 a 25 Hz, con amplitud de 50% por 3 a 5 minutos para producir microburbujas de tamaños finales entre 1 a 10 µm que producen la mejor palatabilidad y textura cuando remplazan grasas.[16] La estabilidad de las ERA pre-

paradas por este procedimiento es extremadamente alta debido a la firmeza y elasticidad de la película proteica que cubre al aire atrapado. Se ha reportado que pueden durar meses sin que ocurra coalescencia o deformación de las microburbujas.[19] La estabilidad es mejor con las hidrofobinas. Sin embargo, el uso de ASB y AH ha producido resultados de estabilidad similares, con la ventaja de que tienen mayor disponibilidad y menores precios que las hidrofobinas. La durabilidad de las ERA se atribuye a enlaces químicos entre moléculas de cisteína de la película proteínica con radicales superóxido generados por la sonólisis del agua en la presencia del oxígeno del aire. También contribuye la alta concentración inicial de la proteína que se adsorbe en la interfase entre el agua y el aire de la ERA.[16]

Para el desarrollo de alimentos emulsionados con reducción en su contenido de grasa, las ERA son adicionadas a una emulsión de A/H por medio de un mezclador-homogeneizador de alta tasa de corte (velocidades de giro entre 2 500 a 5 000 rpm) con tiempos de mezclado de entre 5 a 10 minutos. La estabilidad de las ERA permite este mezclado de alto cizallamiento sin que ocurra su coalescencia o ruptura. El resultado es una nueva emulsión de tipo trifásico denominada Ai/A/H (Aire-Aceite-Agua). Es posible obtener una reducción de grasas hasta de 50% sin afectar los atributos del alimento cuando se comparan contra el alimento sin redución.[15,20] Adicionalmente, estas emulsiones trifásicas reducidas en calorías son estables hasta por 45 días con respecto al tamaño de gota de fase dispersa y sin pérdida de la fase de aire. Es factible entonces obtener productos como mayonesas, bases para helado, aderezos y muchos otros alimentos más de tipo emulsión con una reducción significativa de su cantidad de grasas y, por ende, de su densidad calórica, pero sin afectar sus atributos característicos que demanda el consumidor. Esto abre un campo de aplicación industrial con enorme potencial económico y de salud que está actualmente en desarrollo.

Referencias bibliográficas

1. Hiemenz, P.C. y R. Rajagopalpan. 1997. *Principles of Colloid and Surface Chemistry.* 3ª edición. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, N.Y. E.U.
2. Goodwin, J.W. y J.W. Goodwin. 2004. "Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers: An Introduction". John Wiley and Sons, Incorporated. Nueva York, N.Y., E.U.
3. Cheftel, J.C, H. Cheftel, y P. Besancon. 1980. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos.* Volumen II. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
4. Holmberg, K., D.O. Shah y M.J. Schwger. 2002. *Handbook of Applied and Colloid Surface Chemistry.* John Wiley and Sons, Incorporated. Nueva York, N.Y., E.U.
5. Dickinson, E. y T.V. Vliet. 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, CT., E.U.
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. E.U.
9. Totosaus, A, Montejano, J.G., Salazar, 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 K. Larsson. 1997. *Food Emulsion.* 3a. edición. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, N.Y., E.U.
11. Dickinson, E. 1988. "Food Emulsions and Foams". The Royal Society of Chemistry. Londres, Inglaterra.
12. Dickinson, E. y R. Miller. 2001. "Food Colloids: Fundamentals of Formulation". The Royal Society of Chemistry. Londres, Inglaterra.
13. Sjöblom, J. 2001. *Encyclopedic Handbook of Eemulsion Technology.* Marcel Dekker, Inc. Nueva York, N.Y., E.U.
14. USDA. 2011. *Dietary Guidelines for Americans, 2010.* Obtenido de: http://www.cnpp.usda.gov/DGAs2010-PolicyDocument.htm. Fecha de la consulta: 4 de enero, 2012.
15. Tchuenbou-Magaia, F.L., Norton, I.T. y Cox, P.W. 2009. "Hydrophobins stabilised air-filled emulsions for the food industry". *Food Hydrocolloids.* 23:1877-1885.
16. Tchuenbou-Magaia, F.L. Al-Rifai, N., Ishak, N.E.M., Norton, I y Cox, P.W. 2011. "Suspensions of air cells with cysteine-rich protein coats: Air-filled emulsions". *Journal of Cellular Plastics.* 47:217-232.
17. Zúñiga, R.N. y Aguilera, J.M. 2008. "Aerated food gels: Fabrication and potential applications". *Trends in Food Science and Technology.* 19:176-187.
18. Linder, M.B. 2009. "Hydrophobins: proteins that self assemble at interfaces". *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* 14:356-363.
19. Cox, A.R., Aldred, D.L. y Russell, A.B. 2009. "Exceptional stability of food foams using class II hydrophobin HFBII". *Food Hydrocolloid.* 23:366-376.
20. Tchuenbou-Magaia, F.L. y Cox, P.W. 2011. "Tribiological study of suspensions of cysteine-rich protein stabilized microbubbles and subsequent triphasic a/o/w emulsions". *Journal of Texture Studies.* 42:185-196.

11

- Introducción
- Leguminosas
- Cereales
- Inhibidores de amilasas
- Bebidas estimulantes
- Péptidos, proteínas y aminoácidos tóxicos
- Gosipol
- Capsaicina
- Solanina y chaconina
- Sustancias promotoras de bocio
- Toxinas en mariscos y peces
- Antivitaminas
- Tóxicos presentes en la miel de abeja
- Compuestos tóxicos generados por proceso
- Racemización de aminoácidos y formación de isopéptidos
- Formación de aminas biógenas
- Fumigantes y disolventes
- Comentarios finales

Referencias bibliográficas

Pedro Valle Vega

Tóxicos presentes en los alimentos

Introducción

La toxicología de alimentos es el área del conocimiento científico que evalúa la presencia de factores tóxicos y antinutricionales en los alimentos, sea en forma natural, por adición, por contaminación o por generación durante su procesamiento.

A los alimentos tradicionales o convencionales se les ha conferido la característica de seguros o relativamente inocuos, pero en realidad son químicamente complejos; basta mencionar que a la papa, un alimento de amplio consumo en el mundo, se le han identificado más de 150 compuestos químicos, entre los que están la solanina, la chaconina y el ácido oxálico, sin reconocida acción nutritiva, pero con una franca acción farmacológica.[14]

Respecto al origen o presencia de los tóxicos en alimentos, se pueden considerar cuatro fuentes principales: naturales, intencionales (por ejemplo los aditivos), accidentales (por ejemplo, los contaminantes) y las generadas por proceso, sin que esta clasificación asigne un tóxico específico 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, debido a que variaciones menores en su estructura puede hacerlos 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, etc. El origen del tóxico podría servir para

clasificarlo, pero incluso así resulta confuso, por ejemplo en el caso de las aflatoxinas, que son de origen natural pero que en varios alimentos resultan contaminantes.[64,74,75]

Los compuestos añadidos en forma intencional son ajenos al alimento y se agregan en cantidades conocidas con algún fin particular. Estos compuestos no son totalmente inocuos, y algunos investigadores los consideran tóxicos, lo que ha generado una gran controversia debido a 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 persiste cuando se presentan malestares en personas hipersensibles. En contraparte, si no se usaran 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. Muchos de estos productos además representan una mejora en el procesamiento, o bien una protección a las características de los alimentos, como ocurre con los antioxidantes.

En general, los tóxicos accidentales representan mayor riesgo para la salud dado que, a diferencia de los naturales o intencionales, no se conoce la cantidad ni la fecha en que se ingirieron, menos aún la frecuencia con que se ingirieron, o el tipo de alimento asociado con el tóxico; tampoco puede determinarse de inmediato cómo llegó al alimento. Es decir, en términos de una emergencia, existe 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 éstos han sido procesados, o 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 sasafrás, es un carcinógeno, 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 en fechas recientes se presupone como un potente mutágeno. La agaritina se disminuye durante la congelación del hongo hasta en 68% o durante el enlatado hasta 87%.[63] Los apios, higos, perejil y 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 (ruibarbo) ya que pueden actuar como electrófilos 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]

Leguminosas

Las leguminosas contienen una amplia variedad de factores tóxicos, por lo que se pueden considerar 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, fitohemoaglutininas y saponinas; en casos más específicos puede presentarse divicina e isouramilo (favismo), mimosina, canavanina, etcétera.[65]

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

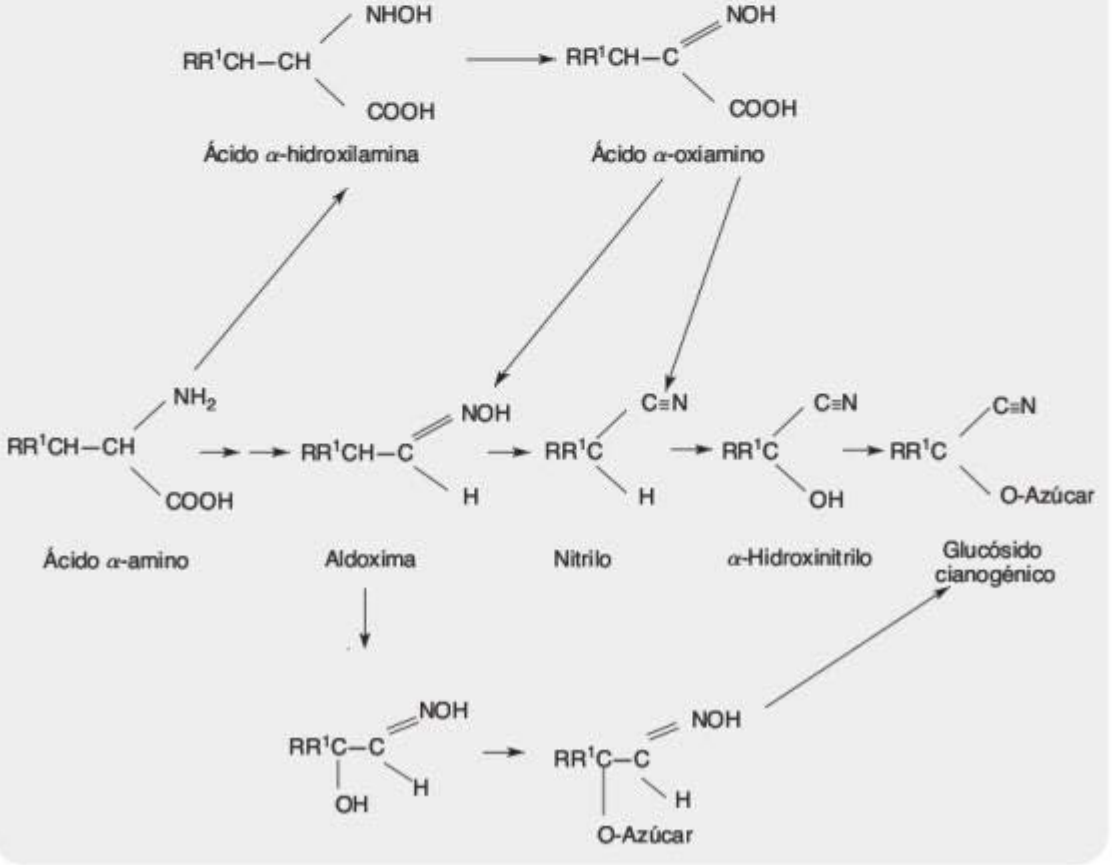
amarga (*Prunus amigdalus*); el cianuro está presente en la molécula de amigdalina, como lo muestra un ejemplo de su síntesis en la figura 11.1.

Se estima que en la naturaleza existen más de 100 especies que contienen glucósidos cianogénicos y que no están exclusivamente asociados con leguminosas. Cuando el material biológico se macera o se daña, puede liberarse cianuro por una acción enzimática, que por lo general se debe a la β-glucosidasa (cuadro 11.1).[36]

CUADRO 11.1 **Contenido de HCN en algunas plantas**

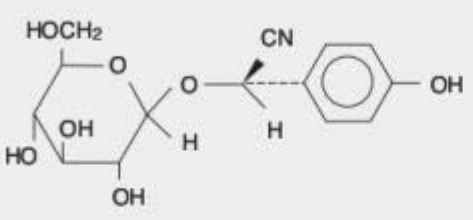
Vegetal	HCN (mg/100 g)
Frijol (*Phaseolus lunatus*)	14.4 - 167.0
Casos especiales	210.0 - 312.0
Sorgo (café)	250.0
Yuca (*Manihot utilissima*)	113.0
Linaza	53.0
Judías (*Phaseolus* sp.)	2.0
Chícharo (*Pisum sativum*)	2.3

Figura 11.1 Síntesis de glucósidos cianogénicos.

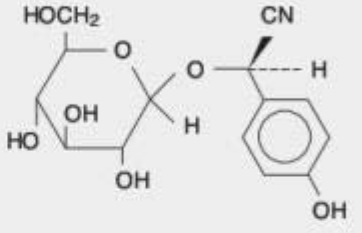


El glucósido no es tóxico por sí mismo, pero el CN^- generado por hidrólisis enzimática sí lo es, debido a que actúa a nivel de citocromo oxidasa; eso significa que es un potente inhibidor de la cadena respiratoria. La DL_{50} del HCN, administrada por vía oral, es 0.5-3.5 mg/kg. Otras semillas de fruta que contienen CN^- son: almendras, duraznos, cerezas, ciruelas, manzana, etc.[35] Otras plantas también poseen glucósidos cianogénicos como el bambú, el sorgo, la soya y la yuca (figura 11.2).

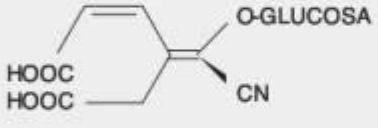
Figura 11.2 Estructuras de algunos glucósidos cianogénicos.



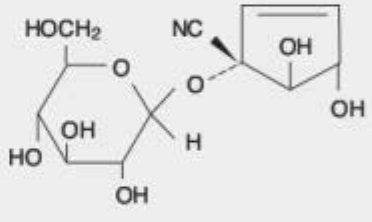
(S)-durrina



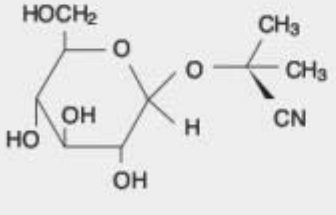
(R)-taxifilina



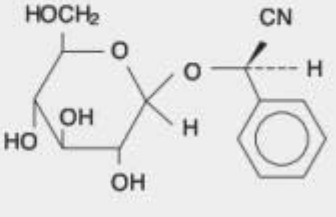
trigloquinina



ginocardina



linamarina



(R)-prunasina

Promotores de flatulencia

Los promotores de flatulencia se presentan al consumir alimentos que contienen oligosacáridos y otros compuestos no biotransformables. Con relación a los carbohidratos, el ser humano no posee actividad enzimática de α-galactosidasa y β-fructosidasa; es decir,

no tiene la capacidad de aprovechar azúcares que no son metabolizables, por ejemplo: rafinosa (0-α-D-galactopiranosa-[1-6]-0-α-D-glucopiranosil-[1-2]-β-D-fructofuranosa); estaquiosa (0-α-D-galactopiranosa-[1-6]-0-α-D-rafinosa), verbascosa (0-α-D-galactopiranosa-[1-6]-0-α-D-estaquiosa) (vea el capítulo 2).

Estos oligosacáridos pasan al intestino delgado, donde microorganismos de la flora intestinal producen gases como CO_2, H_2 y CH_4, lo que ocasiona este malestar, entre otros más. 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 este 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 la raza negra; se calcula que aproximadamente 70% de esta población puede ser intolerante. Existen algunos reportes de que la sacarosa o el azúcar tampoco puede ser metabolizada, por lo que termina fermentándose de manera similar a los casos anteriores.

Inhibidores de proteasas como la tripsina

Los inhibidores de proteasas están presentes con mucha frecuencia en la alimentación humana; su función es inhibitoria de los sistemas enzimáticos de sus depredadores (microorganismos o insectos). Una gran cantidad de alimentos de origen vegetal presentan inhibidores de proteasas; sin embargo, cabe destacar la amplia presencia de los inhibidores de tripsina en alimentos de origen vegetal, donde la mayor proporción se manifiesta en semillas. Los inhibidores de tripsina pueden coexistir en la misma planta con otros proteolíticos, según se aprecia en el cuadro 11.2.[58,79]

CUADRO 11.2 **Origen de inhibidores de proteasas y tipo de proteasa inhibida**

INHIBIDORES DE PROTEASA EN PLANTAS COMESTIBLES MÁS COMUNES

Nombre científico	Nombre común	Parte de la planta	Enzima inhibitoria
Araquis hipogea	Cacahuate, maní	Nuez o semilla	T, Q, PL
Avena sativa	Avena	Endospermo	T
Beta vulgaris	Remolacha roja	Tubérculo	T
Brassica rapa	Colza o nabo	Semilla	T
Cicer arietinum	Garbanzo	Semilla	T
Glicine max	Soya	Semilla	T, Q, E, PL
Oryza sativa	Arroz	Semilla	T, S
Phaseolus coccineus	Frijol francés, ayocote	Semilla	T, Q
Phaseolus lunatus	Frijol de lima	Semilla	T, Q
Phaseolus vulgaris	Frijol común	Semilla	T, Q, E
Pisum sativum	Chícharo, guisante	Semilla	T, PL
Solanum tuberosum	Papa	Tubérculo	T, Q, E, PL
Vicia faba	Haba	Semilla	T, Q, PL
Zea mays	Maíz	Semilla	T

T = Tripsina
Q = Quimotripsina
E = Elastasa
PL = Plasmina

Cabe destacar que los inhibidores de proteasas más estudiados son los que actúan sobre la tripsina, debido a que es una enzima digestiva de gran importancia en la digestión de monogástricos como el hombre. Estas proteínas han sido aisladas de diferentes plantas o animales.[33] Entre las más importantes están las de soya, frijol, papa y el ovomucoide de los huevos de aves.

Fitohemaglutininas

Las hemoaglutininas se caracterizan por 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 hemaglutininas hacia determinados eritrocitos, Boyd y Shapleigh las denominaron lectinas (del latín *legere*, elegir), que algunos autores utilizan como sinónimo de este tipo de compuestos.[37,38]

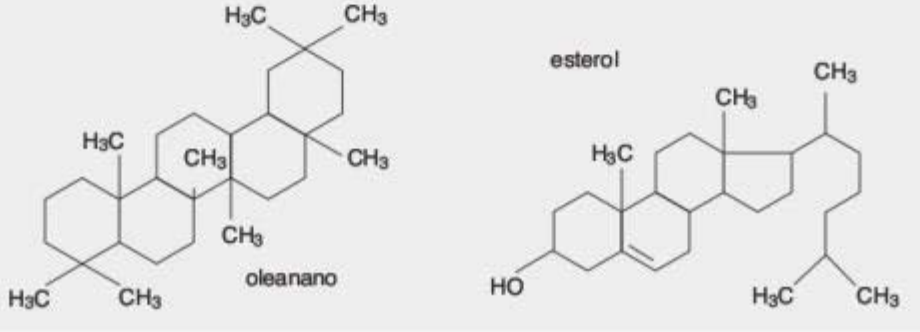
Saponinas

Son glucósidos amargos que pueden causar hemólisis en eritrocitos, extremadamente tóxicos para animales de sangre fría (por ejemplo, anfibios y peces) por su propiedad de bajar la tensión superficial y poseen tres propiedades distintivas, zona saber: sabor amargo, potentes surfactantes y producción de hemólisis sobre los eritrocitos.[6] Se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, en productos como soya, alfalfa, té, remolacha, espinacas, espárragos, avena y garbanzo; también se les encuentra en el veneno de las serpientes y en el de las estrellas marinas (figura 11.3).

Favismo

En algunos casos un alto consumo de habas (*Vicia faba*) puede causar anemia hemolítica, también conocida como favismo, problema que se presenta en Sardinia, Italia, Sicilia, Cerdeña, Grecia, Irak, etc. La ingesta de habas, principalmente frescas, su harina o la inhalación de su polen, produce favismo y ocasiona dolor de cabeza, fiebre (de unos 39 °C, trastornos gastrointestinales, anemia hemolítica severa, hemoglobinuria, hematuria (sangre en orina) masiva, seguida de anuria (supresión de la secreción urinaria). En este trastorno aparece también metahemoglobina, que puede considerarse 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.

Figura 11.3 Estructura básica de saponinas esteroidales (oleanano) y de triterpenoides (esterol).



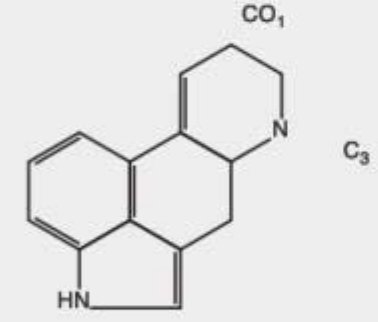
Cereales

Entre los tóxicos asociados con los cereales se encuentran las micotoxinas producidas por hongos, principalmente: *Clavíceps, Penicillium, Aspergillus* y *Fusarium*. También existe el riesgo de que algunos granos contengan concentraciones elevadas de ácido fítico, o que presenten inhibidores de amilasas.

Toxinas producidas por hongos (micotoxinas)

Son compuestos derivados del metabolismo de hongos verdaderos *(Eumicetos)*, conocidos como micotoxinas; al trastorno o enfermedad que causa 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 los 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. Se les relaciona con dosis bajas y prolongadas, que causan una toxicidad crónica. Debido a la gran variedad que presentan las micotoxinas, tanto en su estructura como en sus efectos tóxicos, sólo se describen algunas de las más importantes, según la especie que las produce: toxinas de *Claviceps, Aspergillus, Penicillium* y *Fusarium*, entre otros.[5]

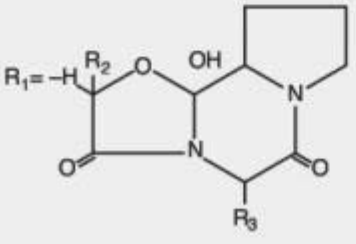
Figura 11.4 Alcaloides de ergotina producidos por *Claviceps purpurea*.



ÁCIDO LISÉRGICO

R_1 = –OH(ácido carboxílico)
(–) ácido lisérgico
(+) ácido isolisérgico

R_1 = –N–Et_2 (N,N dietilamina)
(–) ácido dietilamida lisérgico (LSD)



R_1= –NH–CH– $_2$–OH (Ergonovina)
C_3

POLIPEPTÍDICO	R_2	R_3
Ergocristina	$(CH_3)_2$–CH–	⬡–CH_2–
Ergostina	CH_3– $_2$–	⬡–CH_2–
Ergotamina	CH_3–	⬡–CH_2–
Ergocriptina	$(CH_3)_2$–CH–	$(CH_3)_2$–CH– $_2$–
Ergocornina	$(CH_3)_2$–CH–	$(CH_3)_2$–
Ergosina	CH_3–	$(CH_3)_2$–CH– $_2$

● Toxinas de Claviceps

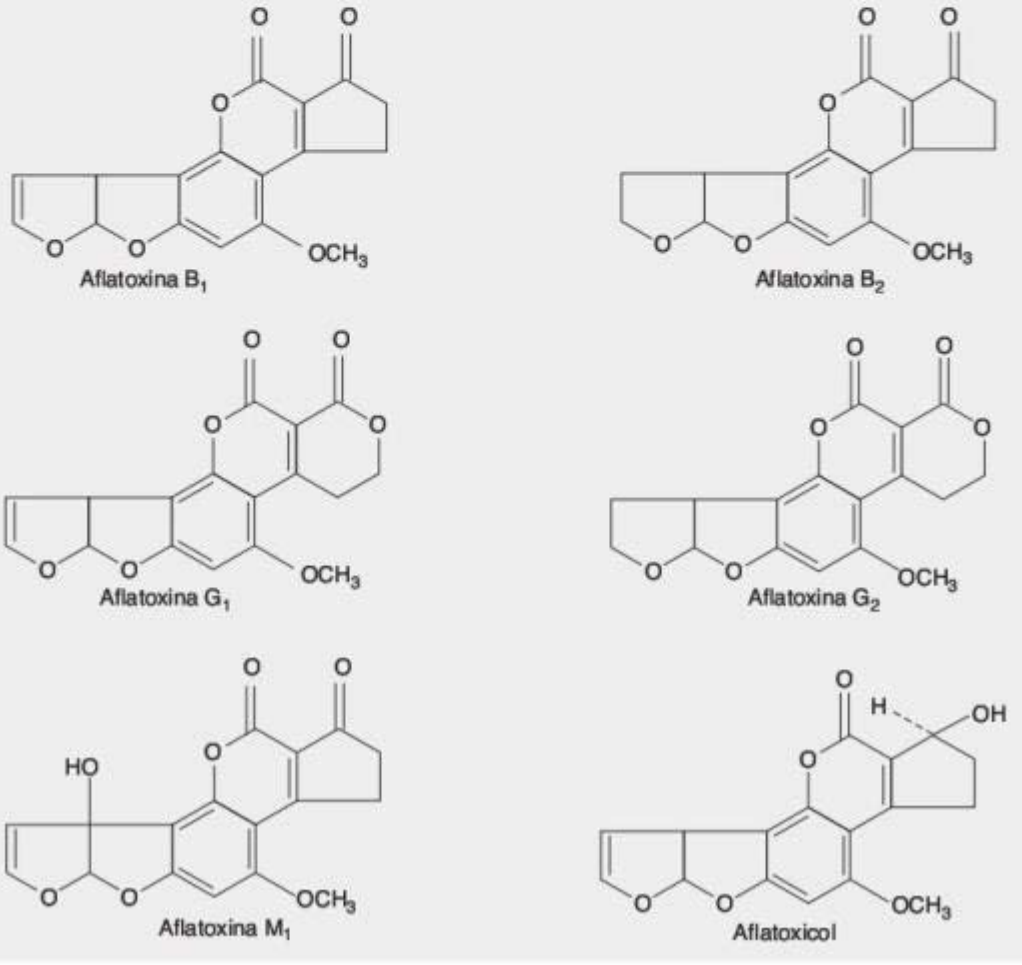
Desde la Edad Media se conoce el trastorno del "cornezuelo de centeno", también denominado "ergotismo", cuyo responsable es el hongo *Claviceps purpurea*, un parásito del centeno. Entre los alcaloides del Ergot se encuentran: ergotamina, ergocristina, ergocriptina, ergometrina, etc. La ingesta de centeno contaminado con estos alcaloides puede causar gangrena por efectos de vasoconstricción. Según la dosis ingerida, se presenta un estado de alucinación semejante a la que padecía san Antonio (figura 11.4).[36]

● Toxinas de *Aspergillus*

Entre las toxinas producidas por el *Aspergillus* se encuentran la aflatoxina y la ocratoxina, aunque se sabe que existen muchas más.

El término aflatoxina designa una serie de compuestos fluorescentes del tipo de las furanocumarinas, donde la aflatoxina B_1 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]

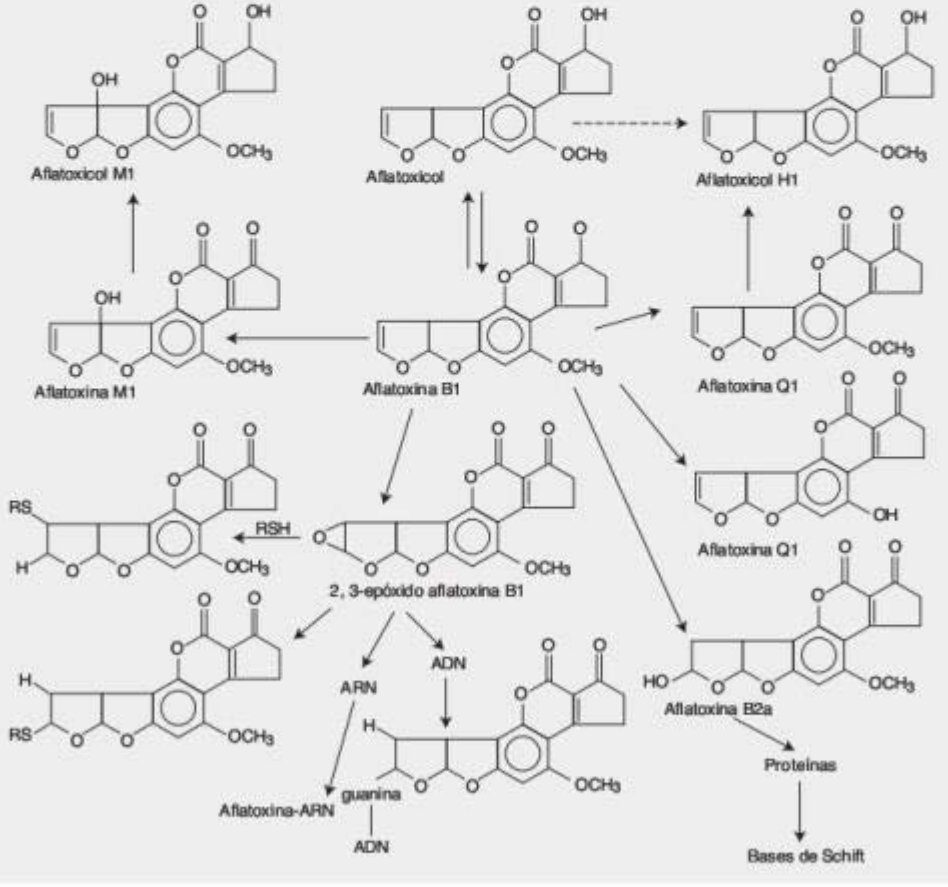
Figura 11.5 Aflatoxinas.



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 de 70%; los alimentos en los que puede desarrollarse son maíz, cacao, sorgo, trigo, avena, centeno, algodón, cacahuate, etcétera.[34, 44]

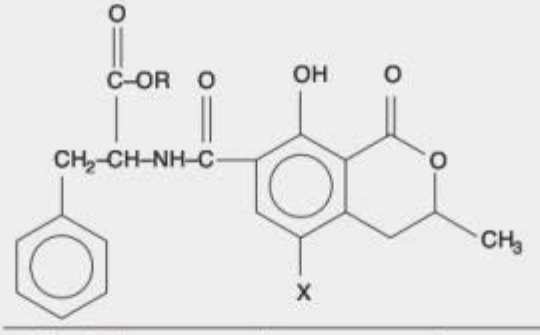
Las aflatoxinas más comunes son la B_1, B_2, G_1 y G_2, que pueden separarse por cromatografía en placa fina e identificárseles por su Rf, con respecto a un patrón. La aflatoxina B_1 es uno de los hepatocarcinógenos más potentes: ingerir sólo 15 μg/kg cada día es suficiente para causar cáncer y es excretada como aflatoxina M_1 en leche u orina. Otra forma de transformación de la B_1 es como aflatoxina P_1, la cual se elimina como glucurónido. Otro metabolito es el aflatoxicol, que se encuentra en el hígado de pollos alimentados con granos contaminados. No se debe olvidar que el precursor de la aflatoxina B_1 es la esterigmatocistina, que también tiene potencial toxicológico y, desafortunadamente, no es de fácil detección (figura 11.6).[67]

Figura 11.6 Biotransformación de la aflatoxina B_1; nivel de acción con ácidos nucleicos.



Otras toxinas asociadas 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, el cacahuate, el arroz, la soya, etcétera (figura 11.7).[32]

Figura 11.7 Ocratoxina.



Ocratoxina	X	R
A	Cl	H
B	H	H
C	Cl	CH_2–CH_3

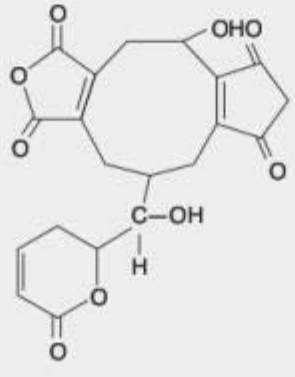
Se puede asumir que los principales órganos afectados son el hígado (degradación hepática), el riñón (necrosis renal) y el intestino delgado (enteritis).

● 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*, 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 otros granos. Esta micotoxina está muy relacionada en la intoxicación del ganado vacuno y cerdos, por consumo de maíz enmohecido o sus productos (figura 11.8).[47]

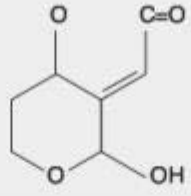
La patulina se conocía como clavacina, claviformina o expansina. Esta última puede producirla no sólo el *Penicillum* (donde el principal es el *P. expansum*), sino también *Aspergillus*, como el *A. calvatus* y *A. giganteus*.[10] Causa irritación local en los ojos y daños patológicos en

Figura 11.8 Rubratoxina B.



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.

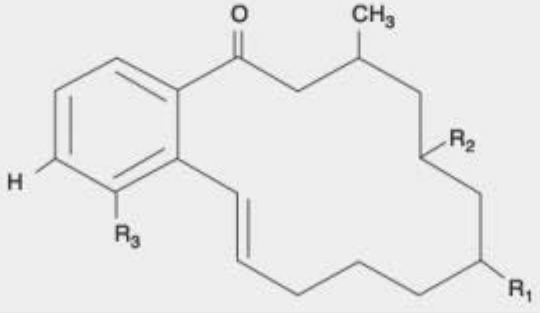


Otras toxinas del *Penicillum* son el ácido penicílico que también es cancerígeno y provoca convulsiones, coma y muerte. Se ha detectado en maíz, panes, pastas, manzanas y peras. La citrinina es una nefrotoxina con propiedades antibióticas, pero es tóxica para usarse como tal, así como la islanditoxina que es un péptido clorado cancerígeno.[22]

● Toxinas de Fusarium

Entre las toxinas producidas por el *Fusarium* (*F. roseum* o *F. graminearum*), está la zearalenona. Su manifestación 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 leucorrea; el útero se vuelve edematoso 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 peso normales. La toxina presenta una fluorescencia azul verdosa a la luz ultravioleta (figura 11.10).[9,47]

Figura 11.10 Zearalenona y sus derivados.

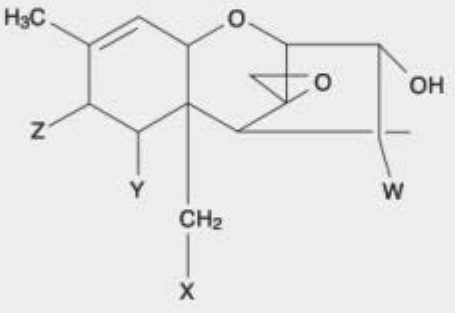


Zearalenona y sus derivados	R_1	R_2	R_3
Zearalenona	=O	H	H
8' -hidroxizearalenona	=O	OH	H
5' -formilzearalelona	=O	H	CHO
6', 8' -dihidroxizearalenona	OH	OH	H
Zearalenol	OH	H	H

Entre los más importantes tricótesenos que puede producir el *Fusarium* 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. niveum*) (Kinosita y Shikata, 1964). Los efectos tóxicos de los tricotecenos están asociados históricamente al consumo de mijo en Rusia, donde se le designó como 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, 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]

Otra toxina del género *Fusarium* es la vomitoxina, la cual ocasiona que los cerdos rehúsen ingerir alimentos contaminados con este compuesto. Su fórmula química es 3,7,15 trihidroxi-12,13-epoxi tricotec 9-en-8-ene. Esta toxina se ha detectado en arroz contaminado con *F. graminarium*.[76]

Figura 11.11 Tricotecenos.

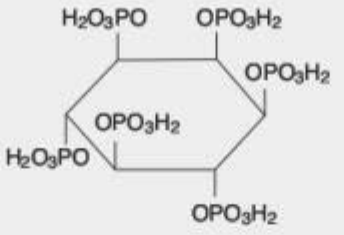


Tricoteceno	w	x	y	z
Toxina T-2	CH_3COO-	CH_3COO-	–H	$(CH_3)_2CHCOO-$
Diacetoxiscirpenol	CH_3COO-	CH_3COO-	–H	–H
Dioxinivalenol	–H	–OH	–OH	=O
Nivalenol	–OH	–OH	–OH	=O

Ácido fítico

El ácido fítico se encuentra naturalmente en diferentes alimentos, principalmente cereales, soya, zanahoria, etc., como un complejo de fitato-mineral-proteína; incluso se ha sugerido que también puede 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 contener ácido fítico cuando no se usan levaduras para su elaboración, debido a 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 fítico.



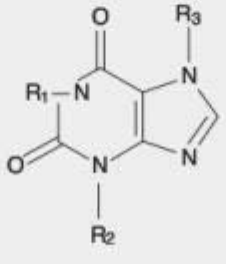
Inhibidores de amilasas

Son proteínas que se encuentran en el endospermo del trigo, el arroz, el mijo o la cebada. Son sensibles al calor y pueden afectar las α-amilasas salivales, pancreáticas, así como a 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.

Bebidas estimulantes

El café, el té y el 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, de modo que se consideran relativamente no tóxicos (figura 11.13).

Figura 11.13 Xantinas estimulantes.



Xantina	R_1	R_2	R_3
Cafeína	+	+	+
Teobromina		+	+
Teofilina	+	+	
Paraxantina	+		+

Es probable que el uso y consumo de cafeína se remonte a la era paleolítica, dado que está ampliamente distribuida en diferentes plantas, entre las que se encuentran varias de Sudamérica como la guaraná, la cola, el yoco y el mate. Existen indicios de que 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, a la que se designó *gahwah* o *kahveh* en turco; más adelante se transformó en el café (en español y francés) y *kaffee* (en alemán).[54] El consumo excesivo de cafeína produce un estado de ansiedad, que tiene efectos cardiovasculares, diuresis y un aumento en la secreción gástrica. Para la legislación estadounidense[54] no es un aditivo en bebidas carbonatadas, ya que por lo general se parte de un extracto de las semillas de la planta de cola.

Por su parte, el té proviene de las hojas de *Camellia sinesis*. En una taza de esta bebida pueden encontrarse hasta 60 mg de cafeína, además de otros compuestos en menores cantidades relacionados con 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; no es estimulante del sistema nervioso central.[11]

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 de manera importante, 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, donde al azufre se le sustituye en cistina, glutatión, metionina, etc. En animales causa malformación en las pezuñas y los huesos. Este metal se acumula en plantas silvestres como *Astralagus* sp. y *Lecythys ollaria*.

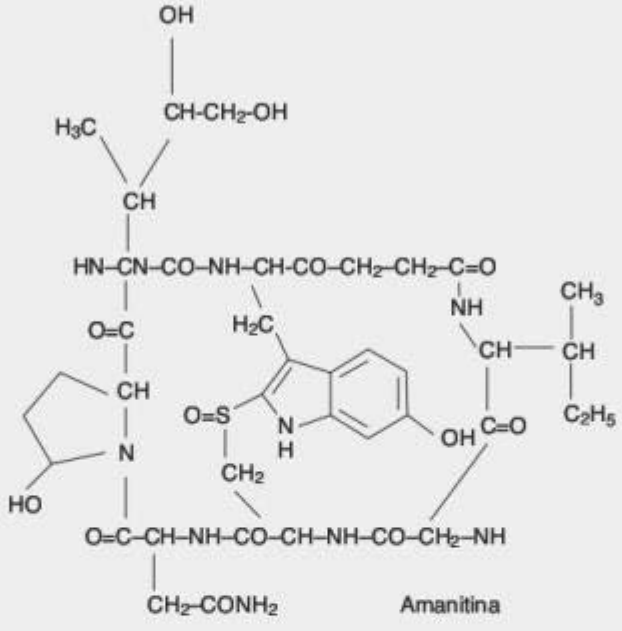
Entre los aminoácidos tóxicos se encuentran los que no forman parte de la estructura primaria de las proteínas, pero pueden actuar como antimetabolitos o tóxicos en su forma libre. Algunos autores han clasificado a los aminoácidos no proteínicos desde el punto de vista estructural, en dos grupos: los que tienen una estructura muy similar, con los proteínicos denominados análogos, como la canavanina y la mimosina, entre otros; los aminoácidos raros son el otro grupo que tiene una estructura diferente, que incluyen a la latirina o la hipoglicina.

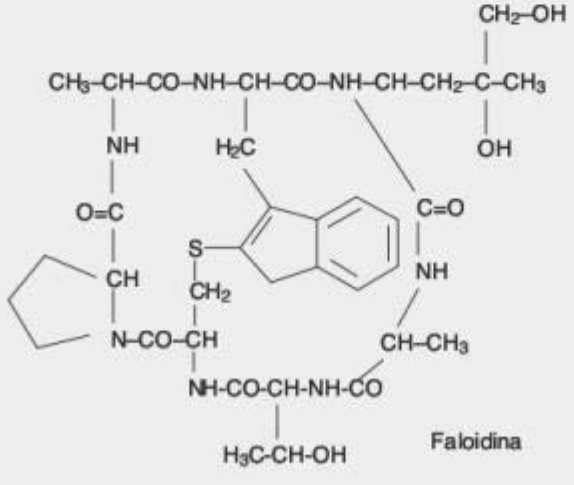
Amatoxina y falotoxina

Provienen de hongos del género *Amanita*, los cuales se confunden fácilmente con hongos silvestres comestibles, lo que explica la cantidad de reportes de intoxicaciones debidas a su ingestión. 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 triptófano; además presenta una leucina hidroxilada.[45] Las amatoxinas actúan con lentitud,

no importa cuán elevada sea su dosis. Su acción es bloquear la transcripción de las RNA 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 DNA-RNA-polimerasa (figura 11.14).

Figura 11.14 Amanitina y faloidina.



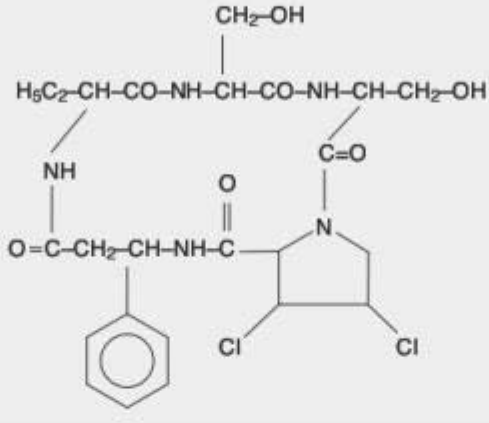


Islanditoxina

Esta toxina proviene del *Penicillium islandicum*, el cual se asocia con el arroz mohoso[52] y es responsable de hepatocarcinomas. La DL_{50} por vía intravenosa en rata es de 338 $\mu g/kg$. Es una

molécula cíclica que contiene cloro que, si se elimina, pierde su toxicidad.[36] Esta micotoxina es un agente hepatotóxico, ya que puede causar una muerte rápida debido a que causa una fuerte hemorragia y daños severos al hígado; también se ha observado que causa daños al páncreas (figura 11.15).

Figura 11.15 Islanditoxina.



Toxina botulínica

Del latín *botulus*, embutidos, es una toxina de origen proteico y 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 de forma presináptica. 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.

Toxinas de *Stafilococcus* sp.

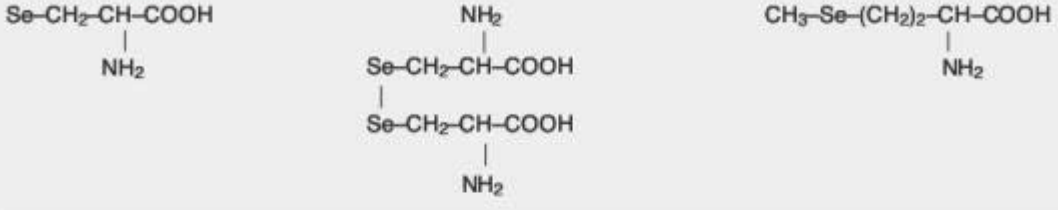
Estas toxinas son altamente resistentes al calor durante la cocción. En monos, su efecto emético (vómito) se presenta cuando se ingiere vía oral en concentraciones de 5 μg. Los síntomas son: dolor de cabeza, náuseas, dolores estomacales y fiebre. La recuperación completa se presenta de 24 a 72 horas.[52]

Selenoaminoácidos

En Estados Unidos, Irlanda, Australia, Israel y países de Centro y Sudamérica existen suelos con un alto contenido de selenio. Plantas que crecen ahí suelen almacenar selenio en forma de análogos de aminoácidos azufrados, como la L-selenometionina o L-selenocisteína, los cuales pueden ser incorporados a proteínas; pueden tener una concentración de hasta

15 000 mg/kg. Entre los síntomas de intoxicación por selenoaminoácido (enfermedad alcalina) están 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.



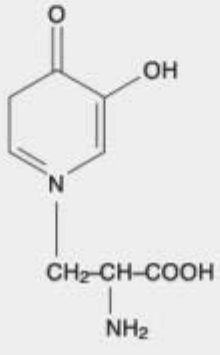
Canavanina

Es un análogo y un antimetabolito de la arginina, que se encuentra en las plantas del género *Papilionoides*. 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. Al parecer, la canalina 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 todo indica que se encuentra ampliamente distribuida en semillas de leguminosas, en concentraciones que pueden alcanzar el 10% en base seca.[3]

Mimosina

A este aminoácido se le ha detectado en la *Leucaena glauca* (guaje), la cual crece en América Central y Sudamérica, así como en otras especies de *Leucaena* (Lucas *et al.*, 1988). Presenta efectos tóxicos por el aminoácido leucenia o mimosina que constituye 5% de su proteína. La sintomatología incluye pérdida de cabello, anorexia, crecimiento retardado, parálisis de las extremidades y cataratas (figura 11.17).

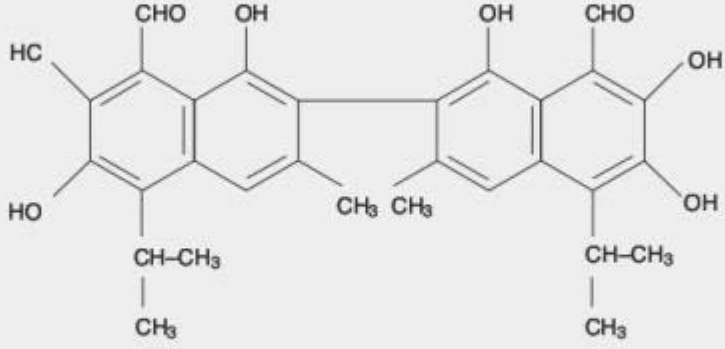
Figura 11.17 Mimosina.



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 para el ganado y no presenta efectos tóxicos en rumiantes cuando hay una masticación prolongada. Los síntomas de intoxicación por gosipol son pérdida de apetito y 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, sustancia que desempeña un papel muy importante en la producción de espermatozoides (figura 11.18).

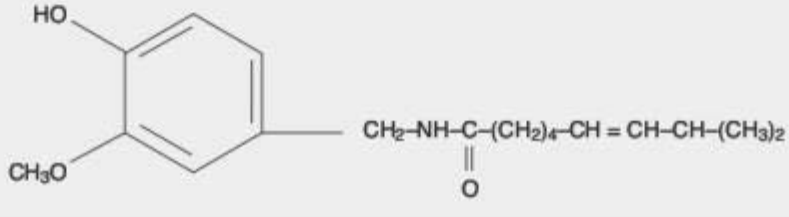
Figura 11.18 Gosipol.



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, aunque se cree que en las semillas se acumula por difusión (cuadro 11.3). Entre sus efectos fisiológicos se encuentran alteraciones de temperatura, transpiración (lo que 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]

Figura 11.19 Capsaicina.



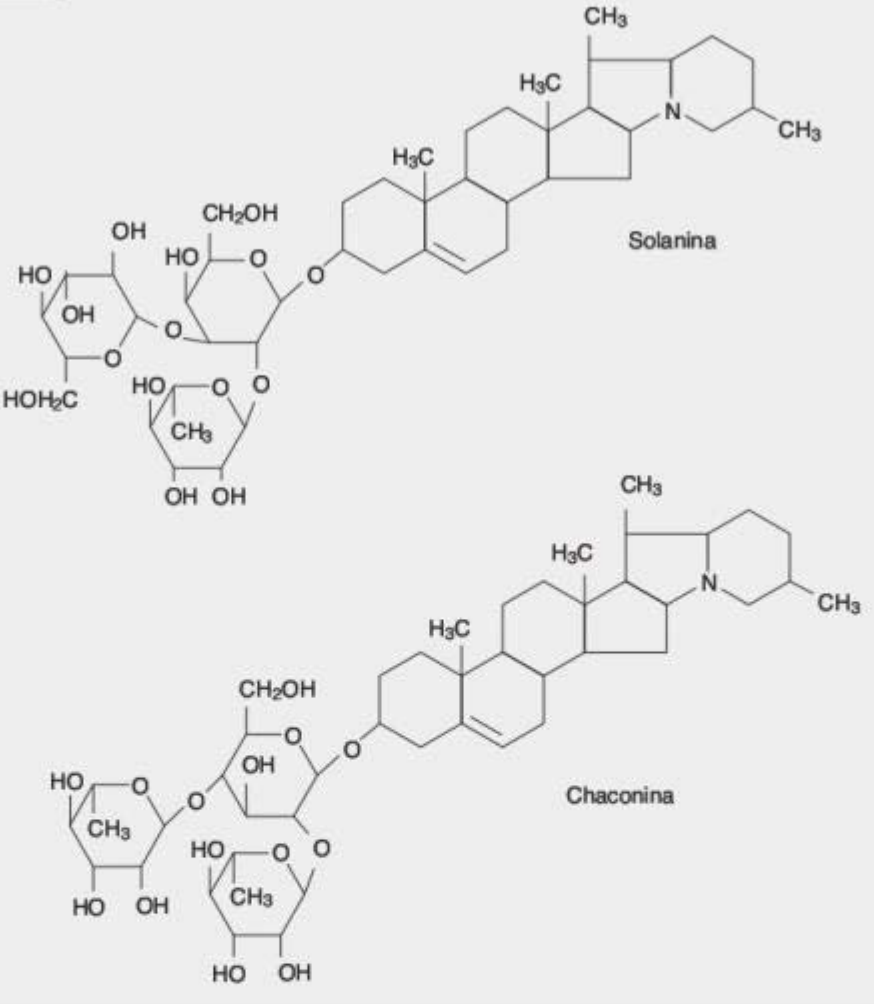
CUADRO 11.3 **Nivel de pungencia de algunos chiles (*Capsicum* sp.)**

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*)	EU	-	-
Tabasco	México	-	-
Ancho	México	-	-
Habanero	México	-	-
Nigeriano	Nigeria	-	0.6
Páprika húngara	Hungría	-	0.00 - 0.3
Pimentón rojo	México/EU	-	0.25 - 0.45
Etiopie	Etiopía	-	0.35
Turco	Turquía	-	0.083
India	India	-	1.05 - 1.59 (0.6 - 1.86)

Solanina y chaconina

Las papas inmaduras presentan glicoalcaloides (solanina y chaconina) en el rango de 1-13 mg/100 g, 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 que produce incluyen 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).

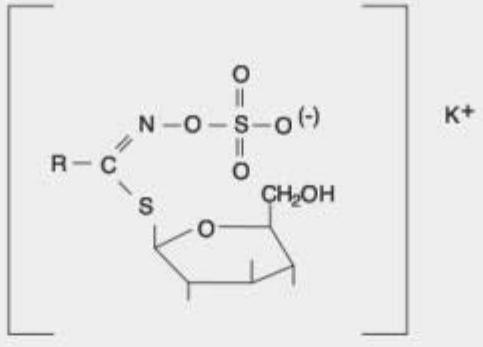
Figura 11.20 Solanina y chaconina.



Sustancias promotoras de bocio

Aunque existen 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 Crucífera y, en el caso de los que están presentes en los alimentos, se restringe al género *Brassica*.[12] Su acción se debe a que inhiben la disponibilidad del I_2 para la glándula tiroides, lo que causa hipertrofia de esta glándula. Además, este tipo de tioglucósidos son responsables de la naturaleza picante o pungente característica de cada especie vegetal que los contiene. Estos compuestos se encuentran en plantas crucíferas, especialmente en sus semillas (mostaza, col, berza, nabo, colecitas de Bruselas, rutabagas, etc.); 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 el azúcar es la β-D-tioglucosa, Este tipo de compuestos con actividad antitiroidal, pueden presentarse en algunos alimentos de origen vegetal y, como vimos al principio, son particulares del género *Brassica;* sin embargo, otra de sus características es que pueden encontrarse varios tipos a la vez en la planta que los contiene, es decir, no hay un glucosinolato específico que asocie a cada especie.[27]

Toxinas en mariscos y peces

Algunas intoxicaciones cuyo origen es la ingestión de productos del mar (pescados y mariscos), se explica porque su alimentación es a base de dinoflagelados o algas productoras de toxinas. Pueden producirse intoxicaciones leves u otras de mayores consecuencias. Entre los mariscos que se alimentan con algas están los mejillones, las almejas, los ostiones y los peces ciguatera.[13,61] Esta intoxicación se debe al consumo de pescados que se alimentaron de algas como *Schizothrix calcicolu*. Se considera un problema esporádico, que se presenta en el Caribe y regiones cálidas. Se ha detectado en guachinango, barracuda y tiburón. Cuando se consumen pescados contaminados, pueden presentarse síntomas como cosquilleo en labios, lengua y garganta con un adormecimiento posterior, náusea, vómito, sabor metálico, boca seca, dolor abdominal, escalofríos y debilidad muscular.

Saxitonina

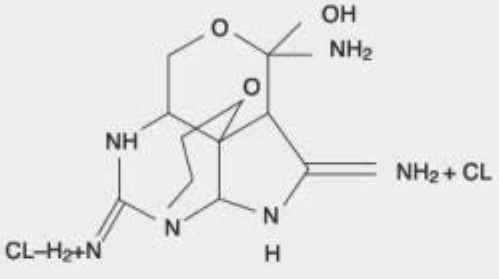
Algunos mariscos no producen toxinas, pero sí son capaces de almacenarlas al ingerir dinoflagelados tóxicos como *Gonyaulax catenella* y, si el ser humano los ingiere, puede presentar síntomas como adormecimiento de labios, lengua, yemas de los dedos, piernas, brazos y

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 que 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 hasta 50% de la toxina (figura 11.22).

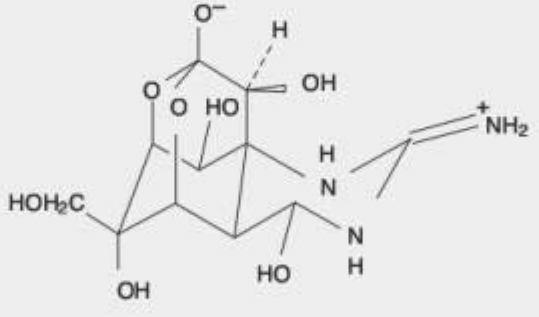
En grandes cantidades (20 000 células/ml), estos dinoflagelados pueden impartir una coloración rojiza al mar, y son los causantes del fenómeno conocido como "marea roja".

Es necesario hacer un muestreo de las fuentes de moluscos en los meses de mayo a octubre, en el hemisferio norte, debido a que es la época de reproducción de los dinoflagelados. Cabe comentar que los síntomas son muy similares a la acción de la tetradoxina.

Figura 11.22 Saxitoxina y tetradotoxina.



Saxitoxina



Tetradoxina

Tetradoxina

Esta molécula está asociada con el consumo de pez globo (*fugu*) que pertenece a la familia *Tetraodontidae*. En países orientales, como Japón, este pez acumula la toxina en ovarios, hígado, intestino, piel y hueva.[56] Su consumo se considera una delicadeza para el paladar. Sin embargo, su intoxicación propicia síntomas como 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, dado que bloquea la acción fisiológica de los iones sodio e inhibe los impulsos nerviosos.

Antivitaminas

Definir las antivitaminas es algo que se presta a confusión, ya que deben considerarse características como *a*) estructura química similar a la de la vitamina asociada; *b*) similitud entre los efectos producidos por la deficiencia de la vitamina y por la antivitamina, y *c*) compite por sus efectos.

Sin embargo, a la avidina, antitiamina y antagonistas de la vitamina D en estas condiciones no se les puede considerar como antivitaminas, porque no cumplen con una o más de las características referidas. Con base en esto, se define a las antivitaminas como una clase especial de compuestos, dentro de los diferentes antimetabolitos, que disminuyen o anulan el efecto de una vitamina de 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 vez primera 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, etc. 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 (por ejemplo, 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 posible factor de antitiamina. Esta vitamina (B_1, tiamina) se requiere para el metabolismo de carbohidratos y su deficiencia causa anorexia, fatiga, debilidad muscular y beriberi.

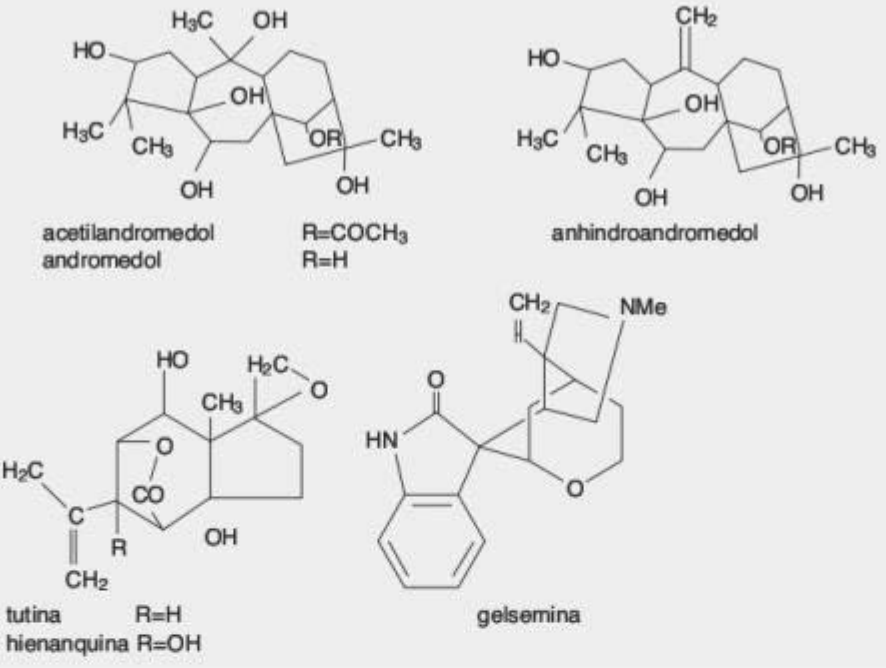
Otras fuentes de antitiamina pueden ser los helechos, el arroz y las cerezas. Este factor es termoestable. Cabe resaltar que las moléculas responsables tienen una estructura fenólica y no enzimática, como el ácido cafeico (ácido 3,4 dehidroxicinámico).

Tóxicos presentes en la miel de abeja

Desde la antigüedad a la miel de abeja se le considera responsable de intoxicaciones por la contaminación de néctares o polen tóxicos. Entre las plantas tóxicas asociadas con esa contaminación están las Fricareas, como *rhododendron, azalea, andrómeda* y *kalmia* (figura 11.23).[80]

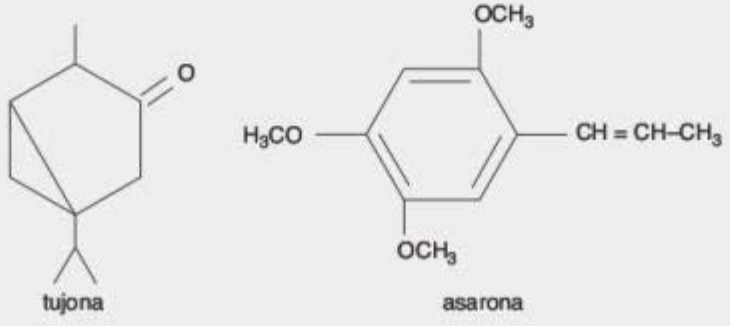
Es conveniente aclarar que la posibilidad de que una miel esté contaminada por este tipo de compuestos es muy remota, debido a que estas sustancias son también tóxicas para las abejas, razón por la cual estos insectos tratan de evitar la recolecta de polen y néctar de esas plantas.

Figura 11.23 Tóxicos presentes en la miel de abeja.



La esculina puede ser otro tóxico presente en la miel y se encuentra en el néctar y polen de la planta *Aesculus* sp. La tutina y la hienanquina se han aislado del árbol de Tute (*Coriaria arborea*). La tutina, a dosis de 1 mg en humanos, provoca náuseas, vómitos e incapacidad de trabajar por 24 horas. Esa cantidad puede estar contenida en 25 g de miel. Otros de sus síntomas son: delirios, mareos, dolores abdominales, cefalea, excitación, estupor, coma, convulsiones y pérdida de la memoria. Puede haber otras plantas que contaminen a la miel de abeja, como la *Datura stramonium* (toloache), *Hyoscyamus niger* y *Gelseemium sempervirans* (falso jazmín o jazmín 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 vermút. Está presente en el aceite de cálamo y se le asocia con depresión, aumento de líquidos en el abdomen, problemas cardiacos y hepáticos. También se le ha asociado con tumores en ratas. Su consumo está prohibido en algunos países, como en los Estados Unidos (figura 11.24).

Figura 11.24 Tujona y asarona.



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 ($CH_3{-}CH_2{-}O{-}CO{-}NH_2$) 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 metilhidrazina, la agaritina y el ácido parahidrazinbenzoico, todos presentes en diversos hongos comestibles (*Gyromitra esculenta, Agaricus bisporus* y *Cortinellus shiitake*). Muchos han demostrado su capacidad mutagénica y carcinogénica en distintos animales de laboratorio y atacan principalmente el estómago y los pulmones a diferentes velocidades. La concentración en que se encuentra varía 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 ($CH_2{=}CH{-}CH_2{-}N{=}C{=}S$) son responsables del aroma característico de muchos vegetales tales como el rábano, la mostaza, el brócoli, la col, etc. El isotiocianato de alilo proviene de la hidrólisis enzimática de los tioglucósidos sinigrina y sinalbina, que son atacados por una betagalactosidasa cuando el tejido del fruto es cortado, mordido, etc. En pruebas de laboratorio se ha demostrado que el consumo excesivo del isotiocianato de alilo provoca cáncer en las ratas; por otro lado, este compuesto forma parte del aroma y el sabor de la cebolla y el ajo.

Se sabe que algunos derivados de la pirrolizidina tienen la capacidad de ser mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, y que se encuentran en muchas plantas, principalmente las que se utilizan para preparar infusiones. A pesar de que en realidad no son modificadas, se les incluye en este grupo, debido a 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 ($NH_2COOCH_2CH_3$) se encuentra en muchos alimentos fermentados, como en los derivados lácteos, la cerveza, el vino y el pan; si se administra a 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 la cafeína, el diacetilo, el glioxal, el metilglioxal, el 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.

Compuestos producidos por altas temperaturas

Durante la industrialización y preparación de muchos alimentos, por lo general se emplean distintos tratamientos térmicos como la pasteurización, la esterilización, el cocimiento, el

horneado, el freído, etc. Cada uno se efectúa en distintas condiciones de temperatura, lo que favorece diversos cambios químicos. De igual manera, debido a la complejidad de las características y composición de los alimentos (pH, actividad acuosa, potencial de oxidorreducción, disponibilidad de reactantes, etc.), durante su calentamiento se generan muchas sustancias orgánicas cíclicas, por ejemplo pirazinas, pirimidinas, furanos, derivados del antraceno, etc. Muchas de estas reacciones son responsables del aroma y el 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.

● Reacción de Maillard

Forma parte de un grupo de transformaciones típicas que dan origen a los colores y algunos sabores típicos de muchos alimentos (por ejemplo, pan, huevo, leche, etc.), cuando se someten a un tratamiento térmico; de acuerdo con la intensidad, la coloración varía desde amarillo ligero hasta café intenso. En relación con su posible toxicidad existe mucha controversia, debido a que los estudios se han realizado en sistemas modelo rígidos y simples, como la reacción entre la glicina y el almidón, 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, etc., 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, que, en general, tiene una repercusión benéfica, dado que destruye compuestos tóxicos como las hemaglutininas o los 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, la cual 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 y forman 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 se relaciona 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 la que se utiliza una cepa mutada de *Salmonella*, que depende de la histidina para su crecimiento y 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 ocurren 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 básicas para el aroma de los alimentos tratados de forma térmica (por ejemplo 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]

● Degradación de aminoácidos y proteínas

La degradación pirolítica del triptófano ha dado origen a compuestos mutagénicos potentes 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 son tan potentes como los anteriores. Por su parte, los pirolizados de las proteínas de soya también han demostrado tener esta actividad.

● Termodegradación de lípidos

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 estos compuestos se forman al momento en que la grasa cae directamente en las brasas o está expuesta a temperaras mayores de 200 °C. Muchos de ellos se han relacionado de forma directa con el cáncer de colon y próstata de quienes consumen excesivas cantidades de grasas muy calentadas.[78]

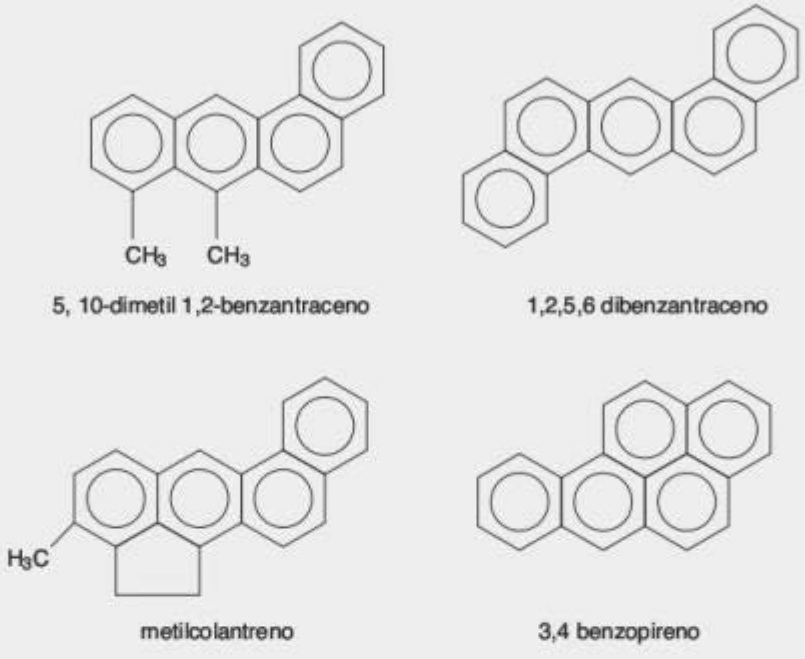
Algunos hidrocarburos policíclicos aromáticos que están presentes en alimentos son: benzantraceno, benzofluorantreno, benzoperileno, benzopireno, criseno, metil criseno, coroneno, dibenzantraceno, dibenzocriseno (antrantreno), fluorantreno, perileno, fenantreno, pireno, metil pireno y trifenileno. Todos 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 poliinsaturadas, que son fácilmente oxidadas durante la elaboración de frituras como papas a la francesa, "carnitas", "chicharrón", etc. Un consumo elevado de grasas termooxidadas 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 hematócrito, contenido menor en hemoglobina y disminución en la capacidad total de unión del hierro con la hemoglobina. De forma paralela a una deficiencia en hierro, se forma el malondialdehído, que al reaccionar con aminofosfolípidos y proteínas de las membranas provoca 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, quienes consumen dietas elevadas en grasas, son mucho más susceptibles a desarrollar cáncer en pecho, colon y próstata.[15] En general se asume que países consumidores de grasas tienen una incidencia mayor de cáncer mamario que aquellos 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 hidrocarbono 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 correspondiente; 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 typhiimurium* TA98, TA100 y TA1535.

Figura 11.25 Aromáticos policíclicos.



● Nitrosaminas

Muchos de estos compuestos son cancerígenos y resultan de la reacción del óxido nitroso (NO) con las aminas secundarias y terciarias, durante el curado de los productos cárnicos embutidos. Debido a eso 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, etc.; cabe aclarar 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 90% de éstas han mostrado ser cancerígenas. Si se considera 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 referidos. A las nitrosaminas (N-nitrosodimetilamina y N-nitrosodietilamina) se les adjudica un poder carcinogénico muy potente, sobre todo en estómago y 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 μg/kg de producto.

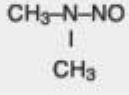
Entre las nitrosaminas más comunes en alimentos y bebidas como leche descremada, malta, proteína de soya, tocino, chicharrón, salchichas, quesos, hamburguesas, cerveza y whisky están: N-nitroso dimetil amina, N-nitroso etil metil amina, N-nitroso dietil amina, N-nitroso metil propil amina, N-nitroso 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 ocurre con carnes curadas y fritas, algunos embutidos y el tocino.[25,29,49,55] Las nitrosaminas formadas a partir de aminoácidos y nitrito provocan cáncer en los tractos digestivo, urinario y respiratorio, así como en el hígado y el sistema reproductor.[60,82] En el caso de infantes de 4 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 tiene el objetivo de prever el riesgo mayor de 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 compiten con las aminas secundarias por las especies susceptibles a nitrosación.

Recientemente[25] 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; así se forman óxidos de nitrógeno capaces de reaccionar con aminas secundarias. Otros procesos similares son los que se siguen 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, etc.), 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 lo anterior 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).

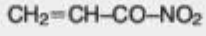
Figura 11.26 Dimetil nitrosamina.



● Acrilamida

Es un potencial carcinogénico, cuyos sinónimos son monómero de acrilamida, o propenamida. La primera 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 descubrió que podía formar cáncer en animales de laboratorio. Es una molécula sencilla que en 2002 se identificó y asoció con los alimentos en Suecia (figura 11.27).

Figura 11.27 Acrilamida.



Se han realizado diversos 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 en los que se ha detectado es realmente grande; entre ellos están 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 obliga a reconsiderar los conceptos de inocuidad y establecer límites de seguridad para aquellos que representen algún riesgo para la salud, o que existan condiciones adecuadas de procesamiento que minimicen su formación, de modo que el consumidor cuente con alimentos no sólo apetecibles, sino también libres de tóxicos.

● 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.[30,38] (figuras 11.28 a 11.30).

Figura 11.28 Representación de un ácido graso saturado.

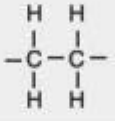


Figura 11.29 Representación de un ácido graso insaturado.

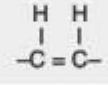
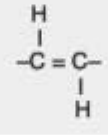


Figura 11.30 Representación de un ácido graso *trans*.



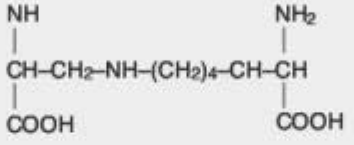
Normalmente los aceites y grasas se encuentran en la forma *cis;* la mayoría de los ácidos grasos se forman mediante el proceso de hidrogenación de aceites insaturados, pero cuando los rumiantes ingieren grasas insaturadas, éstas pueden ser parcialmente hidrogenadas por bacterias del rumen, de manera que las grasas de la leche, la res o el 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 elaídico (18:1 t 9). También se ha encontrado algo de ácidos grasos *trans* en la manteca de cerdo, probablemente por los alimentos que consume.

La principal fuente de la forma *trans* en alimentos, es por el proceso de hidrogenación para formar margarinas o aceites parcialmente hidrogenados; también se forman por las temperaturas altas. En los alimentos, sobre todo las grasas hidrogenadas (parcial o totalmente) se utilizan mucho por su estabilidad a la oxidación y por poder controlar su punto de fusión. Entre los alimentos que las utilizan están las papas fritas, los caldos, las galletas, las sopas, los panes, los pasteles y los aderezos.[73]

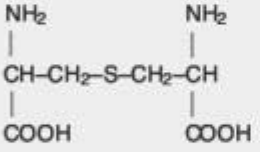
Racemización de aminoácidos y formación de isopéptidos

La racemización y la formación de isopéptidos como lisinoalanina (LAL), lantionina y ornitioalanina (figura 11.31) se realizan durante varios procesos alcalinos aplicados a los alimentos, como sería la nixtamalización del maíz para elaborar tortillas, o al tratar de mejorar las propiedades funcionales de las proteínas del suero de queso, otros procesos alcalinos se encuentran en la manufactura de algunos tipos de chocolates.[21,43,51,57]

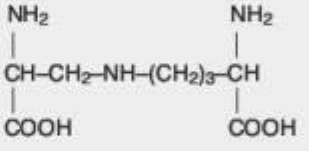
Figura 11.31 Lisino-alanina, lantionina y ornitioalanina.



Lisino-alanina



Lantionina



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 desviar 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]

Bender[4] reporta valores de 350 μg de lisinoalanina por gramo de clara de huevo frita (10 minutos), que para algunas muestras comerciales de claras de huevo puede ser hasta de 1,8 μg/g. En aislados de soya se encuentra desde 0 hasta 370 μg/g. Con base en estos valores, se considera que en la formación de lisinoalanina no necesariamente debe haber un medio alcalino, sino que puede ser suficiente un tratamiento térmico.

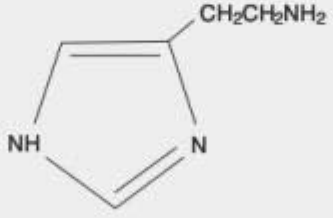
Formación de aminas biógenas

Por lo general las aminas biógenas se forman por la decarboxilación 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 endocrinas. 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 e inflamaciones, todo lo cual produce el cuadro de choque histamínico. La histamina puede causar manifestaciones respiratorias como disnea asmática por broncoespasmos.[42, 72]

La tiramina es un aminoácido vasoactivo presente en quesos, vinos y pescados (arenque); también en cerveza y frutas como plátano, aguacate, naranja, ciruela, nueces, etc.[42] Funciona como 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 decarboxilación de la tirosina (aminoácido presente en muchas proteínas).

La serotonina es un potente neurotransmisor y vasoconstrictor que se forma a partir de triptófano que se ha encontrado en plátanos. Otras aminas identificadas en varios alimentos son: dopamina, dimetilamina, etilamina, trimetilamina, propilamina, butilamina, putrescina, cadaverina, etc. Muchas de ellas se han asociado a la pudrición de alimentos, o bien pueden formar parte de su aroma y sabor. En condiciones controladas, muchos de estos compuestos forman parte del proceso de añejamiento.[42]

Figura 11.32 Histamina.



Fumigantes y disolventes

El óxido de etileno se utiliza 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 especias. El óxido de etileno reacciona con cloruros inorgánicos para dar etilen-clorhidrina ($Cl\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH$), 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, considerado un potencial carcinógeno.

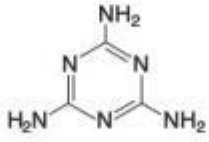
Comentarios finales

La toxicología de alimentos es dinámica y se cuenta con diferentes estudios sobre compuestos cuya existencia ni siquiera se sospechaba; tampoco era posible su detección o se ha descubierto que sus orígenes son actividades terroristas o de fraude. Algunos ejemplos son: bisfenoles, acrilamida, melamina y clembuterol.

El Bisfenol A (BPA) se emplea para endurecer los plásticos tipo policarbonato, por ejemplo el que se utiliza para fabricar biberones y recubrimientos internos de las latas de aluminio. Al calentarse, estos recipientes podrían liberar BPA y potencialmente ser absorbido. El BPA simula los efectos del estrógeno, con alteraciones en el desarrollo de fetos e infantes; también se le ha asociado a un incremento de diabetes y enfermedades cardiovasculares. En los Estados Unidos, el Centro de Control de Enfermedades (o CDC por sus siglas en inglés) encontró que a partir de los seis años 93% de la población en ese país da positivo a BPA. Algunos estudios relacionan el efecto estrogénicos a una "feminización" en el comportamiento de los ratones macho adultos, cuando estuvieron expuestos durante su crecimiento al Bisfenol A.

La acrilamida se forma por la reacción de asparagina con glucosa a altas temperaturas, en alimentos ricos en carbohidratos y bajos en proteínas, como papas a la francesa. Se considera un agente causante de cáncer, de acuerdo con lo que en 2002 detectaron en Suecia (Swedish National Food Authority). La acrilamida se ha encontrado en niveles desde 37 $\mu g/kg$ para pan hasta 1 504 µg/kg para sustitutos de café.

Intoxicaciones asociadas a melamina comenzaron a hacerse evidentes alrededor de 2006, con fallas renales agudas en mascotas, presentes en gluten importado de China. La intención de agregar este compuesto se debe a su alto contenido de nitrógeno, lo que en análisis de proteínas da contenidos altos falsos de proteína. Desafortunadamente en 2008 se reportaron diferentes adulteraciones en leche maternizadas con melamina, que provocaron la muerte de por lo menos seis bebés y la enfermedad de unos 300 mil. La estructura de la melamina es:



Animales alimentados con Clembuterol aumentan su masa muscular y reducen su tejido graso. Estos compuestos han sido prohibidos para consumo humano y se ha restringido para animales. Entre los efectos adversos que tienen están: taquicardia, hipokalemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia. Residuos de Clembuterol en los alimentos o su uso para aumentar la masa corporal en humanos, pueden causar alteraciones en las funciones de pulmones y corazón.

La toxicología de alimentos puede ser una herramienta invaluable para la implementación efectiva de un plan HACCP (siglas de *Hazard Analysis and Critical Control Points*, o Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos), ante la complejidad de procesos, aditivos, tóxicos naturales o generados por procesos o actividades humanas. La diversidad de riesgos asociados a peligros presentes en una planta, tienen que ser analizadas sistemáticamente, considerando insumos, procesos, potenciales contaminaciones, adulteraciones o fraudes intencionales, además de las evidencias para controlar los agentes biológicos (por ejemplo, patógenos), químicos y físicos. Afortunadamente existen diferentes estudios microbiológicos, médicos y toxicológicos que contribuyen a la toma de decisiones a partir del conocimiento científico.

El HACCP es preventivo y está sujeto a revisión permanente; al inicio de la década de 1990 no existía el concepto de bioterrorismo, ni el de adulteración intencional para cometer actos terroristas o fraudes (por ejemplo, melamina para aumentar el contenido de nitrógeno en leche, concentrados proteicos). Estos nuevos riesgos deben verse como nuevos peligros y estar en alerta constante para detectar cualquier nueva situación que ponga en peligro la inocuidad de los alimentos, prever daños al ser humano o a sus mascotas. Esta información también es útil para evaluar alimentos para ganado, aves, porcinos, pescados, etcétera (tabla 11.4).

CUADRO 11.4 Resumen de agentes con potencial tóxico presentes en alimentos

NATURALES

Leguminosas	Cereales	Bebidas estimulantes	Proteínas, péptidos, aminoácidos	Antivitaminas	Varios
Glucósidos cianogenados, promotores de flatulencia, Tioglucósidos, Inhibidores de enzimas, Fitohemaglutininas, Saponinas, Favismo, etcétera	Micotoxinas (*Aspergillus, Penicillum, Fusarium, Claviceps*, etc.) Ácido fítico, inhibidores de amilasas	Café (cafeína), té (teofilina), chocolate (teobromina) Cerveza, vinos y licores (alcohol)	Toxina butulínica Toxina estafilococo Toxina *Cl. perfringes* Falotoxina Amatoxina Islanditoxina Latirismo Selenoaminoácidos Mimosina Hipoglicina Canavanina	Avidina Antivitamina K (Dicumarol) Lipoxidasa Antivitamina D (citral) Tocoferol oxidasa Antiniacina Antipiridoxina	Algodón (gosipol) Papa (solanina, chaconina) Camote (Ipomeamarona) Crucíferas (bocio) Pescados y mariscos (tetradotoxina, saxitoxina) Quesos (aminas biógenas) Sorgo (taninos) Huevo (colesterol) Sasafrás (safrol) Sacarosa (caries) Champiñones (mutágenos) Cicadas (cicacina)

ADITIVOS

Conservadores, colorantes, potenciadores, antioxidantes, saborizantes, aromatizantes, edulcorantes, estabilizantes, nitratos, nitritos, emulsificantes, clarificantes, minerales, acidulantes, secuestrantes, gomas, disolventes, antiespumantes, enzimas, vitaminas, enturbiantes, diluyentes, humectantes, etcétera.

CONTAMINANTES

Plaguicidas	Elementos (metales)	Físicos	Microorganismos	Varios
Organoclorados Organofosforados Carbamatos Ciclodienos Nicotinoides Rotenoides Piretrinas etcétera	Plomo Cadmio Mercurio Arsénico selenio Cromo Aluminio etcétera	Plásticos Vidrio Astillas Madera Hueso Esquirlas Pedazos de metal	*Clostridium* *Salmonella* *Shigela* Coliformes Estafilococos Virus etcétera	Radiaciones Hormonas Triquinosis PVC Antibióticos Dioxina Medicamentos Ftalatos etcétera

TÓXICOS GENERADOS DURANTE EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS

Clorhidrinas, reacciones de Maillard, racemización de aminoácido, nitrosaminas, quinolinas, bromhidrinas, hidroximetilfurfural, imidazoles, hidrocarburos policíclicos aromáticos, aminas biógenas, isopéptidos, degradación de aminoácidos, acrilamida, tricloro anisol, etcétera.

ADULTERACIONES INTENCIONALES		
Bioterrorismo	**Diseño**	**Fraude**
Vidrio, cianuro, arsénico, patógenos (ántrax), elementos radiolíticos, exceso de aditivos (nitritos, conservadores, colorantes), etcétera	Alimentos o promocionales que provocan asfixia	Melamina, metanol, urea, aditivos no autorizados

El control de peligros en HACCP es sinónimo de control de tóxicos para eliminarlos, controlarlos o disminuirlos a un nivel aceptable, sin que sea motivo de alarma. Tampoco debe caerse en fatalismos que impidan disfrutar los alimentos, cuando el foco principal es equilibrar la dieta con diferentes fuentes y variedad de productos, sin abusar de ellos. Es conveniente recordar siempre la frase atribuida a 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. N.Y.
6. Birk, Y. and Peri, I. 1980. "Saponins". *En: Toxic constituents of foodstuffs.* Liener, I. (Ed.) Academic Press, Inc. 2th edition, pp. 161-182, N.Y.
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* (Méx.) 24(1):14-18.
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, CT. pp. 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. London.
12. Clossais-Besnard, N. and 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, pp. 25-38.
13. Colwell, R.R. 1983. "Biotechnology un the Marine Science". *Science* 222(4619):19.
14. Committe on Food Protection. 1976 "Toxicants occurrintg naturally in foods". National Academy of Sciences, Washington, D.C.
15. Correa, P. 1981. "Neutral fats and cancer". *Cancer Res.* 41:3695.
16. Dutson, 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. "Trichothecenes and their analysis". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56(9):824.
19. Fabian, B. "Carcinogens un 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 recognization 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 anthents 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-ra/e_acrylamide_surveillance.html

27. Heaney, R. and Fenwick, G. 1988. "Glucosinolates". *En: Methods of enzymatic analysis.* Bergmeyer, H.V. (Ed.) Verlag Chemic, vol. VI, pp. 208-219, Florida.

28. Hoseney, 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, 143-157.

31. JIFSAN 2004 Acrylamide in Food Workshop The Updated Exposure Assessment for Acrylamide April 13, 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. and Sharon, N. (1986). "Biological properties of lectins". *En: The lectins: properties, functions, and aplications in biology and medicine.* Liener, I., Sharon, N and Goldstein, I. (Eds.). Academic Press, Inc., pp. 265- 291, N.Y.

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. Sleyn (Ed.). Acad. Press, Nueva York. cap. 5.

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. and Doull, J. (Eds.). Macmillan Publishing Co., pp. 706-756, N.Y.

57. Satterlee, L.D. y Chang, K.C. 1981. "Processing effects essential aminoacids". *Food Product Development.* November, 50.

58. Savelkoul, F., Van der Pool, A. and 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 growning 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. Rep. 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 M_1 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.* pp. 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, U.N.A.M., México, D.F.

75. Valle-Vega, P. 1985. "El lado tóxico de los alimentos". *Información 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-González, A. Valle Vega, P. y Nieto Villalobos, Z. 1988. "Resumen. Aspectos físicos, químicos y toxicológicos de la grasa de cerdo sobrecalentada". *Rev. Soc. Quím. 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. and Feeney R. E. 1973. "Enzyme inhibitors in food". *En: Toxicants occurring naturally in food.* Committe 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. pp. 265-294.

82. Wolff, I.A. y Wasserman, A.E. 1972. "Nitrates, nitrites and nitrosamines". *Science* 177(4043):15.

83. Younathan, M.T. y McWilliams, D.C. 1985. "Hematological status of rats fed oxidized beef lipids". *J. Food Sci.* 50(5).

12

- Introducción
- Composición de la leche
- Algunas propiedades físicas y químicas de la leche
- Estado de dispersión de la leche
- Productos lácteos

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Leche

Introducción

Por definición, leche es ese "líquido blanco que segregan de manera natural las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie, excluido el calostro, y que es útil para alimento de sus crías".

Debido a su alto valor nutritivo, y a que sus componentes se encuentran en la forma y proporciones adecuadas, las leches representan el alimento más balanceado y apropiado para las correspondientes crías. Además de que aportan casi todos los nutrimentos necesarios, también contienen sustancias que actúan de manera importante en el funcionamiento de los sistemas inmunológicos y de protección de un recién nacido. Por ejemplo, la leche de la mujer contiene el factor bífidus (N-acetil-D-glucosamina), prebiótico que propicia el crecimiento de la bacteria *Lactobacillus bifidus*, imprescindible para el intestino del bebé porque produce grandes cantidades de ácido láctico a partir de la lactosa, con el consecuente aumento de la acidez; en tales condiciones de bajo pH se inhibe el desarrollo de microorganismos patógenos que pueden dañar al infante; este bacilo desaparece al cabo de algunos meses y es reemplazado por el *L. acidophilus*. De igual manera, las leches de otros mamíferos (por ejemplo, vaca, camella, oveja, cabra, etc.) contienen compuestos exclusivos para cada especie que los organismos de las respectivas crías utilizan biológicamente.

En este capítulo sólo se estudiará la leche de vaca o ganado bovino (*Bos taurus*) debido a la gran importancia que tiene para la dieta humana y por sus múltiples aplicaciones industriales.

Composición de la leche

Inmediatamente después del parto y durante los siguientes dos o tres días, las mamas de la vaca secretan calostro, un líquido con 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. Su función es fortalecer el sistema inmunológico del becerro y sólo a éste beneficia; por su gran proporción de inmunoglobulinas, es muy sensible a la desnaturalización térmica.

Posteriormente el animal sintetiza la leche durante todo el periodo de la lactancia, que varía de 180 a 300 días aunque esto depende de diversos factores, con una producción media diaria fluctuante que va desde 5 litros (vacas que pastorean, sin atención médica ni una adecuada alimentación) a 35 litros o más (vacas estabuladas en buenas condiciones de salud y alimentación). La leche se sintetiza en la glándula mamaria, pero una parte de sus constituyentes también proviene del suero de la sangre.

La alimentación de las vacas consta de forrajes a base de celulosa y otros polisacáridos no metabolizables por los monogástricos (incluido el hombre), añadidos de urea y otros subproductos del campo. El resultado, pese a esta dieta tan limitada, es la producción de 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 concentraciones menores de otras sustancias que en conjunto forman un sistema fisicoquímico estable de varios cientos de compuestos, debido a que todos se encuentran en equilibrio y establecen diversos estados de dispersión que se analizarán más adelante. Los sólidos totales representan de 12 a 14% de su composición y varían de acuerdo con factores como la raza y la edad de la vaca, el tipo y la frecuencia de la alimentación, el estado de lactación, la temperatura ambiente, las enfermedades, la época del año, la hora del día de la ordeña, etc. En el cuadro 12.1 se muestra la composición promedio de leches provenientes de diversas razas de vacas.

CUADRO 12.1 **Composición aproximada de la leche de diferentes razas de vacas**

	Porcentaje				
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

De todos los componentes, se observa que 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. Por lo general, la proteína se encuentra por encima del 3% de los sólidos totales y es un componente fundamental en la nutrición y el buen desarrollo de las crías.

La leche es isotónica con la sangre, ya que ambas presentan la misma molalidad y, en consecuencia, 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 las sales disueltas, como cloruros de sodio y de potasio; por esta razón, a medida que aumenta el contenido del disacárido, disminuye el de cloruros. La lactosa permanece casi constante por su función de regulador de la presión osmótica en la glándula mamaria.[27]

Cabe aclarar que existen algunas diferencias 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, lo que se invierte con la lactosa y la grasa.

CUADRO 12.2 Composición de las leches de vaca y humana

	Porcentaje de leche de vaca	Porcentaje de leche humana
Sólidos totales	12.65	12.7
Proteínas	3.25	1.5
Caseínas	2.78	0.6
Del suero	0.47	0.9
α-lactoalbúmina	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

Lípidos

Los lípidos representan 3.3-3.7% del total de la leche y están constituidos por un gran número de sustancias solubles en disolventes orgánicos, aun cuando 96-98% corresponde al grupo de los triacilglicéridos.[14] Por esta razón, sus propiedades físicas y químicas son un reflejo de los ácidos grasos que contiene. Además, presenta pequeñas cantidades de diacilglicéridos, monoacilglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos libres, esteroles y sus ésteres y algunos hidrocarburos (cuadro 12.3).

Los triacilglicéridos se encuentran como pequeñas partículas, llamadas glóbulos, que en la leche cruda son de 2-8 μm de diámetro y que se encuentran en una concentración de 10^{10} por mL; contienen una membrana constituida por diversos lípidos, proteínas y algunas sales. Presentan una enorme diversidad de ácidos grasos; mientras en la mayoría de los aceites usados en los alimentos (soya, cártamo, manteca de cerdo, etc.) sólo se encuentran entre 8 a 10, 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,

CUADRO 12.3 **Lípidos de la leche de vaca[14]**

	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 esteroles	Rastros	Rastros

hidroxilados, ramificados, cíclicos, isómeros geométricos y posicionales, etc.; sin embargo, cerca de 96% del total lo forman un grupo de sólo 14 ácidos, entre los que resalta el mirístico, el palmítico y el oleico (cuadro 12.4). Esta amplia gama de ácidos se debe a la dieta, a la muy intensa actividad de la microflora del rumen y a la síntesis celular; si la dieta incluye productos con alto contenido de insaturados protegidos por alguna 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, 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; hay un cierto orden en la localización de los ácidos en la molécula de glicerol:

CUADRO 12.4 **Ácidos grasos más comunes en la grasa de la leche de vaca**

Ácidos grasos	Porcentaje 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, *trans* y otros	3.6

el butírico, el caproico y el caprílico se ubican preferentemente en la posición 3, el linolénico en la 2 y el esteárico en la 1 del glicerol.[13] 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 ácido butírico que prácticamente se encuentra sólo en este alimento (cuadro 4.5) y que se usa para fabricar mantequilla. Por centrifugación, en ocasiones se extrae parcialmente de la leche cruda y se sustituye con grasa de coco o con algún aceite, también parcialmente hidrogenado; la adulteración se puede identificar, ya que la relación de concentraciones de los ácidos butírico y cáprico es única para la leche. También presenta una pequeña cantidad de ácidos grasos *trans* como resultado de una biohidrogenación que ocurre en el sistema digestivo.

La cantidad de ácidos grasos libres que contiene es muy reducida, pero se incrementa en caso de que exista actividad lipolítica causada por las propias lipasas o por las que provienen de microorganismos contaminantes. Hay que recordar que la liberación de los ácidos grasos de cadena corta (butírico, caproico, caprílico y cáprico) es responsable de la rancidez hidrolítica, revisada en el capítulo 4, aun cuando es muy benéfica para generar el aroma de los quesos madurados.

● Fosfolípidos

Este grupo de compuestos representa aproximadamente 1% del total de los lípidos de la leche, que 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 (vea el 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 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; además, por ser ricos en ácidos insaturados, se oxidan fácilmente. Cuando la leche no se homogeneiza, la oxidación comienza en los fosfolípidos de la membrana del glóbulo.

● Otros lípidos

La grasa láctea también contiene pequeñas cantidades de otros lípidos como el colesterol (150 mg/L) y más de 30 hidrocarburos, entre ellos carotenoides y el escualeno, igual que cetoácidos, cerebrósidos, gangliósidos, plasmalógenos y otros. Debido a que el colesterol se localiza en la membrana de los glóbulos, su concentración se relaciona con el contenido de grasa; a esto se debe que la leche descremada contenga menos colesterol que la leche entera.

Lactosa

La lactosa sólo se encuentra en las leches; representa su principal hidrato de carbono y algunos autores lo consideran el único; sin embargo, también se han identificado 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, pueden influir 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-lactoalbúmina para después segregarse en la leche; sólo tiene aproximadamente 20% del poder edulcorante de la sacarosa y contribuye, junto con las sales, al sabor de este alimento. Se forma por la condensación de una molécula de galactosa y otra de glucosa (4-O-β-D-galactopiranosil-D-glucopiranosa) mediante un enlace glucosídico $\beta(1,4)$; por 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, etc. En teoría, ambas pueden presentarse hidratadas o anhidras; sin embargo, las más estables son la α-monohidratadas (cristal duro de >0.02 mm) y las β-anhidras (pequeñas agujas de <0.01 mm). Cabe indicar que sus soluciones tienden al equilibrio entre ambas formas, pero por lo general siempre hay más β que α, ya que la primera es más hidrosoluble, aun cuando esto depende de la temperatura. De forma comercial, 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 alta proporción del disacárido. En la leche fluida, se encuentra en una concentración de aproximadamente 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, lo que propicia su cristalización.

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". En estas condiciones, la leche produce cristales de tamaño muy pequeño que le confieren una textura más tersa.

En los helados también se presenta este problema, debido a 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". Inicialmente la lactosa está en un estado vítreo, pero los ciclos de congelamiento/descongelamiento provocan que cristalice de forma inadecuada.

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 puede pegarse en las paredes del secador, lo que trae consigo inconvenientes en la operación, que a su vez 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 mediante la adición de cristales del propio disacárido.

Por otra parte, 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, enzima necesaria para la hidrólisis del disacárido en el tracto gastrointestinal. En general se puede considerar que la actividad de esta enzima se incrementa en los primeros meses de la lactancia, y después disminuye de tal forma que

del 70 a 80% de los adultos prácticamente carece de ella.[16] En su ausencia, la lactosa llega hasta el colon, donde la fermenta 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 producir ácido láctico.

Proteínas

La leche es un buen alimento debido a la alta calidad de sus proteínas y para estudiarlas se han dividido 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 de aproximadamente 5.9, mientras que en la leche humana es 0.66 (cuadro 12.2); debe tomarse esto en cuenta 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 5% de nitrógeno no proteínico, proveniente de compuestos como aminoácidos, amoniaco, adenina, guanina, ácidos orótico, hipúrico y úrico, urea, creatina, creatinina y otros.[2]

Las propiedades físicas y químicas de ambos grupos de proteínas se han estudiado con detalle, debido a su gran importancia nutricional y comercial.[12,26]

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 precipitar 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). A su vez, 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.

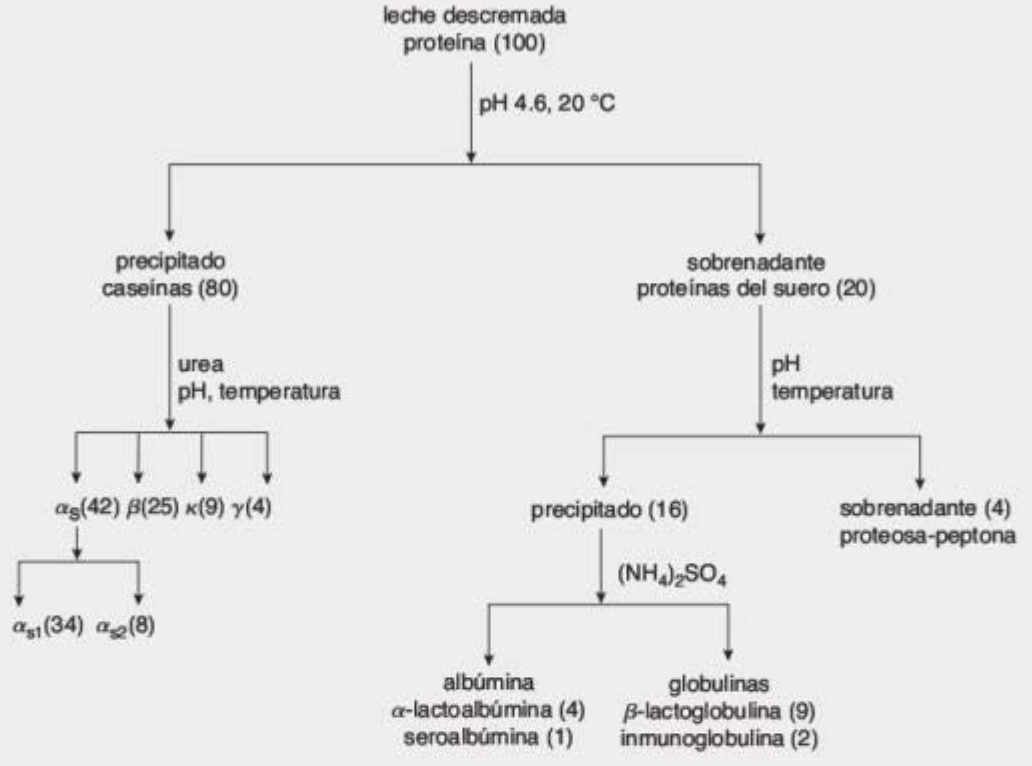
A continuación se explican los aspectos más relevantes de las caseínas y de las proteínas del suero.

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 por lo general 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 de aproximadamente 15.6%, excepto en el caso de la fracción κ que es de 14.3%, debido a que contiene una mayor cantidad de hidratos de carbono.[26]

Prácticamente todas las moléculas de caseína están asociadas entre sí e integran las micelas, pero una pequeña cantidad 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 está constituida por cuatro componentes (los dos primeros son

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**

	Porcentaje 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-lactoalbúmina	4	14 174	123	5.1
proteosa peptona	4	4000-200 000		
inmunoglobulinas	2	150 000 × 10^6		4.5-8.3
seroalbúmina	1	69 000		4.7

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 aclarar que una variante genética es una proteína que cambia su estructura primaria en sólo unos cuantos aminoácidos.

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 los estabiliza gracias a la repulsión que se genera entre ellas.
2. El aminoácido prolina, también abundante, está distribuido de forma homogénea a lo largo de la estructura primaria de las caseínas y por impedimentos estéricos, provoca que no se formen hélices como estructura secundaria. Excepto la caseína κ, que presenta una pequeña porción de hélice, las otras prácticamente carecen de ella y tienen una conformación al azar, razón por la que 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, dentro de su estructura primaria presentan 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.

CUADRO 12.6 **Composición de aminoácidos de las proteínas de la leche**

	Caseínas				Proteínas del suero				
Aminoácidos	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
Ácido 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

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.

La figura 12.2 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).

Figura 12.2 Representación esquemática de la estructura y características de la caseína α_{s1}.



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	

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, por lo que su solubilidad depende mucho de la temperatura y sus interacciones son hidrófobas; de hecho, contrariamente a lo que ocurre con la mayoría de las proteínas, esta caseína es más soluble en frío

Figura 12.3 Representación esquemática de la estructura y las características de la caseína β.

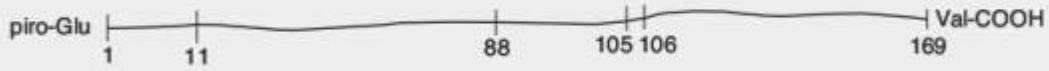


Zona	*Carga neta*	*Hidrofobicidad*	*Comentarios*
1-43	−16	783	Contiene 5 fosfoserinas y 12 carboxilos; zona muy sensible al calcio.
44-92	−3.5	1 429	Zona muy hidrófoba, considerada como responsable en la asociación de las caseínas para formar las micelas.
93-135	+2	1 173	
136-177	+3	1 467	
178-209	+2	1 738	

que en caliente y se disocia de las micelas a bajas temperaturas en un proceso reversible.[7] La sección comprendida entre los aminoácidos 1 y 43 es muy sensible a los iones calcio y a los protones, ya que ahí se localizan 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.

Por su parte, la caseína κ es soluble en presencia del calcio natural de la leche; desempeña un papel estabilizador muy importante, dado 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 micelas y que contribuye a la carga negativa terminal. Otra de sus características es que, por tener un solo 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 comienza el proceso de fabricación de quesos.

Figura 12.4 Representación esquemática de la estructura y principales características de la caseína κ.



a) Los aminoácidos 11 y 88 son cisteínas muy reactivas.
b) La zona 1-105 es hidrófoba y presenta algo de estructuras de hélice-α y de conformación β.
c) Contiene una fosfoserina, por lo que no se ve tan afectada por el calcio, como ocurre con las otras caseínas.
d) 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).
e) La *para*-caseína-κ es hidrófoba y precipita en agua.
f) El macropéptido es muy hidrófilo por contener una fosfoserina, diez carboxilos ionizados y un trisacárido (galactosa, galactosamina y ácido siálico).

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 caseína β se forman las caseínas γ, mientras que por el N terminal se producen las proteosas peptonas. Algunos sabores astringentes de la leche se han relacionado con la presencia de la caseína γ. También se considera que la caseína λ proviene de una hidrólisis de las caseínas α_{s1} o β.

Cabe indicar que algunos péptidos provenientes de la hidrólisis parcial de las caseínas tienen una actividad biológica, sobre todo antimicrobiana y antitrombótica; éstos se producen durante el metabolismo de las caseínas en el tracto gastrointestinal.[5]

● 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 Dalton, 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 al formar un complejo con las micelas.

Estas proteínas constan por lo menos de ocho fracciones diferentes, entre las cuales destacan la β-lactoglobulina, la α-lactoalbúmina, las inmunoglobulinas, la albúmina bovina y las proteosa peptonas. En general son muy sensibles a las temperaturas altas y en menor grado al pH ácido (contrario a lo que ocurre 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 oxidorreducción, lo que inhibe 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). Por su perfil de aminoácidos su consumo se recomienda para los atletas, como se describe en el capítulo 15.[17,24]

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 debido a 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 de forma no covalente en el pH normal de la leche; los cambios de pH provocan que se convierta en dos monómeros mediante una reacción reversible. Igual que con otras proteínas globulares, sus aminoácidos hidrófilos y los ionizables se encuentran distribuidos de forma homogénea, provocando que los apolares (tirosina, triptófano, leucina, fenilalanina, etc.), 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.[22]

La β-lactoglobulina no se encuentra en la leche materna y es responsable de algunas reacciones alérgicas que se observan en infantes alimentados con leche de vaca. 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.

La α-lactoalbúmina 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 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 muy 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.[3] 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 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/L). Se designan como IgM, IgA, IgG_1 e IgG_2; 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 fosfoglucoproteínas 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 desnaturalizable incluso a bajas temperaturas.

Enzimas

Las enzimas se encuentran en baja concentración, están distribuidas en la leche tanto unidas a las micelas 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 que se indican en el cuadro 12.7, pero existen muchas más, 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.[11]

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 (vea el capítulo 4) al liberar ácidos grasos de cadena corta;[8] las proteasas, con una actividad semejante a la renina, ocasionan que la leche evaporada se coagule debido a que son termorresistentes y soportan el tratamiento de la esterilización, además de que se reactivan en el almacenamiento.

CUADRO 12.7 Enzimas más importantes de la leche

Enzima	Localización en la leche	Características
Lipasa	90% en las micelas 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 micelas	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 micelas 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. Ésta es la razón del alto contenido de riboflavina en la leche.

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; los diversos tratamientos a los que se les somete inducen fuertes pérdidas de las más termosensibles, principalmente las hidrosolubles (cuadro 12.8). Los mecanismos por los cuales se destruyen las vitaminas se revisan en el capítulo 6.

Las vitaminas liposolubles A, D, E y K interaccionan con los glóbulos de grasa, principalmente en la membrana; la primera se presenta en mucho mayor proporción que las otras tres. La dieta de la vaca influye en la concentración de estas vitaminas en la leche y las leches descremadas contienen una menor cantidad de ellas ya que se eliminan en la grasa.

Por su parte, en el suero se localizan las hidrosolubles, tales como riboflavina, B_6, B_{12}, 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.

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 B_6, 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, debido a que se pierden al quitar la grasa. Las hidrosolubles se van con el suero en la fabricación de quesos.

CUADRO 12.8 **Composición vitamínica aproximada de la leche por 100 g**

	Cruda	Pasteurizada[b]	UHT[c]	Concentrada[a]	En polvo
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	2000	1700	1700	2000	13 000

[a] Nivel de concentración × 2.5.
[b] 72 °C/15 segundos.
[c] 140 °C, por dos segundos.
[d] Equivalente de retinol: 1 μg retinol o 6 μg de β-caroteno.

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. Aproximadamente 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/100 g, aproximadamente) es superior a la concentración de saturación de una solución acuosa, está estabilizado, dado que 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 (vea la sección Otros productos lácteos).

La relación de concentraciones de Ca:P es adecuada para que exista una buena absorción y aprovechamiento de ambos elementos en el organismo humano.

En la leche también están presentes otros elementos como aluminio, boro, bromo, cobre, yodo, hierro, magnesio, manganeso, cromo, níquel y cinc, así como rastros de arsénico, cobalto y plomo.

Dado que las vacas que padecen mastitis segregan leches con alto contenido de cloruros, su concentración se ha utilizado como índice para medir la sanidad de los animales.

Algunas propiedades físicas y químicas de la leche

La leche y todos sus derivados, posee propiedades particulares que reflejan su composición e interacciones entre sus constituyentes. Sus características físicas, como peso específico, tensión superficial, calor específico, temperatura de congelamiento, viscosidad, etc., se toman en cuenta para diseñar procesos como pasteurización, esterilización, homogeneización y transporte a los que se someten los lácteos.

El color blanco de la leche se debe, sobre todo, a una completa dispersión del espectro visible provocada por los glóbulos de grasa, pero también por las micelas 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 gran número de glóbulos pequeños que provocan la blancura de la leche, tan apreciada por el consumidor. Cabe aclarar que los carotenoides y la riboflavina ejercen alguna influencia sobre el color, debido a que los primeros le confieren tonalidades amarillas, y verdes la segunda.

A pesar de que contiene de 12 a 14% de sólidos, la leche se comporta prácticamente como un fluido newtoniano, como el agua, ya que tiene una viscosidad de 2 centipoises. Cabe hacer mención de que algunos alimentos con más agua, entre ellos vegetales (por ejemplo, pepinos y melón) y las gelatinas, son sólidos o semisólidos, mientras que la leche es un líquido muy accesible a la cría. Tanto las micelas, 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 (Pe) 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 revisa 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 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. Es importante 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.

La acidez titulable normal se debe a la presencia de los grupos ionizables de las proteínas, como 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.

Estado de dispersión de la leche

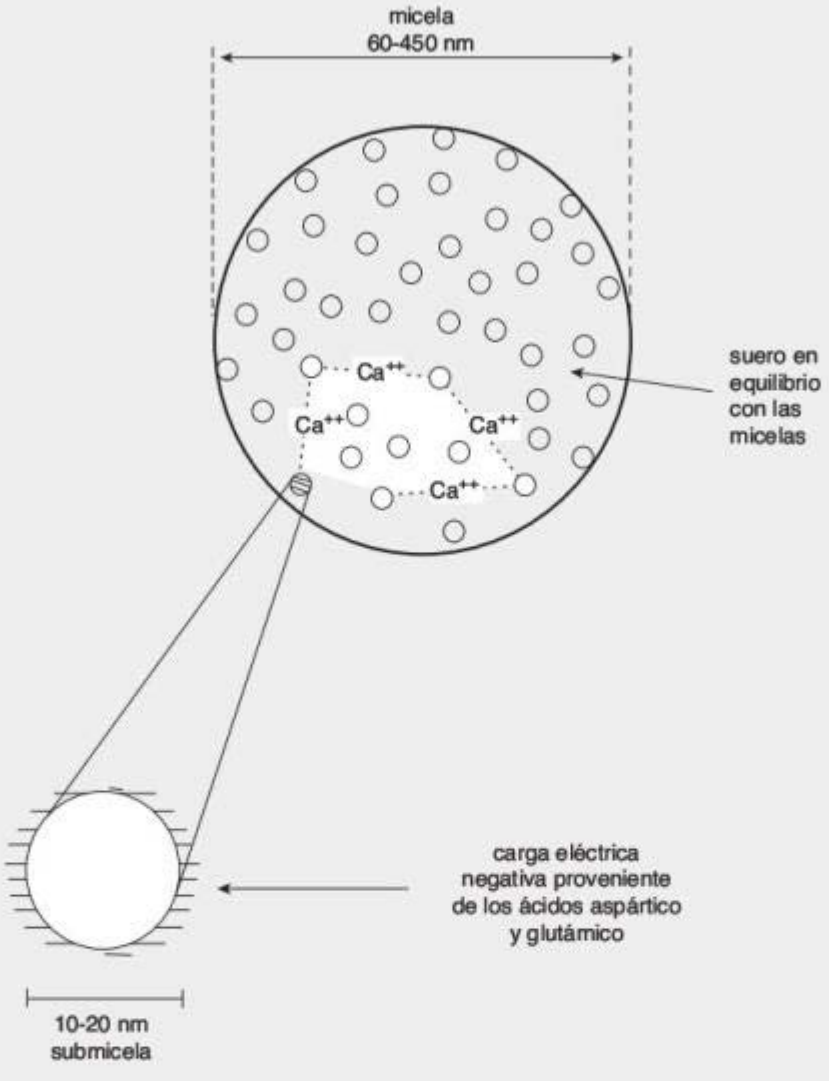
La leche es un sistema biológico muy complejo en el que se presentan tres estados físicos de dispersión de sus múltiples constituyentes: *a*) la lactosa, así como las sales, los cationes, los aniones y las vitaminas hidrosolubles, existen como una verdadera solución; *b*) las proteínas, las caseínas y las del suero, forman dispersiones coloidales, y *c*) las sustancias liposolubles se encuentran como emulsión. Aunque cada uno de estos sistemas posee 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 en consecuencia provocar la inestabilidad de los productos lácteos.

Fase micelar

Las caseínas interactúan entre sí formando una dispersión coloidal que consiste en partículas esféricas llamadas micelas 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 que existen 100 billones (10^{14}) por mililitro.[9]

A pesar de que existe mucha literatura científica sobre la posible estructura de las micelas, no hay consenso sobre el tema;[15] sin embargo, un modelo propuesto considera que se encuentran a su vez constituidas por submicelas, también esféricas, de diámetro de 10 a 20 nm. La figura 12.5 muestra un esquema de este modelo, en el que se observa que esas

Figura 12.5 Estructura de la micela de caseínas y sus correspondientes subunidades.



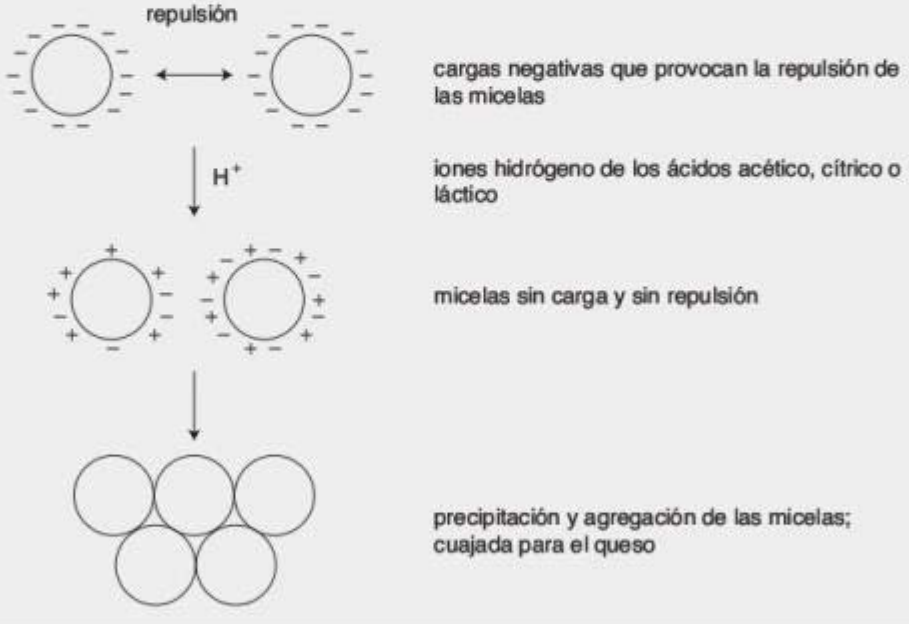
subunidades se enlazan entre sí mediante iones calcio, con un mecanismo no muy bien establecido, pero del que existen algunas teorías; se sugiere que el fosfato de calcio se une a los grupos NH_3^+ de la lisina, que el calcio interactúa directamente con los carboxilos ionizados y que las zonas fosforiladas 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 micela en las correspondientes submicelas.

A su vez, esas submicelas están constituidas por la interacción de las caseínas α, β, κ y γ que se encuentran en una proporción variable, pero que en promedio es de alrededor de 53, 31, 11 y 5%, respectivamente; hay que resaltar la función estabilizadora de la caseína κ contra la precipitación por calcio de las otras fracciones proteínicas. Se ha observado que hay más κ en las micelas pequeñas que en las grandes, y que las uniones hidrófobas entre moléculas de proteína son básicas para la estabilidad de las subunidades.

La micela actúa como una esponja, se encuentra muy 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, etc.), que depende de la temperatura y del pH. A <10 °C la caseína β se disocia de las micelas y pasa a formar parte del suero en un proceso reversible al incrementar la temperatura, lo que se refleja en la relación caseína micelar/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 micelar 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 micela, 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 submicela y, en consecuencia, a la micela, 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.

Figura 12.6 Representación esquemática de la precipitación de las caseínas.



Además de las caseínas, las micelas contienen otras proteínas, principalmente algunas enzimas como la lipasa y la proteasa; la primera actúa con mayor facilidad sobre el glóbulo de grasa después de la homogeneización de la leche, debido a que este proceso induce la asociación no covalente entre micelas y 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; contrario a lo que ocurre con las caseínas, a éstas les afectan 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.

Fase lipídica

La leche es una emulsión de aceite en agua integrada por glóbulos de grasa de 4-10 μm, 25 veces más grandes que las micelas, y de los cuales se tiene aproximadamente 1.5-3 $\times 10^{12}$ glóbulos por litro, con una densidad de 0.94 g/mL. La estabilidad de los glóbulos en el seno del suero (densidad = 1.05 g/mL) se debe a su membrana lipoproteínica con estructura típicamente biológica que actúa como emulsionante del tipo aceite en agua.

La membrana está constituida por 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, debido a 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 ocurrir en unas 50 horas; sin embargo, el cremado sólo lleva una hora debido a la acción asociativa de las inmunoglobulinas.[6]

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 de su diámetro y la difusión de las inmunoglobulinas hacia el suero; esto también reduce la tendencia de la leche al cremado. Hoy en día este problema no es grave, debido a 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.

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.[1,30,28] En el mercado existe una amplia gama 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 yogur, 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.

Leche pasteurizada, ultrapasteurizada y esterilizada

Uno de los métodos más comunes de conservación de los alimentos es mediante calentamiento que destruye los microorganismos y las enzimas dañinas y que tiene efectos diferentes en las distintas fracciones de proteína de la leche; las del suero son las más sensibles.[25]

Existen tratamientos que varían en la temperatura y el tiempo de proceso, y que se emplean de acuerdo con los requerimientos del consumidor y de la industria. Antes del calentamiento, la leche cruda recién obtenida se somete a 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.

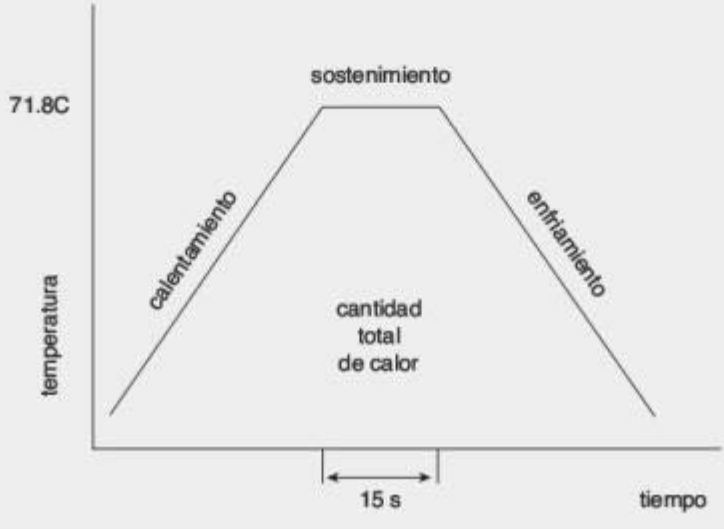
● Tratamiento térmico

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 realiza 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 12.7). La pasteurización está calculada con base en la reducción de 12 ciclos logarítmicos de la cuenta microbiana de la *C. burnetii*.

De forma paralela a la destrucción de este patógeno, también se eliminan microorganismos más termosensibles, como los coliformes, y se desactiva la fosfatasa alcalina, pero no así las esporas o la peroxidasa, ni las bacterias termorresistentes, como las lácticas (figura 12.8); 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 sólo de algunos días.

La eficiencia de la pasteurización se valida de forma indirecta al medir la actividad residual de la fosfatasa alcalina, ya que su desactivación indica que el tratamiento térmico fue efectivo; sin embargo, hay que tomar ciertas precauciones debido a que puede presentarse 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 de la leche.



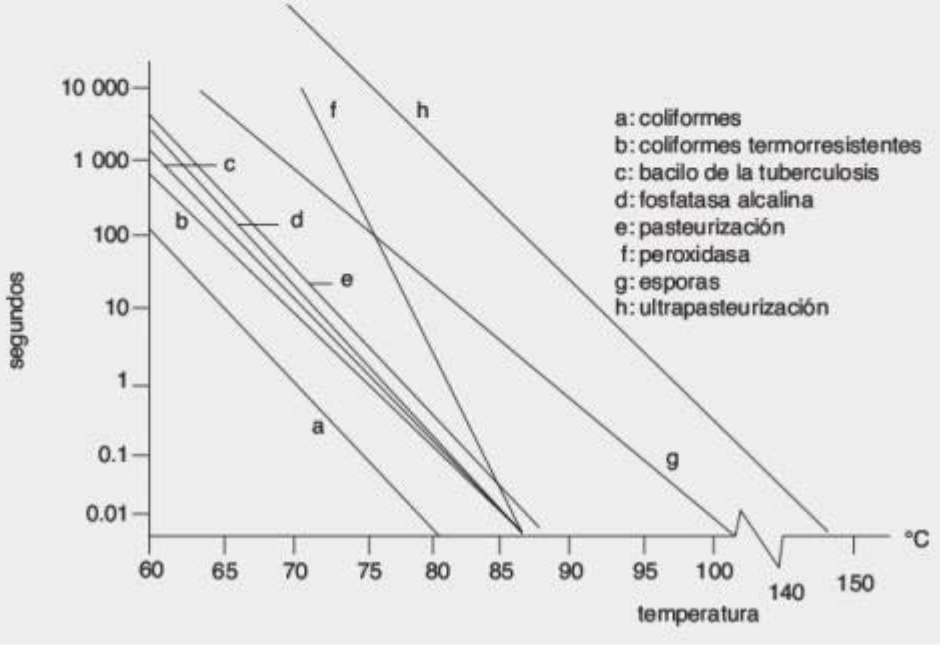
La ultrapasteurización es un tratamiento más intenso, 135-140 °C/2-4 segundos, que destruye prácticamente todos los microorganismos y las enzimas más termorresistentes mediante dos métodos comerciales: el indirecto, que usa intercambiadores de calor, y el directo (también llamado uperización), por inyección directa de vapor culinario a la leche y su posterior eliminación en un tanque a presión reducida. El producto resultante puede almacenarse sin refrigeración por periodos de hasta varios meses, siempre y cuando no se abra el envase.

Por su parte, la esterilización en lata es el tratamiento más drástico, ya que se realiza 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 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-lactoalbúmina) son las más termosensibles, seguidas de las enzimas micelares o las de los glóbulos de grasa, de las caseínas, de la lactosa y, por último, de los lípidos. En términos generales, de 10 a 15% de las proteínas del suero (inmunoglobulinas y seroalbúminas) se desnaturalizan en la pasteurización y de 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 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 sulfhidrilo libres y causa la ruptura del enlace –S–S–, que también genera –SH; en estas condiciones, la leche reduce su potencial

Figura 12.8 Pasteurización y ultrapasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos y enzimas.



de oxidorreducción 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 realiza 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.

Por otra parte, los tratamientos térmicos intensos de la leche propician la interacción entre la β-lactoglobulina y la caseína *k*, modificación que influye de forma negativa en la fabricación de quesos; el sulfhidrilo 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. 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 minutos) 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, incluidas las caseínas. Las micelas 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, esa 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 yogur.

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 de forma comercial. Dado 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 vimos antes, las micelas 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 en consecuencia a su precipitación.

Por su parte, la lactosa interviene sobre todo 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 temperaturas muy elevadas por mucho tiempo. Los lípidos se llegan a degradar para sintetizar lactonas que contribuyen al aroma y al sabor de los productos muy calentados.

Por sus propiedades funcionales y su valor nutricional, las caseínas, los caseinatos y las proteínas del suero se emplean en la fabricación de muchos alimentos. Para obtenerlos deben controlarse los tratamientos térmicos, ya que pueden dañar las proteínas y perderse su funcionalidad y solubilidad.

● 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 correspondiente nata o 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 por 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/cm^2. Los glóbulos originales, grandes en diámetro, se desintegran en un gran número de ellos de menor tamaño (<2 μm), lo que aumenta de 6 a 8 veces su área superficial. La homogeneización no sólo rompe los glóbulos de grasa, sino que además provoca una interacción lípido-proteína más estable.

Después de homogeneizada, la leche adquiere nuevas características y propiedades que hacen que se reduzca notablemente su tendencia natural al cremado y 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, dado 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 reduce 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 oxidación iniciada por el cobre y los fosfolípidos, ya que éstos se solubilizan en el suero y pierden su efecto catalítico. Si la leche no está pasteurizada, la homogeneización puede provocar la acción de las lipasas activas sobre el glóbulo de grasa.

Quesos

El queso es el producto que resulta de la precipitación de las caseínas (figura 12.6), 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, acidificación cercana al 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 se consumen más en México, que no son madurados y son 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, etc., se deben sobre todo a factores como: *a*) tipo de leche: vaca, oveja, cabra, búfala, etc.; *b*) calidad de la leche: pasteurizada, cruda, pasteurizada "en frío", etc.; *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, etc.; *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 relacionan los aspectos más relevantes de un procedimiento simple para fabricar 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, L. lactis* y *L. bulgaricus,* que se añaden en una concentración de 1% y se deja que actúen de 30 a 40 minutos, tiempo en el cual 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 u otro cuajo que puede ser de origen microbiano, cuya actividad enzimática durante 30 minutos y 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 propicia 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.[29]

Cabe indicar que, en su estado natural, la leche puede estar contaminada con diversos microorganismos, por ejemplo, *Pseudomonas,* productores de proteasas termorresistentes capaces de modificar la acción enzimática del cuajo.

La medición de la firmeza óptima del coágulo para el siguiente paso del proceso es de mucha importancia y por lo general se realiza subjetivamente, de acuerdo con la experiencia del técnico; sin embargo, se han desarrollado algunos métodos objetivos basados en la determinación de sus propiedades reológicas.

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 micelas 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 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 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 a 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, 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 con 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 producen en pequeña escala algunas especialidades internacionales como *Camembert*, *Port Salut*, *Gruyère* y *Roquefort* (en México también conocido como Cabrales).

● Suero de la leche

A partir de 10 litros de leche se producen 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.

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; 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.

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 (porcentaje del total)	22.0	27.0
Ácido láctico	0.15	0.75
Cenizas	0.56	0.46
pH	6.2	4.6

En la industria 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.[30]

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 o WPC (siglas de *whey 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 yogur, quesos procesados y análogos, cremas, panadería, repostería, cárnicos, formulaciones infantiles, aderezos, helados, sustitutos de leche reducidos en grasa, productos nutricionales, etcétera.

Yogur

La leche usada para yogur 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, etc.), 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.[18] 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.[4]

En estas condiciones, la leche se inocula con diversos microorganismos lácticos que actúan de una manera sinérgica a 40-45 °C. El ácido láctico, producido a partir de la lactosa, baja el pH hasta 5 donde comienza la formación del coágulo. El sabor y el aroma se deben al ácido láctico, además del acetaldehído, la acetona, el diacetilo y otros compuestos con grupos carbonilo.

Son muchas las variables que afectan las propiedades de estos derivados, entre ellas el calentamiento, el contenido proteínico, la homogeneización, la acidez que se alcanza en la fermentación, el tipo de cultivo y la presencia de estabilizadores. En el mercado existen derivados del yogur, incluidos aquellos en polvo que se usan para mejorar la textura de diversos productos.[18]

Otros productos lácteos

Son muchos más los productos que se obtienen de la leche de vaca,[19] pero también de otros mamíferos como la cabra[20] y que se aplican de muy distintas formas en la fabricación de alimentos.[21,23]

- *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) y al vacío, 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 ejercen gran influencia sobre su viscosidad y en la cristalización de la lactosa; esta última debe desarrollarse como cristales *β*-anhidros 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 almacenamiento le confieren su característico color amarillo-cremoso.

- *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 puede formar grumos difíciles de desbaratar y se vuelve poco soluble por efecto de los diversos daños térmicos en las proteínas y la lactosa (por ejemplo, desnaturalización, reacción de Maillard, etc.). 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%); 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**

	Porcentaje				
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. Beckley, J. y Ashman, H. 2008. *Developing Compelling Dairy Foods*. 12: 27-34.
2. Belitz, H., W. Grosch y P. Schieberle, Eds. 2004. *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, Chap. 4.
3. Brew, K y Grobler, J.A. 1992. "α-Lactalbumin". Cap. 5. *En: Advanced Dairy Chemistry. Proteins*, Vol. 1, Ed. P.F. Fox pp. 191-229. Elsevier Applied Science, Londres.
4. 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., Nueva York.
5. Clare, D.A. y Swaisgood, H.E. 2000. "Bioactive milk peptides: a prospectus". *J. Dairy Sci.* 83, pp. 1187-1195.
6. Coultate, T.P. 2002. "Food: The Chemistry of its Components". The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Inglaterra.
7. Dauphas, S., Mouhous-Riou, N., Metro, B., Mackie, A.R., Wilde, P.J., Anton, M. y Riaublanc, A. 2005. "The supramolecular organization of β-casein: effect on interfacial properties". *Food Hydrocolloids* 19:387-393.
8. Deeth, H.C. y Fitz-Gerald, C.H. 1995. "Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products". *En: Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 2. Ed. P.F. Fox, pp. 247-308. Chapman and Hall, Nueva York.
9. De Kruif, C.G. y Holt, C. 2003. "Casein micelle structure, functions and interactions". *En: Advanced Dairy Chemistry*. Eds. P.F. Fox y P.L. McSweeney. Plenum Publ., Nueva York.
10. Etzel, M. 2004. "Manufacture and use of dairy protein fractions". *J. Nutr.* 134; pp. 996-1002.
11. Farkye, N. Y. 1992. "Other enzymes". *En: Advanced Dairy Chemistry. Proteins*. Ed. P.F. Fox, p. 339-367. Elsevier Applied Science, London.
12. 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., y Swaisgood, H.E. 2004. "Nomenclature of the proteins of cow's milk". Sixth Revision. *J. Dairy Sci.* 87, pp. 1641-1674.
13. Gresti, J.M., M. Bugant, C. Maniongui, and J. Bezard. 1993. "Composition of molecular species of triacylglycerols in bovine milk fat". *J. Dairy Sci.* 76:1850-1869.
14. Jensen, R.G., A.M. Ferris, y C.J. Lammi-Keefe. 1991. "The composition of milk fat". *J. Dairy Sci.* 74:3228.
15. Kumosinski, T.F., Brown, M.E. y Farrell, H.M. 1993. "Three dimensional molecular modeling of bovine caseins". *J. Dairy Sci.* 76:931-945.
16. Miller, G.D., Jarvis, J.K. y McBean, L.D. 1995. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. CRC Press, Boca Raton, Fl.
17. Milo, O.L. 2010. "Nutraceutics". *Food Technol.* 12: 65-70.
18. Nachay, K. 2011. "Focus on Functionality. Yogurt Powder Enhances Texture". *Food Technol.* 8:82-92.
19. 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.

20. Pszczola, D.E. 2011a. "Ingredients: A progressive Potpourri". *Food Technol.* 7:77-89.

21. Pszczola, D.E. 2011b. "Reborn on the Bayou. Finding New Uses for Dairy". *Food Technol.* 8:54-81.

22. Sawyer, L. 2003. "β-Lactoglobulin". *En: Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins.* Ed. P. F. Fox y P. L. McSweeney, Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, pp. 319-386.

23. 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.

24. Seyler, J., Wildman, R. y Layman, D. 2007. "Proteins as a functional food ingredient for weight loss and maintaining body composition". pp. 392-403. *En: Handbook of nutraceuticals and functional foods.* CRC Press. Boca Raton.

25. Singh, H., L.K. Creamer. 1992. "Heat stability of milk". *En: Advanced Dairy Chemistry.* 1. *Proteins.* Ed. P.F. Fox, pp. 621-656. Elsevier Applied Science, London.

26. Swaisgood, H.E. 2003. "Chemistry of the caseins". *En: Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins.* Ed. P.F. Fox y P.L. McSweeney, Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, pp. 139-201.

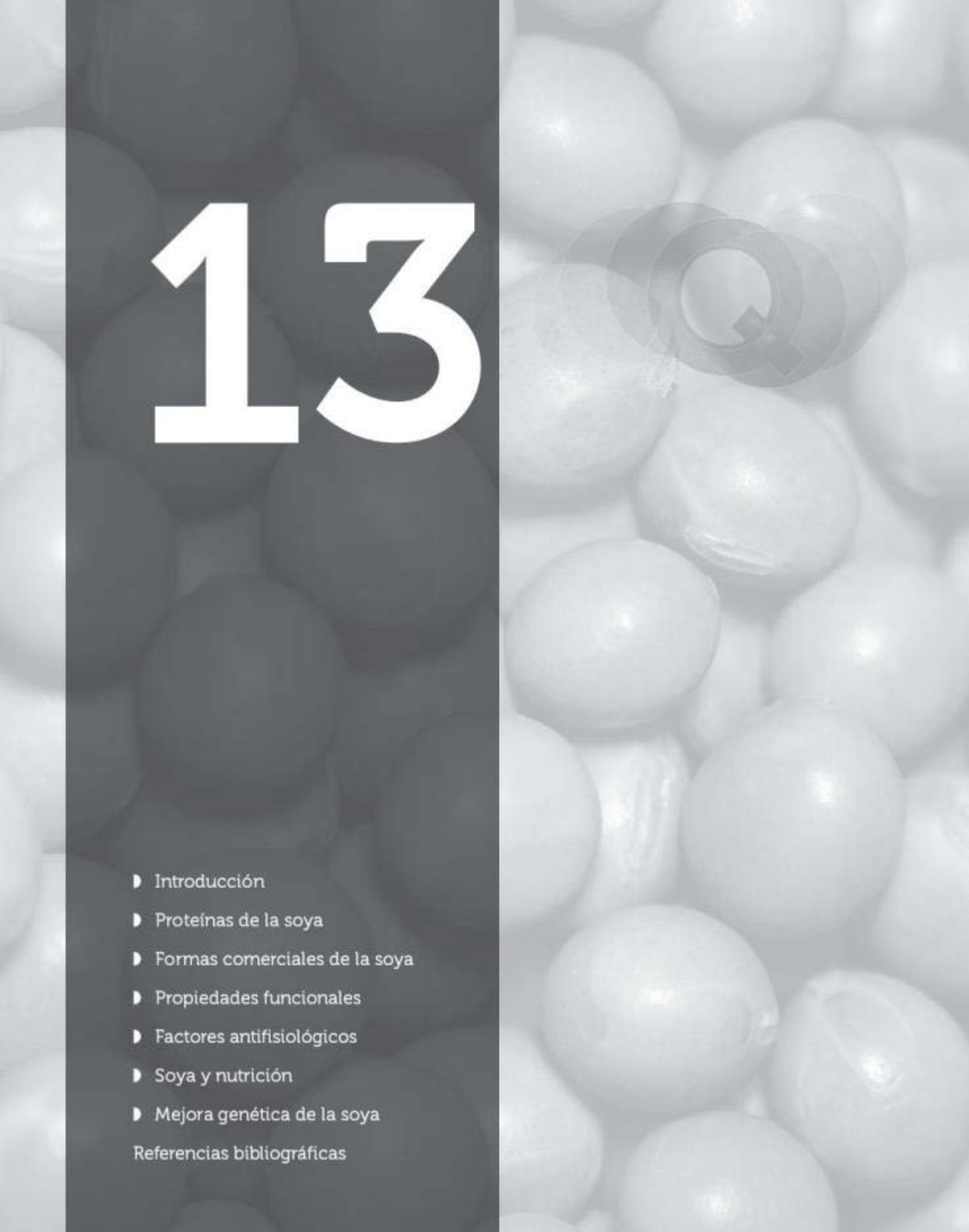
27. Swaisgood, H.E. 2008. "Las características de la leche". *En: Química de los Alimentos,* Ed. Damodaran, S., Parkin, K, L y Fennema, O.R. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

28. Varnam, A. H. y Sutherland, J. P. 1994. *Milk and Milk Products Technology —Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall, Nueva York.

29. Walstra, P. 1993. "Syneresis of curd". *En: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol.* 1. *General Aspects.* Ed. P.F. Fox. Chapman and Hall, Londres, pp. 141-191.

30. 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. Nutr.* 42(4), pp. 353-375.

13



- Introducción
- Proteínas de la soya
- Formas comerciales de la soya
- Propiedades funcionales
- Factores antifisiológicos
- Soya y nutrición
- Mejora genética de la soya

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Soya

Introducción

La soya, o frijol de soya (*Glicyne max*) pertenece a la familia de las leguminosas, aunque por su elevado contenido de aceite se incluye también con las oleaginosas, junto con la canola, el algodón, el girasol, la aceituna y el cacahuate. Es un cultivo anual de verano, de clima caluroso y húmedo, y sus vainas contienen tres o más semillas que se utilizan de forma industrial 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. En países orientales, como China y Japón, la soya representa desde hace miles de años un ingrediente fundamental en la dieta de un sector muy importante 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 deficiencia que existe de las proteínas de origen animal, como las de la leche, la carne y el huevo.

Como ocurre con la mayoría de los alimentos provenientes del campo, su composición química depende de muchos factores, entre ellos la variedad de la semilla, el tipo de suelo, la irrigación, la fertilización, la temperatura ambiental, etc.; 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. A través del manejo genético, en los últimos años se ha mejorado su producción y también se ha modificado su composición química, principalmente en su perfil de ácidos grasos con un incremento del oleico.[28] En el cuadro 13.1 se muestra una composición promedio de las tres partes que constituyen la semilla; en el cotiledón (90% de la semilla) 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 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**

	Porcentaje				
	Proteína	Grasa	Hidratos de carbono	Cenizas	Constituyente de la semilla
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 con el perfil de ácidos grasos que se muestra en el cuadro 4.5 y con un punto de fusión de −16 °C y un índice de yodo de 130. También se encuentran fosfolípidos, esteroles y tocoferoles; cabe indicar que de la refinación del aceite se obtiene la lecitina, ampliamente utilizada por sus propiedades emulsificantes y los fitoresteroles, importantes nutracéuticos. La acumulación de lípidos en las oleaginosas va acompañada de un decremento de los hidratos de carbono, lo que significa que éstos son 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 que se pueden clasificar como:

a) Polisacáridos insolubles en agua y en etanol, como arabinogalactanas, arabinanas, xilanas, galactomananas, celulosa y un polisacárido ácido parecido a las pectinas.
b) Oligosacáridos hidrosolubles, como sacarosa y la verbascosa, estaquiosa y rafinosa, responsables de la flatulencia que provoca su consumo.
c) Monosacáridos en menor cantidad, principalmente glucosa y arabinosa. (En el cuadro 13.2 se muestra el análisis de hidratos de carbono de la soya desgrasada y descascarillada.)

Igual que sucede con otros tejidos vegetales, en su estado natural la soya contiene diversos agentes bioactivos, algunos indeseables y otros benéficos; entre los primeros se encuentran los factores antifisiológicos, como 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).

CUADRO 13.2 Hidratos de carbono de la harina de soya desgrasada y descascarillada

	Porcentaje
Total polisacáridos	14 - 19
Polisacáridos ácidos	8 - 10
Arabinogalactana	5 - 7
Celulosa	1 - 2
Total oligosacáridos	11 - 15
Sacarosa	6 - 8
Estaquiosa	4 - 5
Rafinosa	1 - 2
Verbascosa	Huellas

Proteínas de la soya

A diferencia de los cereales (maíz, arroz, trigo, centeno, etc.) 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 soluciones 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 lisina, treonina, isoleucina, leucina, fenilalanina y valina; sin embargo, son deficientes en metionina y cisteína, que se encuentran en los cereales (cuadro 13.3). Cabe indicar que la concentración de estos aminoácidos azufrados se puede reducir aún más cuando la proteína de soya se trata con álcalis, como sucede en la elaboración de algunos de sus derivados comerciales.

CUADRO 13.3 Aminoácidos en proteínas comerciales de soya

	Harinas desgrasadas	Concentrados	Aislados
Aminoácido	(Gramos de aminoácidos por 100 g de proteína)		
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
Triptófano	1.4	1.4	1.3
Valina	4.9	5.0	4.8

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 realizar tan fácilmente como en el caso de la leche (que se describe en la figura 12.1), aunque existen métodos para efectuarlo.[34] Su clasificación se hace 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 determinado (cuadro 13.4).

La fracción 2S está compuesta por polímeros de peso molecular bajo, solubles en su punto isoeléctrico y contiene los inhibidores de tripsina de Bowman-Birk y de Kunitz.

La fracción 7S está integrada básicamente 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; con 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 solución con un pH de 7.6 y una fuerza iónica de 0.5, se demuestra su estructura cuaternaria compleja in-

CUADRO 13.4 **Características de las proteínas de la soya**

Fracción	Porcentaje 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	37		
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

tegrada por 12 grupos amino terminales: ocho glicinas, dos fenilalaninas y dos leucinas o dos isoleucinas. Parece que es un "dímero" de dos "monómeros" iguales, que a su vez están constituidos por seis subunidades o verdaderos monómeros cada uno; de éstos, algunos tienen puntos isoeléctricos 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, ejercen una gran influencia en las propiedades funcionales de los derivados comerciales de la soya.[25]

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. El calentamiento causa una ruptura irreversible de la estructura cuaternaria de la globulina 11S y una posterior división en subunidades; existe un estado intermedio transitorio en forma de un agregado soluble que rápidamente se convierte en gel.[8]

Por su parte, la 15S parece ser un polímero de la 11S y es la fracción de mayor peso molecular.

Las proteínas de la soya tienen la capacidad de formar geles a través de distintos mecanismos basados en el fenómeno de asociación-disociación de las proteínas, lo que a su vez está determinado por factores como la temperatura, la fuerza iónica[19] y el tipo de sal. Las fracciones 11S y 7S interactúan cuando se calientan y ayudan a producir rápidamente el gel;[8] sin embargo, la 7S establece, en forma individual, 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).[34] 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 de globulinas y albúminas son muy sensibles a muchos agentes desnaturalizantes, como los pH extremos, las temperaturas altas, las concentraciones elevadas de disolventes y de sales, etc.; de todos estos, el efecto del calor es el más común e importante. La consecuencia de esto es, en 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 la rápida formación de geles.

CUADRO 13.5 **Composición de diferentes derivados de la soya**

	Harinas		Concentrados			
	Sin desgrasar	Desgrasada	Alcohol	Ácido	Calor húmedo	Aislado
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.

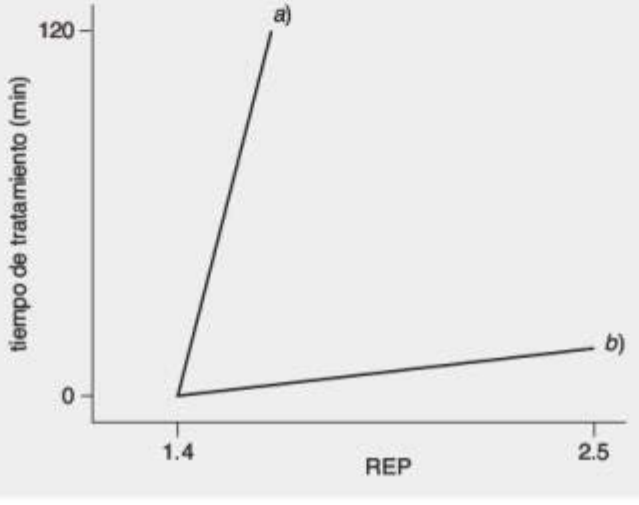
Formas comerciales de la soya

A partir de esta leguminosa se elaboran harinas, concentrados y aislados, cuya diferencia es su contenido de proteína (cuadro 13.5). Su producción requiere 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 se aprovechan como ingrediente en la producción de otros alimentos.[14] En la figura 4.10 se muestra un diagrama para la obtención del aceite de soya; en este caso, el "residuo" es la harina desgrasada que se utiliza para elaborar 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.

Harinas

Las harinas son la forma menos refinada de la soya; se pueden producir 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 de disolvente usado para la extracción del aceite, y a un tostado (120 °C durante 15 a 25 minutos) para inactivar la lipoxigenasa, los inhibidores de tripsina y otros factores antifisiológicos. En este sentido, el efecto del calor húmedo con vapor a 100 °C es más efectivo que el calor seco, como se muestra por el aumento de la relación de la eficiencia de la proteína o REP (en inglés *PER, Protein Efficiency Ratio*) 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 cascarilla, que está compuesta a base 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.[30]

Figura 13.1 Efecto del calor seco *a*) y del calor húmedo *b*) en el valor nutritivo de la soya.



En su producción es preciso controlar los tratamientos térmicos, dado 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 dispersabilidad de proteína (IDP). Por definición, el ISN es el porcentaje del nitrógeno total que es soluble en agua en condiciones específicas de extracción, mientras que el IDP es el porcentaje de la proteína total que es dispersable en agua. 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, etc. El cuadro 13.6 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 amoniaco 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 amoniaco 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, estos contienen un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados indispensables, aproximadamente 62% de ácido linoleico y 3% 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.

Las harinas desgrasadas son muy comunes en el mercado, ya que la extracción del aceite resulta económicamente ventajosa; las pastas recuperadas de esa extracción tienen un amplio consumo en la industria de alimentos, tanto para el hombre como para los animales.

CUADRO 13.6 **Valor nutritivo e ISN de la soya sujeta a diferentes tratamientos térmicos**

Tratamiento térmico	Porcentaje de eficiencia proteínica relativa*	ISN
Insignificante	40-50	85-90
Ligero	50-60	40-60
Moderado	75-80	20-40
Tostado	85-90	10-20

* La leche deshidratada descremada representa el 100% de eficiencia.

El aceite de soya se utiliza de forma industrial en la manufactura de margarinas, aceites de mesa, mantecas, mayonesas y en muchos otros productos alimenticios e industriales; un subproducto de la refinación es la lecitina que se emplea mucho en la formulación de alimentos, debido a sus propiedades emulsionantes y antioxidantes, como en el caso de los derivados de la confitería; además, por ser un producto natural, la lecitina es el único emulsionante permitido en ciertos alimentos infantiles. La obtención de este fosfolípido es posible gracias a 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. Con 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, desodoriza, decolora y se concentra o se deshidrata; se usa como saborizante y potenciador del sabor en alimentos como consomés, sopas, aderezos, etcétera.

Concentrados

Estos productos son más refinados que las harinas y contienen un mínimo de 65% de proteínas (cuadro 13.5); 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 siguen diferentes procesos (figura 13.2); 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 bajo peso molecular; 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.

Figura 13.2 Procesos de obtención de concentrados.

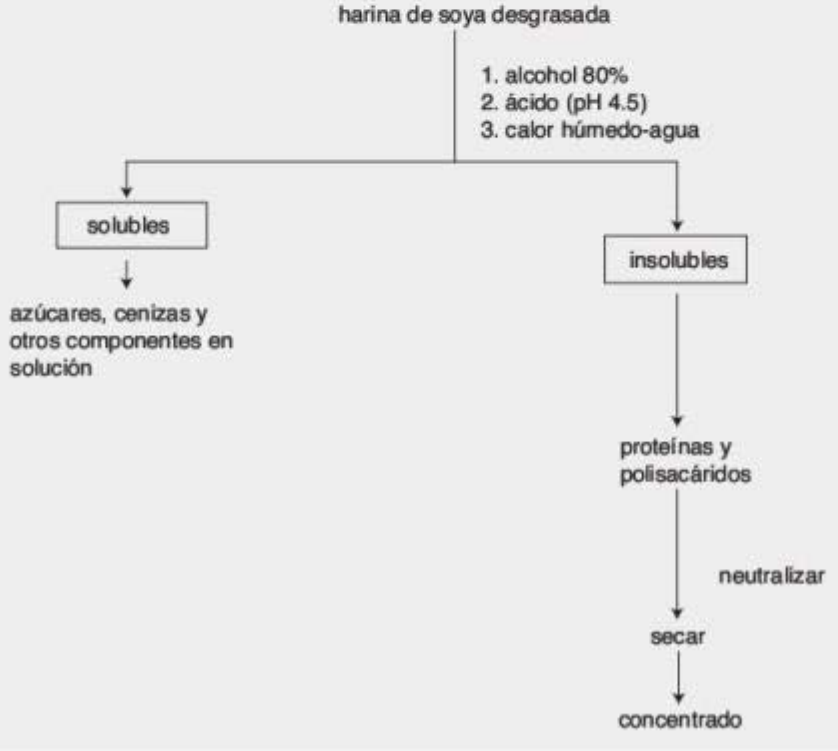
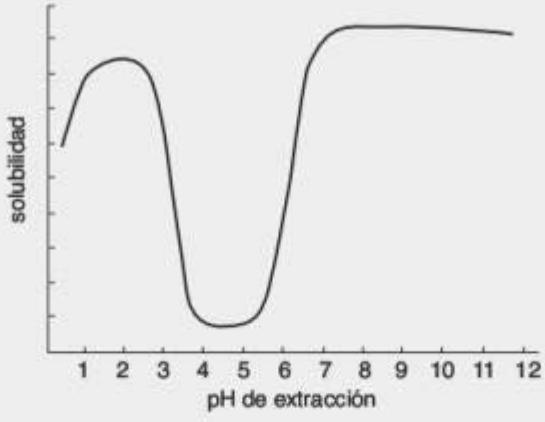


Figura 13.3 Extracción de la proteína de soya a diferentes valores de pH.



El segundo proceso implica una extracción de las proteínas en su punto isoeléctrico (figura 13.3), 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.

Los concentrados que se obtienen mediante estos tres procesos tienen aproximadamente la misma composición; sin embargo, las propiedades físicas y funcionales son diferentes en cada caso.

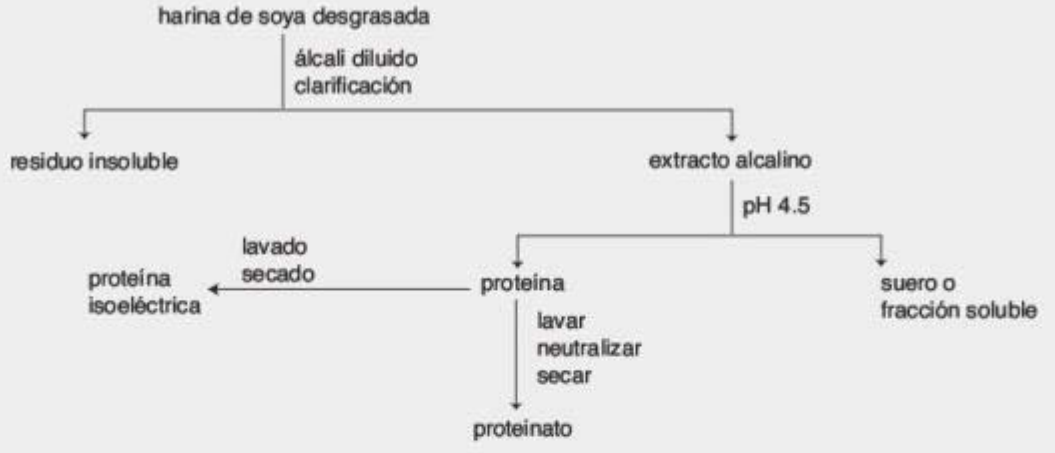
El ISN varía considerablemente, debido a que los productos elaborados con ácidos son mucho más solubles que los producidos con etanol o con calor húmedo. En general, tienen un sabor y un olor menos intenso que las harinas, ya que durante las etapas de manufactura se eliminan algunos de los compuestos responsables del sabor. Debido a su contenido de polisacáridos, los concentrados retienen mucha agua y producen geles más firmes.

Aislados

Estos productos son la forma comercial más purificada de las proteínas de soya, dado 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 obtenerlos se parte de harinas desgrasadas que han recibido un tratamiento térmico mínimo, y la extracción se efectúa con una solución acuosa de hidróxido de sodio a 60 °C y pH 9-11 (figura 13.4); 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 aspersión; 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.

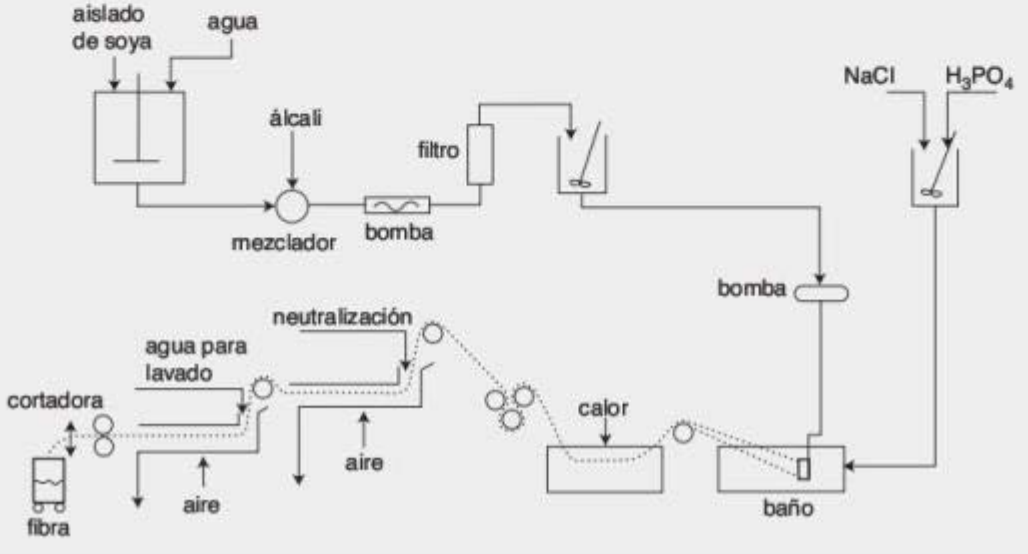
Figura 13.4 Diagrama de obtención de aislados proteínicos de la soya.



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.

Los fibrilados de soya son materiales con características fibrosas o de hilo, capaces de imitar la textura de los tejidos animales. Con estas proteínas fibriladas como base, y con la adecuada adición de grasas, nutrimentos, colorantes, saborizantes, etc., se pueden desarrollar productos con formas y tamaños que semejen las estructuras de filetes de pescado, de pollo, de res, etcétera.

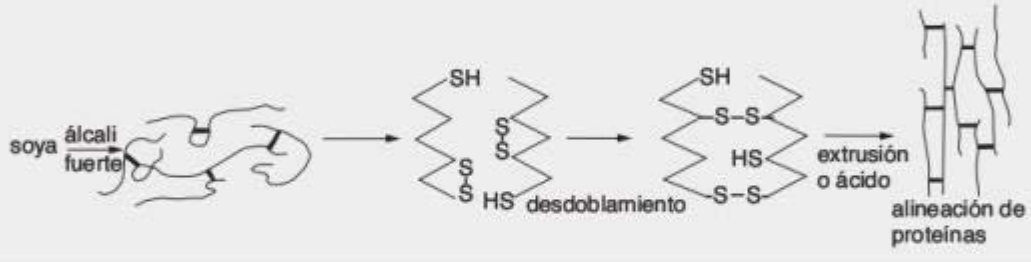
Figura 13.5 Obtención de proteínas fibriladas de la soya.



Para su elaboración se siguen los pasos indicados en la figura 13.5. El aislado se disuelve en agua y se produce una suspensión ácida (al 20%) a la que después 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 13.6.

Además de esta tecnología para la elaboración de análogos de carne, existen 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, etc. Al producto extruido se le da la forma de alguna pieza de pollo o de carne de res.

Figura 13.6 Formación de fibras a partir de proteínas de soya.



Los aislados presentan valores de ISN que van desde 10 hasta 90, una capacidad emulsificante de 10-35 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 cambiarse de acuerdo con el método de obtención y modificación de la proteína.

Las proteínas aisladas de soya presentan un valor de proteína corregido por digestibilidad o PDCAAS (siglas de Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score) de uno, que es el mayor posible y semejante a la caseína y al huevo.[16]

Propiedades funcionales

Por sus diversas propiedades funcionales, la soya y sus derivados se utilizan ampliamente en la producción de muchos alimentos.[5,12,26] Entre sus funciones destaca su capacidad como emulsionante, espesante, hidratante, gelificante, espumante, formador de películas y promotor de la viscosidad; en el cuadro 13.7 se presenta un resumen de las distintas aplicaciones de los derivados de la soya en la industria de los alimentos. El contenido proteínico es especialmente 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 revisarán.[21]

CUADRO 13.7 **Propiedades funcionales de las proteínas de la soya en algunos alimentos**

Propiedad funcional	Forma de la proteína	Sistema utilizado
Emulsificación		
Formación	H,C,A	Salchichas, embutidos, salami, panes, pasteles y sopas
Estabilización	H,C,A	Productos batidos como crema chantillí, 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
Oscurecimiento	H	Pan y derivados
Solubilidad	H, C, A	Bebidas fortificadas
Aeración	A	Productos batidos y confituras

H = harina; C = concentrado; A = aislado,

Se utilizan ampliamente en la elaboración de derivados cárnicos (salchichas, mortadelas, albóndigas, jamones, hamburguesas, etc.), debido a que ayudan a formar emulsiones estables, pues cuando gelifican producen una estructura firme; en la panificación (pasteles, galletas, donas, harinas preparadas, etc.) y en pastas tipo macarrones; en la industria láctea (sustitutos de leche de vaca, quesos procesados y frescos, etc.); 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 par-

tícula 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, debe encontrarse un equilibrio entre esa funcionalidad y el valor nutritivo, ya que como hemos visto 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, sobre todo de lipoxigenasa; esta enzima provoca la decoloración o blanqueado del trigo al destruir los carotenoides, razón por la cual se añade de 0.5 a 1.0% de harina de soya a las harinas de panificación.

Modificaciones de las proteínas

Como vimos antes, muchas propiedades funcionales de las proteínas de la soya sólo se obtienen al modificarlas por algún método químico o enzimático. Igual que con otras proteínas, las de soya se pueden modificar mediante reacciones de succinilación, acetilación, sulfitación, esterificación y fosforilación; por ejemplo, se vuelven más solubles y más resistentes a su precipitación por efecto de los iones calcio.[31]

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 formar espumas estables en pasteles, merengues, dulces, etc. El proceso se basa en la hidrólisis enzimática con alguna proteasa 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 hexametafosfato de sodio, sacarosa y algún emulsificante, como los polisorbatos, para darles mayor estabilidad.[33]

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.

Factores antifisiológicos

La soya, igual que otros productos vegetales, produce algunos metabolitos bioactivos que pueden ser dañinos (vea el capítulo 11). Afortunadamente el calentamiento controlado de esta leguminosa los elimina, 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, etc., 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 7 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.[35]

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 desactivación por una reacción sulfhidrilo-disulfuro.

El de Bowman-Birk es más termorresistente 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 carecen de ellos.

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 tiroides; 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, 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 sapogeninas.

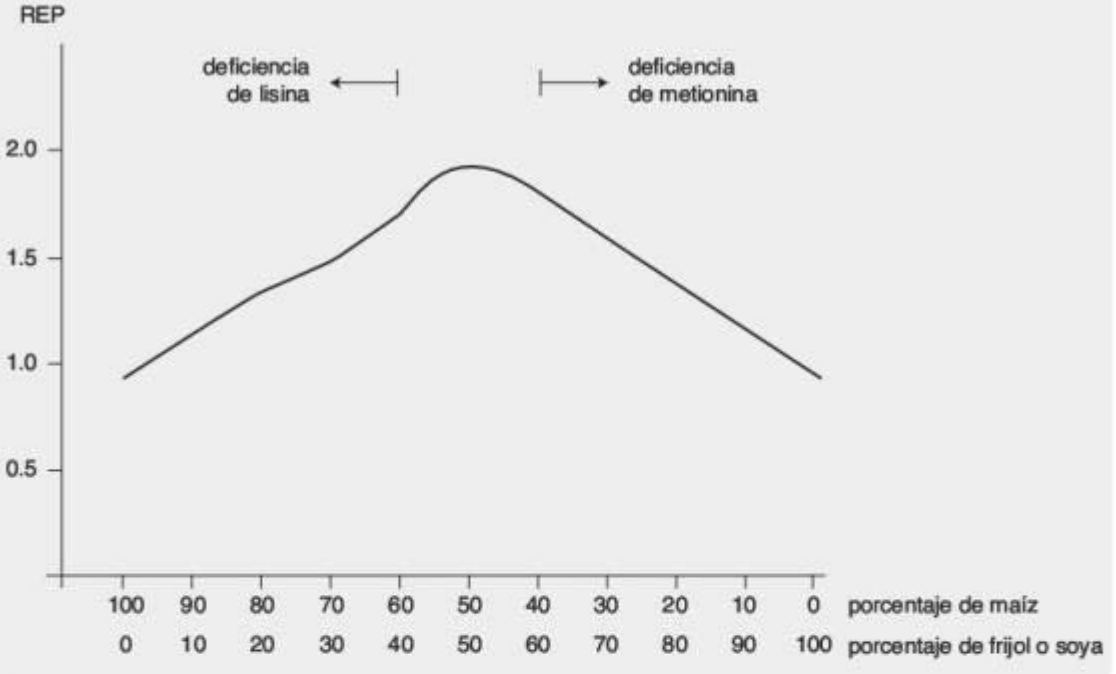
Los azúcares verbascosa, estaquiosa y rafinosa producen flatulencia en el hombre, debido a la falta de las enzimas que hidrolizan el enlace galactosídico; estos oligosacáridos llegan al intestino grueso donde la microflora los metaboliza para producir gases. En los aislados prácticamente no se encuentran.

Soya y nutrición

Para que cualquier nutrimento (proteína, ácido graso o vitamina), así como los agentes bioactivos tengan un efecto benéfico en el organismo humano, deben estar biodisponibles.[22] En este sentido, el calentamiento de la soya hace que estos compuestos sean aprovechados y cumplan su función biológica adecuadamente, además de que su fermentación también mejora su calidad nutrimental.[38]

Las proteínas de la soya son de buena calidad, algo deficientes en metionina y cisteína, y su perfil de aminoácidos se complementa con el del maíz que contiene estos aminoácidos azufrados, pero es deficiente en lisina y triptófano. Por esta razón y basado en este principio, se recomienda consumir frijol o soya y maíz al mismo tiempo en una relación de 50% cada uno para lograr mejores resultados.[3] En la figura 13.7 se muestra la complementariedad nutrimental entre las leguminosas y los cereales.

Figura 13.7 Complementariedad de las proteínas de maíz con las de frijol o soya. La relación de 50-50% es la óptima.



A la dieta a base de soya se le han adjudicado muchos beneficios para la salud que tienen en las poblaciones de China, Japón y otros países asiáticos. Existe una relación benéfica entre el consumo de la proteína de soya con la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y síntomas de la post menopausia.[14,11,13,15,23]

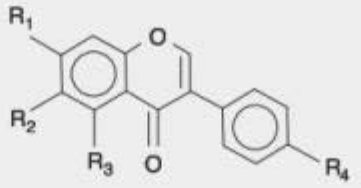
La sustitución de proteína animal por soya reduce de forma significativa los niveles de colesterol, de lipoproteínas de baja densidad (LBD) y de triacilglicéridos. Las fracciones 7S y 11S tienen un efecto importante al interactuar con los receptores celulares de las LBD y además favorecen la eliminación fecal de los ácidos biliares y, por tanto, la remoción de colesterol.

La soya contiene las isoflavonas genisteína, daidzeína y gliciteína, englobadas como fitoquímicos (figura 13.8), con actividad de fitoestrógeno, que tienen un efecto hipocolesterolémico;[9,24] 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 efecto antioxidante.[7,27,32,36]

La osteoporosis que provoca la porosidad y la reducción de la densidad del hueso se presenta en adultos, sobre todo en mujeres post menopáusicas.[6] 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.[2,20]

Por sus efectos benéficos, la soya se consume de diversas formas, que incluyen su fermentación tradicional, o bien mediante microorganismos probióticos.[10]

Figura 13.8 Estructura de las diversas isoflavonas de la soya.



Isoflavona	R_1	R_2	R_3	R_4	*Concentración (ppm)*
Geinisteína	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-7-0-β-glucósido	O-glucosil	OCH_3	H	OH	—

Mejora genética de la soya

La biotecnología ha permitido modificar a la soya de diversas formas (capítulo 14). Además de los aspectos agrícolas de resistencia a plagas, a herbicidas y a enfermedades, su composición química se ha modificado; se tienen semillas con mayor contenido de ácido oleico y menos linolénico para una mayor resistencia a la oxidación de los aceites para freír; otras son modificadas para eliminar ciertos alergenos,[17] o bien con un mejor perfil de aminoácidos.[29]

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. Amaya-Guerra, C.A., Alanís-Guzmán, M.G. y Serna, 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. Anderson, J.W., Johnstone, B.W., 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.

5. 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.

6. Arjmandi, B.H., Khalil, D.A., Lucas, E. y Sanborg, A. 2004. "Soy protein may alleviate osteoarthritis symptoms". *Phytomedicine* 7/8; pp. 567-575.

7. 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.

8. Babajimopoulus, 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: Thermodymanic observations". *J. Agric. Food Chem.*, 31:1270.

9. Barnes, S. 1995. "Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer". *J. Nutrition*, 125:777-783.

10. Bren, E., Santos, L. y Almeida, V.J. 2011. "Desarrollo de una bebida probiótica a partir de extracto soluble de soya". *Industria Alimentaria* 33:5.

11. 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.

12. Damoran, S. y Paraf, A. 1997. "Food proteins and their applications". Marcel Dekker, Nueva York.

13. 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.

14. 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, IL. pp. 528-547.

15. 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.

16. Henley, E.C. y Juster, J.M. 1994. "Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring". *Food Technol.* 48(4):74-77.

17. Herman, E.R., R.M. Helm, R. Jung y A.J. Kinney. 2003. "Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean". *Plant Physiol.* 132:36-43.

18. Hong, K.J., Lee, C.H., Kim, S.W. Invierno de 2004. "Aspergillus oryzae GB 107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals". *J. Med. Food*, 7(4): 430-435.

19. Iwabuchi, S. y Yamauchi, F. 1984. "Effects of heat and ionic strength upon dissociation-association of soybean protein fractions". *J. Food Sci.*, 49:1289.

20. 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.

21. 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, pp. 117-160.

22. Mermelstein, N.H. 2011. "Addressing Bioavailability and Digestibility". *Food Technol.* 3: 76-79.

23. 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.

24. Mehta, R.G. y Pezzuto, J.M. 2005. "Phytochemicals and potential cancer chemopreventive agent". *En: Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*. Ed. D. Baghi y H.G. Preuss. CRC Press, Boca Raton, Fl., pp. 237-246.

25. 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.

26. 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, pp. 9-28.

27. 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.

28. Pszczola, D. E. 2011. "Reborn on the Bayou. High Oleic Soybean Oil". *Food Technol.* 8:54-81.

29. Rapp, W. 2002. "Development of soybeans with improved amino acid composition". 93rd AOCS Annual Meeting and Expo, Montreal, Canadá.

30. Smallwood, N. J. 2000. "Producción de aceite crudo, pasta y harina de soya". Editado por ASA, México, D.F.

31. 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.

32. 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.

33. Tsumura, K. 2005. "Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis". *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 38:255-261.

34. 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.

35. Van der Ven, C., Master, A.M. y van den Berg, R.W. 2005. "Inactivation of soybean trypsin inhibitors and lipoxygenase by high pressure processing". *J. Agric. Food Chem.* 53:1087-1092.

36. Wangen, K.E. y Duncan, A.M. 2001. "Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildy hypercholesterolemic postmenopausal women". *Am. J. Clin. Nutr.* 73(2):225-231.

14

- Introducción
- Ingeniería genética y OGMs
- Los OGMs comerciales para la alimentación
- OGMs en desarrollo
- Análisis de riesgos y marco regulatorio
- Métodos de detección de OGMs en alimentos
- Conclusiones

Referencias bibliográficas

Amanda Gálvez Mariscal
Alejandra Barrios Pérez
Ana Berenice de la Barrera Avilés
María del Rocío Fernández Suárez

Alimentos transgénicos

Introducción

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) para 2050 la población mundial será de 9 100 millones (FAO, 2009).[23] A partir de esta proyección, son lógicas las incógnitas que surgen con relación a la suficiencia alimentaria, sus retos y amenazas; incluido el probable impacto del cambio climático sobre los sistemas productivos de alimentos.

Ante esta situación, se han ido integrando diversos avances tecnológicos a las actividades agropecuarias con la intención de hacerlas más productivas y rentables, dentro de un marco de desarrollo sustentable. En los últimos años la ingeniería genética ha contribuido con algunas técnicas novedosas al fitomejoramiento y a la manipulación de animales y microorganismos, lo que ha dado lugar a la generación de organismos genéticamente modificados (OGMs), muchos de los cuales han encontrado en los sistemas productivos de alimentos uno de sus principales campos de aplicación y podrían contribuir a la producción sustentable de alimentos para la población mundial, así como a la generación de alimentos más saludables.

A los OGMs se les incorporan genes ajenos a ellos, es decir, se les manipula genéticamente en el laboratorio, y de ello se obtienen organismos con características novedosas, algo que no se lograría por cruzas tradicionales, dado que implica la transferencia de genes de una especie a otra; por esta razón se llaman transgénicos.

Entre otras características, la tolerancia a herbicidas, o la resistencia a enfermedades, plagas y condiciones ambientales adversas han concitado el interés no sólo de agrónomos, sino también de los profesionales en ciencias del medio ambiente y la salud. Además de las mejoras logradas, otro objetivo ha sido producir algunas sustancias difíciles de obtener a partir de los sistemas biológicos convencionales presentes en la naturaleza; existen desarrollos interesantes como la expresión de lisozima y lactoferrina humanas en la leche de ganado bovino u ovino, o bien, la producción de insulina genéticamente modificada (GM) o recombinante en sistemas microbianos. También se han manipulado árboles para modificar su lignina, de modo que se facilite la extracción de la pulpa de celulosa, o se han insertado hormonas de crecimiento en peces que, gracias a eso, alcanzan el tamaño comercial en menos tiempo del normal.

Una gran parte de los OGMs mencionados se relacionan con la cadena de producción de alimentos. Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005)[49] sugiere cuatro categorías para los alimentos producidos mediante biotecnología moderna:

a) Alimentos que consistan en organismos vivos o viables GM, o que los contengan, por ejemplo el maíz.
b) Alimentos derivados de, o que contengan ingredientes derivados de OGMs, por ejemplo harina de maíz GM o productos que contengan aceite (o proteína) de soya GM.
c) Alimentos que contengan un solo ingrediente o aditivo producido por un microorganismo GM, por ejemplo colorantes, vitaminas o aminoácidos esenciales.
d) Alimentos cuyos ingredientes se hayan obtenido mediante enzimas producidas por microorganismos GM, por ejemplo jarabe fructosado a partir de almidón, a través de la enzima glucosa isomerasa producida por un microorganismo GM.

En sentido estricto, los alimentos conocidos como transgénicos entran en la primera categoría, aunque persiste la idea errónea de englobar en ella también a los demás. En este capítulo revisaremos principalmente las dos primeras categorías.

Las plantas dominan actualmente el comercio de este tipo de productos GM, seguidas por los productos GM disponibles en el mercado de ingredientes, que son los llamados "ayudas de proceso" y enzimas que se han obtenido a partir de microorganismos GM. También existen algunos animales GM como los salmones y las tilapias a las que se les administra hormona de crecimiento para reducir el tiempo requerido para su comercialización.

Ingeniería genética y OGMs

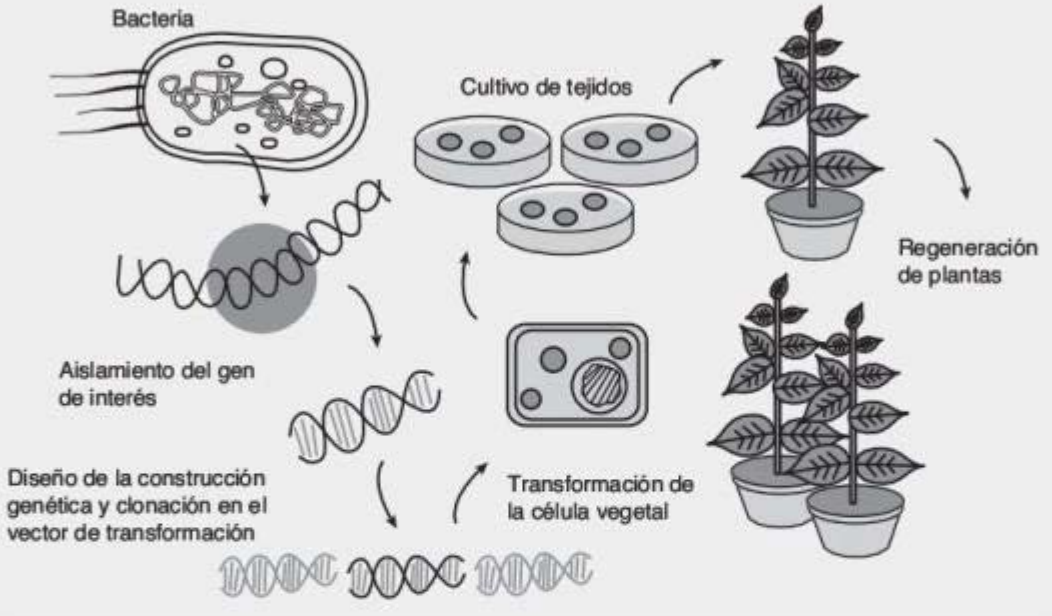
¿Cómo se obtiene una planta transgénica? Una visión general

La manipulación genética consiste en introducir "trozos" de ácido desoxirribonucleico (ADN) ajeno a las células que se desea transformar, mediante técnicas llamadas "de ADN recombinante".

Son dos las estrategias principales de transformación genética de plantas: la que se realiza mediante vectores vivos, utilizando organismos que de forma natural infectan a las plantas (por ejemplo, *Agrobacterium tumefaciens*), o algunos virus, así como la transferencia directa de genes utilizando métodos físicos o fisicoquímicos,[34] como se revisará con mayor detalle más adelante. Cualquiera de ambas técnicas implica la manipulación del gen de interés (transgén o gen del carácter novedoso) para integrarlo en un vehículo capaz de introducirse en las células que se desee transformar; a éste se le conoce como vector de transformación.

Una vez transformada la célula vegetal, la planta debe regenerarse mediante el cultivo de tejidos, para lo cual se utilizan embriones vegetales inmaduros que en su momento fueron blanco para la introducción del ADN ajeno al organismo (figura 14.1). Obtenida la planta transgénica, se cultiva hasta alcanzar la madurez para producir semillas; éstas, a su vez, se convierten en la base de las subsiguientes generaciones, que también se someterán a diversos ensayos para evaluar expresión fenotípica, productividad, rendimiento, características nutricias, etcétera.

Figura 14.1 Esquema general del proceso de obtención de una planta transgénica.



El vector de transformación y sus elementos

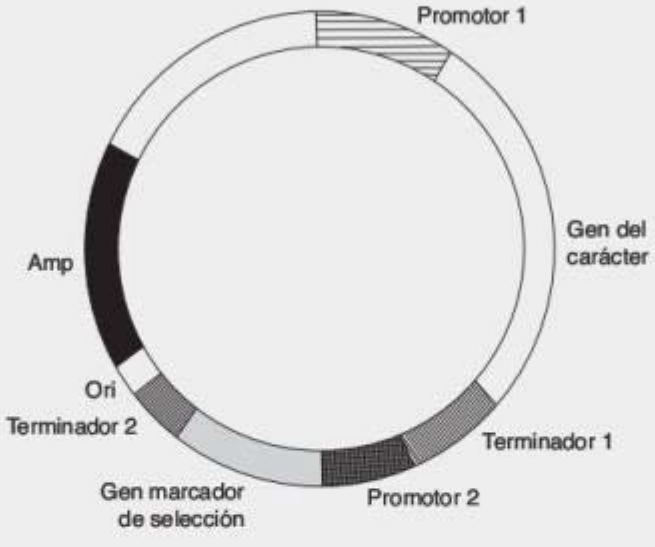
El conjunto de segmentos de ADN que contiene la información que permitirá al nuevo OGM expresar características novedosas específicas se denomina "construcción genética", y se inserta en el genoma del organismo receptor (hospedero) mediante el "vector de transformación" (figura 14.2), como se llama este tipo de plásmido debido a su función de transferir genes ajenos. En el proceso de desarrollo del organismo GM se inserta este vector en bacterias que funcionan como reactor biológico y que replican el gen de interés. En todos los casos es necesario incluir una serie de elementos clave que contribuyan a lograr la expresión de la característica novedosa en el nuevo hospedero.

La figura 14.2 muestra un esquema simplificado con los diversos elementos que integran la construcción genética en el vector de transformación.

Además del gen de interés, en el vector se encuentra un gen marcador de selección (cuadro 14.1), que al expresarse permite identificar y seleccionar a las células transformadas que ahora contienen al vector. Si éstas se multiplican, el ADN insertado se amplifica para obtenerlo en cantidades suficientes y utilizarlo posteriormente. En algunos casos se insertan genes reporteros bajo el control de los elementos de la construcción que también permiten verificar el éxito de la transformación. Se trata por ejemplo de genes que expresan un color que las

distingue de las células no transformadas, y que se encuentran bajo el control de elementos regulatorios idénticos a los que regulan al gen novedoso (el transgén). De esta forma se prueba el sistema a base de cambios claramente visibles en el nuevo organismo. Entre ellos se encuentra el gen *gus* que confiere a las células un color azul, o el gen *gfp* que hacen que se exprese una fluorescencia verde en las células transformadas (cuadro 14.1).

Figura 14.2 Vector típico de transformación.[36]



CUADRO 14.1 **Ejemplos de genes marcadores y reporteros[61,9]**

Gen	Producto génico	Agente selectivo o sustrato
Genes que confieren resistencia a antibióticos		
Hpt	Higromicina fosfotransferasa	Higromicina B
nptII	APH (3') enzima II*	Kanamicina, neomicina, geneticina
cat	Acetiltransferasa	Cloramfenicol
Genes que confieren tolerancia a herbicidas		
bar y *pat*	Fosfinotricina acetil transferasa (PAT)	Fosfinotricina (PPT) o glufosinato
Genes reporteros		
Gfp	Proteína verde fluorescente	Fluorescencia, oxígeno
Luc	Luciferasa de luciérnaga	Luciferina, ATP, oxígeno
Gus	β-glucuronidasa	β-glucurónidos, formación de coloración azul

* APH: Aminoglucósido-3'-fosfotransferasa.

Los genes marcadores basados en la resistencia a los antibióticos han sido utilizados ampliamente, de forma que muchas de las variedades comerciales los contienen, como un residuo de la estrategia con la que se construyó el OGM. Se ha cuestionado su presencia en el OGM final, por la posibilidad —aunque remota— de la transferencia de la resistencia a antibióticos a las bacterias del rumen o del tracto gastrointestinal de quien consuma el alimento transgénico. Esta posibilidad requeriría que el ADN pudiera ser transferido a alguna bacteria e integrado a su genoma; esto sería un problema si la bacteria fuera patógena y tuviera que ser combatida con el antibiótico en cuestión. En dicho caso la bacteria, ahora transformada, se convertiría en resistente al antibiótico y se inutilizaría este medicamento en la clínica. También existe preocupación por el uso de genes de tolerancia a herbicidas como marcadores de selección, en especial porque podrían ser transferidos a parientes silvestres de los cultivos GM y producir descendencia viable. Si alguna maleza adquiriera la resistencia al herbicida, originalmente destinada al cultivo, se convertiría en resistente al herbicida y éste perdería su utilidad en el campo (cuadro 14.1).

Los elementos regulatorios (promotor y terminador) son indispensables en la construcción genética, pues determinan la correcta expresión del transgén.

El promotor es la "llave de encendido" que controla el momento y el sitio específico donde se expresará el gen en la planta, mientras que la secuencia del terminador indica a la maquinaria celular que se ha alcanzado el final de la secuencia génica de interés que se expresará.

Existen dos tipos básicos de promotores:

- Constitutivos.
- Inducibles (específicos para un tejido).

Hasta ahora, la mayoría de los promotores en las variedades de cultivos transgénicos han sido "constitutivos", esto significa que causan la expresión del gen durante todo el ciclo biológico de la planta en la mayoría de los tejidos. El promotor constitutivo que se usa más comúnmente es CaMV35S, proveniente del virus del mosaico de la coliflor, que por lo general produce un alto grado de expresión en las plantas. De hecho, su detección constituye uno de los primeros métodos utilizados para el monitoreo de OGMs en el ambiente. Otros promotores son la ubiquitina y la actina. Los promotores inducibles o específicos para un tejido responden a señales indicadoras en el medio interno o externo de la planta. Por ejemplo, si el objetivo es manipular el polen, entonces se dispone de 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 con que cuentan 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 al promotor más apropiado para la construcción genética.[9,14,36]

Principales métodos para la transferencia de genes

Para el caso de las plantas, la técnica más utilizada es la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, seguida del bombardeo con microproyectiles ("pistola de genes" o biobalística) y la transferencia directa de genes a protoplastos (células vegetales sin pared). En este último caso, la transferencia de genes se logra principalmente a través de la permeación de membranas celulares inducida por corrientes eléctricas (electroporación) y por tratamientos químicos con polietilenglicol (PEG).[9]

● Transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

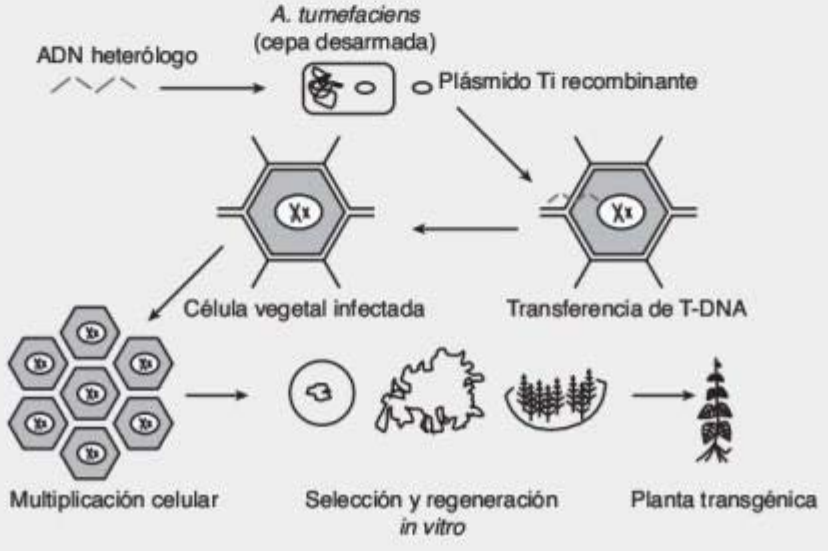
La técnica más utilizada para transformar plantas, se basa en el uso de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* como vehículo de la construcción genética que se desea introducir en el nuevo OGMs. Esta bacteria fitopatógena, causante de la formación de "agallas" o tumores en el tallo de las plantas, al infectar a células vegetales les transfiere plásmidos, que son elementos extracromosómicos de ADN circular que se integran en el genoma de la planta infectada para dirigir la síntesis de algunas proteínas utilizando la maquinaria celular de la planta. La ingeniería genética aprovecha esta capacidad para transferir el nuevo ADN de forma controlada a las células vegetales que se quiere transformar. *A. tumefaciens* tiene plásmidos Ti (inductor de tumores) que contienen una serie de genes *vir* (de virulencia) que dirigen el proceso de infección y un T-DNA (ADN de transferencia) de aproximadamente 20 kilobases (kb) de longitud, que se transfiere a la planta en el proceso de infección. El T-DNA codifica para las proteínas que se requieren para mantener la infección en la planta (figura 14.3).

Para utilizar *A. tumefaciens* se requiere manejar al plásmido Ti como el vector del transgén al que se le ha eliminado la sección del T-DNA que induce los tumores pero se conservan los extremos y los genes *vir*. El transgén se inserta entre los extremos del T-DNA utilizando tecnología de ADN recombinante. En el proceso de infección, el transgén se transfiere a la célula vegetal y se integra en los cromosomas.[39] Para efectuar la transformación, las células de *Agrobacterium* que contienen ahora el plásmido Ti con el transgén, se inoculan en tallos vegetales o en pequeños círculos cortados de las hojas para permitir la infección y la transferencia del T-DNA a las células. El proceso culmina con la utilización del cultivo de tejidos para crecer plantas completas que deberán seleccionarse y comprobar que han sido transformadas con éxito. Esta técnica está casi exclusivamente restringida para dicotiledóneas.[9,22]

● Técnicas de transformación de protoplastos

Los protoplastos son células vegetales a las que se ha removido de forma enzimática la pared celular.[39] La regeneración a partir de un protoplasto se debe a su característica toti-

Figura 14.3 Fitomejoramiento mediante transformación por *A. tumefaciens*.[6]



potencial que le permite reconstituir la planta completa.[9] Existen diferentes métodos para transferir el ADN a los protoplastos a través de la membrana plasmática: tratamientos químicos, electroporación y técnicas de microinyección.

Técnicas químicas

La más utilizada de las técnicas químicas es el tratamiento con polietilenglicol (PEG) en soluciones del 10-15% con alta concentración de calcio y pH elevado. Después de mezclar el ADN aislado y los protoplastos, seguido de varios lavados, el ADN es absorbido por el protoplasto. El papel del PEG es permeabilizar la membrana de manera reversible, lo que permite que las macromoléculas exógenas puedan entrar al citoplasma. Las otras técnicas químicas utilizan coprecipitación con Ca^{+2} o la utilización de liposomas para transferir el ADN.[9]

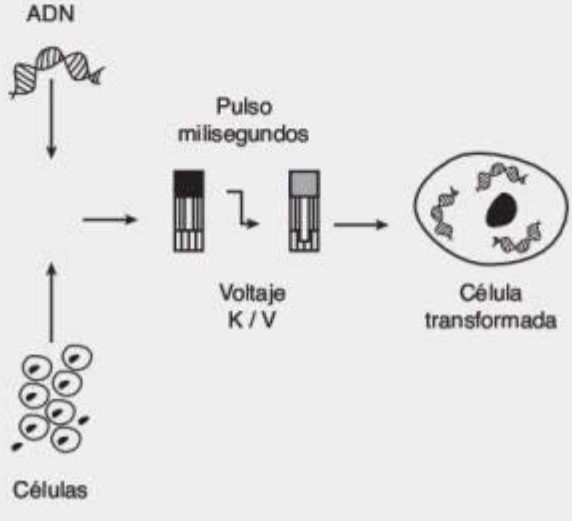
Electroporación

A la mezcla de ADN y protoplastos se le aplican pulsos eléctricos que provocan un aumento de la permeabilidad de la membrana del protoplasto al ADN. Aunque por lo general esta técnica tiene resultados satisfactorios, los pulsos eléctricos y la concentración salina deben ser controlados cuidadosamente para evitar el daño celular. Los pulsos inducen la formación transitoria de microporos en la bicapa lipídica de la membrana, que persisten durante algunos minutos y permiten que penetre el ADN.[9] Esta técnica también se usa para transformar hongos (figura 14.4).

Microinyección

Aunque esta técnica originalmente se utilizó para transformar células animales, también se adaptó para protoplastos. La microinyección requiere de un equipo especializado y un trabajo minucioso, con lo que se ha logrado transformar con éxito monocotiledóneas y dicotiledóneas.[9]

Figura 14.4 Diagrama de flujo del método de electroporación.[6]



● Transformación-transducción mediada por virus

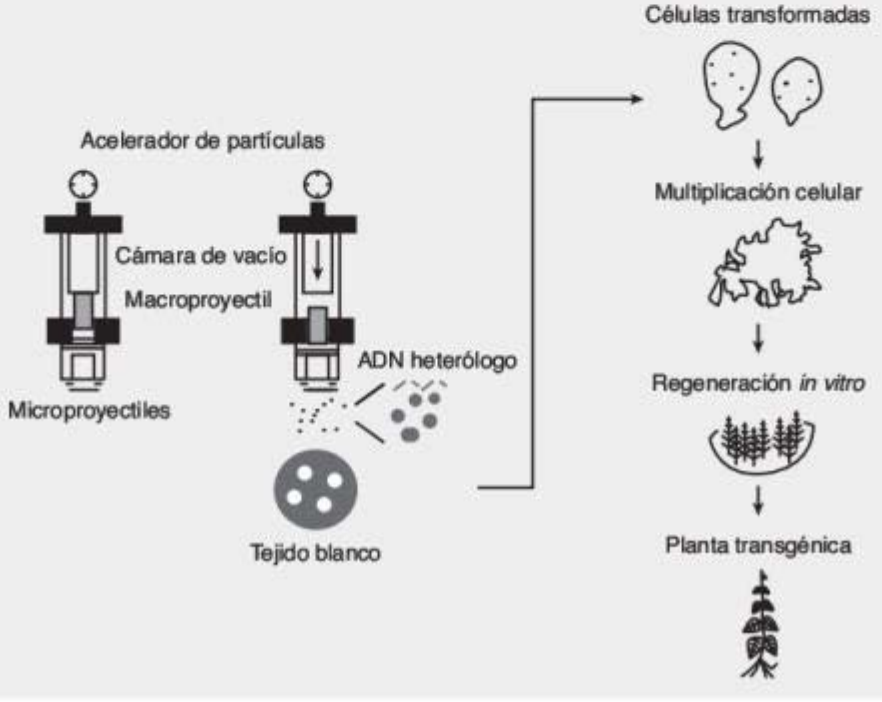
Los vectores basados en virus han demostrado ser herramientas eficientes para la expresión de proteínas foráneas en plantas. Estos vectores se derivan principalmente de virus vegetales, como el del Mosaico del Tabaco (TMV), y se manipulan para que codifiquen la proteína de interés. La introducción inicial de este tipo de vectores a la planta se puede lograr con *Agrobacterium* (el vector se codifica en el T-DNA que se transfiere a la planta). Este método tiene la ventaja de que puede aplicarse a plantas enteras mediante agroinfiltración, lo que elimina el laborioso cultivo de tejidos.[13,9]

Una vez dentro de la célula vegetal, los vectores basados en virus se replican de manera autónoma y se extienden de célula a célula para dirigir la síntesis de la proteína de interés codificada. Las ventajas de este método son: que se puede aplicar a plantas enteras con resultados más rápidos que con otros métodos utilizados para crear plantas transgénicas, y el alto nivel de expresión de la proteína deseada en un corto tiempo. La mayor desventaja es que el proceso es transitorio, los niveles de expresión decaen con el tiempo y el cambio genético no es heredable.[9]

● Biobalística o bombardeo con micropartículas

Es un proceso que permite introducir ADN, prácticamente a cualquier tipo de célula. En este procedimiento partículas microscópicas (de tungsteno o de oro) recubiertas del ADN de interés se introducen a las células a altas velocidades, éstas atraviesan la pared y la membrana celular causando la muerte de muchas de las células, pero siempre hay algunas que son viables y que se han transformado (figura 14.5).

Figura 14.5 Incorporación de genes heterólogos en plantas por la técnica de biobalística.[6]



Las pequeñas partículas de tungsteno o de oro (0.5-5 μm), adquieren un *momentum* (masa × velocidad) suficiente para penetrar a las células blanco mediante un fuerte impulso de un gas a presión como helio comprimido, o el que puede derivarse de una explosión química o una descarga eléctrica. Las células o los callos vegetales que constituyen el blanco de los proyectiles se disponen de tal forma que presenten la máxima superficie para el bombardeo, en un área de cerca de 5 cm de diámetro. Las partículas se adentran en las células permitiendo que el ADN se integre al genoma de la planta contenido en el núcleo de las células, y se espera que pueda ser expresado. El proceso de integración al genoma es espontáneo y cada célula transformada adquiere el ADN foráneo en sitios distintos del genoma. La también llamada biobalística fue la técnica que permitió la transformación de plantas monocotiledóneas como el maíz, que hasta antes de su aplicación habían sido resistentes a la transformación genética con *Agrobacterium*. Recientemente la biobalística utiliza al *Agrobacterium* como el material que recubre a las micropartículas que se disparan a los callos.[9,28,37]

En todos los métodos de transformación arriba descritos el resultado es un cierto número de "clonas" que han integrado el transgén a su genoma. De allí se regeneran las plantas y se evalúa su desempeño general y la expresión del transgén. Puesto que el ADN transferido en cada disparo de la pistola de genes, o posterior a una electroporación o tratamiento con PEG, etc., resulta integrarse en un lugar diferente del genoma del organismo hospedero, a cada transformante se le llama entonces "evento de transformación". Así entonces a las variedades comerciales GM se les conoce como "eventos de transformación" porque tienen una secuencia particular y específica ya que provienen de un solo evento de transferencia de ADN, lo que hace que el transgén se encuentre en una posición específica dentro del genoma del nuevo OGM, diferente de cualquier otro evento de transformación.

Los OGMs comerciales para la alimentación

FlavrSavr™, el primer alimento GM

En 1994 se lanzó al mercado el primer alimento transgénico. El desarrollo hecho por la compañía norteamericana Calgene, Inc., tuvo por objeto ofrecer una alternativa a los tomates (*Lycopersicon esculentum*) disponibles fuera de temporada, cuya apariencia y sabor eran poco atractivos al consumidor. El tomate es un fruto climatérico en el que el mecanismo enzimático de degradación se desencadena cuando es removido de la planta. Una de las principales enzimas involucradas en el proceso de decaimiento es la poligalacturonasa, que degrada las paredes celulares y provoca un ablandamiento del tejido que conforma el fruto, por lo que en poco tiempo pierde su valor comercial.

La modificación genética consistió en reducir la expresión normal del gen que codifica para la poligalacturonasa, con la intención de retrasar la maduración del tomate, en particular su ablandamiento, y así incrementar su vida de anaquel. La marca que registró Calgene fue Flavr Savr™. La construcción genética presentaba un gen de tomate, que era un fragmento de ADN antisentido con respecto al gen normal. Esto significa que poseía una orientación contraria y una secuencia complementaria respecto a una porción del gen fisiológico, de modo que el producto de este gen sintético, su ARN mensajero, se une específicamente al ARN mensajero correspondiente al gen normal de la poligalacturonasa y causa su bloqueo. Al bloquearlo se impide su traducción, lo que anula la síntesis de la enzima.

Como primer alimento transgénico, fue pionero en muchos sentidos. La Food and Drug Administration (FDA), agencia estadounidense encargada de la autorización de alimentos, desarrolló nuevos procedimientos de análisis de riesgos encaminados a evaluar la seguridad de alimentos obtenidos por ingeniería genética. Ya que en este caso el tomate GM no expresaba una proteína nueva (proteína heteróloga) y sólo se bloqueaba la expresión de una enzima natural, la FDA decidió evaluar toxicidad, inocuidad y alergenicidad del tomate *per se*, lo que evidenció la inexistencia de modelos animales o experimentales para realizar evaluaciones de riesgos a la salud humana en este tipo de alimentos. Actualmente, en el caso de alimentos que expresan una toxina o una proteína heteróloga, como los granos Bt (de *Bacillus thuriengiensis*) resistentes a insectos, se realizan experimentos con animales de laboratorio alimentados con una sobredosis de la proteína heteróloga, aunque con frecuencia se les alimenta con la proteína sobreexpresada en vectores bacterianos y no con la proteína directamente extraída del alimento.

Han pasado casi 20 años desde la salida al mercado del primer alimento transgénico. Desde 1998 existen maíz y soya transgénicos en Estados Unidos y países que los importan, y para el mercado de granos a granel frecuentemente se autorizan nuevos eventos de transformación y otros desaparecen. De hecho el tomate Flavr Savr™ salió del mercado debido a que sus características organolépticas no resultaron agradables al consumidor. Otras variedades de tomate altas en sólidos, y útiles para ahorrar energía durante la evaporación en la producción de puré que utilizaba la cadena británica Sansbury, se retiraron del mercado europeo no porque fueran poco útiles, sino porque la aceptación de los consumidores a los alimentos transgénicos en Europa es difícil. Eso, aunado a las estrictas reglamentaciones que se imponen a esos productos, ha dificultado su comercialización y cultivo en esas latitudes.

Cultivos GM en el comercio internacional

Desde la comercialización de la primera planta transgénica se inició el desarrollo de otras más en varios países del mundo y tanto la finalidad como el mercado a los que originalmente iban dirigidos, fueron cambiando con el tiempo.

Una forma de visualizar estos desarrollos biotecnológicos es asignándoles "generaciones" (cuadro 14.2):

a) La primera está enfocada a mejorar la eficiencia agronómica y cuenta con la mayor parte de productos comerciales.

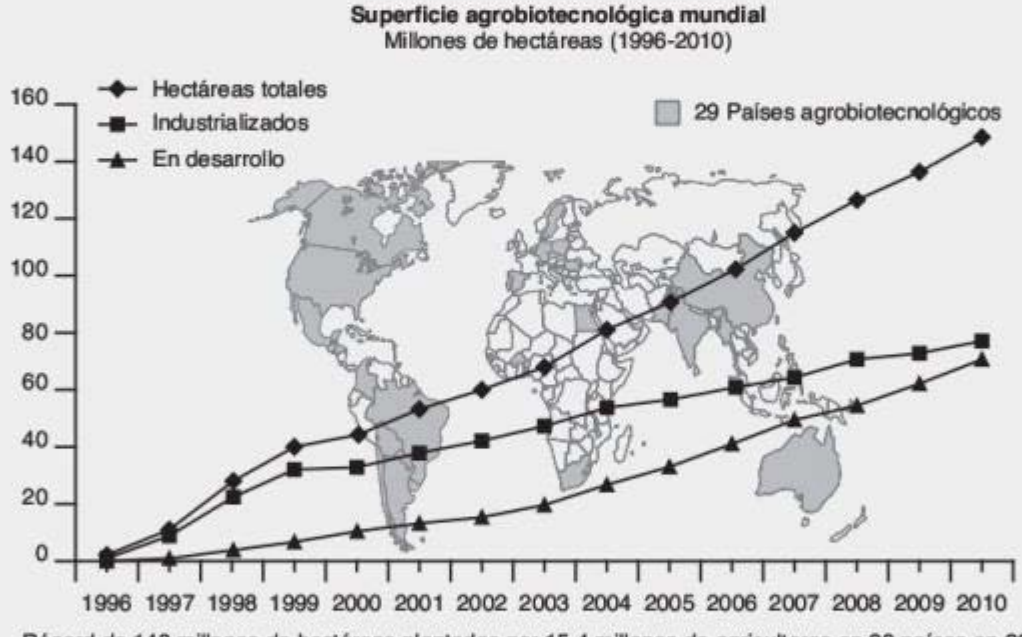
CUADRO 14.2 **Generaciones de cultivos GM**

Generación	Rasgos	Ejemplos
Primera	Eficiencia agronómica *input traits*	Resistencia a insectos, tolerancia a herbicidas.
Segunda	Modificaciones "interesantes" para el consumidor o mejoras para procesamiento *output traits*	Resistencia a enfermedades (hongos, virus), a estrés abióticos, modificaciones nutrimentales y nutracéuticas, con mejor calidad.
Tercera	Molecular *pharming* Plantas como biorreactores	Producción de fármacos, vacunas, vacunas orales, aceites y sustancias industriales de especialidad (no comestibles).

b) Los de la segunda aún no alcanzan el nivel comercial y su adopción, pese a buscar el beneficio del consumidor o hacer más eficientes los procesos, se ha enfrentado a la oposición de los consumidores, sobre todo en Europa y Japón, países que requieren el etiquetado cuando los contenidos de OGM son mayores de 0.9 y 5%, respectivamente.[63,64]

c) La tercera considera el uso de las plantas como biorreactores para expresar sustancias no necesariamente comestibles, por lo que la evaluación de riesgos es muy complicada si se trata de cultivos alimenticios manipulados para producir vacunas o medicamentos, o bien sustancias industriales, ya que pueden comprometer las características inocuas de los cultivos en las que se producen. Hasta ahora, este tipo de OGMs no cuenta aún con permisos para liberarse al ambiente, o se encuentra en fase de desarrollo e investigación.

Figura 14.6 Producción de cultivos GM en el mundo (1996-2010).[15]



Fuente: Clive James, 2010.

En la escena mundial, la producción de cultivos GM de primera generación se ha incrementado constantemente. La figura 14.6 ilustra la producción de cultivos GM en el mundo a lo largo de 15 años.

De esos cultivos, los productos comerciales más importantes son la soya, el maíz, el algodón y la canola (cuadro 14.3). Las principales modificaciones genéticas que presentan son la resistencia a insectos, la tolerancia a herbicidas y la combinación de ambas en un solo evento de transformación por "apilamiento" de genes, que conduce a la presencia simultánea de los dos rasgos agronómicos. Estos OGMs también son conocidos como variedades *stacked* ("apiladas") y hay variedades desarrolladas que pueden presentar dos o más características simultáneamente.

CUADRO 14.3 **Principales cultivos GM a nivel mundial[15]**

Cultivo	Característica	Cultivado 2007 (MHas)	Cultivado 2010 (MHas)	Eventos de transformación
Soya	Tolerante a glifosato	58.6* (51.4%)	90* (81%)	8 eventos de transformación aprobados para proceso Soya RR™ resistentes a insectos
Maíz	Resistente a insectos (Bt) y tolerante a herbicidas	35.2* (31%)	158* (29%)	44 eventos aprobados para proceso: Bt-11, Bt-176, MON-810, etcétera
Algodón	Resistente a insectos (Bt) y tolerante a herbicidas	15.0* (13%)	33* (64%)	14 eventos aprobados: generaciones de Bollgard™ y Bollgard II™, etcétera
Canola	Tolerante a herbicidas	5.5* (5%)	31* (23%)	23-18-17, 23-198 GT200, 73, RT73, HCN10, MS1, PG51, MSxRF3, HCN28, entre otros

* Área base 2007: 143.7 millones de hectáreas; 2010: 150 millones de hectáreas.

La soya y el maíz GM tienen en la industria alimentaria su principal campo de aplicación. Ambos pueden consumirse directamente, o bien elaborarse productos a partir de ellos, como almidones y aceites. La soya se utiliza como materia prima para obtener aislados proteínicos, aceite y lecitina, mientras que el maíz comercial GM, que sobre todo es maíz amarillo para uso industrial, se utiliza como fuente de almidón que tiene aplicaciones directas, y que a su vez es materia prima para fabricar glucosa, esta última con aplicaciones directas o como materia prima para fabricar fructosa, o bien para uso pecuario. Actualmente se utiliza también para producir biocombustibles.

El algodón se siembra para obtener aceite, alimentos balanceados y, por supuesto, la fibra para uso textil.

La canola y la colza (*Brassica napus* y *B. rapa*, respectivamente) se utilizan sobre todo para la extracción de aceite y para producir alimentos balanceados.

Además de los cuatro principales cultivos GM, existen otros de importancia mundial (cuadro 14.4), aunque no alcanzan aún altos niveles de siembra.

La lista de desarrollos biotecnológicos es larga y aunque muchos se encuentran aún en fase de investigación, también existen variedades GM de arroz, cártamo, sorgo, cebada, yuca, caña de azúcar, girasol, trigo, lino, trébol, espinaca, brócoli, col, zanahoria, coliflor, pepino, berenjena, lechuga, cebolla, chícharo, chile, cacahuate (maní), yuca, ciruela, manzana, plátano, melón, cereza, coco, uva, cítricos, kiwi, mango, piña, frambuesa, fresa, sandía, achicoria, café, cacao, ajo, lupino, mostaza, palma aceitera, amapola, olivo, clavel, rosa y tabaco, entre otros.[25]

El OGM más reciente y de gran interés para América Latina, desarrollado por la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), una institución pública de investigación, es el frijol pinto resistente al virus del mosaico dorado.[7] Este virus se transmite a la planta mediante su vector, la mosquita blanca, muy difícil de controlar. Para generar la resistencia se insertó un ARN pequeño de interferencia (ARNi) que silencia la región de una secuencia (AC1) importante para replicar el virus. La fuente del ARN fueron las propias plantas de frijol que al final de la infección generaban ARNi pequeños. En este caso no hay expresión de proteínas heterólogas. Sin embargo, la evaluación de riesgos se realizó de manera estricta: se alimentaron diversas generaciones de ratones con el frijol y con el ADN desnudo y se verificó la histopatología; se efectuaron análisis de electroforesis de 2D de proteínas y se demostró

CUADRO 14.4 **Superficie mundial de cultivos GM en 2010[15]**

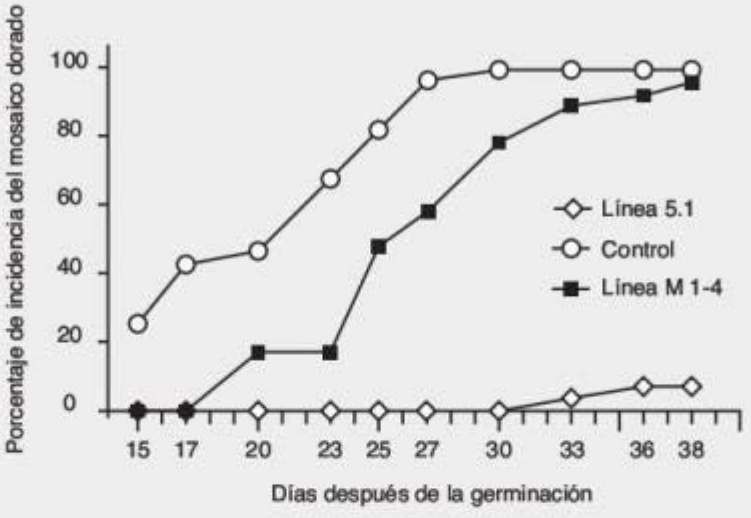
Posición	País	Área (millones de hectáreas)	Cultivos GM
1	Estados Unidos*	66.8	Maíz, soya, algodón, colza, remolacha, azucarera, alfalfa, papaya y calabaza
2	Brasil*	25.4	Soya, maíz y algodón
3	Argentina*	22.9	Soya, maíz y algodón
4	India*	9.4	Algodón
5	Canadá*	8.8	Colza, maíz, soya y remolacha azucarera
6	China*	3.5	Algodón, tomate, álamo, papaya y pimiento dulce
7	Paraguay*	2.6	Soya
8	Pakistán*	2.4	Algodón
9	Sudáfrica	2.2	Maíz, soya y algodón
10	Uruguay*	1.1	Soya y maíz
11	Bolivia*	0.9	Soya
12	Australia*	0.7	Algodón, colza
13	Filipinas*	0.5	Maíz
14	Myanmar*	0.3	Algodón
15	Burkina Faso*	0.3	Algodón
16	España*	0.1	Maíz
17	**México***	**0.1**	**Algodón y soya**
18	Colombia	<0.1	Algodón
19	Chile	<0.1	Maíz, soya y canola
20	Honduras	<0.1	Maíz
21	Portugal	<0.1	Maíz
22	República Checa	<0.1	Maíz y papa
23	Polonia	<0.1	Maíz
24	Egipto	<0.1	Maíz
25	Eslovaquia	<0.1	Maíz
26	Costa Rica	<0.1	Algodón y soya
27	Rumania	<0.1	Maíz
28	Suecia	<0.1	Papa
29	Alemania	<0.1	Papa
	Total	148.0	

* Son 17 países, encabezados por Estados Unidos, Brasil y Argentina, los que han sembrado cultivos biotecnológicos con un mínimo de 50 000 hectáreas.

que todas las fracciones se conservan, por lo que mantiene su valor nutrimental, entre otras muchas pruebas. Esta variedad ha sido aprobada también en Europa y Japón, y en Brasil obtuvo la autorización para producirla de forma comercial en 2011.

En la figura 14.7 se muestra una gráfica que demuestra la ventaja del frijol GM resistente al virus frente a la infección.[7]

Figura 14.7 Desarrollo de la enfermedad del virus del mosaico dorado en líneas transgénicas retadas con el virus. Las plantas transgénicas y el control fueron germinadas en presencia de una población virulenta de mosquita blanca. La evaluación se realizó de forma visual, registrando el primer día del aclaramiento de las venas.[7]



OGMs en México

México ocupa el lugar 17 en la lista de países productores de cultivos GM, con aproximadamente 0.1 millón de hectáreas de algodón resistente a insectos y soya tolerante a herbicidas.[15] Por otro lado, desde 1988 se han solicitado permisos para ensayos en campo (tanto nivel experimental como a nivel piloto) de varios cultivos transgénicos; hasta mayo de 2011 se habían resuelto 679 solicitudes (cuadro 14.5).

CUADRO 14.5 **Resoluciones a solicitudes de cultivos GM en México (1988-2011)[14]**

Cultivo	Solicitudes	Cultivo	Solicitudes	Cultivo	Solicitudes
Algodón	332	Papa	6	Chile	1
Maíz	151	Tabaco	6	Piña	1
Soya	83	Papaya	5	Limón	1
Tomate	26	Alfalfa	5	Canola	1
Calabacita	18	Jitomate	3	Clavel	1
Trigo	15	Cártamo	2	Lino	1
Melón	7	Calabaza	1	Otros	5
Plátano	7	Arroz	1		

En México se distribuyen de forma comercial cultivos GM no desarrollados en el país, pero que después de una evaluación de su inocuidad han sido aprobados para su consumo por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). La lista de cultivos GM aprobados puede revisarse en http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/OGMS.aspx

Microorganismos GM para producción de enzimas auxiliares de proceso

Las enzimas como catalizadores biológicos de origen proteínico se han modificado desde el inicio de las aplicaciones de la ingeniería genética en alimentos. Al modificar ligeramente la secuencia de los genes que codifican para las enzimas, pueden lograrse cambios clave en su secuencia de aminoácidos que hacen posible modular la actividad enzimática y conferirles mayor estabilidad a la temperatura o a pH. Igualmente se han hecho cambios en el uso y especificidad por sus sustratos.

Actualmente se producen enzimas y hormonas de origen animal, cuyos genes han sido introducidos por ingeniería genética en organismos hospederos microbianos que son más fáciles de manejar (por ejemplo, *B. subtilis*, *E. coli*, etc.) que la fuente animal original.

Un área en la que con frecuencia se utilizan 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 desactivados, degradados o separados del producto final una vez terminada la fermentación o la síntesis enzimática, por lo que su aceptación ha sido más fácil, además de que se ha cuidado que los microorganismos hospederos no produzcan sustancias dañinas ni estén filogenéticamente relacionados con patógenos, a excepción de la *E. coli* con sus cepas como la K12 que han sido adecuadas por completo para evitar cualquier problema de infectividad o invasividad. Los efluentes de estos procesos no deben liberar al ambiente organismos GM viables. Ejemplos de las enzimas producidas de esta forma son: *a)* la α-amilasa para panificación y amilasas termorresistentes para la producción de jarabes de maíz; *b)* la glucosa isomerasa para producir jarabes fructosados, y *c)* la quimosina para queso. También se han autorizado microorganismos GM para producir vitaminas, aminoácidos y pigmentos carotenoides, por mencionar algunos ejemplos.[48,43]

De estas enzimas recombinantes, o GM, una de las más aceptadas en la industria alimentaria es la renina (quimosina) que de forma convencional se obtiene del estómago de los terneros y se usa para producir la cuajada en la elaboración de quesos. La fuente original resulta cada vez más cara y en su extracción presenta la posibilidad de acarrear priones relacionados con la encefalopatía espongiforme bovina (BSE). Durante muchos años se trató de sustituir la enzima original con proteasas de origen microbiano y de actividad muy específica, como las proteasas de *Mucor mihei*, *Rhizomucor* y *Endothia arbonica*. Sin embargo fue hasta el advenimiento de la ingeniería genética en el área de alimentos que se logró producir la enzima idéntica a la de ternero en forma comercial. Hoy en día en Estados Unidos la quimosina recombinante se utiliza para elaborar aproximadamente 70% de los quesos.[6]

El gen que codifica para quimosina (proteína de 365 aminoácidos) ha sido clonado y expresado con éxito utilizando un sinnúmero de vectores plasmídicos introducidos en organismos hospederos tales como *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus* spp., así como en células de riñón de hámsters recién nacidos, entre otros sistemas de clonación. Se ha logrado la expresión de las diferentes formas de quimosina, lo que incluye preproquimosina, metaproquimosina y metaquimosina como proteína heteróloga en *E. coli*.[45] La adecuada expresión de la quimosina se logró en un sistema de proteína de fusión que se activa autocatalíticamente a quimosina, como ocurre en la naturaleza durante la recuperación del producto, con lo que se asegura que el péptido final tenga el amino terminal adecuado.[46] La quimosina recombinante se produce de forma comercial en *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus niger* manipulados genéticamente y se utiliza mucho en Estados Unidos y Gran Bretaña.

Es importante destacar que en todos esos casos se emplean las proteínas (enzimas) de origen transgénico purificadas y los microorganismos GM no se consumen vivos en los

alimentos. Sin embargo, se han hecho investigaciones y desarrollos para modificar microorganismos para producir queso y yogurt, levaduras para pan y cerveza, iniciadores de cultivos lácticos y probióticos, que sí serían viables en los alimentos. Salvo algunas excepciones, por ejemplo en las levaduras GM usadas en la industria cervecera,[6] los microorganismos GM vivos en los alimentos prácticamente no se han comercializado.

Peces GM destinados a la alimentación

La creciente demanda proyectada y la sobreexplotación de la pesca sugiere que los peces GM pueden adquirir más relevancia tanto en países desarrollados como en otros en desarrollo. Es el salmón del Atlántico AquAdvantage® de mayor talla, que contiene un gen de la hormona de crecimiento del salmón Chinook, el primer animal GM en el mercado de alimentos cuya autorización se publicó en agosto de 2010[65]. Este pez crece de tres a cinco veces más rápido que sus contrapartes no transgénicas, lo que reduce el tiempo de producción y aumenta su disponibilidad como alimento con costos menores. Al menos otras ocho especies de peces de criadero se han modificado genéticamente para aumentar su crecimiento. Otros peces en los que se introdujeron hormonas de crecimiento en forma experimental son: la carpa herbívora, la trucha arco iris, la tilapia y el siluro.[4] En todos los casos, los genes de la hormona de crecimiento provienen de pescado. Para encarar algunos problemas prácticos de la acuacultura, las investigaciones también 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 investiga 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.

Uno de los problemas que enfrenta la acuicultura es la obtención de fuentes de alimentación en las granjas. La cría de especies de peces carnívoros como la trucha y el salmón produjeron pesca excesiva de anguilas de arena y capelán, alimento natural de estos peces. Para solucionar este problema, se busca modificar el metabolismo de estas especies en el laboratorio, mejorando su digestión de carbohidratos para permitir un cambio a una dieta más rica en proteínas vegetales.

La intolerancia al frío en las especies nativas de agua caliente, 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; 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 impactar significativamente en el punto de congelación de la sangre.

La evaluación de riesgos de la liberación de peces GM, los considera especies invasoras o exóticas por las características que adquieren y porque ahora pueden sobrevivir en ecosistemas donde antes era imposible.[26,51] Un requisito para la producción de peces GM es que sean triploides, y por lo tanto estériles, lo que reduce 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 el riesgo el equilibrio ecológico porque estas especies GM crecen muy rápido y pueden convertirse en depredadoras de otras o de su propia especie. Por ello se hace énfasis en la localización y la seguridad de las instalaciones, para evitar que los peces GM sean liberados al ambiente.

OGMs en desarrollo

OGMs de segunda generación

Como vimos antes, en este tipo de OGM las modificaciones están enfocadas principalmente al beneficio de productores de alimentos (industria alimentaria) y consumidores finales. Tales modificaciones o sobreexpresiones afectan a productos de rutas metabólicas específicas para lograr los beneficios deseados, que pueden ir desde la coloración de flores, hasta el incremento de nutrimentos específicos o la no expresión de compuestos o proteínas indeseables en el alimento final. La mayoría de estos desarrollos aún se encuentra en fase experimental en varios países. Sin embargo existen algunos OGMs de segunda generación que ya pasaron el proceso regulatorio y se encuentran en fases muy avanzadas en búsqueda de su aprobación comercial, sobre todo en el caso del aceite de soya GM (que es la especie más manipulada en este ámbito), seguida por la canola y otras fuentes menos comerciales como algodón y maíz.

Cuatro son, básicamente, los rasgos expresados por los desarrollos de segunda generación:

a) *Resistencia a enfermedades*. Entre otros, se han desarrollado variedades GM de papa, calabaza, pepino, sandía, papaya y otras plantas resistentes a hongos y/o virus.
b) *Maduración retardada*. En este rubro destacan las variedades GM de papaya, de maduración retardada.
c) *Resistencia a insectos particulares*. Se ha logrado desarrollar cultivos GM que expresan proteínas Bt específicas para plagas particulares de lepidópteros u otros insectos.
d) *Modificaciones en la composición nutrimental*. Existen muchos desarrollos en este campo, entre los que destacan los cultivos GM de soya y canola cuya composición de ácidos grasos se ha modificado con la intención de mejorar las propiedades funcionales de los aceites obtenidos a partir de estas plantas. Otro caso paradigmático ha sido el arroz dorado, que es resultado de un intento por desarrollar variedades de arroz que produzcan provitamina A (β-caroteno), como un medio para aliviar las carencias de vitamina A (retinol) en la alimentación de la población de bajos recursos de los países en desarrollo.

Dada la importancia de los OGMs de segunda generación con modificaciones en su composición nutrimental, a continuación se revisan algunos de sus logros más importantes.

● Cultivos GM que producen aceites modificados

Modificaciones dirigidas a las propiedades funcionales de los aceites y mejora tecnológica

Las propiedades funcionales de las grasas y los aceites se encuentran determinadas sobre todo 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 ocurre con 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 sobre todo en la industria de la pastelería y la confitería. Uno de los ácidos grasos más

apreciados en este contexto es el esteárico (C18:0) por ser una alternativa a los aceites parcialmente hidrogenados que contienen un nivel inaceptable de ácidos grasos *trans*. Por lo anterior, resulta que una de las estrategias más frecuentes para la modificación de grasas es la sobreexpresión de esteárico.

Otra aplicación útil es la modificación del aceite de colza *(Brassica rapa)* para aumentar la expresión del ácido láurico (12C).[20] 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 desaturado 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 aplicaciones de confitería. Sin embargo, no proveen de los precursores necesarios para desarrollar el aroma a chocolate.

Otros desarrollos GM de aceite de soya expresan mayores niveles de ácido oleico y de γ-linolénico que resultan más saludables para el consumidor.[38,55]

CUADRO 14.6 Ejemplos de cultivos en investigación y/o desarrollo de OGMs con características nutrimentales mejoradas para brindar beneficios a consumidores y animales[12]

Rasgo nutricional mejorado	Cultivo (fenotipo)	Referencia
Proteínas y aminoácidos		
Calidad y nivel de proteínas	Pasto Bahia (proteína↑)	Luciani y otros (2005)
	Canola (composición de aminoácidos)	Roester y otros (1997)
	Maíz (composición de aminoácidos, proteína↑)	Cromwell y otros (1967,1969), Yang y otros (2002), O'Quinn y otros (2000), Young y otros (2004)
	Papa (composición de aminoácidos, proteína↑)	Chakraborty y otros (2000), Li y otros (2001), Yu y Ao (1997), Atanassov y otros (2004)
	Arroz (proteína↑, composición de aminoácidos)	Katsube y otros (1999)
	Soya (balance de aminoácidos)	Rapp (2002), Dinkins y otros (2001)
	Camote (proteína↑)	Prakash y otros (2000)
Aminoácidos esenciales	Canola (lisina↑)	Falco y otros (1995)
	Lupino (metionina↑)	White y otros (2001)
	Maíz (lisina↑; metionina↑)	CERA (2012), Lai y Messing (2002)
	Papa (metionina↑)	Zeh y otros (2001)
	Sorgo (lisina↑)	Zhao y otros (2003)
	Soya (lisina↑; triptófano↑)	Falco y otros (1995), Galili y otros (2002)
Aceites y ácidos grasos		
	Canola (ácido láurico ↑; ácido γ-linolénico ↑;+ ácidos grasos ω − 3; ácidos grasos 8.0 y 10.0 ↑; ácidos laúrico + mirístico ↑: ácido oleico ↑)	Del Vecchio (1996), James y otros (2003), Dehesh y otros (1996), CERA (2012), Roesler y otros (1997)
	Algodón (ácido oleico ↑; ácido oleico + esteárico↑)	Chapman y otros (2001), Liu y otros (2002)
	Linaza (+ ácidos grasos ω-3 y ω6)	Abbadi y otros (2004)

	Maíz (aceite ↑)	Young y otros (2004)
	Aceite de palma (ácido oleico ↑ o ácido esteárico↑ + ácido palmítico↓)	Parveez (2003), Jalani y otros (1997)
	Colza (aceite y composición ácidos grasos	Zou y otros (1997)
	Arroz (ácido α-linolénico ↑)	Anai y otros (2003)
	Soya (ácido oleico ↑; ácido γ-linolénico↑)	Kinney y Knowlton (1998), Reddy y Thomas (1996)
Hidratos de carbon		
Fructanos	Achicoria (fructanos↑, modificación de fructanos↑)	Smeekens (1997), Sprenger y otros (1997)
	Maíz (fructanos↑)	Caimi y otros (1996)
	Papa (fructanos↑)	Hellwege y otros (1997)
	Betabel (fructanos↑)	Smeekens (1997)
Inulina	Papa (inulina↑)	Hellwege y otros (2000)
Almidón	Arroz	Chiang y otros (2005)
Micronutrimentos y metabolitos funcionales		
Vitaminas y carotenoides	Canola (vitamina E↑)	Shintani y Della Penna (1998)
	Maíz (vitamina E↑; vitamina C↑)	Rocheford y otros (2002), Cahoony otros (2003), Chen y otros (2003)
	Mostaza (+ β-caroteno)	Shewmaker y otros (1999)
	Papa (β-caroteno y luteína↑)	Ducreux y otros (2005)
	Arroz (+ β-caroteno)	Ye y otros (2000)
	Fresa (vitamina C↑)	Agius y otros (2003)
	Tomate (folato↑; fitoeno y β-caroteno ↑; licopeno ≠; provitamina A ↑)	Díaz de la Garza y otros (2004), Enfissi y otros (2005), Mehta y otros (2002), Fraser y otros (2001), Rosati y otros (2000)
Metabolitos funcionales secundarios	Manzana (+ estilbenos)	Szankowski y otros (2003)
	Alfalfa (+ resveratrol)	Hipskind y Pavia (2000)
	Canola (indol glucosinolato ↓)	Chavadej y otros (1994)
	Tapioca (cianógeno↓)	Siritunga y Sayre (2003)
	Café (cafeína↓)	Moisyadi y otros (1998), Kato y otros (2000), Orgita y otros (2003)
	Kiwi (+ resveratrol)	Kobayashi y otros (2000)
	Maíz (flavonoides↑)	Yu y otros (2000)
	Papa (glicoalcaloides esteroidales ↓, antocianinos y glucósido alcaloides↓; solanina↓)	Mc Cue y otros (2003), Lukaszewicz y otros (2004)
	Arroz (flavonoides↑; + resveratrol)	Shin y otros (2006), Stark-Lorenzen y otros (1997)
	Soya (flavonoides↑)	Yu y otros (2003)
	Té (cafeína↓)	Kato y otros (2000)
	Tomate (+ resveratrol; ácido clorogénico↓; flavonoides↓; estilbeno↓)	Giovinazzo y otros (2005), Niggeweg y otros (2004), Muir y otros (2001), Rosati y otros (2000)
	Trigo (ácidos cafeico y ferúlico↑; + resveratrol)	UPI (2002)
Disponibilidad de minerales	Alfalfa (fitasa↑)	Austin-Phillips y otros (1999)
	Lechuga (hierro↑)	Goto y otros (2000)
	Arroz (hierro↑)	Lucca y otros (2002)
	Soya (fitasa↑)	Denbow y otros (1998)
	Trigo (fitasa↑)	Brinch-Pedersen y otros (2000)

Este cuadro excluye los rasgos que involucran: proteínas funcionales, el almidón funcional, la maduración/vida de anaquel de las frutas y calidad de fibra dietaria. También excluye los beneficios de calidad de los alimentos que no se encuentran ligados directamente a la nutrición, como la alergenicidad reducida y la reducción de micotoxinas.

Modificaciones dirigidas a la estabilidad de los aceites frente a la rancidez oxidativa

Otra de las propiedades más buscadas 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; los triglicéridos con ácidos grasos saturados son los más resistentes al enranciamiento. La búsqueda de grasas estables ha llevado a modificar la posición de 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 linoleico y linolénico, poseen un metileno flanqueado por dos dobles ligaduras, y cuyos átomos de H resultan muy lábiles, lo que facilita el comienzo de la rancidez oxidativa.

● Modificaciones dirigidas a mejorar la calidad nutrimental de los cultivos

El cuadro 14.6 muestra algunas modificaciones genéticas más notables en este rubro.

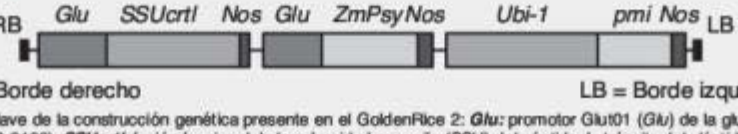
Camote (sweetpotato)

Es un cultivo de amplio consumo en África y países de Sudamérica (por ejemplo, Brasil y Colombia), y utilizado como alimento para el ganado en China. Existen variedades blancas y algunas coloridas. Las más apreciadas tienen coloraciones amarillas o anaranjadas debido a su alto contenido de carotenoides que tienen actividad de provitamina A y/o niveles de otros carotenoides como β-caroteno, lo que significa ventajas para quien los consume. Además de las vitaminas con actividad de provitamina A, el camote es fuente importante de carbohidratos, vitamina C, vitamina B_6, Cu, K, Fe y fibra. Las variedades que han sido modificadas mediante *A. tumefaciens* con el gen *asp*-1, incrementan su contenido proteínico al expresar una proteína similar a las de almacenamiento de la cebada.[52]

Arroz dorado (GoldenRice)

Éste ha sido uno de los desarrollos más destacados. El arroz dorado expresa una cantidad elevada de provitamina A y fue diseñado para abatir la incidencia de ceguera en niños de bajos recursos en la India. Se logró introduciendo dos genes: *a*) uno de fitoeno sintetasa (*psy*) de maíz que le permitió la acumulación de carotenoides totales y β-caroteno, y *b*) uno de caroteno desaturasa (*crtI*) de *Erwinia uredovora*.[62] La primera versión permitió la expresión de 1.6 μg de carotenoides totales por peso seco del grano y en la segunda, con una mayor expresión, se lograron 37 μg por peso seco del grano, de los cuales 31 μg/g fueron β-caroteno. La utilidad de esta variedad fue demostrada por la alta biodisponibilidad del β-caroteno evaluada en estudios con seres humanos.[58] En la figura 14.8 se describe la construcción genética del GoldenRice 2.[12]

Figura 14.8 Construcción genética presente en el GoldenRice 2.[50]

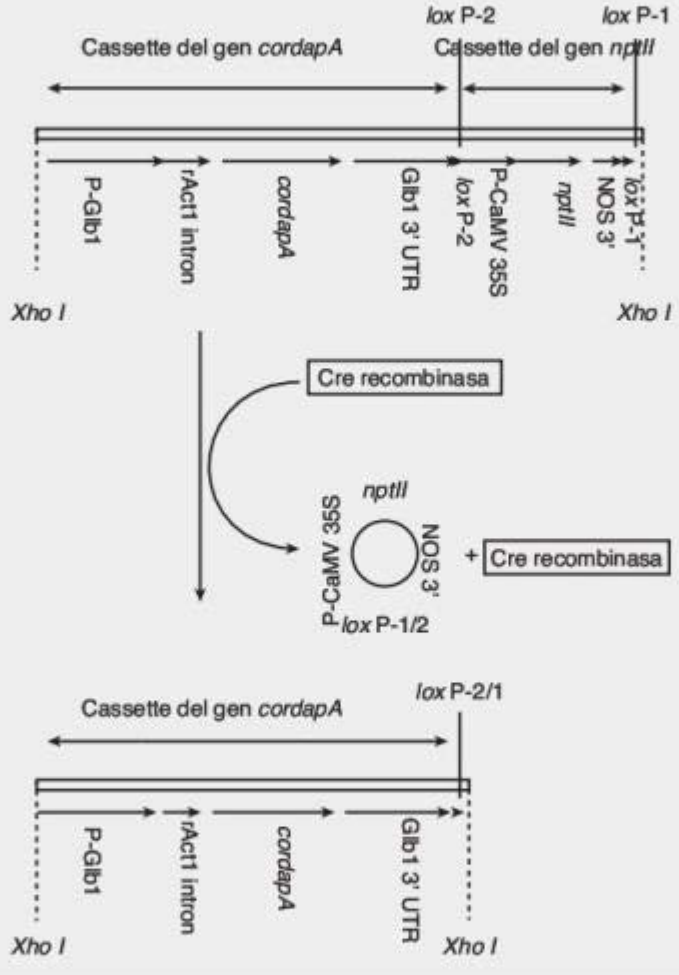


Los elementos clave de la construcción genética presente en el GoldenRice 2: ***Glu:*** promotor Glut01 (*Glu*) de la glutelina de arroz (nucleótidos 1568-2406). ***SSUcrtI:*** fusión funcional de la subunidad pequeña (SSU) del péptido de tránsito del plástido de RUBISCO de chícharo con la caroteno desaturasa de *Erwinia uredovora* (*crtI*) (D90087; Misawa y otros 1993). ***Nos:*** regiones del terminador nos de *Agrobacterium tumefaciens* (nucleótidos 1848-2100, V00087). ***ZmPsy:*** fitoeno sintetasa de *Zea mays*. ***Ubi-1:*** promotor de poliubiquitina de *Zea mays* con un intrón del marcador de selección fosfomanosa isomerasa (***pmi***) de *E. coli*.

Maíz alto en lisina

Otro desarrollo con una mejora nutrimental es el maíz, con incremento de su contenido de lisina (Lysine Maize - LY038) de la compañía Monsanto, aunque por tratarse de una variedad forrajera, está enfocada a mejorar la nutrición de pollos y cerdos. En la figura 14.9 se describe la inserción genética del LY038 y la eliminación del gen de NptII por el sistema Cre/lox.[12]

Figura 14.9 Diagrama del inserto de LY038 y la remoción del NptII con Cre/lox.4.2 lox.[12]



La transformación genética incluyó la introducción de una porción lineal de ADN con un plásmido vector que contenía las secuencias codificantes *cordapA* y *nptII*, en la línea vegetal de maíz H99. El gen *cordapA* codifica para la dihidropicolinato sintasa de *Corynebacterium glutamicum* (cDHDPS) y se diseñó en la construcción genética bajo el control del promotor de la globulina 1 (Glb 1) de *Zea mays* y el intrón (rAct1) del gen de actina de arroz. El gen de selección de resistencia a antibióticos *nptII* fue introducido flanqueado por dos sitios *loxP* que permite su remoción con una recombinasa *Cre*.[31] Este cultivo transgénico fue aprobado en México en 2007 como grano para alimento de ganado y fue aprobado también en Australia, Canadá, Japón, Filipinas, Taiwán y Estados Unidos.[10]

Microorganismos GM para mejorar la composición nutrimental de los alimentos y/o sus cualidades organolépticas

Es bien sabido que el consumo de soya produce flatulencia debido a su contenido de oligosacáridos que pasan intactos a la parte baja del intestino, donde la flora microbiana los degrada y produce metano, H_2 y otros subproductos de su fermentación, causando síntomas molestos. Para muchas personas eso inhibe el consumo de productos no sólo derivados de soya, sino otras leguminosas como el frijol. Una posible solución es utilizar bacterias lácticas (*Lactococcus lactis*) transformadas con la enzima α-galactosidasa de *Lactobacillus plantarum* ATCC8014. Los autores de esta investigación[42] 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 por vía oral un preparado de probióticos GM.

En cuanto a la generación de microorganismos GM, la industria vitivinícola, como la cervecera, es tradicionalista, por lo que resulta difícil introducir en ella OGMs. Sin embargo, la investigación para modificar de forma genética algunas levaduras ha producido resultados interesantes. Respecto del mejoramiento de las propiedades sensoriales de las bebidas alcohólicas,[30] construyeron una cepa recombinante que expresaba el gen de la β-(1,4)-endoxilanasa de *Aspergillus nidulans* bajo control de un promotor del gen de actina de levadura, que logra 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 *et al.*,[35] acerca de una levadura "autoclonable" que sobreexpresa el gen ATF1 que codifica para la alcohol acetiltransferasa que mejora el perfil de sabor del sake.

Una nueva tendencia en la industria alimentaria es la inclusión de nutracéuticos en los nuevos desarrollos. Se trata de las sustancias que comúnmente están contenidas en alimentos, y que se consideran benéficas para la salud. Uno de los que mejor se han estudiado, y que participa de la "paradoja francesa", es el resveratrol, un compuesto fenólico responsable de algunas bondades del vino tinto en la llamada "dieta mediterránea" y que resulta interesante añadir en productos que no lo contienen, como el vino blanco, o en otros productos alimenticios. González-Candelas (2000)[33] reportó el uso de levaduras recombinantes que expresaban el gen abfB de *Aspergillus* para α-L-arabinofuranosidasa, o bien el gen bgIN de *Candida molischiana* que codifica para la β-glucosidasa. Los vinos fermentados con las cepas recombinantes mostraron un incremento total de resveratrol y derivados, especialmente de sus formas no glicosiladas.

OGMs de tercera generación

Se trata de OGMs que utilizan a las plantas, en muchos casos alimenticias, como biorreactores para obtener productos de interés industrial no comestibles como fármacos o compuestos químicos de alto valor agregado (aceites industriales no comestibles, bioplásticos y precursores de algunos fármacos difíciles de obtener por vías químicas), por lo que se aprovechan las rutas metabólicas de las plantas para obtenerlos a precios considerablemente menores.

Una de las aplicaciones más novedosas es la expresión de vacunas humanas o veterinarias empleando cultivos como el maíz (principalmente), tabaco, papa, plátano, zanahoria y alfalfa en menor proporción. Estas vacunas pueden purificarse del cultivo GM o pueden consumirse de forma directa en el alimento (vacunas orales), generando la respuesta inmune deseada. Así ocurre con la vacuna contra el virus de la enfermedad de Newcastle, desarrollada para pollos y expresada en papas; en maíz se han expresado también vacunas contra hepatitis B[32] y vacunas porcinas desarrolladas por la empresa Prodigene[40,41,57] (figura 14.10).

Figura 14.10 Cultivos GM de tercera generación para la producción de sustancias farmacéuticas.



Genomas de plantas

Fármacos seleccionados hechos de plantas

Compañía	Planta	Cultivado en	Fármaco o producto	Enfermedad	Estatus
Fármacos para humanos					
Protalix Biotherapeutics	Zanahoria	Cultivo celular	Glucocerebrósido	Enfermedad de Gaucher	Ensayos en fase III*
Biolex Therapeutics	Lenteja de agua	Cámaras en interiores	Alfa-interferón	Hepatitis C	Ensayos en fase III*
Semllioys Genetics	Cártamo	En campo	Insulina	Diabetes	Ensayos en fase I/II**
Meristem Therapeutics	Maíz	En campo	Lipasa	Fibrosis quística	Ensayos en fase III*
Otros productos					
Ventria Bioscience	Arroz	En campo	Lactoferrina, Lisozima	Diarrea	Ensayos de eficacia***
Gibento	Arabidopsis	Invernadero	Factor humano intrínseco	Deficiencia de Vit. B-12	Aprobada****
Planet Biotechnology	Tabaco	En campo	Vacuna secretora de anticuerpos	Decaimiento dental	Aprobada en los E.U.
Dow Agrosciences	Tabaco	Cultivo celular	Vacuna para pollos	Enfermedad de Newcastle	Aprobada por USDA
CIGB, Cuba	Tabaco	Invernadero	Anticuerpo para purificación de vacunas	Hepatitis B	En el mercado

*En proceso. ** Proyectado para fines de 2008. *** Completado. **** En Ucrania.

Pasos siguientes: Ninguno de los fármacos para humanos obtenidos de plantas transgénicas ha seguido las pruebas clínicas finales, pero algunas de estas proteínas "biofarmacéuticas" ya están cerca de entrar al mercado o se encuentran en el mercado como suplementos, un reactivo de vacuna o un dispositivo médico.

Fuente: SCIENCE www.sciencemag.org. Vol. 320. 25 de abril de 2008.

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.[7]

El desarrollo de estos OGMs no está dirigido a la alimentación humana, pero 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 introduzcan en la cadena de producción de granos para consumo humano 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 sería recomendable por tener un potencial más alto para el escape de genes. No ha sido fácil el manejo de los campos que se siembran con plantas GM de tercera generación, lo que se desglosa con detalle en el reporte de 2005 del USDA.[60]

Es interesante que muchas empresas han dejado de utilizar maíz como biorreactor y utilizan plantas como el tabaco, que resulta un sistema muy conocido y con menores riesgos ambientales y para la salud humana, comparado con la expresión de proteínas con aplicaciones para vacunas humanas o animales expresadas en plantas comestibles transgénicas, como el maíz.

Animales domésticos GM

Se ha modificado al ganado y las aves de corral mediante ingeniería genética, con el propósito de mejorar la producción animal y los productos alimenticios derivados de esos animales. Aunque estos desarrollos GM están lejos de utilizarse en las prácticas comerciales, ya exis-

ten cerdos que presentan mayor velocidad de crecimiento y una mejora en la calidad de su carne, que es más magra y tierna.[24]

Se han propuesto modificaciones enfocadas a la leche, para expresar en ella proteínas heterólogas, o bien, para manipular proteínas endógenas y expresar, por ejemplo, mayores niveles de caseína. Para lograrlo es necesario modificar a los animales de modo que en las glándulas se secrete leche con los compuestos deseados. El uso de esa leche rica en proteínas aumentaría la eficiencia de la producción de queso. De igual forma, la reducción de lactosa con la intención de lograr leche apta para el consumo de individuos con intolerancia a la lactosa, ha resultado exitosa cuando se logra la cosecreción de leche y lactasa.

En ese sentido, el desarrollo más reciente es el que en Argentina logró el Instituto Nacional de Tecnología Alimentaria (INTA) y que es el llamado "primer bovino bitransgénico", generado mediante una técnica de expresión bicistrónica. La leche que produzca la ternera durante su vida adulta se asemejará a la leche humana, ya que expresará lactoferrina y lisozima humanas, lo que permitirá suplir ciertas fallas que posee la leche vacuna y podrá ser aprovechada por los niños que no tengan acceso a la leche materna. Los dos genes humanos que posee la ternera modificada se activan en las glándulas mamarias una vez que el animal comienza la lactancia, lo que se debe al tipo de promotor utilizado y que se encarga de encender la producción de las proteínas en el contexto fisiológico mencionado. Como se mencionó antes, este tipo de desarrollos aún no son comerciales, y se mantiene el reto que representa la transferencia de tecnología para la población que lo necesite.[59]

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, así como mejorar la conversión del alimento en cerdos que excretan menos fósforo, y así favorecer el medio ambiente. La mayor parte de este trabajo es todavía experimental y, por lo tanto, los tiempos estimados para la posible comercialización de cualquiera de estas aplicaciones no están disponibles.

Análisis de riesgos y marco regulatorio

Cuando se desarrollan alimentos nuevos, por métodos convencionales o por ingeniería genética, se pueden alterar algunas características existentes en los alimentos, lo que puede resultar tanto positivo como negativo. Aunque no existen aún pruebas contundentes de daño a la salud humana por el uso y consumo de los OGMs o sus productos, como cualquier tecnología ésta puede tener riesgos.[6] Por ello, a través de sus organismos la ONU concertó e instrumentó varios documentos y marcos jurídicos para su manejo responsable. De esta manera, en la mayor parte de los países se han establecido sistemas específicos para una evaluación rigurosa de OGMs y alimentos transgénicos relativos tanto a la salud humana como al medio ambiente.

Análisis de riesgos aplicados a OGMs

Dado que en el alimento transgénico se expresan proteínas heterólogas, es necesario efectuar un minucioso proceso de evaluación de riesgos. Entre otras cosas, es indispensable evaluar el potencial alergénico de la proteína heteróloga y considerar la posibilidad de que

sucedan efectos pleiotrópicos en las plantas, lo que puede generar una elevación, por ejemplo, en los alcaloides naturales del alimento, o bien cambiar significativamente sus niveles de nutrimentos importantes como vitaminas o minerales.

En la figura 14.11 se presenta un esquema simplificado del proceso de análisis de riesgos que sugirió la Comisión de Expertos del *Codex Alimentarius* en 2003.[24]

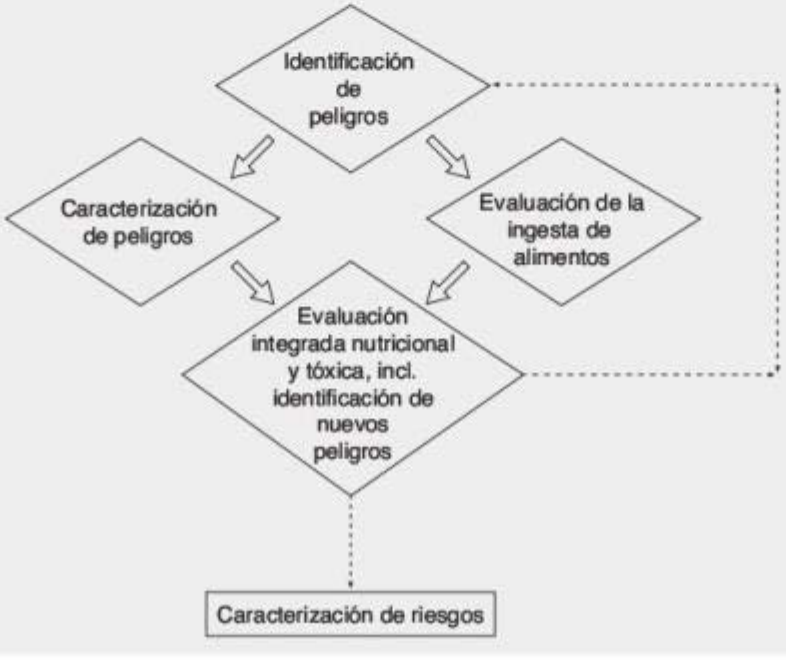
En la práctica, las evaluaciones de riesgos a las que deben someterse estos alimentos y que se requieren para las autorizaciones comerciales en los países que los importan, se basan en el análisis de una gran cantidad de información y de los reportes de los experimentos realizados por los propios desarrolladores en los que prueban la inocuidad, enfocándose primordialmente en las pruebas de toxicidad y alergenicidad.

Los diferentes OGMs incluyen genes diferentes insertados en formas diferentes. Esto significa que cada alimento transgénico y su inocuidad deben evaluarse de forma individual, caso por caso, y que no es posible hacer afirmaciones generales sobre la inocuidad de ellos.

En países como Estados Unidos y México existe un concepto clave a considerar en los análisis de riesgos: la equivalencia sustancial, concepto acuñado por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), la Food and Drug Administration (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), permite comparar el producto GM con su equivalente convencional, considerado un alimento seguro: "Si un nuevo alimento o un nuevo ingrediente del producto final es equivalente a un alimento o a un ingrediente existente en el mercado, entonces el alimento nuevo o el nuevo ingrediente pueden ser tratados de la misma manera que su contraparte convencional".[47]

Por ello se sugiere que los alimentos transgénicos pueden ser considerados tan inocuos como los convencionales cuando sus componentes toxicológicos y nutricionales esenciales sean comparables, siempre tomando en cuenta la variabilidad natural y cuando la propia modificación genética sea considerada inocua.

Figura 14.11 Reseña esquemática del proceso de evaluación de riesgos sugerido por el *Codex Alimentarius*.[24]



El concepto ha sido criticado, principalmente porque los análisis tradicionales de alimentos fueron diseñados para conocer su composición "macro" (análisis químico proximal y determinación de trazas de micronutrientes esenciales), pero no es suficiente para descubrir cambios menores en la composición de proteínas que podrían causar alergenicidad en el producto alimenticio.[44]

Ya habíamos comentado que en México la COFEPRIS es el organismo encargado de realizar las evaluaciones de inocuidad de los OGMs. La página electrónica de ese organismo contiene una lista de los productos GM aprobados en México para consumo humano, así como el protocolo de evaluación adoptado (http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/OGMS.aspx).

Evaluación de la inocuidad de los alimentos transgénicos

La evaluación de inocuidad de los alimentos transgénicos incluye: *a*) los efectos directos sobre la salud (toxicidad); *b*) la tendencia a provocar una reacción alérgica (alergenicidad); *c*) los componentes específicos con sospecha de tener propiedades nutricionales o tóxicas; *d*) la estabilidad del gen insertado; *e*) los efectos nutricionales asociados con la modificación genética, y *f*) cualquier efecto no deseado que podría producirse por la inserción genética.[17,49]

El cuadro 14.7 muestra una lista parcial de los estudios de toxicidad realizados sobre alimentos transgénicos desarrollados en distintos países.

CUADRO 14.7 Estudios de toxicidad realizados con cultivos GMs[12]

Cultivo	Fenotipo	Especie	Duración	Pruebas efectuadas
Semilla de algodón	Endotoxina Bt (*Bacillus thuringiensis*)	Rata	28 días	Peso corporal Conversión de alimento Histopatología de órganos Química sanguínea
Maíz	Endotoxina Cry9C (*B. thuringiensis* var. tolworthi)	Humanos		Reactividad de suero de pacientes alérgicos-maíz GM
Maíz	Endotoxina Cry9C (*B. thuringiensis* var. tolworthi)	Ratas y ratones	91 días	Peso corporal Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología de órganos relacionados con el sistema inmune Niveles de IgE, IgG, e IgA en suero
Papa	Lectina (GNA)	Ratas	10 días	Histopatología de intestinos
Papa	Endotoxina Cry1 (*B. thurigiensis* var. *Kurstaki* HD1)	Ratón	14 días	Histopatología de intestinos
Papa	Glicinina de soya (*Glycine max*)	Rata	28 días	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología de hígado y riñón

Arroz	Glicinina de soya (*Glycine max*)	Rata	28 días	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología de hígado y riñón
Arroz (también probaron mutagenicidad)	Fosfinotricin acetiltransferasa (*Streptomyces hygroscopicues*)	Ratas, ratón	Aguda y 30 días	Consumo de alimento Peso corporal Dosis letal media Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología
Soya GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (*Agrobacterium*)	Rata, ratón	105 días	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 (*Agrobacterium*)	Humanos		Reactividad con suero de pacientes alérgicos a la soya
Soya GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (*Agrobacterium*)	Rata	150 días	Química sanguínea Composición de orina Actividad de enzimas hepáticas
Soybean	Albúmina 2S de la nuez del Brasil (*Bertholetta excelsa*)	Humanos		Reactividad con suero de pacientes alérgicos a la nuez del Brasil
Tomate	Cr1Ab endotoxina (*B. thuringiensis* var. kurstaki)	Rata	91 días	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología
Tomate	Poligalacturonasa en antisentido (tomato [*Lycopersicon esculentum*])	Rata	28 días	Consumo de alimento Peso corporal Química sanguínea Hematócrito Peso de órganos Histopatología

En la evaluación de inocuidad debe considerarse también el nivel de exposición al alimento y la forma en que se prepara, lo que varía de país a país.[8,16] El caso del maíz transgénico en México es crítico, ya que una gran proporción de este cereal se destina al consumo humano, lo que no ocurre en los países donde se han desarrollado las variedades GM que se destinan para el procesamiento o para consumo animal, por lo que debe hacerse una evaluación rigurosa con expertos nacionales que consideren lo antes descrito.[27,54]

El enfoque más moderno para la evaluación de la inocuidad se apoya en las herramientas actuales asociadas a la genómica que permiten desarrollar análisis desde el punto de vista funcional, es decir, se analiza específicamente la expresión génica que da lugar al conjunto de proteínas que componen el material GM, lo que precisamente se desea modificar con la manipulación. Una vez expresadas estas nuevas proteínas en el metabolismo del OGM, se estudia la metabolómica: es necesario estudiar los metabolitos que pudieran haber

cambiado a consecuencia de la actividad de las nuevas proteínas expresadas. El estudio es complejo; requiere contar con las variedades convencionales (no manipuladas) y aplicar sofisticadas herramientas analíticas (por ejemplo, cromatografía líquida asociada a resonancia magnética nuclear y cromatografía de gases asociada a la espectrometría de masas) para descifrar las sustancias nuevas que se hayan generado en el nuevo organismo, que pudieran afectar la salud humana o animal.

Marco regulatorio en materia de bioseguridad. El caso de México

El caso de México es especial debido a que, entre otras cosas, es el centro de origen y diversificación genética del maíz. Con el compromiso de resguardar éste y otros recursos, México ratificó el Protocolo de Bioseguridad de Cartagena que entró en vigor el 11 de septiembre de 2003. Este protocolo forma parte del grupo de documentos, acuerdos y marcos jurídicos instrumentados por la ONU para el manejo seguro de los OGMs. Específicamente establece el marco para su manejo transfronterizo con base en el principio precautorio, herramienta fundamental para proteger la biodiversidad y los centros de origen y diversificación.[18]

A raíz de los acuerdos ratificados en el Protocolo de Cartagena, México implementó un marco regulatorio específico para la bioseguridad de los OGMs en el país, por lo que el 18 de marzo de 2005 se publicó en el Diario Oficial de la Federación (DOF) y entró en vigor la Ley de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados (LBOGMs).[21] Más adelante, el 19 de marzo de 2008 entró en vigor el Reglamento de esa ley.[22] Estos dos mandatos constituyen hasta ahora el marco jurídico que existe en México para el manejo seguro de los OGMs. Aún falta elaborar normas que permitan ejercer todos los artículos y provisiones de la LBOGMs.

Métodos de detección de OGMs en alimentos

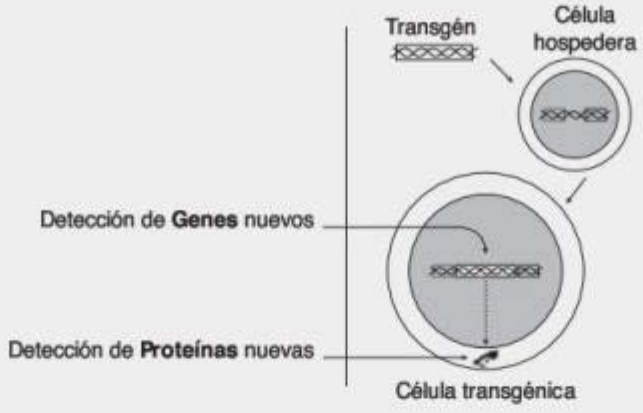
Como hemos visto, los OGMs contienen uno o varios genes adicionales que por lo general codifican para producir una proteína que le confiere al producto modificado una característica novedosa (por ejemplo, resistencia a insectos o tolerancia a herbicidas). La base de todas las técnicas de detección de OGMs consiste en explotar la diferencia entre la variedad no modificada y la que expresa la nueva proteína. Esto se puede hacer detectando la secuencia del ADN introducido (enfoque ADN), o bien, la presencia de la nueva proteína expresada o proteína heteróloga (enfoque proteínas) (figura 14.12).[53,1]

En el cuadro 14.8 se describen las principales características de los métodos más usados para la detección de OGMs.

En la actualidad, los métodos rutinarios presentes en la mayor parte de los protocolos de detección de OGMs, son las dos posibilidades de PCR (siglas de Polimerase Chain Reaction), y en menor grado, la técnica de ELISA (siglas de Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) y las tiras reactivas, cuando se trata de muestras de plantas frescas o granos no procesados.

Debido a la alta sensibilidad que se requiere en la mayor parte de los casos de detección de OGMs, las técnicas de PCR resultan ser las más adecuadas.[26] De hecho, la reacción en cadena de la polimerasa ha sido validada como método oficial de análisis de alimentos en la mayor parte de los países europeos desde hace más de 10 años.[3]

Figura 14.12 El enfoque del ADN y el de las proteínas en la detección de OGMs.



CUADRO 14.8 **Métodos de detección de OGMs**

	Enfoque proteínas			Enfoque ADN		
Parámetro	**Western blot**	**ELISA**	**Flujo lateral tiras reactivas**	**Southern blot**	**PCR**	**Tiempo-real PCR**
Facilidad de uso	Difícil	Moderado	Simple	Difícil	Difícil	Difícil
Equipo especial	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Sensibilidad	Alta	Alta	Alta	Moderada	Muy alta	Muy alta
Duración	2 días	30-90 min	10 min	6 horas	1.5 días	1 día
Resultados cuantitativos	No	Sí	No	No	No	Sí
Aplicación	Investigación	Rutinaria	Rutinaria	Rutinaria Investigación	Rutinaria	Rutinaria
Instalaciones	Laboratorio	Laboratorio	CAMPO	Laboratorio	Laboratorio	Laboratorio

Los límites de detección de los ensayos ELISA pueden predecir la presencia de proteínas heterólogas en un rango de 0.25% a 1.5% de OGMs, mientras que los límites de detección de los ensayos de PCR son mucho más sensibles, pues detectan intervalos de 20 pg a 10 ng de ADN y 0.0001-1% de OGMs.[1]

El enfoque de las proteínas

Los métodos que se basan en la identificación de la proteína heteróloga se basan en la unión específica entre ésta y un anticuerpo (inmunoensayos). Su uso en la detección de OGMs dependerá de los objetivos de la investigación, por lo que resulta fundamental conocer las ventajas y desventajas de estos métodos de análisis (cuadro 14.9).

CUADRO 14.9 **Ventajas y desventajas de la detección de OGMs basada en el análisis de proteínas**

Ventajas	Desventajas
1. En general, simples y rápidos. 2. Económicos. 3. Para el caso de las tiras reactivas, el ensayo puede hacerse directamente en campo y no se requiere equipo sofisticado ni personal especializado. 4. Es menos probable que aparezcan "falsos positivos" debidos a pequeños niveles de contaminación. 5. Son los ensayos más adecuados en etapas tempranas de monitoreo y detección, sobre todo cuando se requieren resultados preliminares en un corto tiempo.	1. No funcionan cuando la proteína no se expresa en el tejido, a pesar de que exista la modificación genética. 2. Estos ensayos no funcionarán para muestras muy procesadas en las que las proteínas se degradan. 3. Se requieren muestras grandes, en comparación con los métodos basados en el análisis de ADN. 4. La sensibilidad de detección es menor si se compara con los métodos basados en el análisis de ADN. 5. Las determinaciones cuantitativas pueden ser muy complejas. 6. Algunas proteínas expresadas en ciertos OGMs no pueden ser detectadas, en especial cuando la proteína heteróloga presenta mínimas diferencias con la expresada por las variedades convencionales. 7. No pueden discriminar entre diferentes eventos de transformación que expresan proteínas similares. 8. Cuando las proteínas heterólogas se expresan sólo durante ciertas fases del desarrollo, o en determinados tejidos, puede ocurrir que esas proteínas no sean detectadas si no se hacen las consideraciones pertinentes.

La detección de proteínas heterólogas por inmunoensayos implica contar previamente con información exhaustiva en torno a la proteína de interés, por lo que estos métodos sólo pueden usarse cuando se busca un evento de transformación específico del cual se tiene suficiente conocimiento. Las proteínas heterólogas que comúnmente se detectan son las que confieren resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas (Cry, EPSPS). Para ello se cuenta con kits de ELISA y tiras reactivas desarrolladas por diversas empresas para detectar los eventos de transformación comerciales.

A continuación se describe cada uno de los métodos usados para detectar las proteínas heterólogas.

Ensayo Enzimático Inmunoabsorbente (ELISA)

Este procedimiento es capaz de discriminar proteínas específicas presentes en el producto bajo análisis, de entre cientos de proteínas distintas presentes en la misma muestra. Es sensible, versátil y puede ofrecer resultados cuantitativos. El ensayo consiste en el uso de anticuerpos que se unen específicamente a las proteínas heterólogas (llamados anticuerpos primarios). Una reacción colorimétrica o fluorométrica desencadenada por un segundo anticuerpo (o anticuerpo secundario) ligado a una enzima, permite visualizar y medir la cantidad de la proteína heteróloga presente en la muestra de análisis, a partir de la fluorescencia emitida o la intensidad del color. El resultado se compara con la señal emitida por concentraciones conocidas de la misma proteína, y se obtienen resultados cuantitativos.

Las reacciones se realizan en placas con un número determinado de pocillos (placas de ELISA). Estas placas se colocan en los lectores de ELISA, que son espectrofotómetros capaces de realizar lecturas seriadas de la fluorescencia emitida por las muestras contenidas en cada uno de los pocillos. Se estima que los resultados de esta prueba son confiables en 95% de los casos sometidos.[5]

Bandas de flujo lateral (tiras reactivas)

Este procedimiento representa una alternativa a la técnica de ELISA. Las tiras reactivas son bases plásticas en las que se adhieren áreas reactivas y mediante el flujo capilar de la muestra en solución se logra determinar la presencia o ausencia de la proteína de interés (análisis cualitativo). Un diseño similar se utiliza en las pruebas de embarazo para uso doméstico que se disponen de forma comercial. En la banda de flujo lateral el anticuerpo de captura está unido directamente a uno de los extremos de la banda, mientras que el anticuerpo detector se encuentra sobre el extremo opuesto. Este extremo se sumerge en la muestra a analizar, la cual fluye junto con el anticuerpo detector en la dirección contraria. Si la proteína heteróloga (a la cual reconoce de manera específica el anticuerpo de captura) se encuentra presente, los tres elementos reaccionan entre sí (el anticuerpo de captura con la proteína de interés y con el anticuerpo detector) y se forma una banda colorida donde el anticuerpo detector se acumula. Si no es así, sólo reacciona el anticuerpo de captura con el anticuerpo detector, en una región más alejada, claro indicio de que la prueba se realizó correctamente.

Western Blot

La detección de una proteína mediante este método requiere, idealmente, de la existencia de estudios previos que permitan conocer sus características moleculares, lo que en el caso de proteínas cuaternarias incluye el tamaño de la proteína nativa y el número de subunidades.

La caracterización molecular de proteínas por este método también requiere que estén purificadas (generalmente por electroforesis bajo condiciones desnaturalizantes) y, una vez hecho esto, es necesaria la obtención de un suero policlonal que permitirá el reconocimiento específico de los polipéptidos de la proteína purificada. Se procede a una transferencia de las proteínas a un soporte sólido mediante la aplicación de un campo eléctrico. Una vez transferidas las proteínas, se procede a la detección del polipéptido de interés con el antisuero correspondiente. La visualización de los complejos polipéptido-anticuerpo se realiza empleando un segundo anticuerpo unido a una proteína marcadora.

Este ensayo es especialmente útil para la detección de proteínas insolubles; sin embargo, se considera que más allá de ensayos de rutina, el Western Blot es adecuado para investigación.[1]

El enfoque del ADN

Estos métodos se basan en la detección de la secuencia de ADN introducida (ADN transgénico), ya sea por hibridación de una sonda específica con la secuencia de interés (Southern Blot), o bien, por la amplificación específica de la secuencia de interés mediante una PCR. A partir de este enfoque, es posible detectar la presencia de OGMs en un alimento, incluso cuando la proteína heteróloga no esté expresada.

Existen otros métodos de reciente desarrollo para detectar OGMs basados en el análisis de ADN; entre ellos destacan los microarreglos y el ensayo PCR con "anclas fluorescentes". Ambos pueden resultar de gran utilidad, sobre todo cuando el objetivo es detectar OGMs nuevos o desconocidos.[56]

Las ventajas y desventajas de estos métodos basados en el análisis del ADN se resumen en el cuadro 14.10.

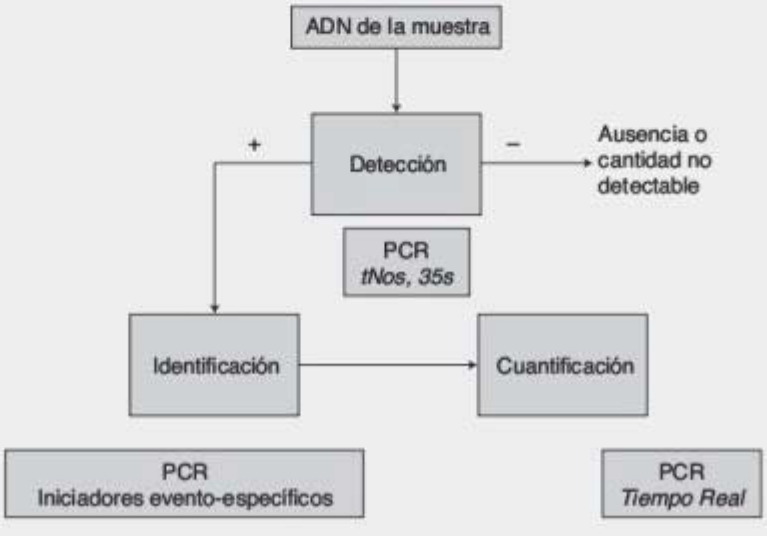
CUADRO 14.10 **Ventajas y desventajas de la detección de OGMs basada en el análisis de ADN**

Ventajas	Desventajas
1. Altamente sensibles y específicos. 2. Pueden detectarse OGMs incluso en muestras muy procesadas. 3. Para el análisis, es suficiente una pequeña cantidad de muestra con ADN intacto. 4. Es posible realizar la cuantificación de OGMs, tanto absoluta como relativa. 5. Se pueden detectar OGMs sin necesidad de conocer el evento de transformación específico, aunque también es posible hacer la identificación de eventos. 6. Es posible detectar OGMs nuevos o desconocidos.	1. Requieren infraestructura especializada y de equipos altamente sofisticados. 2. Requiere de personal altamente capacitado. 3. Altos costos por muestra. 4. Como resultado de la alta sensibilidad de la reacción de PCR, pueden obtenerse "falsos positivos" con niveles muy bajos de contaminación accidental. 5. No son ensayos tan rápidos (debe considerarse el tiempo requerido para la extracción, cuantificación y evaluación del ADN de la muestra a analizar). 6. Para identificar eventos específicos, es necesario que los desarrolladores divulguen la secuencia a identificar, así como la posibilidad de acceder a controles positivos y negativos.

Los protocolos basados en el análisis del ADN ofrecen distintos niveles de información y se describen en la figura 14.13.

a) *Detección de OGMs.* El objetivo es hacer un *screening* (exploración, tamizaje) para la presencia de OGMs en una muestra dada. Un resultado positivo indica la presencia de un OGM, aunque no se disponga de la información que permita saber cuál es el evento de transformación específico. Para ello, se buscan las secuencias presentes en muchos tipos de OGMs (de amplio espectro), por ejemplo los promotores y

Figura 14.13 Secuencia de pasos para la detección, identificación y cuantificación de OGM en una muestra de interés.



terminadores usados comúnmente para la transformación (promotor del virus del mosaico de la coliflor p35S o terminador de la nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* t-*nos*). Esta búsqueda es poco específica para un evento de transformación en particular (figura 14.14).

b) *Identificación de eventos específicos.* El objetivo es detectar e identificar un evento de transformación específico. Esto requiere conocer las secuencias que flanquean al sitio preciso del genoma del organismo hospedero donde se ha insertado la construcción genética (figura 14.14). Por lo general es el desarrollador quien las proporciona y/o desarrolla la metodología específica. En este caso, el grado de especificidad de la búsqueda es alto.

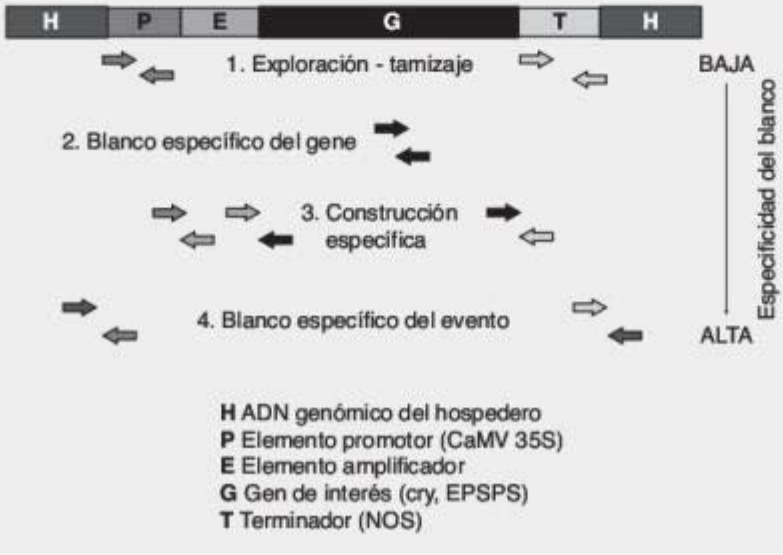
c) *Cuantificación.* Específicamente a través de PCR tiempo real, es posible determinar la cantidad de un OGM en una muestra en particular, tanto en términos absolutos como relativos. Esta etapa es fundamental en aquellas situaciones en las que el marco jurídico de un país exige el etiquetado de los alimentos transgénicos como tales cuando la presencia de OGMs supera cierto límite, como ocurre en Europa y Japón.

Enseguida se describe cada uno de los métodos usados para detectar OGM a partir del análisis de ADN.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR permite la amplificación selectiva y exponencial de segmentos de ADN transgénico que pudieran estar presentes en una muestra dada. Esto se logra a través de varios ciclos térmicos diferenciales de síntesis de ADN utilizando la enzima ADN polimerasa. Se requiere de dos oligonucleótidos llamados "primers" o "cebadores" los cuales son sintetizados químicamente como secuencia complementaria a la secuencia de interés (ADN transgénico), sirviendo como cebadores de la reacción de amplificación con sus extremos 3' orientados en

Figura 14.14 Esquema simplificado de la construcción genética de un evento de transformación. Se muestran las secuencias blanco que pueden identificarse y el grado de especificidad.



direcciones opuestas. En la detección de OGMs estos cebadores pueden diseñarse "de amplio espectro" cuando desea hacerse un tamizado o *screening*. Cuando se desea identificar un evento de transformación en particular, deben diseñarse "cebadores de evento específico".

Si se trata de PCR punto final, los fragmentos amplificados (amplicones) se someten a electroforesis en gel para detectar su presencia en función de su tamaño (ya conocido).

Si se trata de PCR tiempo real, se detecta en ese tiempo la amplificación de la secuencia de interés y es posible cuantificar la cantidad de ADN transgénico en una muestra dada: la amplificación de la secuencia de interés se visualiza empleando sondas específicas y fluorescentes. La cuantificación de la fluorescencia emitida en cada ciclo es proporcional a la cantidad de ADN que se está amplificando, de modo que, finalizada la reacción, es posible determinar la cantidad de ADN transgénico presente. Las ventajas de este método son muchas y pueden resumirse como sigue: *a)* mayor sensibilidad en la detección de los productos amplificados; *b)* mayor especificidad; *c)* se utiliza un sistema de tubos cerrados en los que no hay procesamientos post PCR (no se lleva a cabo la electroforesis para visualizar los amplicones); *d)* se evita en gran medida la contaminación y la presencia de "falsos positivos" (al tratarse de un sistema de tubos cerrados, es posible evitar la dispersión de amplicones en los laboratorios de análisis); *e)* los resultados finales se obtienen más rápidamente que con una PCR punto final, y *f)* permite la cuantificación rápida de OGM.

Southern Blot

Esta técnica permite identificar secuencias específicas de ADN transgénico en OGM mediante hibridación con una sonda previamente diseñada según la secuencia a identificar.

Una mezcla compleja de fragmentos de ADN se somete a electroforesis en gel, con el fin de separarlos según su tamaño; posteriormente se desnaturalizan con un álcali y se transfieren por *blotting* a un filtro de nitrocelulosa o una membrana de nailon. Este procedimiento mantiene la distribución de los fragmentos en el gel y crea una réplica del gel sobre el filtro. Después se incuba el filtro bajo condiciones de hibridación, con una sonda de ADN cuya secuencia es complementaria a la secuencia de interés. Lo normal es que las sondas lleven una marca radiactiva, de modo que si la secuencia que se busca está presente, se hibrida con la sonda y se revela su presencia mediante autorradiografía.

Este ensayo es especialmente útil para corroborar los resultados obtenidos por PCR; sin embargo, se considera que más que para análisis rutinarios, el Southern Blot es adecuado para investigación. Por otro lado, la sensibilidad del método es muy inferior a la de la PCR.[1]

Conclusiones

A casi veinte años del lanzamiento al mercado del primer alimento transgénico, la superficie acumulada de cultivos GM supera los mil millones de hectáreas (cifra equivalente a más del 10 % de la superficie total de Estados Unidos o de China), destacando la soya como el principal cultivo, seguida del maíz, el algodón y la canola. Aunque la tolerancia a herbicidas y la resistencia a insectos son los caracteres dominantes que se han introducido en los OGMs comerciales (cultivos GM de primera generación), existen otros interesantes desarrollos biotecnológicos: (1) cultivos GM de segunda y tercera generación (maduración retardada de frutos, resistencia a enfermedades y estrés ambiental, modificaciones en la composición nutrimental o bien, uso de plantas como biorreactores para la producción de sustancias farmacéuticas e industriales), (2) microorganismos GM para producción de enzimas auxiliares de proceso, (3) peces GM de mayor talla/rápido crecimiento y (4) animales GM como ganado

y aves de corral modificados con el propósito de mejorar la producción animal y los productos alimenticios derivados de estos animales.

Hoy por hoy, los alimentos transgénicos son incluidos en la dieta de una buena parte de la población mundial, de manera que garantizar la inocuidad de los mismos resulta fundamental. Por ello, en la mayor parte de los países se han establecido sistemas de análisis de riesgos para una evaluación rigurosa de los OGMs, relativos tanto a la salud humana como al medio ambiente. Deberá analizarse con suma precaución la opción de usar plantas de polinización abierta para la expresión de fármacos y sustancias no comestibles, sobre todo si se trata de expresarlos en alimentos como el maíz, el cual es consumido en un promedio de 385 g diarios por poblaciones como la mexicana, lo que implicaría un severo riesgo. La identificación / etiquetado de los alimentos GM puede ofrecer una solución, pero este tema sigue siendo controversial entre los bloques comerciales de Norteamérica y la Unión Europea o Japón. Por lo pronto, las legislaciones nacionales deben continuar su desarrollo para proteger a los consumidores locales, sin perder de vista el beneficio potencial que puede tener la Biotecnología.

Ante el cambio climático y el encarecimiento de los alimentos a nivel global, es evidente que existe un reto para la comunidad científica involucrada en el desarrollo de OGMs: Aplicar los conocimientos generados en fechas recientes pero con respeto al medio ambiente y ejerciendo el cuidado necesario para preservar la seguridad y la salud de los consumidores.

Referencias bibliográficas

1. Ahmed, F.E. 2002. "Detection of genetically modified organisms in foods". *Trends in Biotechnology, 20*:215-223.
2. Andow D., Strayer D., Daniell H., Gepts P., Lamkey K. and Nafzinger E. 2004 Introduction. Chapter 1 in: "A growing concern. Protecting the Food Supply in an Era of Pharmaceutical and industrial Crops". Editor Andow, David. Union of Concerned Scientists. pp. 21-26.
3. Anklam, E. 1999. "The validation of methods based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in food". *Analytical Chemical Acta*. 393:177-179.
4. 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.
5. Ausubel F.; Brent R.; Kingston R.; Moore D.; Seidman J.; Smith J., Struhl, K. 1995. "Current Protocols in Molecular Biology". Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School. Jhon Wiley & Sons, Inc. Ed. Supplement 18, 30.
6. Bolívar, F. 2011. "Por un uso responsable de los Organismos Genéticamente Modificados". Academia Mexicana de Ciencias. México. 179 págs.
7. Bonfim K., Faria J.C., Nogueira E., Mendes E.A., Aragão F. (2007). "RNAi-Mediated Resistenace to Bean Golden mosaic virus in Genetically Engineered Common Bean (Phaseolus vulgaris)". MPMI. Vol. 20 (6):717-726.
8. 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.cec.org/maize/resources/chapters.cfm?varlan=espanol.
9. Brandenberg, O., Dhlamini, Z., Sensi, A., Ghosh, K., Sonnino, A. 2011. "Introduction to Molecular Biology and Genetic Engineering". FAO, Roma: 132 págs.
10. CERA. (2012). Nutraceuticals OGMs. Disponible en: http://cera-gmc.org/index.php?evidcode%5B%5D=LY038&hstIDXCode%5B%5D=1&stCode%5B%5D=MX&auDate1=&auDate2=&action=gm_crop_database&mode=Submit.
11. Chassy B. *et al.* 2004. "Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology". Prepared by a 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.
12. Chassy B. y cols. 2008. "Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology: Case Studies". Prepared by a Task Force of the ILSI International Food Biotechnology Committee as published in IFT's Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 7:50-113.
13. Chung, S.M., Vaidya, M. and Tzafira, T. 2006. "Agrobacterium is not alone: gene transfer to plant by viruses and other bacteria". Trends Plant Sci. 11(1):1-4.
14. CIBIOGEM. 2011. "Ensayos de Productos Genéticamente Modificados Autorizados en México". Disponible en: http://www.cibiogem.gob.mx/OGMs/Paginas/Permisos.aspx.
15. Clive, J. 2010. "Report on Global Status of Biotech/GM Crops". ISAAA Brief No. 41. Metro Manila Phillipines, ISAA.

16. Conner, A.J., Jacobs, A.M.E. 1999. "Genetic engineering of crops as potential source of genetic hazard in the human diet". *Mutation Research*. 443:223-234.

17. Constable A., Jonas D., Cockburn A., David A., Edwards G., Hepburn P., Herouet-Guicheney C., Knowles M., Moseley B., Oberdörfer R., Samuels F. 2007. "History of safe use as applied to the safety assessment of novel foods and foods derived from genetically modified organisms". *Food and Chemical Toxicology*. 45:2513-2525.

18. Convention on Biological Diversity. 2011. "The Cartagena Protocol on Biosafety". Disponible en: http://bch.cbd.int/protocol/.

19. Davey, M.R., Anthony, P., Power, J.B. and Lowe, K.C. 2005. "Plant protoplasts: Status and biotechnological perspectives". *Biotechnol. Adv.* 23(2):131-71.

20. Del Vecchio, A. J. 1996. *High laurate canola. Inform.* 7:230-243.

21. Diario Oficial de la Federación (DOF). 2005. "Ley de Bioseguridad de los organismos genéticamente modificados". Cámara de Diputados y Senadores. México. DOF 18-03-2005. Disponible en: http://www.cibiogem.gob.mx/Paginas/default.aspx#.

22. Diario Oficial de la Federación (DOF). 2008. Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados: DOF 19-03-2008. Disponible en: http://www.cibiogem.gob.mx/Paginas/default.aspx#.

23. FAO. 2009. "Cómo alimentar al mundo en 2050". Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/synthesis_papers/C%C3%B3mo_alimentar_al_mundo_en_2050.pdf.

24. 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.

25. Ford Runge, C. and Ryan, B. 2004. "The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research".

26. Gachet, E., Martín, G.G., Vigneau, F., Meyer, G. 1999. "Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available". *Trends in Food Science & Technology*, 9:380-388.

27. 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 (coord.). Siglo XXI Editores. México. pp. 219-231.

28. Gálvez, A. 2008. "Principios básicos de Biología Molecular y Biotecnología". *En: CIBIOGEM. Bioseguridad en la aplicación de la Biotecnología y el uso de los Organismos Genéticamente Modificados*. México. pp. 106-107.

29. Gelvin, S.B. 2003. "Agrobacterium mediated plant transformation. The Biology behind the gene jockeying tool. Microbio". *Mol. Biol. Rev.* 67(1):16-37.

30. Ganga, M.A., Piñaga, F., Vallés, S., Ramón, D. and Querol. 1999. "Aroma improving in microvinification processes by the use of a recombinant wine yeast strain expressing the *Aspergillus nidulans* xln A gene". *International Journal of Food Microbiology*. 47(3):171-178.

31. Gilbertson L. 2003. "Cre-lox recombination: creative tools for plant biotechnology". *Trends Biotechnol.* 21:550-5.

32. Gómez E., Chimeno S., Carrillo E., Roux M., Berinstein A. 2008. "Mucosal immunity induced by orally administered transgenic plants". *Immunology*. Vol. 213(8):671-675.

33. 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.

34. Herrera, E. L., Jofre, A. 1997. "Transformación genética de plantas". Tesis. CINVESTAV, Irapuato. México.

35. 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.

36. 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. CIMMYT. pp 1-10.

37. Kikkert J.R., Vidal J.R. and Reisch B.I. 2005. "Stable transformation of plant cells by particle bombardment/biolistics". *Methods Mol Biol. 286*:61-78.

38. Kinney, A.J. and Knowlton, S. 1998. "Genetic Modification in the Food Industry". Roller, S. and Harlander, S. Eds. Chapman and Hall, Londres. pp. 193-213.

39. Lacroix, B., Li, J., Tzifira, T. & Citovsky, V. 2006. "Will you let me use your nucleus? How Agrobacterium gets its T-DNA expressed in the host plant cell". *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84(3-4): 333-345.

40. Lamphear B.J., Streatfield S.J., Jilka J.M., Brooks C.A., Barker D.K., Turner, D.D. y cols. 2002. "Delivery of subunit vaccines in maize seed". *J. Control Release. 85*:169-80.

41. Lamphear B., Jilka J.M., Kesl L., Welter M., Howard J., Streatfield S. y cols. 2004. "A corn-based delivery system for animal vaccines: an oral transmissible gastroenteritis virus vaccine boosts lactogenic immunity in swine". *Vaccine. Vol.* 22(19)2420-2424.

42. LeBlanc, J.G., Silvestroni, A., Connes, C., Juillard, V., Savoy de Giori, G., Piard, J.C. and 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.

43. Martens, M. 2000. "Safety evaluation of genetically modified foods". *Int. Arch. Occup Environ Health. 73* (Suppl.): S14-S18.

44. Millstone E., Brunner, E., Meyer, S. 1999. "Beyond substantial equivalence". *Nature* 401:525.

45. Mohanty. A.K., Mukhopadhyay, U.K. Grover, S., Batís, V.K. 1999. "Bovine chymosin: Production by rDNA technology and application in cheese manufacture Biotechnology Advances". *17*:205-217.

46. Moir, D., Mao, T., Schumm, J.W., Vovis, G.F., Alford, B.L. and Taunton-Rigby, A. (1982). "Molecular cloning and characterization of double stranded cDNA coding for bovine chymosin". *Gene* 19:127-138.

47. OECD. 1993. "Organization Safety Evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles. Paris, France". Disponible en: http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf

48. OMS. Junio de 2005[1]. "Biotecnología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencias". Departamento de Inocuidad Alimentaria. Organización Mundial de la Salud. pp. 87.

49. OMS. 2005[2]. "20 preguntas sobre los alimentos genéticamente modificados (GM)". Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/20questions_es.pdf.

50. Paine, J.A. Shipton, C.A., Chaggar, S., Howells, R.M., Kennedy, M.J., Vernon, G., Wright, S.Y., Hinchliffe, E., Adams, J.L., Silverstone, A.L., Drake, R. 2005. "Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content". *Nat Biotechnol.* 23:482-7.

51. PEW. 2003. "Future fish - Issues in science and regulation on transgenic fish". *The Pew Initiative on Food and Biotechnology.* Washington, E.U.

52. Prakash, C.S., Egnin, M., Jaynes, J. 2000. "Increasing the protein content in sweet potato using a synthetic storage protein gene". *Abstracts of Papers of Am Chem Soc* 219:U36.

53. Querci, M., Jermini, M., Van den Eede, G. 2004. "The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms. User Manual". European Commission Joint Research Centre / Institute for Health and Consumer Protection. Disponible en: http://bgmo.jrc.ec.europa.eu/home/training.htm.

54. Quirasco, M. y Gálvez, A. 2003. "Biotecnología 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). México. pp. 519-532.

55. Reddy, A.S., Thomas, T.L. 1996. "Expression of a cyanobacterial DELTA 6-desaturase gene results in gamma -linolenic acid production in transgenic plants". *Nature Biotechnol* 14:639-42.

56. Ruttink, T., Morisset, D., Van Droogenbroeck, B., Lavrac, N., Van Den Eede, G.L.M., Žel, J. and De Loose, M. 2010. "Knowledge-technology-based discovery of unauthorized genetically modified organisms". *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 396(6):1951-1959.

57. Streatfield, S.J., Jilka, J.M., Hood, E.E., Turner, D.D., Bailey, M.R., Mayo, J.M. 2001. "Plant-based vaccines: unique advantages". *Vaccine.* 19:2742-8.

58. Tang, G., Qin, J., Dolnikowski, G.G., Russell, R.M. and Grusak, M.A. 2009. "Golden Rice is an effective source of vitamin A". *Am. J. Clin. Nutr.* 89:1776-83.

59. Terreno, F. 2011. "El primer bovino bitransgénico del mundo". *Revista RIA. Vol.* 37(2). Sitio Argentino de Producción Animal, pp. 1-3.

60. USDA. 2005. "Audit Report. Animal and Plant Health Inspection Service Controls Over Issuance of Genetically Engineered Organism Release Permits". *Audit.* 50601-8-Te.

61. 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.

62. Ye, X., Al-Babili, S., Kloti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P., Potrykus, I. 2000. "Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm". *Science.* 287:303-305.

63. European Commission. Biotechnology Labeling. Consultado en enero de 2012 en: http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/etiquetage/index_en.htm.

64. Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau U.S. Department of the Treasury. Japan labeling requirements. Consultado en enero de 2012 en: http://www.ttb.gov/itd/japan.shtml#REQUIREMENTS.

65. Center for Veterinary Medicine U.S. Food and Drug Administration. 2010. Environmental Assessment for AquAdvantage® Salmon. Disponible en: http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/VeterinaryMedicineAdvisoryCommittee/UCM224760.pdf.

15

- Introducción
- Oxidación celular
- Nutracéuticos
- Fitoquímicos
- Otros nutracéuticos
- Resumen de su función biológica
- Alimentos funcionales

Referencias bibliográficas

Salvador Badui Dergal

Nutracéuticos, fitoquímicos y alimentos funcionales

Introducción

Es innegable la estrecha relación que existe entre la alimentación y la salud del hombre, algo que no es novedad, puesto que ya en el siglo V a.C. Hipócrates, *el padre de la medicina*, decía: "Deja que la comida sea tu medicina y la medicina sea tu alimento".

En la época actual, organismos especializados como la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que 60% de las muertes por cáncer se relacionan con la alimentación. A partir de consideraciones como esas se creó la *nutrigenómica*, rama del estudio que relaciona la nutrición con la expresión de los genes y el desarrollo de enfermedades.

Entre la población existe cada vez mayor conciencia sobre la influencia que ejercen los alimentos en la salud; al mismo tiempo, gracias a los avances tecnológicos cada día se encuentra alguna función benéfica o dañina a muchos sustancias que se ingieren como parte de una dieta normal. Los alimentos contienen, de manera natural, compuestos bioactivos cuyo consumo afecta al organismo humano; los que son dañinos se tratan en el capítulo 11, mientras que los benéficos se agrupan en los nutracéuticos, que se describen aquí. La aplicación de estos agentes ha dado origen a los llamados alimentos funcionales.

Cabe aclarar que con algunos compuestos se tiene evidencia científica sólida que avala su efecto positivo, mientras que en otros se carece de los estudios clínicos correspondientes y su efectividad sólo se ha comprobado a nivel celular en el laboratorio; en consecuencia,

resulta riesgoso extrapolar estos resultados en el hombre. En muchos casos se desconoce su mecanismo de acción, su dosis óptima o su potencial toxicidad si se consume en exceso; tampoco se conoce mucho acerca de su sinergia o antagonismo con otras sustancias, incluidas las de los medicamentos. Además, para que produzcan su acción, muchos deben ingerirse en alta concentración, una que por lo general no está presente en una dieta común. Sin embargo, existen múltiples creencias populares sobre estas sustancias, a tal grado que hasta vendedores callejeros "recetan" y preparan jugos de verduras y de frutas supuestamente curativos de males específicos.

Igual que con cualquier componente de los alimentos, los nutracéuticos pueden perder su funcionalidad por las altas temperaturas, la acidez, los rayos UV, los metales, la humedad y el oxígeno que de alguna manera están presentes en la producción, distribución y consumo de los alimentos.[3]

Oxidación celular

El consumo de algunos nutracéuticos se relaciona con la prevención de enfermedades tan graves como cáncer, diabetes, problemas cardiovasculares e hipertensión. Sin embargo, muchos otros factores influyen para evitar la incidencia de estos males, entre ellos la genética, la dieta, el control de peso y el ejercicio físico.[7]

Se considera que el origen de muchas de estas enfermedades es la oxidación celular en el organismo, debido a que causa daños irreversibles en las membranas de la célula, así como en sus proteínas y ácidos nucleicos. El mecanismo oxidativo es semejante al que se describe en el capítulo 4 para la oxidación de los aceites insaturados, cuyo deterioro se previene por la adición de antioxidantes; sin embargo, estos aditivos no ejercen ninguna acción protectora para la oxidación celular en el humano. En este sentido, el organismo cuenta con dos sistemas antioxidantes: uno enzimático y otro no enzimático; ambos neutralizan los agresivos radicales libres que se forman en el interior del cuerpo.

La alteración oxidativa se presenta cuando el balance celular se inclina hacia los agentes oxidantes por la baja de los antioxidantes endógenos y cuya efectividad se reduce con la edad. Las principales enzimas relacionadas con el sistema antioxidante protector son la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa; para la actividad de la primera se requiere cobre, zinc y manganeso; para la segunda, el selenio. Por su parte, los antioxidantes ingeridos que se describen más adelante, eliminan los radicales libres con una potencia que se mide con el índice ORAC (siglas de *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) o capacidad de absorción de radicales oxígeno. Así, el orégano deshidratado tiene un ORAC muy alto, de 175 000, mientras que en la fresa, el brócoli, la uva roja y el rábano es de 4 300, 3 000, 2 000 y 1 700, respectivamente.[21]

Nutracéuticos

El Dr. Stephen L. DeFelice acuñó el vocablo "nutracéutico" en 1989 y al año siguiente lo dio a conocer a través de la Fundación para Innovación en Medicina, en Nueva Jersey, donde él trabajaba. Surge de la unión de las palabras *nutrición* y *farmacéutico*, y se refiere a compuestos bioactivos cuyo consumo beneficia la salud humana, con capacidad preventiva o terapéutica.[9,10] Incluye los fitoquímicos, sustancias que se encuentran de manera

natural en el reino vegetal, sobre todo en frutas y verduras. Otro grupo de nutracéuticos se sintetizan químicamente y así se emplean como aditivos en forma de polvos, líquidos, microencapsulados y nanoencapsulados, estos últimos partículas menores de 100 nanómetros (nm) muy estables, cuyo agente activo es altamente biodisponible y se libera de forma controlada por la acción de secreciones específicas del organismo en un proceso llamado nanoterapia.

Los nutracéuticos pueden ser de origen vegetal (fitoquímicos), animal y mineral y existen diversas formas de clasificarlos;[24,51] una de las cuales es por su función biológica dado que pueden ser antioxidantes, anticancerígenos, hipocolesterolémicos, antiinflamatorios, osteogénicos (promueven la formación de huesos), antibacteriales, etc.; otra es por su estructura química, como se muestra en el cuadro 15.1.

A continuación se describen los nutracéuticos más importantes, con una breve descripción sobre sus efectos benéficos, aun cuando en muchos casos es información que no está totalmente avalada por estudios científicos formales.

CUADRO 15.1 Nutracéuticos más comunes

Fitoquímicos	Otros nutracéuticos
Carotenoides	Probióticos y prebióticos
Polifenoles	Aminoácidos y proteínas
Antocianinas	Hidratos de carbono
Flavonoides	Lípidos
Derivados azufrados	Vitaminas
Fitoesteroles	Minerales

Fitoquímicos

Los fitoquímicos (del griego *phyton*, vegetal) o fitonutrimentos, son compuestos del reino vegetal con una bioactividad benéfica para el organismo humano. De esta categoría destacan los carotenoides, los polifenoles, los derivados azufrados y los fitoesteroles; no son nutrimentos indispensables, como los aminoácidos y las vitaminas, pero cumplen una función biológica importante y se cree que muchos actúan como agentes protectores de la planta contra sus depredadores naturales.

Desde épocas antiguas, el consumo de fitoquímicos ha sido la base de la medicina tradicional o herbolaria, que en muchos países representa 70% o más de lo que tradicionalmente muchos pueblos hacen con la intención de curar algunos males. De varias plantas se conocen sus efectos antiglucémicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, hipocolesterolémicos, etc. Entre ellas están el ajo, el anís, el brócoli, la canela, la cebolla, el clavo, la hierbabuena, el jitomate, la manzanilla, la naranja, el nopal, el romero, la salvia y el té. En muchos casos ya se han identificado los agentes activos responsables de estas funciones, pero en otros todavía no. Así, por ejemplo, el sorbitol de las ciruelas y las peras tienen un efecto laxante y evitan el estreñimiento, mientras que algunos compuestos del arándano previenen las infecciones urinarias.[16]

Carotenoides

Los carotenoides son metabolitos secundarios del reino vegetal que incluye más de 700 compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Igual que los terpenos, derivan su estructura del isopreno, $CH_2{=}C(CH_3){-}CH{=}CH_2$, de manera que son moléculas insaturadas, lo que les confiere actividad de antioxidante. Los aceites esenciales contienen monoterpenos y sesquiterpenos (1.5 veces un terpeno, es decir, 15 carbonos) como la limonina de los cítricos y el mentol de la menta. Los triterpenos incluyen las saponinas, y los tetraterpenos carotenoides con 40 átomos de carbono.

Los carotenoides se dividen en carotenos y xantófilas (vea el capítulo 7); los primeros, como el β-caroteno y el licopeno, son verdaderos hidrocarburos, mientras que las xantófilas contienen oxígeno, como en la astaxantina, la criptoxantina y en la luteína y su isómero, la zeaxantina. Las xantófilas no presentan actividad de vitamina A, pero sí de antioxidante. Los carotenoides neutralizan los radicales libres, pero no se convierten en un radical que propague la reacción, como ocurre en la oxidación de las grasas y aceites descrita en el capítulo 4. Su propia condición de antioxidante propicia que sean sensibles a la luz, al oxígeno y a las altas temperaturas, razón por la que los alimentos que los contienen deben protegerse de estos agentes.

La concentración de carotenoides en los alimentos es muy variable; como ejemplo, la zanahoria contiene 50-55 ppm de α y β-carotenos, lo que la hace una buena fuente de antioxidantes, pero también de provitamina A.

Al licopeno rojo del jitomate, la sandía y la papaya se le adjudica la prevención de cáncer de próstata y de enfermedades cardiovasculares, así como de incrementar la tersura de la piel; su concentración es de aproximadamente 50 ppm, pero depende de la madurez del fruto, dado que mientras más rojo o maduro sea, contiene más pigmento. La biodisponibilidad del licopeno se incrementa en los derivados del jitomate que han sido tratados térmicamente, como sucede en la pasta, el puré y el kétchup, así como cuando se consume al mismo tiempo con aceite de aguacate.[48] En forma natural, el licopeno existe como todo *trans*, pero el calentamiento puede isomerizarlo parcialmente en *cis*. En productos deshidratados es susceptible de oxidación y por eso debe guardarse en envases cerrados y con un gas inerte.[35,44]

La luteína amarilla de la naranja, la espinaca y el brócoli (no se observa por la presencia de la clorofila), protege la piel contra los rayos ultravioleta (UV) solares, previene la degradación macular o ceguera asociada con la edad al incrementar el pigmento ocular y evita el cáncer de colon.[25]

Por la amplia gama de carotenoides y sus distintas funciones biológicas y colores, se recomienda consumir muchos vegetales de diferentes tonalidades, en una ensalada que evoque el arco iris o la obra de artistas como Picasso o Kandinsky.

Al triterpeno limonina se le adjudica una función anticancerígena, es liposoluble, pero su uso se limita debido a que es intensamente amargo; su derivado glucosídico es de sabor más agradable, tiene menor potencia pero es hidrosoluble, lo que facilita su aplicación.[14]

Polifenoles

Los compuestos polifenólicos son una amplia familia de metabolitos secundarios a base de una estructura fenólica en la que se incluye a las antocianinas, flavonoides como las isoflavonas, flavononas y flavonoles (catequinas), los taninos y los lignanos, a los que se les adjudican efectos antioxidantes, antiinflamatorios, cardioprotectores y antimicrobianos. Por esta

razón, a los flavonoides también se les designa bioflavonoides.[26] En la planta desempeñan una doble función, algunos como protección contra depredadores herbívoros y patógenos, y otra por su colorido, para atraer animales y favorecer la polinización.

La canela contiene polifenoles que pueden reducir el colesterol y controlar la presión arterial, mientras que al hidroxitirosol y al tirosol de la oliva se les adjudican algunos beneficios de la dieta del Mediterráneo por su efecto cardioprotector y por ser antiinflamatorios.[32,42]

Por su parte, los polifenoles del cacao, y en consecuencia del chocolate oscuro, así como los del té negro y del té verde, previenen la oxidación del colesterol y estimulan el sistema inmunológico; las hojas de té contienen hasta 35% de su materia seca como polifenoles.[38] Las hojas del ginkgo biloba presentan polifenoles que favorecen la irrigación sanguínea, mejoran la memoria, aumentan la disponibilidad de oxígeno y evitan trastornos cognoscitivos.

El contenido de polifenoles en el vino tinto es de aproximadamente 1 400 mg/L, mientras que el del vino blanco es de 200 mg/L; el resveratrol se encuentra en 1.5 y 0.027 mg/L, respectivamente, sobre todo en la piel y la semilla de la uva roja. Regula la presión sanguínea y al parecer evita la oxidación de neuronas y previene el Alzheimer al inhibir la formación de la proteína β-amiloide.[17]

Los taninos, también referidos como ácido elágico, son polifenoles responsables de la astringencia del membrillo, la uva, el té verde y las fresas.

Los lignanos (no confundir con la lignina) como el enterodiol y la enterolactona, son metabolitos secundarios de las semillas de calabaza, lino o linaza, ajonjolí y soya, salvado de trigo, cebada y avena, que están relacionados con la fenilalanina y funcionan como fitoestrógenos.

Cabe indicar que, en exceso, los polifenoles forman un complejo con el hierro y reducen su biodisponibilidad; por ello los bebedores de grandes cantidades de té negro o de vino tinto pueden desarrollar anemia.

● Antocianinas

Son pigmentos (vea el capítulo 7) presentes en uva, fresa, frambuesa, manzana, rábano, arándano, té verde, cebolla morada, etc., que pueden regular la glucosa sanguínea, proteger contra la cardiopatía coronaria y la hipertensión y tener un efecto antiinflamatorio.

● Flavonoides

Las isoflavonas, como la genisteína de la soya, son moléculas con actividad estrogénica que incrementan los estrógenos en la menopausia, y por ello se le atribuyen virtudes como la de controlar el cáncer hormonodependiente de mama y próstata, así como la posible disminución de osteoporosis y de síntomas postmenopáusicos.[39,41]

La quercetina es uno de los flavonoles más ampliamente distribuidos; está presente en la cebolla, las manzanas y el vino, en una concentración de 25 mg/L. De igual manera, los chiles contienen diversos flavonoides antioxidantes, cuya potencia depende del número y ubicación de los hidroxilos.[43]

Derivados azufrados

Los glucosinolatos son derivados de la glucosa que llevan azufre en su molécula y a partir de ellos se producen los isotiocianatos, responsables del aroma y picor de las crucíferas; el sulforafano del brócoli y la alicina del ajo son antioxidantes que actúan contra el cáncer de

estómago y de próstata, previenen enfermedades cardiovasculares e inhiben la absorción de colesterol y glucosa. El ajo es el vegetal con el mayor contenido de compuestos azufrados (aproximadamente 1% de azufre) que tienen varios efectos benéficos: antimicrobiano, anticancerígeno, cardioprotector, reduce el colesterol y las lipoproteínas de baja densidad e incrementa las benéficas lipoproteínas de alta densidad.[35,47]

Uno de los indoles más importantes es el indol-3-carbinol de las crucíferas, cuya principal función es desactivar los estrógenos causantes de cáncer de mama.

Fitoesteroles

Los principales fitoesteroles incluyen el sitosterol, el campesterol y el estigmasterol. A diferencia del colesterol, no se absorben en el tracto gastrointestinal; de hecho, su capacidad anticolesterolémica se debe a su estructura química que compite y bloquea la absorción de colesterol en el tracto gastrointestinal. Se encuentran en la soya y comercialmente se obtienen de la refinación de su aceite; para óptimos resultados, se recomienda un consumo de 300 a 500 mg de fitoesteroles por día, junto con los alimentos que contienen colesterol.

Otros nutracéuticos

Como se indicó, además de los fitoquímicos, los nutracéuticos incluyen una enorme variedad de compuestos, muchos sintéticos y otros de origen natural, que se añaden a los alimentos.

Probióticos y prebióticos

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define probiótico (del latín *pro*, a favor, y *bios*, vida) como "bacterias que permanecen activas en el sistema digestivo y potencian un efecto inmunológico y de protección contra patógenos". Son microorganismos que fortalecen la microflora benéfica del intestino grueso, reducen la dañina, como salmonellas y clostridium y proporcionan protección inmunitaria al sintetizar inmunoglobulinas y al facilitar la proliferación de linfocitos y macrófagos. Entre los más comunes están *Lactobacillus acidophillus, bulgaricus* y *casei*, y *Bifidobacterium infantis, bifidum* y *longum*.

Para que los probióticos sean efectivos, deben cumplir los siguientes requerimientos:

a) Mantenerse activos en el alimento, debido a que las altas temperaturas los destruyen, aun cuando hay encapsulados con mayor resistencia térmica.
b) Ser habitantes normales del intestino.
c) Sobrevivir a la fuerte acidez del estómago (pH 2.2) y a los ácidos biliares para poder llegar a su destino en una elevada concentración.
d) Tener cortos periodos de reproducción.
e) Sintetizar compuestos antimicrobianos.

Con base en lo anterior, las bifidobacterias son más efectivas que los lactobacilos y ambos grupos de microorganismos se encuentran en lácteos fermentados como yogur, jocoque y queso, aun cuando hay preparaciones farmacéuticas liofilizadas que contienen millones de ellos.[20]

En cuanto al prebiótico (del latín *pre*, antes y *bios*, vida) es un "ingrediente alimenticio no digerible que afecta de forma benéfica al hospedero, estimulando selectivamente el crecimiento y la actividad de una o más bacterias benéficas del colon y mejorando la salud del hospedero". Estos compuestos deben resistir la acidez del estómago, no ser atacadas por las enzimas digestivas del intestino delgado y estimular de forma selectiva el crecimiento de los probióticos. Entre los principales se encuentran fibras dietéticas, lactitol, lactulosa, inulina y oligofructosa.[13,33]

Cabe aclarar que la leche materna contiene el factor bífidus, que propicia el desarrollo de las bifidobacterias productoras del ácido láctico en el intestino del infante y que actúa como un primer frente de defensa contra patógenos.

Aminoácidos y proteínas

Además de formar parte de las proteínas de los distintos tejidos muscular y conectivo, algunos aminoácidos tienen una función biológica adicional. La arginina actúa como cardioprotector debido a que produce óxido nítrico (NO), un agente vasodilatador; la taurina, derivada de los aminoácidos, reduce la presión sanguínea y es antioxidante. La colina y la betaína se sintetizan a partir de aminoácidos y son importantes agentes que transforman la peligrosa homocisteína en metionina.

El glutatión es un tripéptido que se sintetiza con los aminoácidos y forma parte de la enzima glutatión peroxidasa, importante agente antioxidante endógeno del organismo humano.[45]

Las proteínas del suero de la leche y del huevo son ricas en leucina, aminoácido que contribuye a la formación de músculos y a la recuperación después de un ejercicio intenso.[23] Además, las proteínas de la soya y las del suero de la leche promueven la saciedad y debido a eso son adecuadas para la reducción de peso y el control del colesterol.[31]

Hidratos de carbono

El ácido ascórbico es derivado de la glucosa y uno de los principales antioxidantes disponibles para el hombre.

El espárrago, la cebolla y el ajo producen oligosacáridos prebióticos derivados de la inulina, además de que contienen celulosa, pectinas y otros polisacáridos que son fibra dietética. De origen animal se tienen los polisacáridos ácido hialurónico y el sulfato de condroitina.

Las fibras tienen la propiedad de retener agua al establecer puentes de hidrógeno a través de sus grupos polares, como los hidroxilos y carboxilos; las fibras solubles son fermentadas y liberan el agua en el colon, mientras que las insolubles retienen el líquido todo el tiempo y lo eliminan en las heces. El gel que forman al hidratarse incrementa la viscosidad del bolo, aumentan la velocidad de tránsito y, en consecuencia, reducen la velocidad de absorción de azúcares, ácidos grasos y colesterol; esto hace que no se absorba tanta glucosa y colesterol, por lo que ayudan a controlar la diabetes y la presión arterial, mejoran la respuesta a la insulina e inhiben la formación de las lipoproteínas de baja densidad. Los granos enteros de trigo, arroz, avena, sorgo, espelta, centeno y cebada son muy recomendados por sus β-glucanos.[1]

El almidón modificado, derivado de los almidones ricos en amilosa, resiste la digestión en el intestino delgado y se comporta como fibra en el intestino grueso. Existen otros polisacáridos comerciales como la polidextrosa (marca comercial Litesse®) que sólo produce 1 Kcal/g, de bajo índice glucémico y que además funciona como prebiótico.

Se recomienda una ingesta diaria de 35 g de fibra; sin embargo, en México el consumo promedio es de sólo 15 g. Los vegetales son muy ricos en fibra: brócoli, 1.5%; zanahoria, 6.3%, chícharo, 4.3%, chile jalapeño, 2.3%, ejote, 1% y nopal, 3.5%.

Lípidos

Además de aportar mucha energía, las grasas y los aceites son fuente de ácidos grasos indispensables y se les atribuyen muchos beneficios para la salud. Los omega 3, en especial, reducen los triacilglicéridos sanguíneos y aumentan las benéficas lipoproteínas de alta densidad. El DHA se encuentra en una alta concentración en los ojos y el cerebro; entre el nacimiento y los 5 años de edad, el cerebro aumenta 3.5 veces su masa, razón por la que requiere este ácido graso que puede provenir del salmón y de otros peces de agua fría, de algas o de microorganismos genéticamente modificados.[12,33]

El ácido linoleico conjugado (o CLA, siglas de *conjugated linoleic acid*) se produce durante la biohidrogenación microbiana de grasas en el rumen, ya que al tiempo de saturarse algunos ácidos grasos, otros transforman sus dobles ligaduras en conjugadas. Se encuentra en la leche, en quesos y derivados cárnicos y se le atribuye la reducción de ciertos cánceres, así como tener propiedades antiaterogénicas y antidiabéticas que ayudan al sistema inmune y reducen la grasa corporal.[8,49,50]

Vitaminas y minerales

Este tema se revisó en el capítulo 6.

Resumen de su función biológica

El cuadro 15.2 muestra las funciones biológicas benéficas atribuibles a los nutracéuticos.

CUADRO 15.2 Función biológica de los nutracéuticos

Antioxidante
Salud cardiovascular
Anticancerígeno
Control de la diabetes
Sistema óseo
Sistema nervioso
Productor de energía
Salud cerebral
Inmunidad

Antioxidantes

La estructura de enediol de la vitamina C le permite actuar como antioxidante al neutralizar los radicales libres; su oxidación lo convierte en ácido dehidroascórbico, pero conserva su actividad vitamínica. Por esta función primaria, al ácido ascórbico se le atribuye la prevención de cáncer, problemas cardiovasculares y de cataratas y el aumento del sistema inmunológico. Su concentración en los vegetales aumenta con la maduración, igual que ocurre con los chiles.[27]

La ingesta diaria recomendada para la vitamina C es de 60 mg, mismo que puede ser satisfecho con el consumo de los diversos vegetales mostrados en el cuadro 6.9.

Muchos compuestos actúan como antioxidantes, incluida la vitamina A, los vitámeros de la vitamina E y los flavonoides de los chiles,[28] así como el ácido alfa-lipoico, el extracto de guaraná y los minerales manganeso, zinc y selenio. Este último está presente de forma natural en levaduras y nueces y participa como Se-Met (selenio-metionina) en la glutatión peroxidasa, enzima que desactiva los radicales libres; además, combate la depresión y, junto con los omega-3, el ácido fólico y la vitamina B_6, inhibe la formación de la homocisteína. Cabe indicar que el efecto antioxidante de estos compuestos disminuye en fumadores.[4] La deficiencia de las vitaminas C y E y de β-caroteno se ha relacionado con un mayor riesgo de Alzheimer. Los antioxidantes de la avellana se concentran en la cascarilla, razón por la que los beneficios se alcanzan al consumir el fruto entero.[35]

Salud cardiovascular

En la salud cardiovascular intervienen factores como la presión arterial, el colesterol, las lipoproteínas de baja y alta densidad, el peso corporal, etc. En cada uno de ellos, a los siguientes nutracéuticos se les adjudica algún efecto benéfico: fibra dietética, proteína de soya, fitoesteroles, ácidos omega-3, coenzima Q_{10}, resveratrol y vitamina D.[29]

Los ácidos grasos linoleico, linolénico, EPA, DPA y DHA son específicos para reducir el colesterol e incentivar las lipoproteínas de alta densidad. Además de los peces de agua fría, las nueces también son una buena fuente de estos ácidos y se considera que una cantidad de nueces que aporte 300 Kcal/día es suficiente para proveer beneficios cardiovasculares sin el riesgo de provocar un aumento de peso por ser un alimento muy denso en energía.[35]

Anticancerígeno

El poder antioxidante de los nutracéuticos se relaciona directamente con su capacidad anticancerígena, como ocurre con el licopeno que previene el cáncer de próstata, o los derivados azufrados que también lo hacen en el estómago.

Diabetes

El nivel de la glucosa sanguínea depende de la dieta del individuo; por esta razón se recomiendan alimentos con bajos índices glucémicos, es decir, ricos en hidratos de carbono complejos, como las fibras y los almidones resistentes a la digestión y con reducida concentración de hidratos de carbono simples, como los azúcares. Además, varios nutracéuticos han mostrado un efecto benéfico en este sentido, como los polisacáridos del té negro,[5] el cromo, usado como picolinato, mejora la actividad de la insulina,[2] al igual que los polifenoles de la canela y de la aceituna, específicamente el hidroxitirosol.

Energía

Tal como cualquier organismo vivo, el organismo humano necesita energía para funcionar y la obtiene de hidratos de carbono, lípidos y proteínas. Para generarlos y aprovecharlos actúan diversos nutracéuticos.

Las vitaminas del grupo B funcionan como coenzimas en diversas reacciones metabólicas, su presencia facilita la conversión de los nutrimentos en glucosa y, por tanto, en energía.

La L-carnitina interviene en la transportación de los ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial y con esto facilita su hidrólisis, oxidación y generación de energía. Para los atletas es importante la disponibilidad de energía en forma de grasa, tanto en el esfuerzo intenso, como en la recuperación. Además, reduce la acumulación del ácido láctico sintetizado con el ejercicio, responsable de la fatiga, junto con la reducción del glucógeno.[30] De igual forma, el dolor post-ejercicio puede aminorarse con la ingesta de antocianinas por su efecto antiinflamatorio.[22]

La taurina es un aminoácido que se aisló por vez primera del toro, es un derivado de la cisteína que está presente en bilis, carne y leche y, junto con la cafeína y la L-carnitina, se añade a bebidas energéticas para mejorar la función cardiaca y aprovechar la energía muscular que aminora la fatiga.[8]

La ribosa es una pentosa que el organismo humano utiliza en la síntesis de ATP (adenosín trifosfato), la principal molécula de energía en el cuerpo y también en la de DNA y RNA y forma parte de la vitamina B_{12}; por esto participa en la provisión de energía y en la recuperación después de un ejercicio intenso.[30]

La coenzima Q_{10} o ubiquinona, de estructura semejante a la vitamina D, desempeña una función muy importante en la producción de energía metabólica, debido a que interviene en la síntesis de ATP y además funciona como antioxidante.[37]

Reducción de peso

La reducción de peso sólo se logra con una ingesta menor de calorías, de acuerdo con el tradicional balance energético según el cual lo que entra es igual a lo que sale, más lo que se acumula; en consecuencia, para bajar de peso debe restringirse la ingestión de calorías. La reducción se logra si se come menos, sólo hasta la saciedad, o al oxidar más eficientemente las grasas acumuladas en el tejido adiposo. En este sentido, las fibras de los vegetales desempeñan una función muy importante ya que no aportan calorías, pero sí un efecto de saciedad que disminuye el consumo de alimentos.

A las proteínas del huevo, del suero de la leche y de la soya se les adjudica un efecto represor del apetito al estimular la liberación de la hormona colesistoquinina que regula la saciedad. Además, la clara de huevo y la proteína del suero de leche son fuente importante de aminoácidos ramificados, como la leucina, que estimulan la síntesis de músculo.

Por su parte, el ácido linolénico ayuda a convertir grasa en músculos y la betaína (trimetilglicina) los fortalece. La capsaicina de los chiles es termogénica y facilita un mayor gasto de energía y, en consecuencia, de consumo de grasa; la concentración de este compuesto depende de la madurez del fruto.[19] Cabe aclarar que también se utiliza en lociones para después de afeitarse, porque actúa como analgésico en la piel. Otros termogénicos son la piperina de la pimienta negra, la cafeína y la niacina.

El ácido linoleico conjugado reduce la grasa del cuerpo al mejorar la relación músculo/grasa y la trehalosa, que es un sacárido, inhibe la hipertrofia de las células grasas.[34] El picolinato de cromo contribuye a la reducción de peso al facilitar la actividad de la insulina y la

oxidación de la glucosa. La lactulosa acelera los movimientos intestinales y reduce el tiempo del alimento en el sistema digestivo.

Sistema nervioso

Las células nerviosas mejoran su función con el ácido γ-aminobutírico, la colina y el inositol, lo que se refleja en mayor capacidad mental y cognitiva. La colina forma parte del neurotransmisor acetilcolina y de la fosfatidilcolina o lecitina, presente en la mielina que cubre los nervios; el inositol, llamado también vitamina B_8, abunda en el corazón y el cerebro y participa en la síntesis de neurotransmisores.

La α-lactoalbúmina es rica en triptófano, un precursor de la niacina, de la hormona melatonina y del neurotransmisor serotonina; a esta última se le adjudica un efecto potenciador de la felicidad y de reducir la ansiedad y el insomnio.

El ginko biloba es un árbol de cuyas hojas se hace una extracción que contiene flavonoides y lactonas que reciben el nombre genérico de ginkgólidos que mejoran la circulación de la sangre y son antiinflamatorios, efectos que incrementan la capacidad mental, mejoran la salud cardiovascular y hasta combaten el Alzheimer.[40]

Sistema óseo

Para fortalecerlo se emplea calcio en diferentes formas como citrato, malato o glicerofosfato por su alta solubilidad y biodisponibilidad; se obtienen mejores resultados al adicionar este mineral junto con fósforo, magnesio, boro y las vitaminas C y D.[11,33]

Salud cerebral

Debido a su alta concentración en el cerebro, los ácidos omega-3, especialmente el DHA y EPA y el araquidónico se relacionan con la salud cerebral. Las frutas ricas en antioxidantes también son muy importantes; los polifenoles de bayas y los ácidos grasos poliinsaturados de las nueces tienen un efecto antioxidante y antiinflamatorio. La lecitina, con su colina, es igualmente importante ya que forma parte de los fosfolípidos que se encuentran en las células nerviosas.

Otras funciones de los nutracéuticos

La glucosamina se sintetiza en el organismo humano y forma parte de la estructura básica de los glucosaminoglucanos de los cartílagos; junto con el sulfato de condroitina y el ácido hialurónico estimulan la formación de cartílago y reducen la artrosis.[6] Ambos se recomiendan para incrementar la flexibilidad de los atletas.

La cafeína se emplea en las bebidas energizantes, ya sea a través del café, del producto sintético o del guaraná; esta última planta la contiene (llamada en este caso guaranina) hasta en 7%, contra sólo 2% del grano de café. Un consumo excesivo de cafeína puede ser peligroso, razón por la que se recomienda no más de 165 mg de cafeína al día, pero algunas bebidas disponibles en el mercado la tienen hasta en 1 g/L; es decir, un vaso con 250 ml tiene 250 mg de cafeína.

Los extractos de levadura contienen proteína, fibras, vitaminas, minerales, aminoácidos, antioxidantes y otros metabolitos que proveen beneficios nutricionales y apoyan el sistema inmunológico.[36]

Alimentos funcionales

Este término, acuñado en la década de 1980 en Japón, no tiene una clara definición y se usa como equivalente de alimento nutracéutico. Se le llamó funcional porque apoya las funciones básicas del organismo humano. Son productos elaborados por la adición de los nutracéuticos antes descritos o por la eliminación de alguno dañino, como ocurre con la leche deslactosada, los panes sin gluten, los reducidos en grasa, en colesterol, en azúcares y en sodio, que ayudan a evitar las enfermedades crónicas degenerativas (diabetes, cardiovasculares, etc.). Es decir, son alimentos que promueven la salud, siempre y cuando la modificación tenga un efecto comprobado, para lo cual debe considerarse la cantidad consumida y, en el caso de los agentes añadidos, su biodisponibilidad.[15,18,46]

Como extensión de este principio se han desarrollado los *cosmecéuticos*, alimentos funcionales que trabajan desde el interior del organismo para inducir la belleza exterior; esta categoría incluye las barras de cereales y los yogures adicionados con carotenoides, colágeno, ácido hialurónico, hidratantes de la piel y otros agentes que evitan las arrugas y el envejecimiento provocado por los radicales libres.

Un alimento se considera funcional si durante su procesamiento ocurre alguno de los siguientes fenómenos:

a) Eliminación de un componente conocido como causante o determinante de una enfermedad. *Ejemplo:* las proteínas alergénicas o la lactosa de productos lácteos.
b) Incremento en la concentración de un componente alimenticio. Esta fortificación hace que su dosis diaria se acerque a las recomendaciones correspondientes.
c) Adición de un componente que no está presente en el alimento.
d) Reemplazo de macronutrimentos. Quitar grasas y agregar sus correspondientes sustitutos.

Algunos ejemplos de alimentos funcionales son los huevos enriquecidos con ácidos grasos omega-3, la leche y yogures fermentados con cultivos probióticos, los cereales con ácido fólico y las margarinas con fitoesteroles.

Referencias bibliográficas

1. Ajani, U.A., Ford, E.S., and Mokdad, A.H. 2004. "Dietary fiber and C-reactive protein: findings from national health and nutrition examination survey data". *J Nutr.* 134(5): 1181.
2. Anton, S.D. *et al.* 2008. "Effects of chromium picolinate on food intake and satiety". *Diabetes Technol. Ther.* 10:405-412.
3. Bell, L. 2007. "Nutraceutical stability concerns and shelf life testing". 467-481. *En: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*. Ed. Por R. Wildman. CRC Press, Boca Raton, Fl.
4. Bruno, R.S., Ramakrishnan, R., Montine, T.J., Bray, T.M., and Traber, M.G. 2005. "alpha-Tocopherol disappearance is faster in cigarette smokers and is inversely related to their ascorbic acid status". *Am J. Clin. Nutr.*, 81(1):95-103.
5. Chen, H. *et al.* 2009. "Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea and black tea". *J Food Sci.* 74:469-474.
6. Clegg, D.O. *et al.* 2006. "Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis". *N. Engl. J. Med.* 354:795-808.
7. Coates, P., Blackman, M. R., Cragg, G. M., Levine, M., Moss, J. and White J. D. 2005. *Encyclopedia of Dietary Supplements*, Marcel Dekker, Nueva York.
8. Cockburn, A. 2002. "Assuring the safety of GM food". *J. Biotechnol.* 98:79-106.
9. DeFelice, S.L. 2002. "FIM Rationale and Proposed Guidelines for the Nutraceutical Research & Education Act-NREA", November 10, Foundation for Innovation in Medicine. http://www.fi defelice.org/archives/arc.researchact.html
10. DeFelice, S. 2007. *The Foundation for Innovation in Medicine*. http://www.fi mdefelice.org
11. De Luca, H.F. 2004. "Overview of general physiologic features and functions of vitamin D", *Am. J. Clin. Nutr.*, 80:1689S-1696S.
12. Erkkila, A.T., Lichtenstein, A.H., Mozaffarian, D., and Herrington, D.M. 2004. "Fish intake is associated with a reduced progression of coronary artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease". *Am. J. Clin. Nutr.* 80:626-632.
13. Farnworth, E. 2007. "Probiotics and prebiotics", pp. 335-347. *En: Handbook of Nutraceulticals and Functional Foods*. CRC Press, Boca Raton, Fl.
14. Fong, C.H., Hasegawa, S., Herman, Z. y Ou, P. 1990. "Limonoid glucosides in commercial citrus juices", *J. Food Sci.*, 54:1505-1506.
15. "Functional Foods: Opportunities and Challenges", 2005. *IFT Expert Report* 1:1-66.
16. "Handbook of Nutraceuticals", volumen 1. 2010. *Ingredients, formulations and applications*. Ed. Y. Pathak. CRC Press. Boca Raton, Fl.
17. Hao, H.D. and He, L.R. 2004. "Mechanisms of cardiovascular protection by resveratrol", *J. Med. Food*, 7(3): 290-298.
18. Hardy, G. 2000. "Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning". *Nutrition* 16:688-689.
19. Hsu, C.L. y Yen, G.C. 2007. "Effects of capsaicin on induction of apoptosis and inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells". *J. Agric. Food Chem.* 55:1730-1736.

20. Ibrahim, F. y cols. 2006. "Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier". *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 59(1):53-59. International Life Sciences Inst. of North America, http:/www.ilsi.org/

21. Jacob, R.A., 1995. "The integrated antioxidant system", *Nutr. Res.*, 15:755-766.

22. Lafay, S. y cols. 2009. "Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes". *J. of Sports Sci. And Med.* 8:468-480.

23. Layman, D. 2003. "The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis". *J. Nutrition* 133:261-267.

24. Lockwood, B. 2007. "Nutraceuticals". 2a. edición, Londres, RU. *Pharmaceutical Press*.

25. Ma. y cols. 2009. "A 12-week lutein supplementation improves visual function in Chinese people with long-term computer display light exposure". *Br. J. Nutr.* 102(2):186-190.

26. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Ramesy, C. y Jiménez, L. 2004. "Polyphenols: food sources and bioavailability". *Am. J. Clin. Nutr.* 79:727-741.

27. Martínez, S., López, M., González-Raurich, M. y Bernardo Álvarez, A. 2005. "The effects of ripening stage and processing systems on vitamin C content in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.)". *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 56:45-51.

28. Materska, M. y Perucka, I. 2005. "Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annum* L.)". *J. Agric. Food Chem.* 53:1750-1756.

29. Milo, L. 2010 a. "Formulating to improve heart health". *Food Technol.* 5:65-70; 2010.

30. Milo, L. 2010 b. "Powering sports performance". *Food Technol.* 7:91-100.

31. Milo, L. 2010 c. "Powerful proteins". *Food Technol.* 8:67-71.

32. Milo, L. 2010 d. "Aids for aches and pains". *Food Technol.* 10, 77-84.

33. Milo, L. 2010 e. "Connecting with kids". *Food Technol.* 11:57-62.

34. Milo, L. 2010 f. "Tipping the scales toward healthy weight loss". *Food Technol.* 12:65-70.

35. Milo, L. 2011 g. "Wholesome nutrition". *Food Technol.* 1:67-70.

36. Milo, L. 2011 h. "Building a better defense system". *Food Technol.* 2:67-72.

37. Milo, L. 2011 i. "The buzz about energy products". *Food Technol.* 3:71-74.

38. Milo, L. 2011 j. "Powerful polyphenols". *Food Technol.* 6:93-97.

39. Murphy, P.A. 2004. "Isoflavones in soybean processing". *En: Nutritionally Enhanced Edible Oil and Oilseed Processing* (Eds) N.T. Dunford and H.B. Dunford, AOAC Press. Champaign, Ill. pp. 38-70.

40. Oken, B.S., Storzbach, D.M. y Kaye, J.A. 1998. "The efficacy of *Ginkgo biloba* on cognitive function in Alzheimer disease". *Arch. Neurol.* 55:1409-1415.

41. Omoni, A.O. y Aluko, R.E. 2005. "Soybean foods and their benefits: potential mechanisms of action". *Nutr. Rev.* 63:272-283.

42. Pitsavos, C., Panagiotakos, B.B., Tzima, N., Chrysohoou, C., Economou, M., Zampelas, A. y Stefanadis, C. 2005. "Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study". *Am. J. Clin. Nutr.* 82:694-699.

43. Rice-Evans, C.A. y cols. 1996. "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids". *Free Radical Biol. Med., 20*:933-956.

44. Roa, A.V. y Agarwal, S. 1999. "Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review". *Nutr. Res.* 19:305-323.

45. Seyler, J., Wildman, R. y Layman, D. 2007. "Proteins as a functional food ingredient for weight loss and maintaining body composition". pp. 392-403. *En: Handbook of nutraceuticals and functional foods. CRC Press.* Boca Ratón, Fl.

46. Sloan, A.E. 2011. "Functional Foods". *Food Technol. 8*:48-51.

47. Tattelman, E. 2005. "Health effects of garlic". *Am. Fam. Physician. 72*(1): 103-106.

48. Unlu, N.Z., Bohn, T., Clinton, S.K., and Schwartz, S.J. 2005. "Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil", *J. Nutr.*, 135(3): 431-6.

49. Watkins, B.A. and Li, Y. 2006. "Conjugated linoleic acids (CLAs): food, nutrition, and health". *En: Nutraceutical and Speciality Lipids and Their Co-Products*. CRC Press, Boca Ratón, Fl.

50. Watras, A.C. y cols. 2007. "The role of conjugated linoleic acid in reducing body fat and preventing holiday weight gain". *Intl. J. Obesity.* 31:481-487.

51. Wildman, E. y M. Kelley. 2007. "Nutraceulticals and Functional Foods". *En: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods.* 2a. ed. Ed. R. Wildman. *CRC Press.* Boca Ratón, Fl.

Índice

A

Abrillantadores, 547
Absorbancia, 130
Aceite de soya, 242, 641
Acesulfame K, 534
Acetatos, 519
Achiote, 387
Acidez, índice, 239
Acidificantes, 530
Ácido
  acético, 519
  ascórbico, 46, 364
  benzoico, 517
  carmínico, 412
  cítrico, 530
  esteárico, 226
  fítico, 582
  fólico, 361
  fumárico, 530
  graso, 225, 600
  láurico, 225
  lipoico, 367
  nicotínico, 362
  oleico, 228
  orótico, 367
  pantoténico, 363
  propiónico, 519
  sórbico, 518
  tartárico, 530
  tiobarbitúrico, 269
Acidulantes, 530
Acilglicéridos, 231
Acondicionadores de panificación, 539
Acrilamida, 161, 599
Actina, 188
Actividad del agua, 17
Aditivos, 511
Aereantes, 547
Aflatoxinas, 577
Agar, 82
Aglucona, 39
Aglutinantes, 547
Agua, 3
  actividad del, 17
  calor específico, 8
  calor latente del, 8
  capilar, 16
  constante dieléctrica, 10
  en la industria alimentaria, 26
  estados físicos del , 11
  evaporación, 11
  ionización, 9
  libre, 16
  ligada, 16
  propiedades fisicoquímicas, 8
  punto triple, 12
  sublimación, 14
  tensión superficial, 11
Aislados, 642
Albúminas, 167
Alcalinizantes, 530
α-amilasa, 301
α-lactoalbúmina, 193, 621
Alginato, 81

Aliinasa, 467
Alimentos
  de humedad intermedia, 23
  funcionales, 712
  transgénicos, 662
Alitame, 534
Almidón, 68
Amanitina, 585
Amaranto, 204, 406
Amarillo, 541
Amatoxina, 584
Amigdalina, 42
Amilasas, 301
Amiloglucosidasa, 302
Amilograma, 68
Amilopectina, 68
Amilosa, 68
Aminas biógenas, 602
Aminoácidos, 96
Aminoazúcares, 38
Anato, 387
Antiaglomerantes, 540
Antiapelmazantes, 540
Antibióticos, 522
Antiespumantes, 540
Antioxidantes, 264, 709
Antisalpicantes, 547
Antivitaminas, 593
Antocianidina, 399
Antocianinas, 399, 705
Antraquinonas, 414
Arabinosa, 33
Aromas, 442
Aromatizantes, 546
Arroz, 204, 680
Aspartame, 534
Astaxantina, 385
Astringencia, 440
Avidina, 185,
Azodicarbonamida, 539
Azúcar
  invertido, 58
  reductor, 36
Azul brillante, 541

B

Balance hidrófilo-lipófobo, 525
Base de Schiff, 49
Bentonita, 544
Benzantraceno, 597
Benzoatos, 517
Benzopireno, 597
Beriberi, 354
β-amilasa, 301
β-caroteno, 382
β-glucanasas, 305
β-lactoglobulina, 193, 621
Betalainas, 405
BHA, 264
BHL, 525
BHT, 264
Biobalística, 668
Biosíntesis, 452
Biotina, 361
Bióxido de titanio, 541
Birrefringencia, 68
Biuret, 130
Bixina, 387
Blanqueadores, 539
Bocio, 590
Botulismo, 586
Bowman-Birk, 653
Bromelina, 313

C

Cacao, manteca de, 257
Cafeína, 583
Calcio, 373
Calpaína, 315
Canavanina, 587
Cantaxantina, 386
Caprenín, 546
Capsaicina, 588
Caramelización, 46,
Caramelo, color, 46, 415
Carbohidrasas, 301
Carbohidratos, 31
Carboximetilcelulosa, 69
Carmín, 412
Carnitina, 367
Carotenoides, 382, 704
Carotenos, 382
Carrageninas, 86
Caseínas, 193, 617
Catalasa, 319
Catecol oxidasa, 322
Catepsinas, 315
Celobiosa, 61
Celulasas, 305
Celulosa, 65
Ceras, 237
Chaconina, 589
Chalconas, 398
Cianocobalamina, 359
Cianógenos, 42
Ciclamatos, 534
Cinc, 375
CLA, 708
Clarificantes, 544
Clorofilas, 391
Clorotetraciclina, 522
Cobre, 375

Cochinilla, 412
Colágeno, 188
Colesterol, 238
Colina, 367
Coloides, 553
Colorantes, 541
Concentrados de soya, 648
Condroitina, 88
Cornezuelo, 578
Cremor tártaro, 538
Cristalización, 62
Crocina, 387
Cromatografía, 493
Cuajo, 314, 633
Cúrcuma, 411
Curdlán, 82

D

D_{121}, valor, 368
Datem, 526
Decoloración, 244
Degradación de Strecker, 51
Desgomado, 243
Deshidratación, 12
Desnaturalización, 139
Desodorización, 245
Desoxiazúcares, 38
Dextrinas, 76
Dextrosa, 36
DHA, 228, 708
Digestibilidad verdadera, 185
Dihidrochalcona, 398
Dimetil-polisiloxano, 541
Dioxano, 602
Dióxido de azufre, 520
DPA, 229
Durrina, 42

E

EDTA, 533
Edulcorantes, 534
Eflorescencia, 236
Electroforesis, 132
Electroporación, 667
ELISA, 690
Emulsionantes, 525
Emulsiones, 563
Emulsivos, 525
Encapsulantes, 547
Enlace peptídico, 107
Enmascaradores, 547
Enturbiantes, 547
Enzimas, 275
  aplicaciones, 299
  cinética, 292
  uso industrial, 296
EPA, 229
Epóxidos, 523
Ergotismo, 578
Eritrosina, 541
Escorbuto, 364
Espesante, 64
Espumas, 174, 561
Estaquiosa, 60
Esteárico, ácido, 226
Estearoíl-2-lactilato de sodio, 525
Esterasas, 316
Esterilización, 629
Esteroides, 238
Estevióside, 44, 534
Etilendiaminotetracetato, 533
Etilmaltol, 47

F

Faloidina, 584
Falotoxina, 584
Favismo, 576
Fehling, 36
Fenolasas, 322
Feofitina, 393
Feofitinización, 393
Feofórbidos, 393
Fibra, 89, 707
Fitatos, 582
Fitoesteroles, 706
Fitohemaglutininas, 576
Fitoquímicos, 703
Flatulencia, 60, 574
Flavandioles, 397
Flavanonas, 398
Flavonas, 398
Flavonoides, 40, 396, 705
Flavonoles, 397
FlavrSavr, 669
Folacina, 361
Folatos, 361
Fosfatasa alcalina, 332, 631
Fosfatidilinositol, 236
Fosfatidilserina, 236
Fosfoglicéridos, 236
Fosfolípidos, 236, 615
Fósforo, 374
Fotooxidación, 260
Fraccionamiento, 253
Freído, 257
Fructosa, 36
Fructosanas, 88
Frutas climatéricas y no climatéricas, 454

G

Galactitol, 39
Galactosa, 38

Gasificantes para panificación, 537
Gelación, 179
Gelatina, 191
Gelatinización, 72
Geles, 560
Gelificación, 78
Gelificante, 82
Gliadinas, 198
Glicerol, 39
Glicirricina, 44, 534
Globulinas, 167
Glóbulos de grasa, 629
Glucoamilasa, 302
Glucógeno, 81
Gluconato ferroso, 415
Glucono-*δ*-lactona, 532
Glucosa, 36
  isomerasa, 329
  oxidasa, 318
Glucósidos, 39, 572
Glucosinolatos, 40, 705
Glutamato monosódico, 529
Glutatión, 707
Glutelinas, 198
Gluten, 198
Gluteninas, 198
GMS, 529
Gomas, 81
Gosipol, 588
Gránulo, 70
Grasas, 242
Guanilato sódico, 529
Gusto, 430

H

HACCP, 603
Helados, 256,
Hemaglutininas, 644, 654
Hemicelulosa, 67
Hemoglobina, 407
Hibernación, 245
Hidracinas, 595
Hidratación, 62
Hidratos de carbono, 31
Hidrocoloides, 81
Hidrogenación, 246
Hidrógeno, puentes de, 7
Hidroxipropilmetilcelulosa, 67
Hierro, 374
Higroscopicidad, 19
Histamina, 602
Histéresis, 19
HLB, 525
Homogeneización de la leche, 633
Huevo, 185
Humectantes, 545

I

Índice
  de acidez, 239
  de peróxido, 269
  de sólidos grasos, 240
  de yodo, 239
Ingeniería genética, 662
Inhibidores
  de amilasas, 583
  de tripsina, 575
Inosinato sódico, 529
Inositol, 367
Interesterificación, 250
Inulina, 88
Inulinasa, 310
Invertasa, 311
Islanditoxina, 585
Isomaltol, 527
Isomerasas, 329
Isotermas, 18
Isotiocianato de alilo, 40

J

Jarabes invertidos, 304

K

Kofler, microscopio, 72
Kunitz, 653

L

Lactasa, 89, 311, 616
Lactida, 532
Lactitol, 527
Lactosa, 59, 615
Lactulosa, 61
Lamela, 562
Lantionina, 601
Leche, 611
Lecitina, 236
Lectina, 654
Leucoantocianidinas, 398
Levulosa, 37
Liasas, 307
Licopeno, 386
Lignanos, 705
Lignina, 66
Linamarina, 42
Liofilización, 14
Lipasas, 316, 623
Lípidos, 223
Lipólisis, 259
Lipoproteínas, 271
Lipoxidasas, 319
Lipoxigenasa, 319
Lisinoalanina, 156, 601

Lisozima, 185
Litesse, 546
Luteína, 386

M

Magnesio, 375
Maillard, 46, 48, 470, 596
Maíz, 201, 681
Malonaldehído, 269
Maltitol, 527
Maltol, 47
Maltosa, 59
Manitol, 39, 527
Manteca de cacao, 257
Mantecas vegetales, 255
Mantequilla, 255
Marea roja, 592
Margarina, 253
Mayonesa y aderezos, 256
Melanoidinas, 46
Menadiona, 352
Menaquinona, 352
Metalo-proteasas, 313
Metamioglobina, 410
Metilcelulosa, 67
Micelas, 626
Micotoxinas, 577
Microscopio Kofler, 72
Miel de abeja, 593
Mimosina, 587
Minerales, 371
Mioglobina, 122, 188, 407
Miosina, 188
Miraculina, 534
Monelina, 205, 534
Mono y diacilglicéridos, 232
Monosacáridos, 32
Músculo, 552

N

Naftoquinona, 352
Nanotecnología, 448,
Natamicina, 522
Neoquestosa, 61
Neotame, 534
Neutralización, 244
Newtoniano, fluido, 559
Niacina, 362
Nicotinamida, 362
Nisina, 522
Nitritos y nitratos, 521
Nitrosaminas, 521, 598
Nitrosomioglobina, 521
Nivalenol, 581
Nixtamalización, 202
N-Oil, 545
NPU, 182
Nucleotidos, 529
Nutracéuticos, 702
Nutrigenómica, 701

O

OGMs, 662
Oleaginosas, 641
Oligosacáridos, 55
Organismos genéticamente modificados, 662
Ornitinoalanina, 601
Oscurecimiento, 45, 322
Osladina, 45
Ovoalbúmina, 185
Ovoinhibidor, 185
Ovomucina, 185
Ovomucoide, 185
Óxido de etileno, 523
Oxidorreductasas, 318, 341
Oximioglobina, 410
Oxitetraciclina, 522

P

Papaína, 313
Parabenos, 519
Paracelso, 605
Pasteurización, 630
PDCCEAS (Cuenta Química), 183
Peces GM, 676
Pectatoliasas, 307
Pectinas, 78, 306
Pectinasas, 306
Pelagra, 362
Pentosas, 33
Pepsina, 314
Péptidos bioactivos, 206
PER, 182
Peroxidasa, 319
Peróxido de benzoílo, 539
Pigmentos, 379
Pimaricina, 522
Pirazinas, 47
Piridoxal, 359
Piridoxamina, 359
Piridoxina, 359
Piridoxol, 359
Pirocarbonato de dietilo, 523
Pirólisis, 152
Polidextrosa, 81
Polifenoles, 704
Polifenoloxidasas, 46, 322
Poligalacturonasas, 306
Poliglicerol, 525
Polimorfismo, 234
Polioles y polialcoholes, 38, 527
Polipéptido, 95

Polisacaráridos, 64
Polisorbatos, 525
Polivinilpirrolidona, 544
Polvos para hornear, 537
Potenciadores del sabor, 529
Probióticos, 706
Prolaminas, 168
Propionatos, 519
Proteasas, 311
Proteínas, 95
  arroz, 204
  carne, 188
  cereales, 197
  edulcorantes, 205
  funcionalidad, 163
  hidratación, 166
  huevo, 185
  lácteas, 193
  maíz, 201
  nutrición, 181
  pescado, 192
  solubilidad, 167
  soya, 205, 643
  suero de leche, 621
  unicelular, 208
Proteólisis, 151
Protoantocianidinas, 398
Provitaminas, 342
Prueba del frío, 239
Pseudoplástico, fluido, 559
Puentes de hidrógeno, 7
Pululanasa, 302
Pungencia, 440

Q

Quelantes, 533
Quesos, 633
Quimosina, 314
Quinonas, 414
Quitina, 88

R

Racemización, 153, 601
Radicales libres, 260, 702
Rafinosa, 60, 653
Rancidez, 259
Rancimat, 269
Reacción de Maillard, 48
Reguladores del pH, 530
Relación de la Eficiencia de la Proteína, 182
Relación Neta de la Proteína, 182
Renina, 314, 633
Reología, 558
Retinal, 348
Retinol, 348
Retrogradación, 74
Riboflavina, 356
Rodopsina, 349
Rojo 40, 541
RPV, 182

S

Sabor, 444
Saborizantes, 546
Sacarina, 534
Sacarosa, 56
Salatrim, 546
Saponinas, 43, 576
Saxitoxina, 591
Secuestradores, 533
Selenoaminoácidos, 586
Serino-proteasas, 312
Serotonina, 602
Shortening, 255
Simplesse, 545
Sinalbina, 40
Sinéresis, 561
Sinigrina, 40
Sitosterol, 238
Sodio, 374
Solanina, 589
Soles, 557
Sorbatos, 518
Sorbitol, 39, 528
Soya, 641
Span, 526
Strecker, reacción, 49
Sucralosa, 534
Suero de la leche, 635
Sulfitos, 520
Surimi, 192
Sustancias para masticar, 544
Sustitutos de grasas, 545

T

Taninos, 403, 705
Tartracina, 541
Taumatinas, 205, 534
Teobromina, 583
Teofilina, 583
Terpenos, 452
Tetradoxina, 592
Tiamina, 354
Tioglucósidos, 40
Tiol-proteasas, 312
Tiramina, 602
Transgénicos, alimentos, 662
Transglutaminasa, 316
Triacilglicéridos, 232
Tricotecenos, 582
Triglicéridos, 232
Trigo, 198
Tween, 526

U

UHT, 630
Ultrapasteurización, 630
Umami, 439
Uperización, 631
Uretano, 595

V

Valores N, 240
Verbascosa, 60
Vitámeros, 346
Vitaminas, 341
  A, 348
  B_1, 354
  B_6, 359
  B_{12}, 359
  C, 46, 364
  D, 349
  E, 351
  K, 352

X

Xantofilas, 384
Xantonas, 414
Xilitol, 39, 527
Xilosa, 33

Y

Yema, 185
Yodo, 375
Yogur, 636

Z

Z, valor, 368



Química de los Alimentos 5ª edición

La ciencia de los alimentos es un área multidisciplinaria, integrada por la química, la biología, la microbiología y la ingeniería. En los últimos años el área ha cobrado gran relevancia.

Esta nueva edición mantiene la estructura de la anterior, pero, debido a que desde entonces se ha generado mucha información científica y tecnológica sobre la química de los alimentos, hemos revisado y actualizado minuciosamente el contenido de cada uno de los componentes de los alimentos, así como el de los aditivos, el estado de dispersión y los tóxicos. Por su parte, la ingeniería genética sigue su avance espectacular, razón por la cual se enriqueció la sección sobre alimentos transgénicos. Finalmente, y debido a la gran relevancia que ha adquirido, se incluye un capítulo nuevo sobre fitoquímicos y nutracéuticos.

En esencia, el estudio de los alimentos y sus cambios a lo largo de toda la cadena alimentaria requiere de importantes conocimientos sobre química, los cuales se presentan en este libro de una manera clara y directa. Desde estudiantes hasta ingenieros, químicos, bioquímicos, chefs y, en general, toda persona relacionada con este tema encontrará en este texto un interesante y actualizado material de apoyo.





ISBN 978-607-32-1508-4



Visítenos en:
www.pearsonenespañol.com