



# ANTOLOGIA

# Química de los Alimentos

Licenciatura en Nutrición

Segundo cuatrimestre

---

## Marco Estratégico de Referencia

---

### ANTECEDENTES HISTORICOS

Nuestra Universidad tiene sus antecedentes de formación en el año de 1979 con el inicio de actividades de la normal de educadoras “Edgar Robledo Santiago”, que en su momento marcó un nuevo rumbo para la educación de Comitán y del estado de Chiapas. Nuestra escuela fue fundada por el Profesor de Primaria Manuel Albores Salazar con la idea de traer Educación a Comitán, ya que esto representaba una forma de apoyar a muchas familias de la región para que siguieran estudiando.

En el año 1984 inicia actividades el CBTiS Moctezuma Ilhuicamina, que fue el primer bachillerato tecnológico particular del estado de Chiapas, manteniendo con esto la visión en grande de traer Educación a nuestro municipio, esta institución fue creada para que la gente que trabajaba por la mañana tuviera la opción de estudiar por las tarde.

La Maestra Martha Ruth Alcázar Mellanes es la madre de los tres integrantes de la familia Albores Alcázar que se fueron integrando poco a poco a la escuela formada por su padre, el Profesor Manuel Albores Salazar; Víctor Manuel Albores Alcázar en septiembre de 1996 como chofer de transporte escolar, Karla Fabiola Albores Alcázar se integró como Profesora en 1998, Martha Patricia Albores Alcázar en el departamento de finanzas en 1999.

En el año 2002, Víctor Manuel Albores Alcázar formó el Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. para darle un nuevo rumbo y sentido empresarial al negocio familiar y en el año 2004 funda la Universidad Del Sureste.

La formación de nuestra Universidad se da principalmente porque en Comitán y en toda la región no existía una verdadera oferta Educativa, por lo que se veía urgente la creación de una institución de Educación superior, pero que estuviera a la altura de las exigencias de los jóvenes que tenían intención de seguir estudiando o de los profesionistas para seguir preparándose a través de estudios de posgrado.

Nuestra Universidad inició sus actividades el 18 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en Puericultura, contando con dos grupos de cuarenta

alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a nuestras propias instalaciones en la carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el Corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y Educativos de los diferentes Campus, Sedes y Centros de Enlace Educativo, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca a nivel nacional e internacional.

Nuestra Universidad inició sus actividades el 18 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en Puericultura, contando con dos grupos de cuarenta alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a nuestras propias instalaciones en la carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y educativos de los diferentes campus, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca.

## MISIÓN

Satisfacer la necesidad de Educación que promueva el espíritu emprendedor, aplicando altos estándares de calidad Académica, que propicien el desarrollo de nuestros alumnos, Profesores, colaboradores y la sociedad, a través de la incorporación de tecnologías en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

## VISIÓN

Ser la mejor oferta académica en cada región de influencia, y a través de nuestra Plataforma Virtual tener una cobertura Global, con un crecimiento sostenible y las ofertas académicas innovadoras con pertinencia para la sociedad.

## VALORES

- Disciplina
- Honestidad
- Equidad
- Libertad

## ESCUDO



El escudo de la UDS, está constituido por tres líneas curvas que nacen de izquierda a derecha formando los escalones al éxito. En la parte superior está situado un cuadro motivo de la abstracción de la forma de un libro abierto.

## ESLOGAN

“Mi Universidad”

## ALBORES



Es nuestra mascota, un Jaguar. Su piel es negra y se distingue por ser líder, trabaja en equipo y obtiene lo que desea. El ímpetu, extremo valor y fortaleza son los rasgos que distinguen.

---

## Química de los alimentos

---

### **Objetivo de la materia:**

Que el alumno de nutrición al final del curso obtenga la habilidad para predecir la conducta de los componentes químicos en un alimento durante la cadena productiva. Y pueda aplicar los conocimientos adquiridos en la planificación de dietas, elaboración de nuevos productos saludables que contribuyan a la práctica y experiencia académica del estudiante.

**Las lecturas que se presentan en éste compilado son una digitalización de las fuentes originales y se reproducen solo con propósitos educativos sin fines de lucro.**

# INDICE

## UNIDAD I

Introducción a la Química de los Alimentos .....	10
<b>I. AGUA</b> .....	10
I.1. Contenido de agua y su importancia en los alimentos .....	10
I.2. Termodinámica de agua en alimentos .....	15
I.3. Efecto de la actividad de agua sobre las características y estabilidad de los alimentos .....	17
I.4. Carbohidratos .....	18
I.5. Propiedades químicas de los carbohidratos .....	20
I.6. Obtención de carbohidratos puros a partir de alimentos .....	25
I.7. Propiedades funcionales de carbohidratos .....	26
I.8. Cambios funcionales de los carbohidratos .....	27
I.9. Reacciones de Maillard .....	29
Actividades y lecturas .....	33

## UNIDAD II

### PROTEINAS Y LIPIDOS

2.1. Propiedades funcionales de las proteínas.	34
2.2. Desnaturalización de proteínas.	44
2.3. Obtención de proteínas puras a partir de alimentos.	46
2.4. Purificación de proteínas de importancia económica: Globulinas, gluten, amarantina.	54
2.5. Propiedades funcionales de los lípidos.	58
2.6. Modificaciones y métodos de control de lípidos.	66
Actividades y lecturas	69

## **UNIDAD III**

### **ENZIMAS**

3.1. Enzimas en la industria de alimentos.	72
3.2. Clasificación de enzimas y sus aplicaciones.	81
3.3. Enzimas inmovilizadas.	88
3.4. Purificación de enzimas a partir de alimentos.	90
3.5. Enzimas como reporteros bioquímicos del procesamiento de alimentos.	92
3.6. Producción industrial de enzimas a partir de alimentos.	94
Actividades y lecturas	97

## **UNIDAD IV**

### **OTROS CONSTITUYENTES NATURALES**

4.1 Vitaminas.	98
4.2 Minerales.	115
4.3 Pigmentos.	119
4.4 Aditivos en la industria alimentaria.	120
4.5 Principales aditivos utilizados en la industria alimentaria.	122
4.6 Propiedades sensoriales en los alimentos.	125
Actividades y lecturas	126

## UNIDAD I

### Introducción a la química de los alimentos

#### ¿Qué es la química de los alimentos?

La química de los alimentos es la rama de la ciencia que estudia los componentes químicos de los alimentos y las reacciones químicas que ocurren durante la manipulación, procesamiento y almacenamiento de los mismos. Esta disciplina abarca la composición y propiedades de los alimentos, incluyendo macronutrientes (como proteínas, carbohidratos y grasas), micronutrientes (vitaminas y minerales), agua y otros componentes como pigmentos, aditivos y contaminantes.

#### Áreas Clave de la Química de los Alimentos

##### Composición de los Alimentos:

- **Proteínas:** Estructura, función y cambios durante el procesamiento y la cocción.
- **Carbohidratos:** Tipos, digestibilidad y impacto en la textura y el sabor.
- **Grasas y Lípidos:** Estructura, propiedades físicas y estabilidad.

##### Reacciones Químicas en Alimentos:

- **Reacciones de Maillard:** Interacciones entre azúcares y aminoácidos que producen color y sabor en alimentos cocidos.
- **Caramelización:** Descomposición térmica de los azúcares que resulta en sabores y colores característicos.
- **Oxidación de Lípidos:** Reacciones que pueden producir rancidez y deterioro en grasas y aceites.

##### Aditivos y Conservantes:

- **Aditivos Alimentarios:** Sustancias añadidas para mejorar la apariencia, sabor, textura o conservación de los alimentos.
- **Conservantes:** Químicos que previenen el deterioro causado por microorganismos.

### **Propiedades Funcionales de los Ingredientes:**

- **Emulsificantes:** Compuestos que permiten la mezcla de líquidos inmiscibles como el aceite y el agua.
- **Gelificantes y Espesantes:** Sustancias que afectan la textura y consistencia de los alimentos.

### **Análisis de Alimentos:**

- **Métodos Analíticos:** Técnicas para medir la composición química y la calidad de los alimentos, como cromatografía, espectroscopia y análisis sensorial.

### **Importancia de la Química de los Alimentos:**

- **Seguridad Alimentaria:** Garantiza que los alimentos sean seguros para el consumo humano.
- **Calidad y Sabor:** Mejora la calidad sensorial y nutricional de los alimentos.
- **Innovación:** Facilita el desarrollo de nuevos productos alimentarios y procesos de producción.
- **Sostenibilidad:** Contribuye a la eficiencia y sostenibilidad en la producción y procesamiento de alimentos.

Es importante además, entender las alteraciones y contaminaciones, cómo, porqué ocurren y cómo evítalas. De esta manera podemos proteger al consumidor de contaminantes. Además, la química de los alimentos es súper importante para entender los mejores métodos de preparación de los mismos, así como los diferentes cambios que sufren por las reacciones a las cuales se someten (reacción de Maillard, oxidación de lípidos, caramelización de azúcares, etc.).

### **Principales alimentos químicos de los alimentos**

Los alimentos poseen su composición básicamente compuesta por los elementos químicos: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno. Además de gran importancia elementos como Calcio (Ca), Cloro (Cl), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Hierro (Fe), Fósforo (P), Iodo (I), Magnesio (Mg), Potasio (K), Zinc (Zn).

La importancia de la química en los alimentos es entender cuáles son las transformaciones que ocurren en algunas situaciones como cuando estamos cocinando. Además, podemos determinar el valor de biodisponibilidad que impacta en el valor nutricional de cada alimento. Entender también ayuda con la protección de los consumidores, porque para determinar el tiempo de validez y la calidad del alimento es necesario realizar tests de análisis químicos.

## **Agua.**

### **I.1. Contenido de agua y su importancia en los alimentos.**

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

Tiene un gran número de funciones biológicas basadas en su capacidad física para transportar sustancias, disolver otras y mantenerlas tanto en solución como en suspensión coloidal y también en su reactividad química, al intervenir en la fotosíntesis y en muchas reacciones enzimáticas de hidrólisis; es decir, participa activamente en la síntesis de hidratos de carbono a partir de  $\text{CO}_2$ , fundamental en la vida de este planeta, y en la conversión de diversos materiales complejos (polisacáridos, proteínas, grasas, etcétera) a formas más sencillas y asimilables para las plantas y los animales.

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

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

Para el tecnólogo es muy importante conocer su comportamiento en los tres estados físicos, líquido, hielo y vapor; desde el punto de vista de la ingeniería, sus propiedades fisicoquímicas (calor de vaporización, calor específico, etcétera) influyen en el diseño de los procesos para manejar y transformar los alimentos; su influencia es decisiva para obtener deshidratados con buena aceptación; en la rehidratación y el congelamiento es preciso comprender la manera como se comporta, tanto en su forma líquida como en el hielo, para evitar posibles daños.

Para conservar los alimentos es necesario determinar su influencia en el crecimiento microbiano y en las distintas reacciones físicas, químicas y enzimáticas negativas que se estudian en otros capítulos de este texto; por mucho, el enemigo a vencer son los diversos microorganismos, hongos, levaduras y bacterias, los cuales son controlados si se les restringe el agua disponible (actividad del agua) para evitar su crecimiento, con procesos como concentración, deshidratación, congelamiento, liofilización, salado y azucarado, estos dos últimos por aumento de la presión osmótica.

### **Fuentes de aguas para el ser humano.**

Entre el 60 y 70% del cuerpo humano es agua, aun cuando hay ciertos tejidos como huesos, cabellos y dientes que la contienen escasamente.

Es un disolvente líquido inerte, de pH neutro, que sirve de transporte en la sangre y la linfa, y que regula la temperatura corporal; el organismo la pierde continuamente por el sudor,

la orina, la respiración y las heces, y requiere un mínimo aproximado de 2,500 mL diarios (depende de la edad, sexo, actividad física, etcétera) para llevar a cabo adecuadamente innumerables reacciones propias de las distintas funciones biológicas; **el cuadro 1.1** muestra un balance aproximado del agua consumida y eliminada por un hombre durante un día. La fuente más importante es la ingesta de líquidos, pero también se adquiere de diferentes alimentos, como los vegetales abundantes en agua, la leche, que tiene un 87%, de los huevos con un 74% y del pan, que con aproximadamente 40% es uno de los alimentos más comunes y con menor cantidad de ella.

<b>Cuadro 1.1. Balance de agua en el ser humano</b>			
<i>Agua ingerida (ml/día)</i>	<i>Fuente</i>	<i>Agua perdida (ml/día)</i>	<i>Medio</i>
850	Alimentos	1,400	Orina
1,300	Bebidas	400	Pulmones
350	Oxidación de nutrientes	500	Piel
		200	Heces
2,500*		2,500	

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<sub>2</sub>O, que equivalen a 0.6 g por gramo de monosacárido:  $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ .

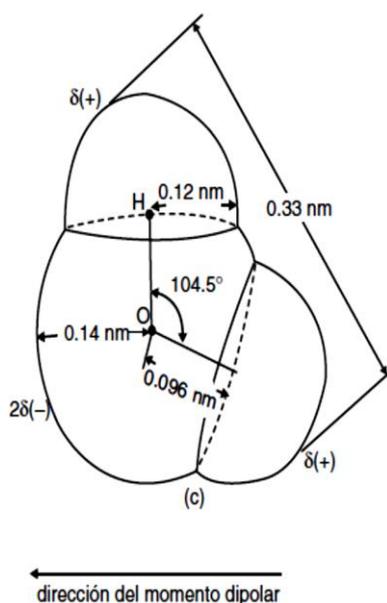
Además de los hidratos de carbono, también se obtienen 1.1 g y 0.4 g de agua por gramo de lípido y de proteína, respectivamente; una dieta cuya oxidación de glucosa y lípidos produzca 2,000 kcal por día, generará 300 mL de agua, aproximadamente.

### **Propiedades del agua.**

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

A su vez, este elemento tiene un par de electrones libres considerados como dos fuerzas separadas, que, junto con los dos enlaces covalentes, establece una molécula con una forma imaginaria de tetraedro.

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



**Figura 1.1** Representación esquemática de la molécula de agua: (a) y (b) estructura tetraédrica imaginaria formada por las órbitas  $sp^3$  del oxígeno, y (c) dimensiones de la molécula de agua.<sup>11</sup>

El momento dipolar que se establece, se observa como una orientación de la molécula en un campo eléctrico con la parte negativa hacia el ánodo y la positiva hacia el cátodo. El puente de hidrógeno no es un enlace químico propiamente, sino una atracción electrostática que se produce cuando dos átomos negativos de compuestos polares se unen mediante uno de hidrógeno, de tal manera que solamente participa los elementos más electronegativos, como nitrógeno, flúor y oxígeno.

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 1011 segundos; sin embargo, como todas las moléculas de agua tienen la capacidad de establecerla en un determinado momento, en conjunto representan una gran fuerza. Tanto el número de estas uniones como la longitud del puente de hidrógeno entre moléculas vecinas, 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.

### **Estados físicos del agua.**

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

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

Por otra parte, el hielo es una estructura más ordenada y simétrica de moléculas de agua unidas íntegramente por medio de puentes de hidrógeno, que trae consigo una reducción de la entropía del sistema líquido; cada molécula de agua interacciona con otras cuatro y establece enlaces de una distancia oxígeno-oxígeno de 2.76 Å y un ángulo de unión de 109°, muy cercano al del ángulo del tetraedro perfecto de 109°20', lo que evita tensiones en la estructura. Los oxígenos interaccionan de tal manera que generan planos paralelos de agua.

## 1.2 .Termodinámica de agua en alimentos.

La termodinámica del agua en los alimentos se refiere al estudio de cómo las propiedades y el comportamiento del agua afectan los procesos de transformación y almacenamiento de los alimentos. El agua es un componente crucial en la mayoría de los alimentos, y su comportamiento termodinámico influye directamente en la textura, el sabor, la estabilidad y la calidad de los productos alimenticios.

### 1. Cambios de Estado del Agua

**Fusión y Congelación:** La transición del agua de estado líquido a sólido (hielo) y viceversa. Este proceso es crucial en la congelación de alimentos, ya que afecta la textura y la preservación. Ejemplo:  $\text{H}_2\text{O (l)} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O (s)}$

**Evaporación y Condensación:** La conversión de agua líquida en vapor y vapor en líquido. Este fenómeno es fundamental en procesos como el secado y la cocción de alimentos. Ejemplo:  $\text{H}_2\text{O (l)} \rightarrow \text{H}_2\text{O (g)}$

### 2. Capacidad Calorífica y Transferencia de Calor

**Calor Específico:** El agua tiene un calor específico alto, lo que significa que puede absorber o liberar grandes cantidades de calor sin cambiar mucho su temperatura. Esto es importante en la cocción de alimentos, donde el agua actúa como un regulador térmico.

### 3. Actividad del Agua ( $a_a$ )

**Definición:** La actividad del agua es una medida de la disponibilidad de agua libre en los alimentos para participar en reacciones químicas y microbianas. Se expresa como un valor entre 0 y 1.

**Importancia:** La actividad del agua influye en la estabilidad y vida útil de los alimentos. Valores altos de  $a_a$  favorecen el crecimiento microbiano y las reacciones químicas no deseadas, mientras que valores bajos ayudan a preservar los alimentos.

### 4. Humedad y Contenido de Agua

**Humedad:** Se refiere a la cantidad total de agua en los alimentos, que puede estar en forma libre o ligada.

**Contenido de Agua:** Afecta la textura, sabor y apariencia de los alimentos. Por ejemplo, la jugosidad de las frutas y verduras depende de su contenido de agua.

## 5. Procesos de Conservación

**Deshidratación:** Proceso de eliminación de agua para aumentar la vida útil y reducir el peso de los alimentos, como en la fabricación de frutas secas.

**Liofilización:** Técnica de deshidratación que implica la congelación del alimento y la eliminación del agua mediante sublimación.

## 6. Procesos Térmicos en los Alimentos

**Cocción:** Durante la cocción, el agua en los alimentos se calienta, contribuyendo a la gelatinización de almidones, la coagulación de proteínas y la ablandamiento de fibras.

**Pasteurización y Esterilización:** Utilizan calor para eliminar microorganismos patógenos, donde el agua juega un papel en la transferencia de calor y la estabilidad del producto.

Es necesaria para el movimiento, la transformación de los alimentos, el aprovechamiento de los nutrientes, la eliminación de los productos de desecho y la construcción y mantenimiento de la estructura y función celular. Según los principios de la física, la combustión es más incompleta, mientras mayor cantidad de desechos produce. La combustión incompleta genera entropía positiva, es decir, desorden.

En el hombre, el caos corresponde a enfermedad. Nuestro organismo utiliza los alimentos como combustible, los cuales han sido clasificados en proteínas, lípidos y carbohidratos. Las proteínas y las grasas son las que mayor cantidad de residuos producen, algunas de difícil manejo como las xantinas y cetonas, y otras tóxicas como la urea, creatinina y ácido úrico, sustancias que se relacionan, directa o indirectamente, con la aparición de enfermedades, tales como: hipertensión, gota, litiasis, ateromatosis, insuficiencia renal, enfermedades cardiovasculares, y otras. No obstante, hay que reconocer la función constructora de las proteínas. Los carbohidratos, en cambio, son los que menor cantidad de residuos generan, los cuales se liberan fácilmente en forma de  $\text{CO}_2$  + agua. Algunas sustancias, como las fibras, desempeñan funciones depuradoras, que facilitan la eliminación de desechos.

Se las encuentra en los cereales integrales, cáscara de leguminosas, corteza de frutas y legumbres. El proceso de refinación de harinas, sal, azúcar y aceites, así como la excesiva cocción, desmineralizan, y desnaturalizan las proteínas, restando energía al alimento. , los edulcorantes, colorantes químicos y aditivos necesarios para la preservación de los alimentos enlatados, embutidos o envasados, y bebidas artificiales, constituyen un combustible pobre para la producción de energía, debido a la gran cantidad de toxina.

El término contenido de agua de un alimento se refiere, en general, a toda el agua de manera global. Sin embargo, en los tejidos animal y vegetal, el agua no está uniformemente distribuida por muchas razones, por ejemplo, debido a los complejos hidratados que se producen con proteínas, a los hidratos de carbono y otros, a las diversas estructuras internas propias de cada tejido, a los micro capilares que se forman, a su incompatibilidad con los lípidos que no permiten su presencia, etcétera; el citoplasma de las células presenta un alto porcentaje de polipéptidos capaces de retener más agua que los organelos que carecen de macromoléculas hidrófilas semejantes. Esta situación de heterogeneidad de la distribución del agua también se presenta en productos procesados debido a que sus componentes se encuentran en distintas formas de dispersión. Por estas razones, en los alimentos existen diferentes estados energéticos en los que se encuentra el agua; es decir, no toda el agua de un producto tiene las mismas propiedades fisicoquímicas, y esto se puede comprobar fácilmente por las diversas temperaturas de congelamiento que se observan; en general, un alimento se congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ , pero aun en estas condiciones una fracción del agua permanece líquida y requiere de temperaturas más bajas, por ejemplo  $-40^{\circ}\text{C}$ , para que solidifique completamente.

El agua no congelada aumenta a 12%, ya que contiene una mayor cantidad de sólidos totales (26%), y en solución (74.5%). Este tipo de consideraciones ha llevado a que se empleen términos como agua ligada y agua libre, para hacer referencia a la forma y al estado energético que dicho líquido guarda en un alimento. Aunque en realidad no hay una definición precisa para cada una de estas fracciones, se considera que el agua ligada es aquella porción que no congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por lo que también se le llama agua no congelable; su determinación se puede efectuar mediante el análisis térmico-diferencial, por resonancia

magnética nuclear, etcétera. Por otra parte, el agua libre, también llamada agua congelable y agua capilar, es la que se volatiliza fácilmente, se pierde en el calentamiento, se congela primero y es la principal responsable de la actividad del agua.

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

### **1.3. Efecto de la actividad de agua sobre las características y estabilidad de los alimentos.**

Los diversos métodos de conservación se basan en el control de una o más de las variables que influyen en la estabilidad, es decir, actividad del agua, temperatura, pH, disponibilidad de nutrimentos y de reactivos, potencial de óxido-reducción, presión 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 general, mientras más alta sea la *aa* y más se acerque a 1.0, que es la del agua pura, mayor será su inestabilidad, por ejemplo, en carnes, frutas y vegetales frescos que requieren refrigeración por esta causa. Por el contrario, los alimentos estables a temperatura ambiente (excepto los tratados térmicamente y comercialmente estériles, como los enlatados), son bajos en *aa*, como sucede con los de humedad intermedia en los que el crecimiento microbiano es retardado. Como ya se indicó, en forma resumida y sólo con fines didácticos.

El contenido de agua por sí solo no proporciona información sobre la estabilidad de un alimento y, por eso, productos con la misma humedad, presentan distintas vidas de anaquel; dicha estabilidad se predice mejor con la *aa*. La influencia de este parámetro se ha demostrado en un gran número de trabajos de investigación: pérdida de lisina disponible, oscurecimiento no enzimático, degradación de vitaminas, inactivación del inhibidor de

tripsina, destrucción de pigmentos, producción del aroma de productos cocidos, estabildades de pastas y harinas, y de las frutas, y en muchos otros productos y reacciones.

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 mono capa, 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. La aa influye en el oscurecimiento no enzimático, aun cuando cada azúcar tiene un distinto poder reductor que afecta la velocidad de la reacción.

En general, la energía de activación y la temperatura requeridas se reducen a medida que aumenta la actividad del agua; la velocidad se acelera de 3 a 6, cuando la 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 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 aa-temperatura, en el secado es recomendable reducir la temperatura del aire al final del proceso para prevenir el oscurecimiento.

#### **1.4. Carbohidratos.**

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

Los CHO son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, y también los más consumidos por los seres humanos (en muchos países constituyen entre 50 y 80% de la dieta poblacional).

Los hidratos de carbono que provienen del reino vegetal son más variados y abundantes que los del reino animal; se originan como producto de la fotosíntesis y son los principales compuestos químicos que almacenan la energía radiante del Sol. De hecho, la glucosa que se sintetiza en las plantas representa la materia prima fundamental para la fabricación de casi todos los carbohidratos: el bióxido de carbono reacciona con agua para formar glucosa, con el consecuente desprendimiento de oxígeno:  $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ . Por su parte, la glucosa da origen a muchos otros azúcares, como la sacarosa y la fructosa, o bien a polímeros como la celulosa y el almidón.

Los organismos obtienen energía a través del metabolismo bioquímico de los CHO (glucólisis y ciclo de Krebs). Casi todos los compuestos orgánicos que se encuentran en las plantas y en los animales son derivados de hidratos de carbono; la misma síntesis de proteínas se lleva a cabo con los aminoácidos provenientes de la reacción entre hidratos de carbono y diversas sustancias nitrogenadas.

En general, los azúcares simples no se encuentran libres en la naturaleza, sino en forma de polisacáridos, como reserva energética (almidones), o como parte de la estructura firme del producto (fibra dietética, celulosa, pectinas, gomas y hemicelulosa), en cuyo caso no son digeribles, ya que el organismo humano no puede metabolizarlos; sin embargo, la fibra dietética absorbe agua en el intestino y ayuda a la formación y eliminación de heces. Existe un gran número de hidratos de carbono; los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, la fructosa, el almidón y la celulosa, pero también hay otros que, aunque se encuentran en menor concentración en los productos que consumimos diariamente, tienen mucha importancia por sus propiedades físicas, químicas y nutrimentales. Si bien en la antigüedad gran parte de estos carbohidratos se consideraba un desperdicio, en la actualidad se les utiliza para elaborar un sinnúmero de alimentos (fibras y gomas).

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

en el metabolismo de las células; su oxidación completa a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , por medio de la glucólisis y el ciclo de Krebs, genera ATP, unidad básica de transferencia de energía en los sistemas biológicos. La reserva de estos compuestos en los animales y en las plantas son, respectivamente, el glucógeno y el almidón, polímeros de glucosa cuya combustión genera 4 kcal/g (17kJ/g); la porción de fibra dietética presente en los vegetales no produce energía.

### 1.5. Propiedades químicas de los carbohidratos.

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

Existen diversas clasificaciones de los carbohidratos, cada una de las cuales se basa en un criterio distinto: estructura química, ubicación del grupo  $\text{C}=\text{O}$  (en aldosas o cetosas), número de átomos de carbono en la cadena (triosa, tetrosa, pentosa, hexosa), abundancia en la naturaleza, uso en alimentos, poder edulcorante, etc. Por lo general se prefiere el criterio de la estructura química, que hace referencia al tamaño de la molécula o al número de átomos de carbono que ésta contiene, así como a la cantidad de unidades de azúcar que lo conforman. De acuerdo con este principio, los hidratos de carbono pueden ser monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Cuadro 2.1. Clasificación de los hidratos de carbono más importante en los alimentos

<i>a) Monosacáridos (1 unidad de azúcar)</i>	<i>b) Oligosacáridos (de 2 a 10 unidades de azúcar)</i>	<i>c) Polisacáridos (más de 10 unidades de azúcar)</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pentosas: xilosa, arabinosa, ribosa, etc.</li> <li>• Hexosas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>□ Aldohexosas: glucosa, galactosa, manosa, etc.</li> <li>□ Cetohehexosas: fructosa, sorbosa, etc.</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disacáridos: lactosa, sacarosa, maltosa, etc.</li> <li>• Trisacáridos: rafinosa, etc.</li> <li>• Tetra y pentasacáridos: estaquiosa, verbascosa, etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Homopolisacáridos: almidón, glucógeno, celulosa, etc.</li> <li>• Heteropolisacáridos: hemicelulosa, pectinas, etc.</li> </ul>

## Los monosacáridos

Son aquellos que no pueden ser desdoblados por hidrólisis. Su cadena puede constar de 3, 4, 5, 6, etc., átomos de carbono y se denominan, respectivamente, triosas, tetrosas, pentosas, hexosas, etc.

Los monosacáridos con función aldehído se llaman aldosas y los que tienen función cetona se llaman cetosas.

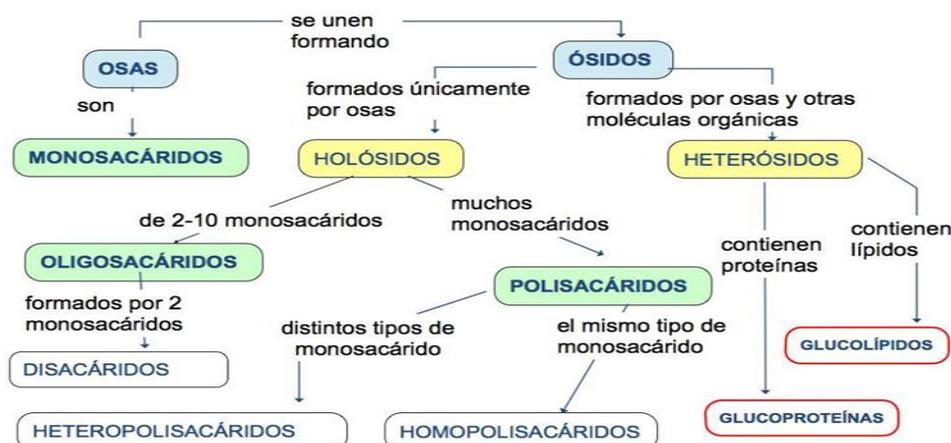
**Pentosas (5 C)** Desde el punto de vista de la nutrición, no se pueden considerar como una fuente de energía para el organismo humano, aunque sus derivados se encuentran en pequeña cantidad en todas las células animales y vegetales.

- D-xilosa. Forma parte de las estructuras de los vegetales.
- L-arabinosa. Se encuentra en frutas y raíces.
- D-ribosa. La hallamos en los ácidos nucleicos y en los nucleótidos del citoplasma.
- Desoxirribosa. En los ácidos nucleicos de los núcleos celulares.

## Hexosas (6 C)

- **Glucosa o dextrosa o azúcar de uva.** Es una aldohexosa presente en el reino vegetal y en la sangre de los animales en una proporción de 1 g/L aproximadamente. Tanto en los alimentos que la contienen como en el cuerpo humano, la glucosa se encuentra en general en forma dextrógira (D-glucosa). Tiene un sabor dulce y es soluble en el agua. En general, todas las células del organismo pueden utilizarla. Las células cerebrales, medulares y renales, así como los glóbulos rojos en condiciones normales sólo pueden utilizar glucosa.

## Clasificación de los glúcidos



**Figura 2.1. Clasificación esquemática de los principales glúcidos**

La absorción de la glucosa es muy rápida. Las células cerebrales pueden llegar a utilizar cuerpos cetónicos, pero solamente después de un ayuno glucídico de varios días.

- **Galactosa.** Es una aldohexosa, y junto con la glucosa forma la lactosa. Se transporta por la sangre y se encuentra en los cerebrósidos, en los lípidos compuestos del cerebro, así como en los vegetales en forma de galactana. La galactosa es soluble en el agua y tiene un sabor azucarado bastante agradable.
- **Fructosa o levulosa.** Es una cetohehexosa. Se encuentra en las frutas y en la miel. Asociada con la glucosa forma la sacarosa. Tiene un sabor azucarado y su velocidad de absorción es mucho más lenta que la glucosa (aproximadamente un 40% de la velocidad de absorción de la glucosa). Los polisacáridos son el resultado de la unión de dos a diez moléculas de monosacáridos o de sus derivados, mediante un enlace glucosídico. En cada unión de dos monosacáridos hay pérdida de una molécula de agua.

### **Disacáridos Están formados por la unión de dos moléculas de monosacáridos.**

- **Sacarosa.** Es un disacárido muy abundante en la naturaleza, producto de la unión de una molécula de glucosa y una de fructosa. Es el azúcar común obtenido de la remolacha y de la caña de azúcar.

- **Lactosa.** Es el azúcar de la leche de los mamíferos. Tiene un sabor dulce moderado y es el menos soluble en el agua de todos los azúcares comunes. La lactosa está formada por una molécula de glucosa y una de galactosa, que se desdoblan en el intestino gracias a la acción de una enzima llamada lactasa. La producción de esta enzima es variable, de forma que un individuo que no consume habitualmente lactosa es incapaz de hidrolizarla por falta de lactasa. Este fenómeno podría explicar algunas de las intolerancias a la leche.
- **Maltosa.** Está formada por dos moléculas de glucosa. Es muy soluble en el agua. La maltosa es consecuencia de la hidrólisis enzimática del almidón. En estado libre la encontramos en algunos vegetales, como la cebada.

## Los polisacáridos

Resultan de la unión de diversos monosacáridos o de sus derivados. Sus moléculas contienen entre diez y varios miles de monosacáridos. Los más importantes para la vida humana son el almidón, el glucógeno y la celulosa.

El almidón o fécula es la gran reserva glucídica de los vegetales, como cereales, tubérculos y legumbres. Es un polvo blanco que forma unos granos minúsculos insolubles en el agua fría. El grano de almidón suele contener dos polisacáridos derivados de la glucosa: la amilosa y la amilopectina, que es el más importante. El arroz apenas contiene amilosa. El almidón forma un engrudo en agua caliente. Para poder ser hidrolizado en el proceso digestivo que lo convertirá en glucosa, es necesario someterlo a cocción.

Glucógeno es la reserva glucídica del animal. Se almacena sobre todo en el hígado y en el músculo. El glucógeno hepático es necesario para mantener el organismo en normo glicemia, mientras que la función primordial del glucógeno muscular es la de proporcionar energía para la contracción de las fibras musculares.

Se define como «fibra alimentaria» a la suma de la lignina y los polisacáridos que no son hidrolizados por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano. Esta definición abarca tanto los componentes solubles en el agua como los insolubles en ella. En los alimentos sin

elaborar, las membranas celulares de los vegetales proporcionan prácticamente la totalidad de la «fibra alimentaria». En los alimentos elaborados puede haber otros polisacáridos que contribuyan al total de «fibra alimentaria».

- **Celulosa.** Es una sustancia de sostén de muchos vegetales. En el hombre, la celulosa no es atacable por los jugos digestivos, por lo que aumenta el volumen fecal.
- **Hemicelulosas.** Son estructuras no celulósicas compuestas de diversos elementos, como galactosa, manosa, xilosa, etc.
- **Pectinas.** No se digieren y forman gelatinas (manzana, zanahoria, etc.). En contacto con el oxígeno, tienen propiedades astringentes. Son heteropolisacáridos formados por galactosa, arabinosa y, en menor cantidad, por xilosa, glucosa y ramosa.
- **Gomas.** Su estructura no permite la digestión. Tienen la capacidad de formar geles que retienen gran cantidad de agua. Tienen aplicación en patología digestiva.
- **Mucílagos.** Son polisacáridos que forman las jaleas. Uno de los más interesantes es el agar de las algas, que los japoneses utilizan como alimento. Se usan en la industria cárnica y láctica, principalmente.
- **Inulina.** Es un polvo blanco soluble en el agua y presente en las raíces y tubérculos de algunas plantas, como la achicoria

### 1.6. Obtención de carbohidratos puros a partir de alimentos.

Prácticamente todos los alimentos vegetales, excepto los aceites, contienen glúcidos en mayor o menor proporción (Tabla 2.1). Los glúcidos son poco abundantes en los alimentos de origen animal, excepto en el caso de la leche, que contiene de 35 a 40 g de lactosa por litro.

Los vegetales, pues, son nuestra fuente principal de glúcidos:

- Sacarosa, en la remolacha y la caña de azúcar, en las verduras y en las frutas.
- Fructosa, en las frutas y en la miel.
- Almidón, en los cereales, en las legumbres y en las patatas.

**Tabla 2.1. Contenido en glúcidos de los alimentos (100 g)**

Azúcar .....	100
Arroz blanco crudo .....	78.3
Miel .....	76
Biscottes .....	73.6
Pasta alimenticia cruda .....	70.9
Dátil seco .....	69
Mermelada .....	68
Chocolate .....	68
Pan blanco de molde .....	52.3
Lenteja seca .....	50.4
Pan blanco de barra .....	47
Honiato .....	23
Plátano .....	21
Uva verde .....	16.1
Patata .....	15.2
Naranja .....	8.6
Melón .....	8
Zanahoria .....	6.6
Judía verde .....	3.6
Tomate maduro .....	3.5
Lechuga cruda .....	1.3

## 1.7. Propiedades funcionales de carbohidratos.

Son las propiedades que afectan el comportamiento y característica de un alimento, esto influye el pH, la temperatura, la fuerza iónica, y concentración según el tipo de hidrato de carbono.

### Cristalización

Los azúcares tienen la capacidad de presentar el fenómeno de polimorfismo, que consiste en que un mismo compuesto puede cristalizar en diversas formas. El ejemplo típico es la lactosa, que produce los isómeros  $\alpha$  y  $\beta$ , cuyos cristales tienen solubilidades y tamaños diferentes. En la elaboración de productos lácteos condensados la concentración del disacárido alcanza niveles muy cercanos a la saturación, lo que hace relativamente fácil su cristalización. Esto, en una determinada proporción, es bueno para lograr las propiedades sensoriales deseadas; no obstante, si la concentración es menor el producto tendrá un —cuerpoll débil, y si se excede conferirá una textura arenosa.

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

Además de ser soluble en agua y difícil de cristalizar, la fructosa ejerce un efecto inhibitorio sobre la cristalización de mono y oligosacáridos, por lo que los jarabes invertidos se emplean en confitería. La textura y el lustre o brillantez de los chocolates y los dulces se debe en gran medida a la relación de concentraciones de los azúcares amorfos y cristalinos.

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

### **1.8. Cambios funcionales de los carbohidratos.**

Durante la fabricación, el almacenamiento y otros procedimientos en que intervienen, muchos alimentos desarrollan una coloración que, en ciertos casos, mejora sus propiedades sensoriales, mientras que en otros las deteriora; la complejidad química de los alimentos hace que se propicien diversas transformaciones responsables de estos cambios.

En algunas situaciones los pigmentos naturales (vg. mioglobina, clorofila, antocianinas, etc.) se pierden, y en otras la oxidación de las grasas y la interacción de taninos con el hierro generan compuestos coloreados que no están presentes en el producto original.

Las modificaciones en el color de los alimentos son deseables en algunos casos e indeseables en otros; así, resulta necesario conocer a fondo las condiciones que provocan ambas reacciones para poder controlarlas. Sin embargo, existe otro grupo de mecanismos muy importantes, llamado de oscurecimiento, encafecimiento o empardeamiento, que sintetizan

compuestos de colores que van desde un ligero amarillo hasta el café oscuro; en términos generales y para agruparlos, dichos mecanismos se han clasificado como reacciones enzimáticas y no enzimáticas.

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

### **Caramelización**

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

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

Se ha dicho ya que la deshidratación genera furfural y sus derivados insaturados, que se polimerizan consigo mismos o con otras sustancias semejantes para formar las macromoléculas de pigmentos llamadas melanoidinas. Durante esta transformación también se sintetiza una serie de compuestos de bajo peso molecular y muy olorosos, como furanos, furanonas, lactonas, pironas, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y pirazinas, así como otros con dobles ligaduras conjugadas que igualmente absorben la energía radiante y, por lo tanto, producen colores. Por ejemplo, se conoce que la 2,5-dimetilpirazina y la trimetilpirazina se

generan por este mecanismo y contribuyen al aroma típico de las frituras de papas y cacahuates; de manera semejante, el maltol, el isomaltol y el etil-maltol, que se forman en la elaboración del pan, son parte fundamental del aroma de dicho producto.

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

De manera similar, cuando se le somete a temperaturas elevadas en un sistema modelo, la lactosa empieza por perder el agua de hidratación para después entrar en diversas rutas de ciclización, repolimerización, 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.

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

## 1. 9. Reacciones de Maillard.

Esta reacción, conocida también como reacción de oscurecimiento de Maillard, designa un grupo muy complejo de transformaciones que traen consigo la producción de múltiples compuestos. Entre ellos pueden citarse las melanoidinas coloreadas, que van desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro, y afectan también el sabor, el aroma y el valor nutritivo de los productos involucrados; además, dan lugar a la formación de compuestos mutagénicos o potencialmente carcinogénicos, como la acrilamida.

Para que tales reacciones se lleven a cabo se requiere un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre, proveniente de un aminoácido o de una proteína. Estas reacciones las observó por vez primera el químico francés Louis-Carnille Maillard, en 1913, pero no fue sino hasta 1953 cuando se propuso un mecanismo general, donde el compuesto de Amadori se consideraba importante.

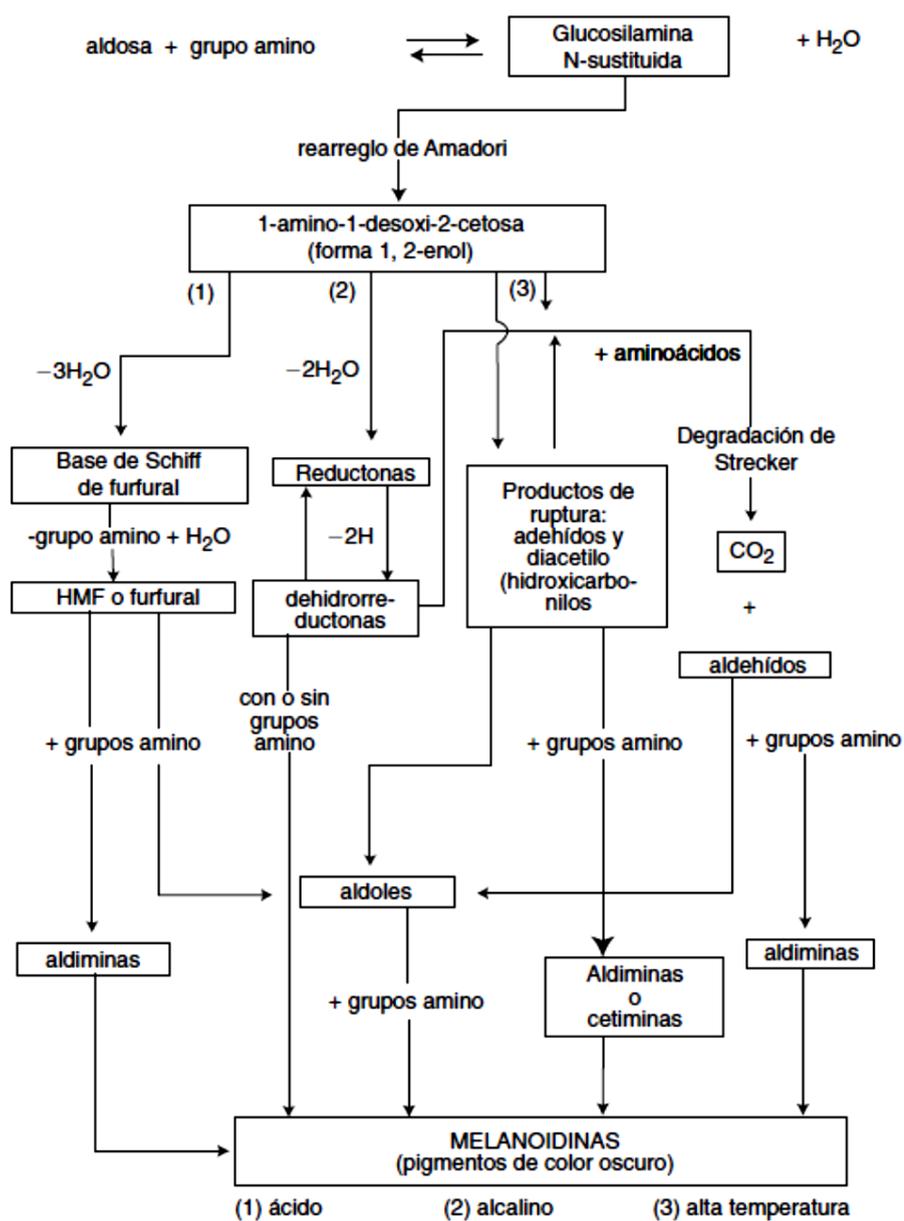
Otra característica de algunos compuestos generados por el oscurecimiento enzimático de Maillard es la habilidad antioxidante, principalmente de las melanoidinas, que actúan básicamente como quelantes y eliminadores de oxígeno radicales peróxidos e hidroxilos.

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

Aunque esta reacción se puede efectuar en diferentes condiciones, se ve influida sobre todo por los siguientes parámetros:

- a) A pH alcalino se incrementa la velocidad y alcanza un máximo a pH 10; sin embargo, hay que recordar que existen muy pocos alimentos que tengan  $\text{pH} > 7$  en forma natural (como el huevo). Por lo contrario, el mecanismo se inhibe en condiciones muy ácidas, que normalmente no se encuentran en los alimentos.
- b) Las temperaturas elevadas también la aceleran, pero debido a que su energía de activación es baja, se observa de igual manera hasta en condiciones de refrigeración.
- c) Otro factor importante es la actividad del agua, por lo que los alimentos de humedad intermedia son los más propensos. una actividad del agua menor no permite la movilidad de los reactantes, lo que inhibe el mecanismo. Una actividad del agua mayor produce el mismo efecto: por ser producto de la propia reacción, el agua ejerce una acción inhibitoria (de acuerdo con la ley de acción de masas), ya que diluye los reactantes.
- d) El tipo de aminoácido es decisivo, puesto que será más reactivo en la medida en que se incremente el tamaño de la cadena y tenga más de un grupo amino. Por esta razón, la lisina, con su amino en posición  $\epsilon$  es el más activo; también pueden intervenir otros aminoácidos, como la arginina, la histidina y el triptófano. Se sabe que en los sistemas modelo de glucosa-aminoácido, la velocidad se incrementa con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo.
- e) Los azúcares reductores que más favorecen la reacción de Maillard son, en primer término, las pentosas, y en segundo las hexosas; asimismo, las aldosas actúan más fácilmente que las cetosas, y los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos. De acuerdo con ello y en términos generales, la xilosa es el azúcar más activo, seguido de la galactosa, la glucosa, la fructosa, la lactosa y la maltosa; por su parte, la sacarosa, que carece de poder reductor, interviene sólo si se hidroliza previamente, lo cual es muy sencillo. Este ordenamiento no es estricto, ya que, en sistemas específicos, como el freído de papas, la fructosa es más activa que la glucosa, y en otros esta situación se invierte.

Los ácidos nucleicos también intervienen, porque contienen ribosa altamente reactiva. En los sistemas modelo de caseína se ha demostrado que esta transformación se lleva a cabo a diferentes velocidades, de acuerdo con el azúcar que se emplea.



**Figura 2.15** Reacciones de oscurecimiento de Maillard.<sup>65</sup>

Actividades:

El alumno realizará un ensayo de la unidad.

Lectura 1

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “El Agua. Naturaleza del Agua”. **Tecnología de alimentos de H. Charly** (ver bibliografía). Página 73 y siguientes.

Lectura 2

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Propiedades del agua”. **Química de los alimentos de Badui Dergal** (ver bibliografía). Página 3 y siguientes.

Lectura 3

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Distribución del agua en los alimentos”. **Química de los alimentos de Badui Dergal** (ver bibliografía). Página 11 y siguientes.

## UNIDAD 2

### Proteínas y lípidos

#### Proteínas

Las proteínas son macromoléculas esenciales formadas por largas cadenas de aminoácidos, que están unidos entre sí por enlaces peptídicos. Estas cadenas pueden plegarse en estructuras tridimensionales complejas que determinan su función.

#### Lípidos

Los lípidos son un grupo diverso de compuestos orgánicos insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos. Incluyen grasas, aceites, fosfolípidos y esteroides.

#### 2.1. Propiedades funcionales de las proteínas.

Las proteínas constituyen, junto con los ácidos nucleicos, las moléculas de información en los seres vivos. Éstas fluyen siguiendo los principios establecidos por Watson y Crick: se almacenan en unidades denominadas genes en el ácido desoxirribonucleico y se transcriben para formar diversos tipos de ácido ribonucleico, y los ribosomas traducen el mensaje formando proteínas.

El proceso se conserva en todos los sistemas vivos, por medio de un código genético universal de 64 codones, que indica la manera de traducir los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas. Las proteínas juegan un papel central en los sistemas biológicos. Los microorganismos tienen un número mínimo cercano a 3,000 clases de proteínas que abarcan todo tipo de funciones: estructura, transporte, motilidad, defensa, reconocimiento, almacenamiento y la función catalítica que llevan a cabo las enzimas.

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

proteínico-calórica (PEM, por sus siglas en inglés) era el principal problema nutricional en países en desarrollo; actualmente ha disminuido, aunque no se ha erradicado.

En ciertos segmentos económicos es fundamental contar con fuentes de proteínas baratas y accesibles; en otros segmentos los problemas relacionados con la nutrición son ahora diferentes y están vinculados con enfermedades degenerativas, cáncer y obesidad, ya que existe una mayor conciencia de la importancia de mantener la salud y en la prevención de enfermedades: por ejemplo, existe documentación sobre el papel de la nutrición en la respuesta inmune, en procesos inflamatorios, en el desempeño cognitivo y desarrollo neuronal, entre otros fenómenos biológicos.

Las proteínas juegan un papel fundamental, siempre y cuando se consuman en los niveles apropiados y se combinen de manera adecuada con otros elementos de la dieta. Actualmente el reto no es sólo la disponibilidad de proteínas, sino la calidad requerida. Las herramientas modernas de análisis de proteínas están basadas en la genómica y proteómica; es decir, en el estudio del grupo de genes que forman un organismo y de su funcionalidad.

No todos los genes se expresan en todas las células: los que tienen funciones esenciales sí se expresan en todas las células; y los que las tienen altamente especializadas, sólo en tipos de células específicas. Por lo tanto, cada organismo cuenta con un genoma que da lugar a muchos proteomas.

Sin duda, su estudio sistemático y organizado permitirá explotar mejor las fuentes tradicionales y diseñar proteínas para mercados específicos. Existe la posibilidad de formar un gran número de proteínas a partir de las 20 unidades básicas denominadas aminoácidos. Las diversas combinaciones de secuencia de aminoácidos, longitud de cadena y organización estructural permiten una gran variedad de estructuras y, por tanto, de funciones, que dependerán de sus propiedades fisicoquímicas, como: carga, hidrofobicidad, estado de agregación, etcétera. Para fines prácticos es posible definir a las proteínas alimentarias como las proteínas que son fácilmente digeribles, no tóxicas, nutricionalmente adecuadas, útiles en los alimentos y disponibles en abundancia.

Para la nutrición de los niños, se considera que la carne, la leche y el huevo son indispensables en su dieta, pero en otros países, en especial los asiáticos, se consumen proteínas de fuentes anteriormente consideradas como —no convencionales, proteínas de soya y otras leguminosas importantes por su balance de aminoácidos indispensables.

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

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

La funcionalidad de una sustancia se define como toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización.<sup>100, 48</sup> Este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como ingredientes en alimentos, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas.

Las características sensoriales resultan de más importancia para el consumidor que el valor nutricional, el que frecuentemente se altera para lograr buenas cualidades organolépticas, como textura, sabor, color y apariencia, las que a su vez son el resultado de interacciones complejas entre los ingredientes. Como ejemplo se puede señalar el caso de los productos de panadería, donde la viscosidad y la capacidad de formar pastas se relacionan justamente

con las propiedades de las proteínas del gluten de trigo. Así mismo, las características de textura y succulencia de los productos cárnicos son dependientes de las proteínas musculares (actina, miosina, actinmiosina y proteínas de la carne solubles en agua).

La textura y las propiedades de cuajado de los productos lácteos se deben a la estructura coloidal de las micelas de caseína; y la estructura de algunos pasteles y las propiedades espumantes de algunos postres o productos de confitería dependen de las propiedades de espumado y gelificación de las proteínas de la clara de huevo. Los comportamientos aquí descritos, se deben a la estructura tridimensional de las moléculas que componen el alimento.

Los sistemas alimentarios son complejos y ocurren en ellos diversos fenómenos simultáneamente. Por ejemplo, los atributos sensoriales de un pastel dependen de que ocurra gelificación, espumado y emulsificación de los ingredientes utilizados y lo ideal sería que un solo ingrediente poseyera funcionalidad múltiple debido al resultado de las interacciones entre sus proteínas constituyentes. Por ejemplo, la clara de huevo es capaz de generar gelificación, emulsificación, espumado, absorción de agua y coagulación por calor, lo cual la hace una proteína deseable en muchos alimentos. De otra manera, se debe conjuntar un amplio rango de propiedades fisicoquímicas cuando se parte de preparaciones complejas, consistentes en mezclas de diferentes proteínas.

La industria alimentaria se encuentra a la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. Esta búsqueda se centra más hacia las proteínas vegetales, que tradicionalmente han desempeñado un papel importante en la nutrición humana, particularmente en países en desarrollo donde el consumo promedio de proteína es menor al requerido para garantizar un buen estado nutricional. La forma más común de comercializar estas fuentes proteicas es la producción de aislados proteicos que tienen diversas aplicaciones como ingredientes y aditivos alimentarios y cuyas propiedades dependen del número y tipo de proteínas presentes, así como de su pureza. Los de soya dominan el mercado, aunque existen otras opciones como los de canola, trigo, chícharo y

almendras, y existe uno más, de proteínas de ajonjolí que se comercializa a nivel internacional.

La funcionalidad de una proteína no está del todo comprendida y hasta ahora no ha sido posible predecir su comportamiento en sistemas modelo, aunque se trabaja activamente en este sentido. La relación entre la composición de aminoácidos y las propiedades funcionales y fisicoquímicas se puede visualizar como una serie de eventos que están interrelacionados. Por ejemplo, a partir de la composición y de su secuencia de aminoácidos se pueden deducir propiedades fisicoquímicas como hidrofobicidad, hidrofiliidad, tamaño, forma, carga neta y distribución de la carga, actividad superficial y viscosidad, que a su vez determinan las propiedades funcionales, como espumado, gelificación, formación de películas o estructuras vítreas, capacidad para ligar agua o aceite, emulsificación, etcétera. Sin embargo, los modelos de predicción de propiedades funcionales a partir de la información sobre sus aminoácidos son todavía limitados.

La consideración de otros parámetros, como la relación hidrofobicidad/hidrofiliidad, estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, flexibilidad/rigidez molecular y capacidad para interactuar/reaccionar con otros compuestos resultan cruciales para el mejor modelamiento así como para el desarrollo de nuevas aplicaciones. Empíricamente las propiedades funcionales de las proteínas son una manifestación de dos aspectos moleculares de las proteínas:

- a) las propiedades hidrodinámicas, y
- b) propiedades de la proteína relacionadas con su superficie.

**Las propiedades funcionales** como la viscosidad, gelación y texturización se relacionan con las primeras, que dependen del tamaño, forma y flexibilidad molecular. Las propiedades funcionales, como la humectabilidad, dispersabilidad, solubilidad, espumado, emulsificación y unión a sabores se relacionan con las propiedades de superficie de la proteína. Aunque existen diversos métodos de clasificación.

**Propiedades de hidratación.** Dependen de las interacciones proteína-agua y son: absorción de agua, capacidad de mojado (humectación), capacidad de hinchamiento,

capacidad de retención de agua, adhesividad, dispersabilidad, solubilidad y la viscosidad como propiedad hidrodinámica.

**Propiedades relacionadas con interacciones proteína-proteína.** Se trata de las propiedades de precipitación, gelación, formación de estructuras como pueden ser la formación de masa, de fibras, de películas, la adhesión y la cohesión.

**Propiedades de superficie.** Dependen en forma importante de la composición superficial de la proteína, puesto que de acuerdo a la misma dependerá la capacidad de ligar grasas y sabores. La emulsificación y el espumado son dos propiedades relacionadas más directamente con los fenómenos de superficie.

En realidad, estos grupos de propiedades están interrelacionados; por ejemplo, la gelación involucra no solamente interacciones proteína-proteína sino también proteína-agua, en tanto la viscosidad y la solubilidad dependen de las relaciones entre proteína-agua y proteína-proteína.

### **Clasificación de las proteínas con base en su solubilidad**

A continuación, se mencionan las cuatro categorías en que se clasifican las proteínas de acuerdo con las características de solubilidad:

1. Albúminas son las que se solubilizan en agua a pH 6.6 (albúmina sérica, ovoalbúmina, y a-lactoalbúmina).
2. Globulinas son las solubles en soluciones salinas diluidas a pH 7.0 (glicinina, faseolina y b-lactoglobulina).
3. Glutelinas son las solubles en soluciones ácidas (pH 2) y alcalinas (pH 12) (glutelinas de trigo).
4. Prolaminas son las solubles en etanol al 70% (zeína, gluten de maíz y las gliadinas del trigo).

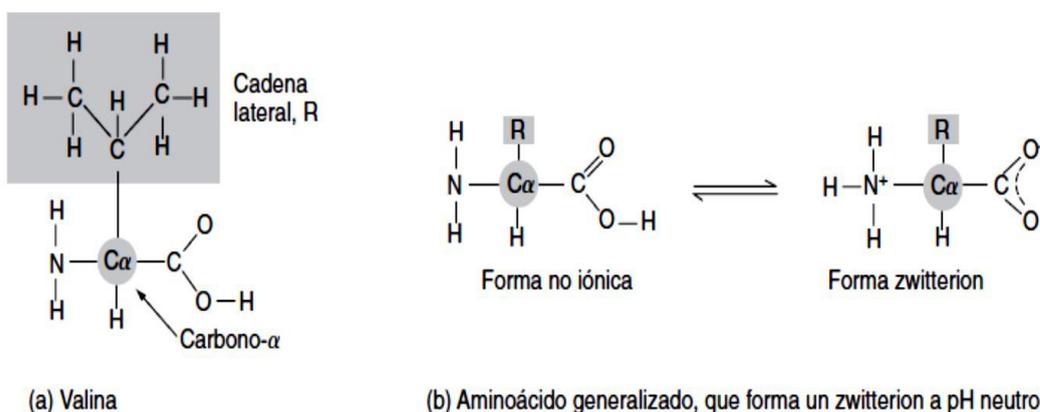
Cabe mencionar que tanto las prolaminas como las glutelinas son proteínas altamente hidrofóbicas. La solubilidad de las proteínas se afecta por las condiciones de la solución,

como el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de solventes orgánicos, además de las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de las moléculas. A continuación se detallan algunos efectos.

## Aminoácidos

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

Para conocer bien las características y propiedades de las proteínas, es necesario explicar primero las de los aminoácidos. Éstos están constituidos por un grupo carboxilo ( $\text{COOH}^+$ ), un radical amino ( $\text{NH}_2^+$ ) unido al carbono que precede al grupo ácido; de aquí el nombre de aminoácido. En los aminoácidos derivados de las proteínas, el grupo amino ocupa la posición  $\alpha$  o contigua al grupo carboxilo.



**Figura 3.1** Estructura de los  $\alpha$  aminoácidos.<sup>99</sup>

En la **figura 3.1** aparece un aminoácido representativo, la valina. El grupo amino está unido al carbono  $\alpha$ , contiguo al carboxilo, de donde proviene el nombre de  $\alpha$ -aminoácido. Al carbono  $\alpha$  también se unen un átomo de hidrógeno y la cadena lateral (R) de cuya naturaleza química se desprenden sus propiedades: carga neta, solubilidad, reactividad química y

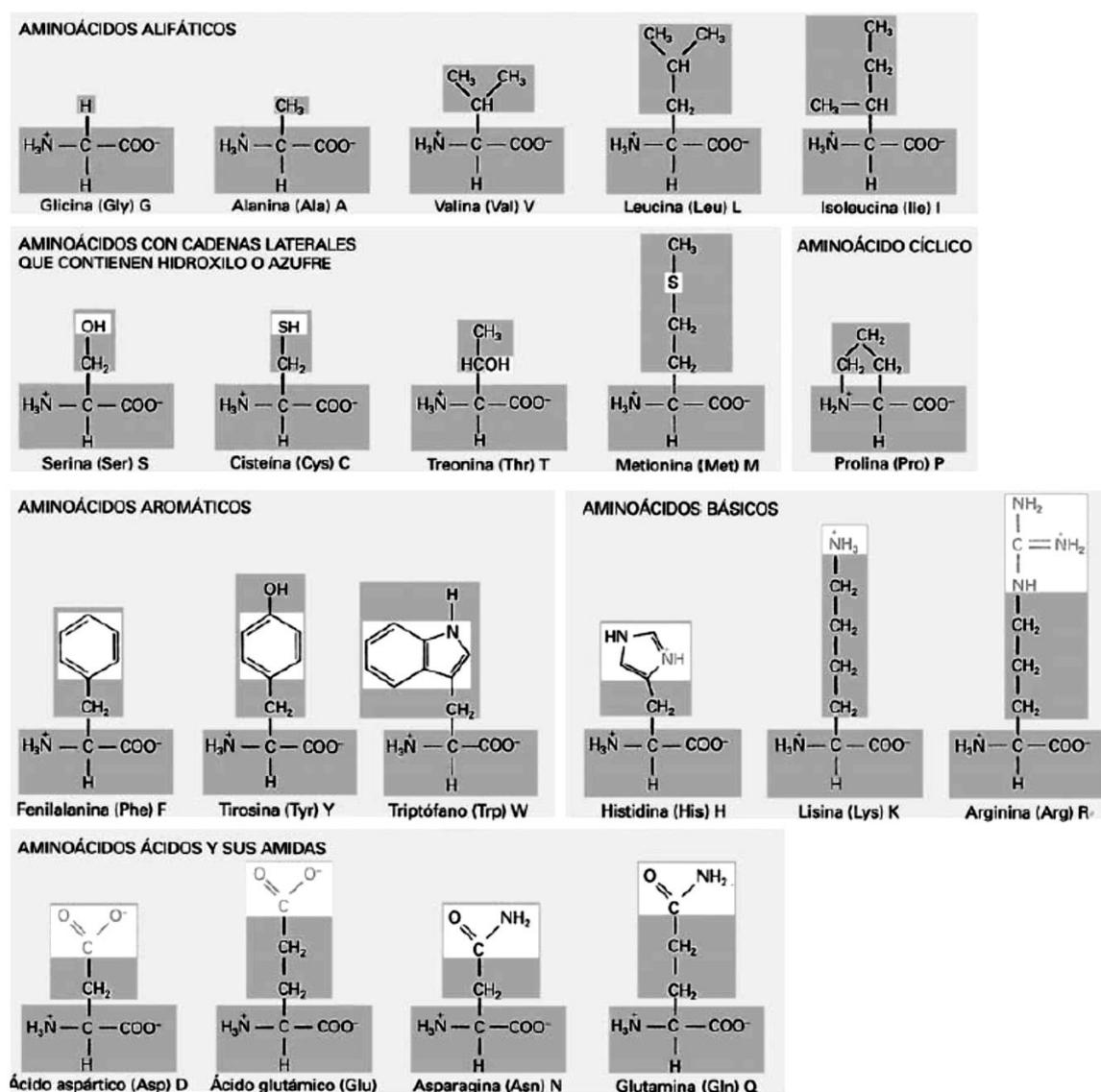
potencial para formar puentes de hidrógeno, características de cada residuo cuando forma parte de un polipéptido. Los grupos carboxilo y amino presentan valores pK de cerca de 2 y 10, respectivamente, como se detalla más adelante. En la proximidad del pH neutro, el grupo carboxilato habrá perdido un protón y el grupo amino habrá captado uno, para dar la forma zwitterion. Se trata de la forma en que por regla general se describirá la estructura de los aminoácidos. Los aminoácidos que conforman a las proteínas en los organismos presentan la forma L ya que en el proceso evolutivo se seleccionó ésta y no la forma del enantiómero D, y es uniforme en todas las proteínas nativas.

De hecho, los aminoácidos D existen en la naturaleza y algunos desempeñan funciones bioquímicas importantes, pero nunca se hallan en las proteínas en sus estructuras naturales. Se ha propuesto la siguiente hipótesis: al comienzo de la evolución de la vida, los isómeros L se seleccionaron de modo fortuito, o bien, tuvieron una ligera ventaja en la naturaleza, de forma que la maquinaria de síntesis y uso de las proteínas quedó fijada de esta forma. Es importante aclarar esto ya que hay muchas sustancias con estructura de  $\beta$ -aminoácido que no intervienen en la síntesis de proteínas: por ejemplo, la  $\beta$ -alanina, precursor del ácido pantoténico, la homocisteína y la homoserina, que actúan en el metabolismo de algunos compuestos, la citrulina y la ornitina, intermediarios para la producción de la arginina. Los 20 aminoácidos que se incorporan a las proteínas se presentan en [la figura 3.2](#), donde aparecen sus estructuras y abreviaturas de tres letras.

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

El orden en que se encuentran los residuos de aminoácidos en cada proteína, conocida como estructura primaria, está determinado por el gen particular que codifica para dicha proteína. La secuencia de nucleótidos comprendidos en ese gen se transcribe a una molécula de ARN que se llama mensajero (ARNm).

Las proteínas se sintetizan sobre los ribosomas por la traducción a polipéptidos de los ARNm. En la mayoría de los casos, las cadenas polipeptídicas inicialmente traducidas sufren modificaciones antes de asumir la conformación funcional en los sistemas vivos. Estas modificaciones postraduccionales comprenden una amplia variedad de reacciones químicas reversibles e irreversibles y han sido reportadas hasta 200 diferentes tipos. La proteína es un producto de la traducción ribosómica de una secuencia de ARNm, que ha sufrido diversos procesos, siguiendo las reglas establecidas en el código genético universal.



**Figura 3.2** Aminoácidos que conforman a las proteínas.<sup>99</sup>

El orden en que se encuentran los residuos de aminoácidos en cada proteína, conocida como estructura primaria, está determinado por el gen particular que codifica para dicha proteína (**figura 3.4**). La secuencia de nucleótidos comprendidos en ese gen se transcribe a una molécula de ARN que se llama mensajero (ARNm). Las proteínas se sintetizan sobre los ribosomas por la traducción a polipéptidos de los ARNm. En la mayoría de los casos, las cadenas polipeptídicas inicialmente traducidas sufren modificaciones antes de asumir la conformación funcional en los sistemas vivos. Estas modificaciones postraduccionales comprenden una amplia variedad de reacciones químicas reversibles e irreversibles y han sido reportadas hasta 200 diferentes tipos. La proteína es un producto de la traducción ribosómica de una secuencia de ARNm, que ha sufrido diversos procesos, siguiendo las reglas establecidas en el código genético universal.

		Segunda posición						
		U	C	A	G			
Primera posición	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U		
		UUC } Phe		UCC } Ser		UAC } Tyr	UGC } Cys	C
		UUA } Leu		UCA } Ser		UAA Parada	UGA Parada	A
		UUG } Leu		UCG } Ser		UAG Parada	UGG Trp	G
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U		
		CUC } Leu		CCC } Pro		CAC } His	CGC } Arg	C
		CUA } Leu		CCA } Pro		CAA } Gln	CGA } Arg	A
		CUG } Leu		CCG } Pro		CAG } Gln	CGG } Arg	G
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U		
		AUC } Ile		ACC } Thr		AAC } Asn	AGC } Ser	C
		AUA } Ile		ACA } Thr		AAA } Lys	AGA } Arg	A
		AUG Met/comienzo		ACG } Thr		AAG } Lys	AGG } Arg	G
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U		
		GUC } Val		GCC } Ala		GAC } Asp	GGC } Gly	C
		GUA } Val		GCA } Ala		GAA } Glu	GGA } Gly	A
		GUG } Val		GCG } Ala		GAG } Glu	GGG } Gly	G

**Figura 3.4** Código genético.<sup>99</sup>

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

## **2.2. Desnaturalización de proteínas.**

En el caso de las proteínas, la palabra desnaturalización indica que la estructuración se aleja de la forma nativa debido a un importante cambio en su conformación tridimensional, producido por movimientos de los diferentes dominios de la proteína, que conlleva un aumento en la entropía de las moléculas. Este cambio conformacional trae como consecuencia pérdidas en estructura secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no cambios en la estructura primaria, es decir, que la desnaturalización no implica una hidrólisis del enlace peptídico.

Se afectan las interacciones no-covalentes, responsables de la estabilización de la estructura, así como la relación de dicha estructura con el solvente acuoso y en algunas ocasiones se afectan los puentes disulfuro.

La conformación de una molécula de proteína depende, en gran medida, del ambiente que la rodea, y su estado nativo es el más estable en términos termodinámicos en las condiciones fisiológicas en que se encuentra. Pueden ocurrir modificaciones conformacionales debidas a cambios térmicos, químicos o efectos mecánicos inducidos por calentamiento o enfriamiento, o bien por tratamientos con agentes que forman puentes de hidrógeno, como la urea y el cloruro de guanidinio, cambios de pH, la aplicación de detergentes, cambios en la fuerza iónica por adición de sales, presencia de solventes orgánicos, o bien, la agitación.

Aunque un cambio en la estructura podría conducir a un aumento en el ordenamiento, es decir, un aumento en  $\alpha$ -hélice o  $\beta$ -lámina plegada, la desnaturalización generalmente se considera como una pérdida de la estructura ordenada. Es común relacionar la desnaturalización con daños a la proteína, ya que pueden perderse funciones fisiológicas,

actividad enzimática o bien, modificarse sus propiedades funcionales al ocurrir agregación o insolubilización.

La desnaturalización puede ser deseable cuando se habla de elevar la digestibilidad de las proteínas por cocción o por la desnaturalización de inhibidores de tripsina presentes en las leguminosas. También sirve para mejorar funcionalidad, como cuando se aumentan sus propiedades de espumado y emulsificación por el desdoblamiento de las moléculas que favorece la estabilización en interfaces al lograr la exposición de sitios hidrofóbicos que interaccionan con la fase orgánica o hidrofóbica de una emulsión.

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

Otro método es la calorimetría, que permite analizar los cambios en absorción de calor ocasionados por los movimientos de los dominios en las moléculas proteínicas. A través de lo anteriormente discutido se evidencia que la conformación de una proteína es consecuencia de la cooperación de una enorme cantidad de enlaces no-covalentes de baja energía, que se mantiene gracias a un delicado balance. Cuando se despliega una proteína globular, la pérdida de la estructura nativa aumenta, en forma significativa, el número de

residuos de aminoácidos hidrofóbicos ahora expuestos al solvente. La agregación de las proteínas desplegadas es una consecuencia de la exposición de los residuos hidrofóbicos, cuyo contacto con el solvente acuoso no es termodinámicamente conveniente, dado que a su alrededor se ordenan las moléculas de agua y disminuye la entropía del sistema.

Mientras no exista alguna molécula que estabilice esos sitios hidrofóbicos expuestos, la agregación será la forma en que se disminuya su exposición al agua, y esto trae como consecuencia una desnaturalización no reversible. Este efecto se ve incrementado con la concentración de proteína. La desnaturalización presenta el comportamiento de un proceso cooperativo con la forma de una curva que súbitamente cambia de pendiente previo al punto en el que se alcanza el equilibrio entre la forma nativa y desnaturalizada.

### **2.3. Obtención de proteínas puras a partir de alimentos.**

Las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos que podrán ser utilizados para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas. Cuando se ingieren aminoácidos en exceso o cuando el aporte de hidratos de carbono y grasa de la dieta no es suficiente para cubrir las necesidades energéticas las proteínas se utilizan en la producción de energía.

De los veinte aminoácidos de origen proteínico son ocho los considerados como indispensables para los adultos ya que deben ser suministrados por la dieta porque su velocidad de síntesis en el organismo humano es despreciable, los cuales son: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Los niños requieren además de histidina. El resto de los aminoácidos son denominados no indispensables porque el organismo puede sintetizarlos eficazmente a partir de los indispensables, siendo estos: glicina, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, cisteína, prolina, tirosina y serina. Existen dos factores que determinan el valor nutricional de fuentes proteínicas en cuanto a que éstas cubran los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos garantizando un crecimiento y mantenimiento adecuado del individuo, que son: el contenido proteínico y la calidad de la proteína.

Respecto al primero se ha sugerido que en los alimentos que forman la base de la dieta, el porcentaje debe asemejarse al de los cereales (8-10%) para satisfacer las necesidades proteínicas de los adultos en tanto se consuma una cantidad adecuada para cubrir los requerimientos energéticos. En lo referente a la calidad de la proteína, ésta depende tanto de la proporción de aminoácidos indispensables que contiene en relación con los requerimientos humanos, como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las estructuras corporales y que puede verse afectada tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta.

Existen varios factores que pueden ocasionar una baja biodisponibilidad de aminoácidos, como la inaccesibilidad de la proteína a las proteasas debida a su conformación, la dificultad para digerir proteínas que fijan metales, lípidos o celulosa, la presencia de factores antinutricionales que también la reduzcan, así como el tamaño y el área superficial de la proteína y el procesamiento al que haya sido previamente sometida. En general se reconoce que las proteínas de origen animal son de mejor calidad que las de origen vegetal; sin embargo, se sostiene que las provenientes de leguminosas a pesar de ser ligeramente deficientes en metionina tienen una calidad aceptable.

Las proteínas halladas en oleaginosas presentan bajos niveles de metionina y lisina, y las de los cereales son bajas en lisina, triptófano y treonina. Adicionalmente se ha señalado que la biodisponibilidad de aminoácidos de origen animal es generalmente mayor que la de aquéllos de origen vegetal. Las deficiencias en aminoácidos de una fuente proteínica pueden corregirse mediante dos estrategias: ya sea administrando en la dieta proteínas cuya composición de aminoácidos sea complementaria, o suplementándola con aminoácidos libres. Si se opta por la segunda alternativa es necesario controlar la adición del L-aminoácido libre ya que una suplementación excesiva puede producir un antagonismo aminoacídico o incluso producir efectos tóxicos.

A continuación, se describen las características más importantes de las proteínas y péptidos importantes en alimentos. Se abordará inicialmente el campo de las proteínas de origen

animal y posteriormente las de origen vegetal, y se incluirán algunos ejemplos de proteínas de origen microbiano.

Las proteínas desempeñan varios papeles en los sistemas alimenticios al formar parte de estructuras que se ingieren como tales, o al usarse como ingredientes, aditivos (catalizadores, conservadores, agentes ligantes, emulsificantes, para la formación de películas), así como por sus propiedades funcionales.

Las proteínas resultan útiles tanto en forma nativa como modificada por tratamientos químicos o enzimáticos. En el mercado se busca constantemente la incorporación de nuevas fuentes de proteína, y su introducción dependerá de aspectos de inocuidad y el costo/beneficio de la explotación de las mismas, particularmente a nivel regional. Desde un punto de vista nutricional, cabe señalar que existe una distribución heterogénea en el patrón de consumo de proteínas, pues, así como en Occidente se ingieren en exceso, en otras regiones existe deficiencia.

Los productos animales considerados como fuentes de proteínas son el huevo, la leche y la carne de diversas especies. Todos ellos forman parte de la alimentación humana desde hace miles de años y tradicionalmente han constituido en Occidente fuentes de proteína de calidad. Su presencia en la dieta es parte de la historia evolutiva del hombre si bien, actualmente su abundancia en la dieta es muy cuestionada.

La principal objeción se debe a la grasa que normalmente acompaña a la carne, y a los enormes cambios en el patrón de vida, de las poblaciones primitivas de cazadores que realizaban un altísimo nivel de actividad física, a la vida sedentaria actual, por lo que la presencia de lípidos en estos productos constituye actualmente un riesgo para el sistema cardiovascular.

Los componentes animales de la dieta son, además, controvertidos por problemas asociados a alergias en el caso de la leche y el huevo, porque se han presentado problemas sanitarios y toxicológicos como el caso de Salmonella en huevo, el caso de la encefalopatía esponjiforme bovina o presencia residual de hormonas en la carne de animales criados con

técnicas modernas, así como por la relación hallada entre la ingesta y la incidencia de cáncer. No obstante, las proteínas presentes en estos sistemas constituyen, sin duda, garantía de calidad nutricional y sus propiedades funcionales pueden ser ampliamente explotadas. Además, ofrecen excelentes modelos de estudio para investigación básica y aplicada.

### **Proteína del huevo**

Hace miles de años que el huevo de gallina forma parte de la alimentación humana y recientemente se emplean sus subproductos procesados como ingredientes. Está constituido por 10.5% de cáscara en tanto la parte comestible está formada por 58.5% de albumen o clara y 31.0% de yema, cuyos componentes son proteínas y lípidos que les confieren alto valor nutritivo. La composición detallada de la clara de huevo aún no está del todo definida. La aplicación de las técnicas proteómicas y genómicas ofrece ahora nuevas herramientas para abordar los estudios sobre composición de los alimentos y ha reflejado una gran microheterogeneidad y la presencia de varias isoformas entre las proteínas más conocidas; se han encontrado numerosas proteínas pequeñas ácidas, no reportadas previamente, como la proteína Ch<sub>21</sub>.

Se trata de una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa compuesta al menos por 13 proteínas glicosiladas, algunas de las cuales con actividades biológicas: enzimas, como lisozima, glicosidasa, catalasa, peptidasa y esterasa; inhibidores, como el ovonihibidor, la avidina y el inhibidor de papaína y ficina; o algunos anticuerpos que protegen el desarrollo del embrión al prevenir ataque microbiano.

La ovoalbúmina es la proteína más abundante y está tanto glicosilada como fosforilada en sus residuos de serina. Estas modificaciones permiten separarla en tres fracciones: A1, A2 y A3; asimismo, la presencia de cuatro grupos sulfhidrilo la hacen muy reactiva y fácilmente desnaturizable. 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 huevos.

La conalbúmina, también llamada ovotransferrina, es la segunda proteína en orden de importancia. Contiene manosa y glucosamina, numerosos enlaces disulfuro (13 por molécula) y presenta la característica de ligar o quelatar el hierro y otros iones metálicos, como aluminio, cobre y zinc. Se considera que esta acción secuestradora inhibe el crecimiento de microorganismos que requieren de dichos elementos para su desarrollo, particularmente en el caso de virus.

El ovomucoide tiene un elevado porcentaje de carbohidratos (hexosaminas, 14%; hexosas, 7% ácido siálico, 0.7%) que representa hasta 25% de la proteína; contiene ocho enlaces disulfuro por molécula, pero no tiene triptofano o tirosina; es estable al calor y tiene la capacidad de inhibir la tripsina. Los carbohidratos presentes contribuyen a la estabilización térmica de la proteína. La ovomucina presenta aproximadamente 30% de carbohidratos similares a los que se encuentran en el ovomucoide y junto con la lisozima le confiere al albumen las características espesas y gelatinosas. Durante el almacenamiento la relación de estos dos polipéptidos sufre alteraciones que se reflejan en una disminución de la viscosidad. La ovomucina es responsable en gran medida de las propiedades funcionales de la clara, como es la capacidad de espumado, y se considera que tiene una actividad biológica contra varios virus.

### **Proteína de la carne**

La carne es un medio muy útil y eficiente de abasto de proteína, puesto que animales y humanos comparten muchas necesidades nutricionales y fisiológicas. Proviene de los músculos esqueléticos de diversos animales y se caracteriza por su estructura fibrosa y su textura. En Occidente, la carne de bovino es la de mayor consumo, seguida por la de porcino, ovino y caprinos, y constituye una excelente fuente de proteínas de alta calidad, especialmente apreciadas por poblaciones urbanas.

Los músculos están compuestos de una estructura ordenada de fascículos, fibras, fibrillas y filamentos, rodeadas de tejido conjuntivo denominado endomisio. Los fascículos agrupan varias fibras, las que corresponden a las unidades celulares: son multinucleadas y extremadamente largas en proporción a su diámetro y sufren cambios tras la muerte del

animal. En los músculos esqueléticos es posible distinguir estrías, separadas por una distancia que corresponde a la longitud del sarcómero, propiedad tecnológica importante pues generalmente las pequeñas corresponden a carne dura. El contenido proteínico de estos tejidos es alto, cercano al 70% de la materia seca, independientemente del tipo de animal del que provengan (porcinos, vacunos, ovinos, etcétera). Los tipos de proteína presente se han clasificado en tres grandes grupos, de acuerdo a su función biológica y su solubilidad: proteínas contráctiles o miofibrilares, proteínas sarcoplásmicas o solubles y proteínas del estroma o insolubles.

## **Gelatina**

La gelatina es una proteína derivada de la hidrólisis selectiva del colágeno, que es el componente orgánico más abundante en huesos y piel de mamíferos, que tiene aplicaciones en alimentos, farmacia y adhesivos, para lo que se requieren diferentes grados de calidad y pureza.

Se puede elaborar a partir de restos de pollo, o de ganado bovino o porcino, y en los últimos tiempos se han hecho esfuerzos para diferenciarlos, por el riesgo de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE), a partir del análisis de la composición de péptidos y aminoácidos. Hay dos procesos de producción: el ácido y el básico. En el primero se tratan huesos y piel en una solución ácida diluida por un período predeterminado; se lava con agua fría y se genera un producto con un punto isoeléctrico de 6-9.

En el proceso alcalino, los huesos desmineralizados se suspenden en una solución de sosa por un período de 60 días, en tanto las pieles se remojan por períodos menores. Periódicamente se cambia la solución de remojo y al final se lava exhaustivamente para eliminar toda la sosa residual. El punto isoeléctrico del producto está entre 4.8 y 5.2. Tras cualquiera de estos dos procesos, se extrae la proteína con agua, a temperatura controlada, menor a 80°C en esta etapa ocurre una alteración de la triple hélice d en la que se rompen enlaces intermoleculares e intramoleculares y se producen cadenas menos estructuradas, que corresponden propiamente a la gelatina.

Cuando el colágeno se calienta en exceso, más allá de la temperatura óptima, se obtiene un producto amorfo, sin ninguna ordenación, que se usa como pegamento y que comúnmente se llama cola. Tras estos procesos se obtiene una solución proteínica diluida (4.7%), que se filtra, desmineraliza y se concentra en evaporadores al vacío de efectos múltiples, hasta alcanzar niveles de 25-30%. Se esteriliza con procedimiento UHT, se enfría y se seca.

La vigilancia de la calidad microbiológica durante el proceso es crucial para la del producto final, pues frecuentemente se encuentran microorganismos con actividad proteolítica que la deterioran.

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, etcétera. Por su naturaleza química, esta proteína está sujeta a reacciones de deterioro, como la hidrólisis, por acción de ácido, enzimas y microorganismos, que pueden destruir la estructura tridimensional que conforma el gel. La carne que se somete a un tratamiento térmico en el hogar sufre una transformación de colágeno en gelatina, misma que se observa fácilmente cuando el producto se enfría.

### **Proteínas lácteas**

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.

Es de señalarse que la leche ha sido considerada un alérgeno importante y por la presencia de lípidos en su composición su consumo se desalentó durante algún tiempo. Recientemente, se ha reconsiderado el papel funcional de la misma y se pretende extraer componentes funcionales a partir de las diferentes fracciones.

Las técnicas de fracción 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, no genera respuestas inmunes a nivel gastrointestinal en niños autistas, a diferencia de otras proteínas lácteas o de la gliadina. De la misma manera, se propone el fraccionar las proteínas de suero por diversas metodologías cromatográficas para separar las proteínas más ricas en aminoácidos ramificados, en virtud de su relación con el metabolismo proteínico y su posible efecto anti obesidad.

Entre otros usos propuestos para las proteínas lácteas se encuentra el de la formación de películas comestibles y biodegradables, ya que esto contribuiría a reducir los residuos generados tanto por la industria láctea como a disminuir la cantidad de envases sintéticos. Se han elaborado preparaciones tanto con caseinatos como con proteínas de suero, que compiten con otros elaborados con proteínas vegetales.

Los resultados obtenidos hasta ahora no compiten aún con las películas de polivinilo, pero se han obtenido resultados interesantes empleando soluciones de proteína al 2.5% en combinación con glicerol.

### **Proteína vegetal**

Las proteínas vegetales constituyen una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, explotándose tanto las propiedades funcionales como los beneficios nutricionales de cada grupo de proteínas. Inclusive, se pueden emplear ya para el diseño de empaques biodegradables. Las proteínas vegetales se obtienen principalmente de semillas de leguminosas, cereales, oleaginosas y en baja proporción de hojas verdes. Existe una gran variabilidad de niveles de proteína aun en variedades de la misma especie, lo que depende de factores genéticos, climáticos y ecológicos. Las posibilidades de aprovechamiento en la industria de alimentos dependen

tanto de su resistencia al procesamiento como de la presencia de compuestos anti nutricionales en la fuente vegetal de interés.

Este grupo de proteínas se ha estudiado desde hace más de 250 años, en particular lo referente a las proteínas de semillas. Inicialmente se han clasificado y agrupado en términos de solubilidad con el procedimiento de Osborne, como se describió párrafos antes, o según su función: estructurales o metabólicas, de defensa, resistencia a estrés o de almacenamiento. La función biológica de las principales proteínas vegetales que se explotan comercialmente es formar parte del endospermo de la semilla, a la que nutren durante la germinación y desarrollo, procesos durante los que se modifican los niveles de las diferentes proteínas.

El grupo proteínico preponderante varía de acuerdo al grupo de plantas del que se trate: en el caso de los cereales dominan las glutelinas, en las leguminosas las globulinas. Los ingredientes vegetales ocupan un lugar importante en la dieta de la población menos favorecida en términos económicos, y por otro lado entre quienes por diferentes razones (filosóficas, religiosas, económicas, visión de salud) optan por regímenes alimentarios libres de productos animales. Su valor agregado puede incrementarse al obtener y explotar componentes por su composición y funcionalidad, rubro en el que han adquirido gran importancia los aislados proteínicos de diferentes fuentes, en especial los de soya.

#### **2.4. Purificación de proteínas de importancia económica: Globulinas, gluten, amarantina.**

##### **Globulinas**

Globulina es un grupo de proteínas insolubles en agua que se encuentran en todos los animales y vegetales. Entre las globulinas más importantes destacan las seroglobulinas (de la sangre), las lactoglobulinas (de la leche) las ovoglobulina (del huevo), la legumina, el fibrinógeno, los anticuerpos ( $\alpha$ -globulinas) y numerosas proteínas de las semillas.

Proteína vegetal y animal insoluble en agua y soluble en disoluciones de cloruro sódico. Forma parte de la composición del suero sanguíneo. El trigo, la cebada y el centeno son

especies de gramíneas estrechamente relacionadas pertenecientes a la tribu Triticeae. En la composición de sus semillas intervienen diferentes clases de proteínas: las solubles (albúminas, en agua; globulinas, en sal; gliadinas, en alcohol y agua) y las insolubles (gluteninas, que son conocidas como prolaninas).

Las gramíneas son la causa más frecuente de alergia respiratoria en España y Europa. Las gramíneas son muy abundantes y las podemos dividir en gramíneas espontáneas, que son las que crecen solas en los bordes de los caminos y las gramíneas cultivadas o cereales, como el trigo, cebada y centeno.

Por la extensa distribución y su grado de alergenidad es el polen más importante. Presenta reactividad cruzada entre todas, es decir, que las personas alérgicas a gramíneas, generalmente, lo son a todos los pólenes, sean salvajes o de cultivo.

Durante el período polínico, la fruta con piel y sin lavar puede contener en la superficie granos de polen impactados que pueden ocasionar dermatitis y picor o inflamación de la boca. Sin embargo, no existe reactividad cruzada entre alergia respiratoria a gramíneas y alergia alimentaria a cereales. La mayoría de pacientes con alergia a gramíneas consumen cereales sin problemas.

## **Gluten**

Gluten es una proteína que se encuentra en los granos de trigo, cebada, centeno y posiblemente en la avena. Ciertas personas no toleran el gluten. Esta proteína es reconocida como una sustancia extraña por la cobertura del intestino delgado en personas susceptibles. Esta dieta está designada para aquellos individuos que son sensibles al gluten.

Como regla general, evite todos los alimentos que contienen trigo, cebada, trigo sarraceno, salvado, bulgur, germen de trigo, centeno, semolina, mijo, triticale y posiblemente avena.

Además, el Gluten es una proteína ergástica amorfa que se encuentra en la semilla de muchos cereales combinada con almidón. Representa un 80% de las proteínas del trigo y

está compuesta de gliadina y glutenina. El gluten es responsable de la elasticidad de la masa de harina, lo que permite su fermentación, así como la consistencia elástica y esponjosa de los panes y masas horneadas.

El gluten se puede obtener a partir de la harina de trigo y algunos otros cereales, lavando el almidón. Para ello se forma una masa de harina y agua, que luego se lava con agua hasta que el agua sale limpia. Para usos químicos (no alimentarios) es preferible usar una solución salina. El producto resultante tendrá una textura pegajosa y fibrosa, parecida a la del chicle.

Una vez cocido, el gluten adquiere una consistencia firme y toma un poco del sabor del caldo en que se cocina. Esta propiedad hace que sea apreciado como sustituto de la carne en las cocinas vegetarianas y budista. En el horneado, el gluten es el responsable de que los gases de la fermentación se queden retenidos en el interior de la masa, haciendo que esta suba. Después de la cocción, la coagulación del gluten es responsable de que el bollo no se desinfe una vez cocido.

Algunas personas tienen alergia al gluten, otras tienen intolerancia al gluten (celiaquía), pero ambas tienen que hacer dietas libres de gluten. A las personas con intolerancia al gluten les daña la mucosa del intestino delgado, impidiendo una digestión normal. Tras eliminar el gluten de la dieta el intestino vuelve a funcionar con normalidad.

Las personas celiacas tienen una predisposición genética, heredada, a la intolerancia al gluten, pero no necesariamente desarrollan la enfermedad. Se recomienda no dar gluten a los bebés antes de los seis meses, ya que su administración temprana podría desencadenar la intolerancia. Cuando se manifiesta la enfermedad celíaca muchas veces puede ir acompañada de una intolerancia a la lactosa, que en muchos casos es pasajera y desaparece con el tiempo.

Los autistas pueden ser sensibles al gluten y a la caseína (una proteína presente en la leche); ambas sustancias parece que tienen un efecto opiáceo en ellos. Otra enfermedad que puede requerir dieta libre de gluten es la dermatitis herpetiforme.

## **Amarantina**

La amarantina es la proteína más abundante de las semillas de amaranto, se ha establecido como un modelo interesante como proteína funcional con gran potencial para impartir propiedades funcionales en alimentos, así como para enriquecer nutricionalmente los mismos.

El estudio de los genes que codifican las proteínas de reserva permite utilizar proteínas plenamente caracterizadas, como lo es el caso de la amarantina (globulina I IS de amaranto), con el objetivo de incrementar la propuesta nutrimental y funcional de un alimento de manera específica.

La expresión de estas proteínas en sistemas microbianos tiene el potencial de producir de manera específica un producto en este caso una globulina I IS con características excelente de manera eficiente. Con la ventaja de poder escalar los sistemas de fermentación a niveles industriales de una manera relativamente sencilla. De esta manera se podrá contar con un producto para realizar la fortificación o enriquecimiento de alimentos incrementado el aporte de aminoácidos esenciales, proveídos por la amarantina, así como la impartición de una propiedad funcional a los alimentos. Aunado a esto, este mismo sistema servirá de plataforma para la evaluación de características fisicoquímicas de esta proteína que de otra forma es difícil realizar.

También el sistema de expresión permitirá evaluar versiones modificadas de la amarantina con nuevas propiedades como sería la integración de péptidos con actividad biológica (reducción de hipertensión o colesterol, entre otros).

Se intenta establecer un sistema de producción mediante microorganismos de una proteína de amaranto con el objetivo de enriquecer y evaluar su potencial como ingrediente funcional para la industria alimentaria.

## 2.5. Propiedades funcionales de los lípidos.

La palabra lípido proviene del griego lipos, que significa grasa y cuya aplicación no ha sido bien establecida; originalmente se definía como —una sustancia insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo; con esta consideración de solubilidad, existen muchos otros compuestos, como terpenos, vitaminas y carotenoides que también están incluidos. Sin embargo, algunos autores consideran como lípidos sólo a aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas; según esta definición, los aceites y las grasas se consideran por antonomasia como lípidos. Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno.

Desempeñan muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que las proteínas y los hidratos de carbono que producen 4 kcal/g (17 kJ/g) cada uno; muchos cumplen una actividad biológica, unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos, otros son ácidos grasos indispensables, vitaminas y hormonas, algunos son pigmentos, etcétera. También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales ya que, por ser malos conductores del calor, el tejido adiposo mantiene estable la temperatura del organismo.

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y de nutrición no hay una distinción entre ambos grupos, aun cuando algunos consideran que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a —temperatura ambiente, mientras que los aceites son líquidos. Sus principales fuentes son las semillas oleaginosas y los tejidos animales, terrestres y marinos, ya que las frutas y las hortalizas presentan normalmente muy bajas concentraciones, con algunas excepciones como el aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces.

El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarlas resulta difícil; existen diversos métodos para hacerlo, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos se basan en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan.

#### CUADRO 4.2 Clasificación de los lípidos

- A. Lípidos simples. Ésteres de ácidos grasos y alcoholes.
  - 1. Grasas y aceites. Ésteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos.
  - 2. Ceras. Ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos.
- B. Lípidos compuestos. Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.
  - 1. Fosfoglicéridos. Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinado con una base de nitrógeno.
  - 2. Glucolípidos. Compuestos de hidratos de carbono, ácidos grasos y esfingosinol, llamados también cerebrosídeos.
  - 3. Lipoproteínas. Integradas por lípidos y proteínas.
- C. Lípidos asociados.
  - 1. Ácidos grasos (derivados de los lípidos simples).
  - 2. Pigmentos.
  - 3. Vitaminas liposolubles.
  - 4. Esteroles.
  - 5. Hidrocarburos.

### Ácidos grasos.

En forma pura, todas las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos (o triglicéridos), los que a su vez son ésteres de ácidos grasos con glicerol; por consiguiente, dichos ácidos representan un gran porcentaje de la composición de los triacilglicéridos y en consecuencia de las grasas y los aceites.

Las diferencias de estabilidad a la oxidación, de plasticidad, de estado físico, de patrón de cristalización, de índice de yodo, de temperaturas de solidificación y de fusión, de las grasas y los aceites se deben fundamentalmente a sus ácidos grasos constituyentes.

Originalmente, estos ácidos se definieron como ácidos monocarboxílicos de cadena alifática con número par de átomos de carbono, que podían ser saturados o insaturados; sin embargo, en la actualidad se han identificado muchos otros, como cíclicos, ramificados, hidroxilados, con un número non de átomos de carbono, etcétera, de tal manera que se conocen más de 400 que se localizan en la leche, en algunos vegetales y en ciertos microorganismos. Aun cuando son muchos, la mayoría se encuentra en muy bajas concentraciones e influyen poco en las características físicas y químicas de los productos que los contienen.

El número de ácidos grasos que comúnmente se localizan en los alimentos es muy reducido y sólo resaltan unos cuantos, por lo general están esterificados, integrando los triacilglicéridos y cuando llegan a presentarse en estado libre es porque ocurrió una hidrólisis del enlace éster; son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal, con un número par de átomos de carbono, ya que su metabolismo se lleva a cabo mediante moléculas de carbono pares, como es la acetilcoenzima A.

La relación de ácidos grasos en los aceites vegetales es realmente sencilla; por ejemplo, en el cromatograma normal de la canola aparecen siete picos equivalentes a siete ácidos grasos, mientras que en el de pescado se observan 25 o más, muy diferentes a los encontrados en los animales terrestres, con cadenas que van de 12 a 26C, aun cuando la mayoría son de 16 a 20.

Los ácidos grasos se producen industrialmente a partir de diversas fuentes de grasas, y se utilizan en la elaboración de aditivos para la industria alimentaria. Los de 16 a 18 átomos de carbono, palmítico, oleico y esteárico, se emplean como emulsionantes en forma de sus respectivos ésteres. Además, las sales de calcio y de magnesio del palmítico y del esteárico se usan como antiaglomerantes en vegetales deshidratados y en otros productos secos porque son insolubles en agua y, al recubrir las partículas sólidas, repelen el agua y evitan la aglomeración. Para su estudio, los ácidos grasos se han dividido en dos grandes grupos, los saturados y los insaturados.

Los ácidos grasos saturados varían de 4 a 26 átomos de carbono y su temperatura o punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena; así, los de C4 a C8 son líquidos a 25°C, mientras que los de C10 en adelante son sólidos, y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular.

Entre los más comunes está el 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. 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 C10) contribuyen al aroma y al sabor de la leche y de los derivados lácteos; en ocasiones, su presencia es dañina y en otras es muy deseable, como en los quesos y la mantequilla.

Ácidos grasos insaturados debido a sus insaturaciones, estos compuestos tienen una gran reactividad química, ya que son propensos a la saturación y a transformaciones oxidativas y de isomerización. Son muy abundantes en los aceites vegetales y marinos; su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las 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, y a los de más de una se les denomina polienoicos o poliinsaturados; en el primer caso, la mayoría presenta la doble ligadura entre los carbonos 9 y 10. Además de los nombres triviales, su nomenclatura consiste en indicar el tamaño de la cadena, la localización o número de las dobles ligaduras y añadiendo la terminación —enoico. En forma natural, los poliinsaturados tienen sus dobles ligaduras como no conjugadas, es decir, están separadas por un grupo metileno, como ocurre con los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico; lo contrario a esta distribución es la conjugación, en la que no existe dicho metileno de por medio.

Los poliinsaturados se numeran de acuerdo con la posición del primer doble enlace con respecto al grupo metilo y se dividen en dos grandes grupos: los omega-6,  $\nu_6$  (n-6), que lo tienen en el sexto carbono, como el ácido linoleico, y los  $\nu_3$  (n-3), con su primer doble

enlace en el tercer carbono, como el ácido linolénico. El símbolo v precede al número del carbono del doble enlace más cercano al grupo metilo final. Así, el oleico, que es el cis-9-octadecenoico, tiene un doble enlace en el carbono 9 a partir del metilo, y puede nombrarse como C18:1 v9, que significa que es un ácido de 18 átomos de carbono, con una sola insaturación, la cual está a 9 carbonos del grupo metilo.

En el aceite de pescado se presenta una mezcla muy compleja de ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados; contiene un alto porcentaje, 10-15%, de 20:5v3, n-3 (5,8,11,14,17-icosapentaenoico, EPA), de 22:6v3, (4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico, DHA), de 18:3v3, n-3 (linolénico) y de 22:5v3, n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoico). El DHA abunda en el cerebro y en el tejido nervioso, y una buena fuente son los aceites de pescados de agua fría, como el salmón, el bacalao y la sardina. En las especies marinas existe una relación entre el grado de insaturación y la temperatura en que habita el pez; a medida que las aguas son más frías, las dobles ligaduras aumentan para que los lípidos permanezcan líquidos.

Por esta razón, entre todos los aceites comestibles, los de pescado son los más sensibles a la oxidación y particularmente su fracción de fosfoglicéridos, que es la más insaturada. Por otra parte, en las grasas y aceites de tierra, el linoleico (18:2v6) es el más común, seguido del oleico (cacahuete, oliva, aguacate, etcétera) y el linolénico (soya).

**CUADRO 4.3 Ácidos grasos saturados**

<i>Nombre trivial</i>	<i>Nombre científico</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Punto de fusión (°C)</i>
Butírico	Butanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	-5.9
Caproico	Hexanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	-3.4
Caprílico	Octanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH	16.7
Cáprico	Decanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH	31.6
Láurico*	Dodecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	44.2
Mirístico*	Tetradecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH	54.4
Palmítico*	Hexadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH	63.0
Estearico*	Octadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH	69.4
Araquídico	Eicosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH	76.0
Behénico	Docosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH	79.9
Lignocérico	Tetracosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH	84.2
Cerótico	Hexacosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>24</sub> COOH	87.7

\*Ácidos grasos saturados más comunes en alimentos.

Las insaturaciones presentan dos tipos de isomerismo: a) geométrico, cis-trans; y b) posicional, según sea la localización de la doble ligadura en la cadena de átomos de carbono.

En estado natural, la mayoría de ellos son cis, mientras que los trans se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales y en algunas provenientes de rumiantes, como el sebo; la mantequilla contiene aproximadamente 4-6% de trans que se sintetizan por un proceso de biohidrogenación en el rumen de la vaca. Cabe indicar que los trans son termodinámicamente más factibles y estables que los isómeros cis; sus cadenas lineales y rígidas tienen un menor ángulo de la doble ligadura, lo que provoca una asociación y empaquetamiento molecular compacto (cristal) semejante a un saturado. Dicho empaquetamiento hace que los trans presenten temperaturas de fusión mayores que los correspondientes cis, para el mismo tamaño de molécula; esto se observa entre el punto de fusión del ácido oleico (cis) de 13°C y el del ácido eláidico (trans, que se sintetiza en la hidrogenación comercial), que funde a 44°C.

Los ácidos con ramificaciones presentan puntos de fusión bajos debido a que sus protuberancias impiden que se asocien entre sí y formen estructuras ordenadas de mayor punto de fusión. Desde hace algunas décadas, el consumo de ácidos grasos trans se ha incrementado, debido al aumento en el uso de grasas hidrogenadas, en lugar del tradicional sebo de res.

Cuando se tiene una doble ligadura, como en el oleico, solamente hay dos posibilidades isoméricas: cis o trans. Sin embargo, con dos insaturaciones se generan cuatro posibles isómeros: cis-cis, cis-trans, trans-cis y trans-trans; la situación se hace mucho muy compleja con más dobles ligaduras. Muchos de estos isómeros se sintetizan en la hidrogenación de los aceites y su presencia influye considerablemente en sus características físicas y químicas; su determinación se puede llevar a cabo con diversos métodos espectroscópicos. Por su parte, el isomerismo posicional está relacionado con la localización de las dobles ligaduras en la cadena hidrocarbonada.

Los sistemas no conjugados son los más comunes; sin embargo, con tratamientos térmicos se transforman en conjugados que son más reactivos y fácilmente oxidables. Para los

monoinsaturados se observa que la doble ligadura puede encontrarse en diferentes posiciones isoméricas; por ejemplo, el ácido vaccénico (trans-octadeca-11-enoico, de la mantequilla) y el ácido petroselínico (cis-octadeca-6-enoico, de varias semillas), son los isómeros posicionales del ácido oleico (cis-octadeca-9-enoico). De igual manera, el ácido elaeostearico (octadeca-9,11,15-trienoico) es el isómero posicional del ácido linolénico (octadeca-9,12,15-trienoico).

Cuando se tiene una doble ligadura, como en el oleico, solamente hay dos posibilidades isoméricas: cis o trans. Sin embargo, con dos insaturaciones se generan cuatro posibles isómeros: cis-cis, cis-trans, trans-cis y trans-trans; la situación se hace mucho más compleja con más dobles ligaduras. Muchos de estos isómeros se sintetizan en la hidrogenación de los aceites y su presencia influye considerablemente en sus características físicas y químicas; su determinación se puede llevar a cabo con diversos métodos espectroscópicos.

Por su parte, el isomerismo posicional está relacionado con la localización de las dobles ligaduras en la cadena hidrocarbonada. Los sistemas no conjugados son los más comunes; sin embargo, con tratamientos térmicos se transforman en conjugados que son más reactivos y fácilmente oxidables.

Para los monoinsaturados se observa que la doble ligadura puede encontrarse en diferentes posiciones isoméricas; por ejemplo, el ácido vaccénico (trans-octadeca-11-enoico, de la mantequilla) y el ácido petroselínico (cis-octadeca-6-enoico, de varias semillas), son los isómeros posicionales del ácido oleico (cis-octadeca-9-enoico). De igual manera, el ácido elaeostearico (octadeca-9,11,15-trienoico) es el isómero posicional del ácido linolénico (octadeca-9,12,15-trienoico).

Los acilglicéridos son lípidos neutros o sin carga, derivados de la reacción de esterificación entre el glicerol y una, dos o tres moléculas de ácidos grasos en las posiciones 1, 2 y 3, o a, b, y a9 del glicerol. Por mucho, los triacilglicéridos son los más importantes. La nomenclatura llamada numeración estereoespecífica (en inglés se nombra como *snll*, de *stereospecific numbers*), se basa en que los sustituyentes de la molécula se designan 1, 2 y 3, y el 2 está a la izquierda del plano de átomos de carbono.

Los mono y los diacilglicéridos, representan una fracción pequeña de los constituyentes de las grasas y los aceites y, cuando se encuentran en una proporción mayor, indican una hidrólisis de los triacilglicéridos y de la consecuente liberación de ácidos grasos por acción de las lipasas. En forma natural, ambos grupos de sustancias se asocian con las membranas de los glóbulos de grasa, como ocurre con la leche.

Se sintetizan por una reacción de esterificación directa entre el glicerol y los ácidos grasos, aunque comercialmente este proceso se efectúa por medio de interesterificaciones entre grasas y glicerol.

Los mono y diacilglicéridos, y sus derivados, se usan ampliamente como emulsionantes pues tienen una parte hidrófoba y otra hidrófila y su capacidad emulsificante depende de sus ácidos grasos y de sus otros sustituyentes.

### **Los triglicéridos**

Son los acilglicéridos más abundantes en la naturaleza y los principales constituyentes de todas las grasas y los aceites, incluyendo el tejido adiposo de los mamíferos, ya que representan más del 95% de su composición. La nomenclatura depende de sus ácidos, de tal manera que cuando contienen sólo uno se conocen como triacilglicéridos simples y cuando poseen dos o tres se consideran como mixtos; los nombres de los primeros se forman añadiendo el sufijo —ina a la raíz que denota el ácido en cuestión, por ejemplo, la triestearina, la tripalmitina y la trioleína, corresponden a triacilglicéridos que contienen sólo esteárico, palmítico y oleico, respectivamente.

También se pueden nombrar usando la terminación —acilglicéridoll, en cuyo caso se llamarían: triestearilacilglicérido, tripalmitilacilglicérido y trioleilacilglicérido. La nomenclatura de los mixtos se basa en indicar consecutivamente los tres ácidos grasos, utilizando la terminación —illl o —atoll para cada uno. Con la numeración estereoespecífica, un triacilglicérido con linoleico, esteárico y palmítico en posiciones 1, 2 y 3 respectivamente, se denomina sn-gliceril-1-linoleato-2-estearato-3-palmitato, que equivale al linoleo-estearo-palmitina, o 1-linoli12-estearil-3-palmitina. Con dos ácidos iguales y uno desigual se designan

con el prefijo —dill, o bien se numeran las posiciones donde se encuentran dichos ácidos: b-palmitil-a, a'-diestearina equivale a la 2-palmitil-1,3-diestearina, o de manera abreviada, diestearopalmitina o palmitidildiestearina. La figura 4.1 es una representación estereoquímica de un triacilglicérido formado por los ácidos oleico, esteárico y palmítico.

Las características físicas y químicas de los triacilglicéridos dependen del tipo, la concentración y la forma de distribución de sus ácidos grasos en las tres posiciones. Las posibles combinaciones de ubicación de los ácidos grasos en el glicerol son muy variadas; por ejemplo, en caso de tener sólo dos ácidos (A y B) se obtienen seis combinaciones isoméricas: AAB, ABA, ABB, BBA, BAA y BAB, y cuando se tienen tres, se forman hasta 18 isómeros.

Para la manteca de cacao que tiene 10 ácidos grasos como principales constituyentes, se pueden integrar más de 500 posibles triacilglicéridos; sin embargo, en la naturaleza no existe tan amplia variedad de ellos y, en este caso, el 67.5% corresponde a los disaturados palmítico-oleico-palmítico, palmítico-oleico-esteárico y esteárico-oleico-esteárico.

La distribución de ácidos en los triacilglicéridos mixtos ha sido motivo de investigaciones que han derivado en diferentes hipótesis; una es la del —triacilglicérido simplell, que supone que cada triacilglicérido contiene un solo tipo de ácido graso, por lo que debe existir igual número de triacilglicéridos que de ácidos grasos. Otra, la de —distribución homogéneall, establece que los ácidos están equitativamente distribuidos en concentraciones iguales.

## **2.6. Modificaciones y métodos de control de los lípidos.**

Los aceites refinados, con o sin hibernación, pueden embotellarse y así venderse directamente, o bien, pueden someterse a otras reacciones físicas y químicas que modifican sus propiedades para hacerlos más funcionales y apropiados para la fabricación de alimentos; en algunos se requiere que los lípidos tengan una cierta tendencia a la cristalización, en otros, un determinado punto de fusión, ciertas propiedades de untuosidad, que resistan la oxidación y así sucesivamente.

Los métodos que se emplean para modificar y diseñar las grasas y los aceites van desde la simple mezcla física de dos o más grasas o aceites, hasta otros muy laboriosos como la hidrogenación, la interesterificación y el fraccionamiento.

## **Hidrogenación**

Mediante este proceso, se transforman los aceites líquidos en semisólidos, más fácilmente manejables y con una mayor vida de anaquel. Al de soya, que es el aceite que más se emplea como materia prima, pues contiene una alta proporción de ácidos grasos insaturados que lo hace sensible a la oxidación, la hidrogenación lo convierte en bases grasas para la fabricación de margarinas y mantecas que se conservan sin detrimento por largos periodos.

Durante la hidrogenación los ácidos grasos insaturados están sujetos fundamentalmente a tres transformaciones químicas:

- a) la saturación de una proporción determinada de las dobles ligaduras;
- b) la isomerización cis-trans de otra parte de dichos ácidos.
- c) la isomerización posicional de algunas insaturaciones, que se lleva a cabo en menor intensidad que los otros dos cambios.

Las características físicas y químicas de los lípidos hidrogenados dependen de la intensidad con que se presenta cada una de estas reacciones; un mismo ácido graso puede presentar al mismo tiempo los dos tipos de isomerización en su estructura.

Como ejemplo, baste mencionar que el aceite de soya con un índice de yodo de 123 a 139 es un líquido aun a bajas temperaturas, pero cuando se hidrogena hasta un índice de yodo de 100, se convierte en un sólido suave que funde a 30 °C; si se satura completamente, se produce un sólido quebradizo con un punto de fusión de 68 °C. De manera semejante, el aceite de palma (con aproximadamente 50% de ácidos grasos saturados y un índice de yodo de 50 a 55) funde a 34-36 °C, pero alcanza 42-44 °C cuando el índice de yodo se reduce en 8 puntos y hasta en 58 °C al saturarse completamente.

El aceite empleado para la hidrogenación debe estar bien refinado y con un mínimo de materiales extraños; de preferencia se desea que el contenido de agua no sea mayor de 0.05% ya que si es superior en las condiciones de operación puede inducir la hidrólisis de los triacilglicéridos y la liberación de ácidos grasos que, además de envenenar el catalizador, se concentran en el espacio superior del reactor e impiden la circulación del hidrógeno; los fosfolípidos, los metales, los jabones, el fósforo y el azufre llegan a bloquear la superficie activa del catalizador y reducen su eficiencia.

La oxidación de los lípidos insaturados produce hidroperóxidos que se descomponen fácilmente en sustancias que se absorben sobre el metal, de tal manera que reducen la eficiencia del proceso; las grasas con -índices de peróxido muy altos (más de 30 meq/Kg.) inhiben la hidrogenación debido a que los productos oxidados se absorben con mayor facilidad que los propios triacilglicéridos."

También se requiere de un control estricto sobre la pureza y la calidad del hidrógeno ya que es preciso que esté bien seco y libre de gases indeseables como amoníaco, anhídrido carbónico y azufre, todos ellos agentes que envenenan el catalizador.

Actividades:

El alumno realizará un mapa conceptual de la unidad.

Lectura 4

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Proteínas”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 95 -111.

Lectura 5

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Desnaturalización de las Proteínas”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 139 - 151.

Lectura 6

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Función de las Proteínas”. **Principios de Bioquímica, de Lehninger** (ver bibliografía). Páginas 157 - 187.

## UNIDAD 3

### Enzimas

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades, no se consume durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Su nombre proviene del griego y significa “en la levadura”, ya que, a mediados del siglo XIX, cuando se acuñó el término, se pensaba que estos compuestos sólo actuaban en el interior de las células. Luis Pasteur distinguió dos tipos de actividades, “fermentos organizados y no organizados”, que se referían a las enzimas asociadas a las células y a las extracelulares, respectivamente. En 1897, E. Buchner demostró que un extracto de levadura libre de células también podía producir etanol a partir de azúcares. Sin embargo, poco se sabía sobre la naturaleza química de las enzimas y no fue sino hasta 1926, con la cristalización de la ureasa por J. B. Sumner, cuando se demostró la naturaleza proteica de las enzimas.

Todas las células, incluyendo microorganismos y organismos superiores, producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada con las reacciones metabólicas, y la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían si no estuvieran presentes las enzimas. Su estudio en el campo de los alimentos es de primordial interés debido a que son responsables de algunos cambios químicos que sufren los alimentos, cambios que pueden resultar en beneficios (maduración de frutas) o perjuicios (oxidación de ácidos grasos y oscurecimiento enzimático).

Por otro lado, muchos productos alimenticios se obtienen a través de reacciones bioquímicas que se efectúan por medio de enzimas endógenas del alimento, por las que se le añaden o las producidas por los microorganismos utilizados en la elaboración de alimentos fermentados. El uso de enzimas para la producción de alimentos se remonta muchos siglos atrás. En la antigüedad, diversos pueblos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver carne, lo que facilita la acción de proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) sobre las proteínas del tejido animal, provocando su ablandamiento.

Así mismo, algunos grupos humanos utilizaban el estómago de corderos y becerros como recipiente, causando accidentalmente la coagulación de la leche con enzimas asociadas a

este órgano. Ahora se sabe que la acción de las proteasas presentes en el estómago (principalmente quimosina) sobre las caseínas provoca su coagulación, proceso que es indispensable en la manufactura del queso.

En el sector alimentario, el interés actual de la aplicación de enzimas en procesos —tecnología enzimática— se enfoca a la conservación de alimentos o de sus componentes (por ejemplo, vitaminas), al uso más eficiente de materias primas y al mejoramiento de la calidad sensorial de los alimentos (textura y sabor). Así mismo, se han utilizado enzimas para: producir alimentos bajos en calorías y eliminar compuestos anti nutricionales de ciertas materias primas. Otros ejemplos de la tecnología enzimática actual se enlistan a continuación:

- El uso de enzimas en medios no acuosos para la producción de compuestos quirales y para la síntesis de polímeros especiales.
- La síntesis de edulcorantes, como el aspartamo, empleando la reacción inversa de una proteasa.
- La producción de ciclodextrinas a partir de almidón. El diseño de enzimas “a la medida” de acuerdo a los requerimientos del proceso —ingeniería de proteínas y evolución dirigida— logrando modificar su estabilidad térmica o su especificidad.
- La producción a gran escala de enzimas por medios de ingeniería genética. La quimosina recombinante fue la pionera en esta área.
- La aplicación de enzimas o de células inmovilizadas en la producción de materias primas de aplicación en alimentos, como en la producción de jarabes fructosados, de trehalosa y de isomaltulosa; de ácido fumárico; o de aminoácidos como el ácido aspártico o la alanina.

Todas las enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular y sólo presentan actividad cuando tienen una conformación espacial que permite establecer una disposición óptima de los aminoácidos de su centro activo o sitio catalítico. Actualmente se conoce la existencia de más de 3,000 tipos de reacciones catalizadas por enzimas; muchas enzimas ya han sido aisladas, purificadas y cristalizadas.

En muchos casos las enzimas están integradas por una parte de naturaleza proteínica y otra que no lo es; la primera se conoce como apoenzima y la segunda como cofactor. Este último es un compuesto de peso molecular bajo, muy estable al calor, y presenta diversos grados

de unión con la apoenzima; los principales cofactores son: las vitaminas (tiamina, niacina, piridoxina, riboflavina y ácido pantoténico), los cationes (cobre, molibdeno, zinc, magnesio, hierro, manganeso y calcio), los aniones (cloruros) y otras sustancias orgánicas.

Debido a su naturaleza química, a las enzimas les afectan los mismos factores que alteran a las proteínas; por esta razón, para actuar en forma óptima, cada una requiere de ciertas condiciones de temperatura, de pH, de fuerza iónica, etcétera; condiciones en las que la estructura tridimensional es estable y la carga óptima para interactuar con el sustrato.

Muchas enzimas están formadas por una sola cadena polipeptídica, como la lisozima, tripsina y pepsina; sin embargo, muchas otras están compuestas por más de una cadena polipeptídica (multiméricas), por lo que dependen de su estructura cuaternaria para presentar actividad. Algunos ejemplos de enzimas multiméricas son la b-galactosidasa de E. coli, la glucosa oxidasa, catalasa y la polifenoloxidasas.

### **3.1. Enzimas en la industria de alimentos.**

Malteo. Durante la germinación de cereales las actividades de a- y b-amilasa se incrementan considerablemente. Ésta es una función importante en la producción de malta a partir de la cebada, en el proceso llamado de malteo, etapa esencial en la elaboración de cerveza. Este cereal contiene en el endospermo una cantidad abundante de b-amilasa y en el momento de iniciarse la germinación del grano se sintetiza la a-amilasa por acción de las hormonas giberelinas.

Las dos enzimas degradan el almidón y producen dextrinas, maltosa, glucosa y maltotriosa, sustratos que aprovechan las levaduras empleadas en la fabricación de la cerveza. Si hubiera una hidrólisis de almidón insuficiente, se reflejaría en una fermentación lenta o en la producción de bajo contenido de alcohol. Para evitar estos defectos se recomienda agregar a-amilasa exógena. También se puede agregar pululanasa o glucoamilasa para realizar la hidrólisis total del almidón, en la producción de cervezas ligeras, ya que todo el carbohidrato se puede transformar en etanol.

## **Panificación**

La acción amilolítica comienza al mezclar la harina con todos los ingredientes en estado húmedo, produciendo maltosa y algo de glucosa, ya que la harina de trigo contiene mucha más  $\beta$  que  $\alpha$ -amilasa. Los mono y disacáridos obtenidos sirven como sustrato para las levaduras en la producción de anhídrido carbónico y de etanol, así como para efectuar las reacciones de oscurecimiento no enzimático durante la cocción que le dan la coloración característica a los derivados de la panificación. La cantidad de almidón disponible para las enzimas depende del método que se siga para la producción de harina, en términos generales, para tal fin sólo se emplea alrededor del 10% de este polisacárido.

A pesar de que la actividad de la  $\beta$ -amilasa es mayor que la de la  $\alpha$ -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  $\alpha$ -amilasa, habría una hidrólisis mayor del almidón, lo que causaría que la miga se tornara pastosa y débil con un color demasiado oscuro en la costra; en el otro extremo, cuando su actividad es baja, puede provocar una fermentación insuficiente debido a la ausencia de maltosa, pues la  $\beta$ -amilasa actúa mejor sobre las dextrinas generadas por la  $\alpha$ -amilasa; esto modifica además de la textura, el color del pan y su textura. Ambas enzimas se inactivan en la etapa del horneado, aunque la  $\alpha$ - es más termorresistente que la  $\beta$ -amilasa.

## **Producción de edulcorantes**

La aplicación industrial más importante de las enzimas amilolíticas es en la fabricación de diferentes derivados del almidón; en este sentido se emplean conjuntamente varias enzimas en forma escalonada para la producción de edulcorantes, como se describe a continuación.

A una solución de almidón gelatinizado se le añade una  $\alpha$ -amilasa bacteriana termorresistente (de *B. licheniformis*) que esté poco contaminada con proteasas para que la proteína que contiene este polisacárido no se convierta parcialmente en aminoácidos que propician reacciones de oscurecimiento no enzimático, dando una mala apariencia al producto final. Comercialmente existen preparaciones de amilasas con una acción proteolítica baja.

Todos los productos así obtenidos (glucosa, fructosa, dextrinas y los jarabes con un contenido elevado de glucosa y de maltosa), se usan ampliamente en diversas industrias

alimenticias, como las de bebidas, confitería, fermentaciones, helados, alimentos infantiles, y otras.

### **$\beta$ –glucanasas**

Los polímeros celulosa y hemicelulosa constituyen la mayor cantidad de materia orgánica en nuestro planeta ya que forman parte de la pared celular del tejido vegetal. La celulosa también es un polímero de la glucosa, como el almidón, pero con enlaces  $\beta$ -(1-4), lo que resulta en una estructura lineal y extendida del polímero, con diversos tipos de organización estructural —celulosa amorfa, celulosa cristalina. Las celulasas son un sistema complejo de enzimas que hidrolizan las uniones  $\beta$ -(1-4) de los glucanos y se encuentran en la naturaleza en microorganismos que atacan a las plantas, así como en el sistema digestivo de animales herbívoros.

Las pectinasas son texturas de las frutas y las verduras se debe a la presencia de pectinas que forman parte de la pared celular, por lo que la acción de las pectinasas altera las características de estos alimentos.

Estas enzimas se han clasificado en:

- a) pectinometilsterasas o pectinoesterasas que, al hidrolizar los enlaces éster metílico, liberan metanol (que a veces se asocia erróneamente a la fermentación de frutas) y producen pectinas de bajo metoxilo e incluso ácido poligalacturónico; son abundantes e importantes en las frutas, sobre todo en los cítricos como la naranja;
- b) poligalacturonasas, que rompen el enlace glucosídico  $\alpha$ -(1-4) del ácido galacturónico de las pectinas por una acción que se puede llevar a cabo tanto en el interior del polímero (endo) como a partir de los extremos (exo); cuando lo hacen en el interior, la viscosidad se reduce rápidamente; y cuando actúan a partir de los extremos, producen moléculas libres de ácido galacturónico y la viscosidad no se afecta tan rápidamente; junto con la pectinmetilsterasa integran el sistema de pectinasas de las frutas;
- c) pectinoliasas o pectinotranselimininasas, 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  $\beta$ -eliminación, principalmente en las pectinas de alto metoxilo. No se encuentran en las frutas; sólo las producen los microorganismos, por lo que las

contaminaciones microbianas de las frutas (antes o después de la cosecha) traen consigo un deterioro muy grave en la calidad y vida de anaquel del producto, y

d) pectatoliasas que actúan en los ácidos poligalacturónicos o en las pectinas de bajo metoxilo, con una acción similar a la descrita para la pectinoliasa; sólo las producen las bacterias y no se encuentran en forma natural en los vegetales.

En las frutas se encuentran fundamentalmente la pectinmetilesterasa y la poligalacturonasa, cuya acción conjunta en la maduración provoca que las pectinas se degraden y el fruto adquiera una textura más adecuada para el consumidor; por otra parte, una excesiva actividad enzimática causa ablandamiento notorio, pérdida de textura, propicia las condiciones para un ataque microbiano y aumenta la concentración de ácido galacturónico.

La pectinmetilesterasa provoca la formación de un mayor número de grupos carboxilo libres capaces de interaccionar a través de iones divalentes, como el calcio, y crear estructuras tridimensionales más rígidas que aumentan la dureza de los frutos; por esta razón, en ciertos casos es común la adición de calcio para mantener la textura de los productos, sobre todo de los que han sido tratados térmicamente.

Las frutas también incrementan su firmeza cuando se calientan en presencia de sacarosa, ya que ésta al hidratarse, obliga a los polisacáridos de la pared celular a unirse más fuertemente, con lo que se aumenta la rigidez; es un fenómeno similar al que ocurre en la elaboración de mermeladas cuando se usan pectinas de bajo metoxilo en presencia de azúcares.

Los jugos de tomate, naranja, limón, toronja, deben su viscosidad y turbiedad a las pectinas en suspensión que se liberan de sus tejidos en el proceso de extracción; la acción de las pectinasas causa la hidrólisis, la desesterificación y la desestabilización de los coloides, provocando su precipitación y la consecuente pérdida de sus características. El consumidor no acepta estos jugos sin su correspondiente turbiedad; por lo tanto, durante su manufactura es necesaria la inactivación enzimática endógena con tratamientos térmicos que dependen de pH: a medida que éste disminuye se reduce la intensidad del calentamiento, aunque en general, para lograr esto basta un minuto a 80-90°C. Además del pH, la concentración de sólidos (medida como grados Brix) también influye ya que los sólidos tienen un efecto protector sobre la enzima.

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 pectinometilesterasa se usa como índice de la eficiencia del calentamiento.

Su unidad de actividad se define como el número de miligramos de metoxilos liberados por gramo de sólidos solubles por unidad de tiempo. Parece ser que la reactivación de la pectinmetilesterasa es la causante de algunas alteraciones en la textura de frutas como la cereza, pues ocasiona una reducción de las pectinas solubles y un aumento de las insolubles.

Las preparaciones comerciales de pectinasas son en realidad mezclas de la pectinmetilesterasa, la poligalacturonasa y la pectinoliase. Se usan en la extracción, clarificación y filtración de diversos jugos de frutas y de vinos, así como en la elaboración de purés y concentrados frutícolas. En los últimos años se ha propuesto usar una mezcla de pectinasas y de miel para la clarificación del jugo de manzana, ya que existe una acción sinérgica entre ambas; sin embargo, parece ser que el efecto de la miel no se debe a alguna actividad enzimática, sino a la presencia de proteína que forma un complejo con las pectinas, complejo que tiende a precipitar.

### **Inulinasa**

La inulina es un polímero lineal de fructosas unidas con enlaces  $\beta$ -(2-1) con una sacarosa unida en el extremo de la cadena, tiene un peso molecular aproximado de 6,000 Da y sirve como reserva de energía en muchas plantas como la achicoria, la alcachofa y el agave. La inulinasa 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.

**Aplicaciones industriales** Es evidente que la inulina representa una materia prima con gran potencial para la producción de fructosa.

La inulina se extrae de las plantas con agua caliente y se puede hidrolizar químicamente por la adición de ácidos fuertes, a un pH de 1-2, a 80-100°C; sin embargo, la fructosa es inestable a valores de pH ácidos y bajo las condiciones de reacción se obtiene un producto oscuro, por lo que la hidrólisis enzimática ofrece una alternativa importante. En la actualidad, se

aplica para la producción de fructo-oligosacáridos y se ha propuesto como aditivo en el proceso tequilero.

### **Lactasa (b-galactosidasa o lactasa)**

Hidroliza a la lactosa en sus monosacáridos correspondientes galactosa y glucosa y se puede emplear en diversos productos lácteos, sobre todo en los que se elaboran para las poblaciones con intolerancia a la lactosa. Actualmente existe incluso una presentación farmacéutica de la enzima, que se añade a la leche antes de consumirla para reducir la cantidad de lactosa.

### **La Invertasa**

La b-fructofuranosidasa o invertasa hidroliza la sacarosa en sus dos monómeros constituyentes: glucosa y fructosa. Se considera que el proceso de inversión enzimático es mucho más eficiente que el método químico, debido a que no se obtienen subproductos indeseables.

La invertasa está presente endógenamente en varios frutos y vegetales como la papa, pero las preparaciones comerciales se obtienen de levaduras como *S. cerevisiae* y *S. carlsbergensis*, que la producen de manera extracelular. Su mayor aplicación es en la elaboración del azúcar invertido, cuyo impacto en confitería es muy importante en la elaboración de dulces con centro suave, dada la mayor solubilidad de glucosa y fructosa que de la sacarosa.

### **Las enzimas proteasas o proteinasas**

Hidrolizan el enlace peptídico de las proteínas. Existen proteasas comerciales de origen vegetal (papaína, ficina y bromelina), animal (pepsina, tripsina y quimotripsina, renina) y microbianas (de hongos y bacterias). Pueden tener acción endo o exo; en este último caso pueden ser carboxipeptidasas si remueven el último aminoácido del extremo carboxilo, o aminopeptidasas si lo hacen del extremo amino. Su acción es compleja, pues tienen otro grado de especificidad, ya que pueden preferir atacar el enlace peptídico entre aminoácidos específicos.

Por ejemplo, la renina hidroliza preferentemente el enlace entre fenilalanina y metionina de la caseína de la leche. Se pueden clasificar de acuerdo a la química de su mecanismo catalítico en: serino-, tiol-, metaloproteasas y proteasas ácidas.

Las proteasas de origen vegetal, principalmente la bromelina y papaína, son muy activas sobre el tejido conectivo de colágena y elastina y tienen menor preferencia por las proteínas de las fibras musculares, por lo que uno de sus usos principales es en el ablandamiento de la carne. Se prefieren las proteasas vegetales sobre las microbianas para esta aplicación debido a que la especificidad en su modo de acción es inversa, esto es, las microbianas hidrolizan preferentemente las fibras musculares que las del tejido conectivo.

En algunos países era práctica común la inyección de soluciones de esta enzima en el sistema circulatorio de los animales antes de su sacrificio, con lo cual se logra que se distribuya en forma homogénea. Su acción durante el almacenamiento del cuerpo muerto provoca que los tejidos se suavicen; sin embargo, este proceso debe controlarse ya que en exceso puede ocasionar demasiado ablandamiento lo que es indeseable. Por otra parte, existen en el mercado diversos productos a base de papaína, cloruro de sodio y glutamato monosódico que se usan en las cocinas familiares para suavizar la carne; esta enzima es adecuada para este fin ya que actúa a bajas concentraciones y, además, es muy estable a temperaturas altas.

Otra aplicación importante es en la producción de cerveza. Durante el almacenamiento en frío después de la fermentación, la cerveza puede producir un enturbiamiento indeseable provocado parcialmente por la proteína propia de la materia prima empleada; la papaína o bromelina en concentraciones bajas (10 ppm) ayuda a evitar este problema ya que hidroliza los polipéptidos responsables del enturbiamiento.

Una proteólisis excesiva no es deseable, ya que las proteínas de alto peso molecular también son necesarias para la producción y estabilización de la espuma (ver propiedades funcionales de las proteínas), por lo que, si son hidrolizadas en exceso, se obtiene un producto poco espumoso.

Las proteasas del tracto digestivo de los mamíferos se conocen y se han estudiado desde antes que se supiera la naturaleza proteínica de las enzimas. Pertenecen a los diversos grupos de proteasas ya mencionados, pero tienen en común el hecho de que se producen como precursores inactivos o proenzimas, los que se activan al ser secretados al tracto

digestivo del animal. De este grupo las de mayor importancia por su aplicación en alimentos son la pepsina y la quimosina.

La pepsina se produce como pepsinógeno y adquiere su conformación activa por hidrólisis del ácido estomacal. Presenta dos carboxilos en su centro activo, tiene un punto isoeléctrico de 1.0, actúa mejor a pH 1.8 y su peso molecular es de 35,000 Da (321 aminoácidos). Se utiliza como fórmula farmacéutica para mejorar la digestión, así como para producir hidrolizados proteínicos y ocasionalmente para la estabilización de la cerveza.

La quimosina 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 que se transforma en la enzima activa por la acción del ácido estomacal.

Consta de una sola cadena polipeptídica con grupos disulfuros internos. En el sitio catalítico participan los residuos de aspártico de las posiciones 32 y 215. Es muy específica para los enlaces peptídicos cuyo carboxilo pertenece a la fenilalanina o a la leucina; tiene un punto isoeléctrico de 45 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 de la k-caseína, lo que da origen a una secuela de reacciones que provocan la formación de un coágulo; éste es uno de los primeros pasos en la elaboración de los quesos.

La quimosina fue la primera enzima para aplicación en alimentos que fue obtenida por métodos de ADN recombinante.

La quimosina se logró sobre-expresar en una cepa hospedera de origen microbiano (39% con respecto a la cantidad total de proteína), con las siguientes ventajas: aumento en rendimiento y productividad con respecto al método de extracción del estómago de animales; conservación de la alta especificidad requerida, a comparación del uso de proteasas de origen fungal que también se han utilizado para la producción de queso (cuajo microbiano). Los microorganismos hospederos en que se ha expresado son *Escherichia coli* K 12, *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus awamori*. La quimosina recombinante obtenida por estos microorganismos fue aprobada para su utilización en alimentos por la FDA en 1994.

## Proteasas musculares

En los animales, además de las proteasas gástricas, se encuentra un gran número de enzimas distribuidas en diversos tejidos y compartimientos celulares, como los lisosomas que contienen grandes cantidades de enzimas hidrolíticas y que cumplen con una función primordialmente digestiva. En el caso de la carne, el tejido muscular se ablanda de manera natural por acción de diversas enzimas proteolíticas después del rigor mortis, como las calpaínas y las catepsinas.

Las primeras se encuentran en diversos tejidos, pero se ha demostrado en ganado bovino y porcino que, específicamente, las del tejido muscular son las principales responsables del ablandamiento post mortem.

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.

Las proteasas microbianas se utilizan para la producción de hidrolizados de utilidad en la complementación nutricional de alimentos; así como para la recuperación de proteínas de materiales de desperdicio de origen animal, como sangre, vísceras y pescado; también se usan como sustitutos de renina y para la modificación del gluten de la harina de trigo. Esta última aplicación es interesante ya que repercute de manera importante en la calidad y propiedades organolépticas del pan: volumen, dureza, peso, tamaño y homogeneidad de la miga.

Los hidrolizados de proteína se usan mucho como saborizantes en la elaboración de diversos alimentos, por ejemplo, algunos sustitutos de salsa de soya tienen una mezcla de aminoácidos y de péptidos. También se han empleado diversas proteasas para la modificación de proteínas con el objeto de impartirles ciertas propiedades funcionales de las que de otra manera son deficientes; con este método se puede incrementar su capacidad de espumado, emulsificación, solubilidad.

### 3.2. Clasificación de enzimas y sus aplicaciones.

#### Las lipasas

Tienen como sustrato a los triacilglicéridos y dado que tienen actividad esterasa liberan los ácidos grasos correspondientes. Dependiendo del grado de hidrólisis pueden producir diglicéridos, monoglicéridos o incluso glicerol.

Los ácidos grasos libres tienden a ser muy reactivos, especialmente si son insaturados, ya que en contacto con el oxígeno del aire producen rancidez oxidativa (capítulo 4). Las lipasas constituyen una clase especial de esterasas ya que actúan específicamente en ésteres insolubles en agua. Para ser hidrolizados deben estar en emulsión, ya que la enzima actúa en la interfase aceite-agua. El sitio activo de la proteína queda expuesto hacia la región hidrofóbica, pero con acceso a la fase acuosa, pues se necesita la participación de moléculas de agua en la catálisis. Este fenómeno se conoce también como activación interfacial y explica la razón por la que la actividad de las lipasas depende fuertemente del área interfacial.

Se pueden reconocer dos tipos de especificidad de hidrólisis: preferencia por la posición del ácido graso en el triacilglicérido, denominada regioespecificidad, y preferencia por un determinado tipo de ácido graso.

Las lipasas no sólo llevan a cabo reacciones de hidrólisis, sino que también pueden catalizar reacciones de interesterificación y transesterificación que han resultado de mucho interés para la producción de aceites de mejor calidad nutricional y de mayor valor, a partir de aceites baratos. Un ejemplo de esto es la producción de sustituto de manteca de cacao a partir de aceite de palma y ácido esteárico.

Las lipasas están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos. Las de origen animal incluyen la pancreática gástrica, intestinal y la de la leche. Las vegetales abundan en las semillas oleaginosas (soya y cacahuate) y las microbianas son producidas principalmente por hongos y levaduras como *Aspergillus niger*, *Mucor miehei*, *Rhizopus delemar*, *Geotichum candidum*, *Candida rugosa* y *Candida antarctica*.

## **Lipasas vegetales**

Las lipasas endógenas vegetales tienen un efecto no deseable sobre los aceites. El primer paso para la extracción del aceite de soya es triturar el grano; esto favorece la acción lipolítica y la consecuente producción de ácidos grasos libres; los insaturados son más susceptibles a la oxidación libres que en su estado esterificado normal por lo que, el alimento se enrancia más fácilmente. En estas condiciones también se incrementa el índice de acidez que igualmente ocasiona problemas graves de estabilidad.

## **Lipasas animales**

De todas las lipasas, la de la leche es tal vez la que más se ha estudiado y es la causante de la rancidez hidrolítica. Tiene naturaleza de lipoproteína, y debido al fenómeno de activación interfacial, sólo ataca la superficie de los glóbulos de grasa, que está en contacto con la fase acuosa, y no en el interior de los mismos.

La homogeneización provoca la formación de muchos glóbulos de grasa de menor tamaño, lo que causa un aumento de la superficie lípido-agua y favorece la acción de la enzima. Debido a que la leche tiene un elevado contenido de ácidos grasos de cadena corta, resulta particularmente afectada por las lipasas, pues éstas liberan ácidos como butíricos, cáprico y caproico, que tienen olores muy peculiares y que son los responsables de la rancidez hidrolítica.

## **Lipasas microbianas**

Las preparaciones comerciales que se utilizan para la modificación de aceites y grasas provienen en su mayoría de microorganismos. Su mayor aplicación es en la elaboración de diversos productos lácteos, principalmente en la maduración de quesos; en éstos liberan ácidos grasos de cadena corta que contribuyen al aroma o que sirven de sustrato para reacciones secundarias. Por  $\beta$ -oxidación, descarboxilación y esterificación, se producen metil cetonas, alcoholes secundarios, lactonas y ésteres que forman parte de los compuestos que imparten el sabor característico de los quesos madurados. Las lipasas se pueden agregar de manera exógena o pueden ser producidas por los microorganismos presentes en el producto.

Existen varios aditivos comerciales con características sensoriales de derivados lácteos que se producen por la acción de la lipasa sobre la grasa de la leche. En ocasiones, las bebidas

lácteas con sabor a chocolate adquieren su sabor característico con el uso controlado de estas enzimas.

### **Oxirreductasa**

El oxígeno causa cambios en los alimentos, mediante reacciones oxidativas en ocasiones catalizadas por enzimas. Algunos ejemplos son el oscurecimiento de frutas, o la oxidación de ácidos grasos insaturados. Las oxidasas también son responsables de la degradación de vitaminas, como el ácido ascórbico. Para evitar estos efectos, se puede desactivar con calor a las enzimas endógenas, o también se puede eliminar el oxígeno presente del alimento. La revisión de los mecanismos de acción y propiedades de estas enzimas, aportará elementos para poder evitar la pérdida de calidad del alimento.

### **Glucosa oxidasa**

La glucosa oxidasa 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.

Se puede obtener de *Penicillium notatum* o de *Aspergillus niger*; la que proviene de este segundo microorganismo tiene un peso molecular de 160,000 Da, un pH óptimo de acción de 5.5 y posee como cofactor dos moléculas del FAD que se regenera en la reacción; es inhibida por mercurio y plata, generalmente presenta una gran actividad contaminante de catalasa, lo cual es muy deseable para eliminar el  $H_2O_2$  que se produce en la reacción.

La glucosa oxidasa se emplea también para eliminar el oxígeno que pueden contener las bebidas, los aderezos y las mayonesas, ya que es el que inicia muchas de las transformaciones de deterioro en los alimentos. Finalmente, la determinación cuantitativa de la glucosa se puede llevar a cabo con el uso de esta enzima.

### **Catalasa**

En algunas regiones en las que no cuentan con un sistema de refrigeración adecuado para el almacenamiento y el transporte de la leche, utilizan el peróxido de hidrógeno como conservador temporal, en un proceso comúnmente llamado “pasteurización en frío”; se añaden de 1 a 2 ml de  $H_2O_2$  al 33% por litro y así la leche se mantiene en buenas condiciones

hasta que llega a la planta procesadora. Antes de consumirla se debe eliminar el peróxido residual que contiene; esto es de gran importancia, sobre todo para la leche que será utilizada en la fabricación de quesos, ya que de otra manera el  $H_2O_2$  puede inhibir el crecimiento de los microorganismos lácticos que se usan como inóculo. La “pasteurización en frío” también se utiliza en la clara de huevo con el mismo fin.

Esta enzima también se emplea para eliminar el  $H_2O_2$  que la glucosa oxidasa produce durante la transformación de la glucosa en ácido glucónico.

La catalasa está presente en gran cantidad de tejidos animales y vegetales, así como en microorganismos, pero se produce a nivel industrial a partir de *Aspergillus niger*.

La catalasa se utiliza como parámetro para estimar la contaminación microbiana de diversos alimentos, así como la mastitis en las vacas. Esta enzima es constituyente de algunas bacterias aeróbicas (por ejemplo, *Bacillus* spp, *Pseudomonas* spp y enterobacterias), y su concentración se incrementa con el número de microorganismos, por lo que la medición de la catalasa refleja indirectamente la población microbiana de algunos productos, como es el caso de los derivados cárnicos.

### **Lipoxigenasas**

El peso molecular de la lipoxidasa de soya es de 102,000 Da, tiene un punto isoeléctrico de 5.4, un pH óptimo de actividad de 8 a 9, y un número de recambio de 180,000 moléculas de sustrato oxidadas por minuto por molécula de enzima, siendo una de las más activas. Como se indicó en el capítulo 4, la autoxidación de las grasas requiere de una energía de activación de 15.3 kcal/mol; en el caso de la peroxidación con la lipoxidasa de la soya sólo se necesita 4.3 kcal/mol, y la enzima llega a actuar aun a bajas temperaturas. Durante el procesamiento de la soya es indispensable eliminar la acción de la lipoxigenasa, pues de otra manera los productos derivados desarrollan características sensoriales inaceptables.

Generalmente son suficientes los tratamientos térmicos que se requieren para la inactivación de los inhibidores de tripsina, para destruir la enzima. Sin embargo, en ciertos productos como la llamada “leche de soya”, se debe regular el calentamiento, ya que si es excesivo, además de inactivar la enzima se puede provocar la insolubilización de las proteínas de dicho producto.

Dado que la calidad del aceite de soya depende en gran medida de la actividad lipoxigenásica de las semillas, ésta se debe reducir antes de efectuar la extracción, para lo cual se emplea un tratamiento térmico que da mejores resultados si se lleva a cabo bajo presión.

Por otra parte, algunas variedades de esta leguminosa carecen de lipoxigenasa-I y por consiguiente son más estables a la oxidación que las tradicionales. Al igual que en la soya, en otras oleaginosas se observa actividad de lipoxigenasa en las semillas destinadas a la obtención del aceite.

Suponiendo que la enzima llegara a encontrarse en el aceite crudo, ésta se eliminaría en los diferentes pasos que integran la refinación. Por esta razón, su presencia en los aceites refinados es poco probable.

En uniones conjugadas, con una configuración trans, ni los monoinsaturados (como el oleico). Por estas razones, los sustratos más fácilmente atacados son los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico.

### **Transferasas**

Las enzimas de este grupo catalizan la siguiente reacción tipo:  $AB + C \rightarrow A + CB$  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 ocurren una gran cantidad de reacciones de transferencia, muchas de ellas necesitan que el donador esté activo, es decir, que se encuentre en forma de un intermediario de alta energía, como la UDP glucosa, glucosa-I-P o UDP-galactosa; sin embargo, existen algunas que pueden obtener la energía para llevar a cabo la transferencia a partir de la ruptura de enlace de un donador más común, como la sacarosa.

En el área de alimentos las transferasas que tienen mayor relevancia catalizan la transferencia de azúcares, esto es, catalizan reacciones de transglucosilación y no necesitan intermediarios de alta energía.

La dextranasa es una glucosiltransferasa que se produce industrialmente por la bacteria láctica *Leuconostoc mesenteroides*, sintetiza a partir de la sacarosa un polímero de glucosa.

El tipo de polímero sintetizado depende de la cepa productora de la enzima. La dextrana producida puede representar un problema por su alta viscosidad como sucede en la

industria azucarera, donde la contaminación con *L. mesenteroides* provoca no sólo la pérdida de azúcar, sino “lodos” de polímero que pueden tapan las tuberías por donde fluye el jugo de la caña, rico en sacarosa. Algunas bacterias de la boca, como *Streptococcus mutans* o *S. sanguis*, producen una biopelícula, la placa dental, compuesta principalmente por este tipo de polímeros, que cuando son insolubles (alta proporción de enlaces  $\alpha$ -(1-3)) sirven como medio de fijación a la superficie lisa del esmalte de los dientes.

Cuando además de la sacarosa se encuentra presente otro azúcar de bajo peso molecular en el medio de reacción, éste actúa como aceptor del residuo glucosilo, lo que origina la síntesis de oligosacáridos con un número de residuos que varía de 2 a 7, lo que se denomina reacción de aceptor. La cepa de *L. mesenteroides* NRRL B-1299, se caracteriza por catalizar la transferencia de glucosilos con enlace  $\alpha$ -(1-2), y al hacerlo a la maltosa, produce gluco-oligosacáridos que contienen este tipo de enlace en el extremo no reductor y una molécula de maltosa en el extremo reductor.

Tales oligosacáridos han demostrado su utilidad como prebióticos, ya que no son metabolizados por los humanos, pero sí por el microbiota benéfico intestinal. También se han comercializado en formulaciones cosméticas, ya que promueven el crecimiento del microbiota benéfico de la piel, en detrimento del desarrollo de microorganismos que pueden causar enfermedades como el acné.

La dextrana, a su vez, se ha utilizado como agente viscosante, particularmente de alimentos lácteos. La levansacarasa reconoce azúcares con enlace  $\beta$ -(1-2) entre una glucosa y una fructosa, por lo que su sustrato más abundante en la naturaleza es la sacarosa. En la reacción de polimerización, se produce levana, ésta presenta enlaces  $\beta$ -(2-6) en la cadena principal y algunas ramificaciones en  $\beta$ -(2-1).

En la reacción de aceptor, transfiere el fructosilo al hidroxilo del CI del aceptor, que puede ser metanol, glicerol u oligosacáridos. En algunas cepas productoras de levansacarasa, ésta puede hidrolizar a la levana producida, la hidrólisis se detiene en los puntos de ramificación; tal es el caso de la enzima producida por *Rahnella aquatilis*, mientras que en la de *Zymomonas mobilis* no presenta tal actividad hidrolítica.

Las funciones de la levana en bacterias están relacionadas con simbiosis (*B. polymyxa*), fitopatogénesis (*Erwinia amylovora*) o respuesta a estrés (*B. subtilis*). Su aplicación no se ha concretado totalmente debido a la falta de información sobre sus características funcionales;

sin embargo, se ha propuesto su uso como estabilizador de emulsiones, agente encapsulante o acarreador de colores, sabores y/o fragancias en la industria de alimentos. Un grupo particular de fructosil transferasas de origen fúngico puede transferir fructosa a la propia sacarosa que sirve de sustrato, dando lugar a fructo-oligosacáridos (FOS), con enlaces β-(2-1) entre las fructosas. Los FOS son los prebióticos más exitosos de la industria alimentaria.

También pueden obtenerse por hidrólisis ácida de la inulina extraída de la chicoria. Los fructo-oligosacáridos presentan una aplicación potencial como edulcorantes no calóricos, no cariogénicos y prebióticos.

### **Isomerasas**

**Glucosa isomerasa.** Es una de las enzimas industriales más importantes en el área de procesamiento de almidón, cuyo uso data de los años 60s. El sustrato natural de esta enzima es la D-xilosa, que se isomeriza a D-xilulosa, por lo que su nombre correcto es xilosa isomerasa; en la industria alimentaria se utiliza para la isomerización de D-glucosa a D-fructosa, reacción muy importante, ya que constituye la última etapa en la producción de jarabes altos en fructosa. Destaca el hecho de que este último paso se lleva a cabo de forma continua, por lo que la aplicación de la enzima inmovilizada es esencial.

La glucosa isomerasa fue una de las primeras enzimas que se utilizó como biocatalizador a nivel industrial. El biocatalizador está constituido por partículas de 1-2 mm de diámetro, se encuentra empacado en columnas de hasta 1.5 m de diámetro y 4-5 m de altura, que pueden contener hasta 4,000 kg de enzima y producir hasta 500,000 kg de fructosa (peso seco) por día. La reacción se lleva a cabo aproximadamente a 60°C y pH 7.5, pero por razones termodinámicas, la reacción llega al equilibrio cuando sólo un 50% del sustrato se ha transformado.

Conforme la enzima va perdiendo actividad al transcurso de las semanas de operación, el flujo de entrada del sustrato al sistema se ajusta, de manera que el tiempo de residencia aumente y se logre una conversión del 42%; es decir, que la composición final del jarabe sea 42% de fructosa, 54% de glucosa y hasta 4% de oligosacáridos. Para aumentar el contenido de fructosa, es posible separar glucosa y fructosa en columnas de intercambio iónico y reciclar al reactor la glucosa.

Es una enzima, generalmente intracelular, y está ampliamente distribuida en la naturaleza; sin embargo, sólo algunos microorganismos se han utilizado para su producción industrial.

### **3.3. Enzimas inmovilizadoras.**

En los últimos años se han llevado a cabo muchas investigaciones en relación con la posible utilización de las enzimas y de las células que las producen, en sistemas continuos de producción; para conseguir esto; tanto las enzimas como las células se inmovilizan en un soporte de manera que el sustrato se vaya transformando continuamente sin que se pierda la enzima, como ocurre con el método de lote o batch.

Sin embargo, a pesar de todos los esfuerzos y desarrollos tecnológicos en este campo, estos métodos presentan todavía muchos problemas, por lo que no se han podido utilizar en forma generalizada.

Entre los métodos más comunes de inmovilización podemos mencionar la absorción en soportes poliméricos, como los de polivinilo y de poliacrilamida; la microencapsulación en membranas semipermeables de celulosa o nylon; el entrecruzamiento para formar un producto insoluble y la unión covalente a soportes insolubles.

Esta metodología ha permitido que se diseñen electrodos que, a semejanza de los de un potenciómetro para medir pH, se utilizan en la determinación de diversos compuestos, como los azúcares. En nivel comercial pocas son las enzimas que se emplean de esta manera; entre ellas, destacan la glucosa isomerasa y la aminoacilasa.

Una enzima es una proteína que actúa disuelta en un medio acuoso, por lo que su recuperación para un segundo uso es prácticamente imposible, a menos que se sujete a un soporte sólido que pueda recuperarse y emplearse repetidas veces o incluso empacarse en una columna por la que se haga pasar la corriente líquida con el sustrato. Esto es particularmente importante para aquellas enzimas de alto costo. En algunos casos no es deseable que la enzima activa quede en el producto, por lo que se hace necesario un proceso de inactivación, que podría actuar en detrimento a la calidad del mismo.

Por lo anterior desde 1960 se han desarrollado un sin fin de número de formas en las que una enzima puede unirse a un soporte sólido de manera que se facilite su recuperación del medio de reacción o su uso continuo. Además, estas formas proporcionan generalmente

mayor estabilidad a la enzima al restringir el movimiento de la molécula. Se han desarrollado biocatalizadores con enzimas puras o parcialmente puras con células inmovilizadas conteniendo una actividad enzimática.

La aplicación de sistemas inmovilizados directamente en alimentos es limitada, principalmente debido a que los sistemas alimentarios son físicamente complejos, lo que dificulta el contacto de la enzima con el sustrato; sin embargo, estos sistemas son de gran valor para transformar sustratos en solución.

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.
- 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.

Algunos de las consideraciones para la elección del método de producción del biocatalizador son el rendimiento de inmovilización, la carga máxima de enzima que puede ser inmovilizada la estabilidad operacional del biocatalizador, la estabilidad del soporte ante las condiciones de operación del reactor, difusión del sustrato hacia la enzima y de los productos hacia fuera 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 el producto difundan libremente a través de la membrana. Es importante no confundir un proceso enzimático con células completas, con una fermentación o bioconversión con células inmovilizadas.

### **3.4. Purificación de enzimas a partir de alimentos.**

Esta sección mencionará algunos de los aspectos más relevantes de las enzimas cuyas actividades son importantes en la conservación y procesamiento de alimentos o en la producción de materias primas. Se revisarán a las enzimas que hidrolizan carbohidratos, enzimas que hidrolizan proteínas, a las que hidrolizan lípidos y otras reacciones enzimáticas que son importantes en sistemas alimenticios. En el cuadro se presenta resumen de las aplicaciones más importantes de enzimas en alimentos.

Aun cuando se sabe que las propiedades de las enzimas in situ pueden ser muy diferentes a las de las enzimas puras estudiadas en el laboratorio, está plenamente justificada la necesidad de tener preparaciones puras para hacer el estudio químico completo de su actividad. En la actualidad se han cristalizado o purificado de manera adecuada cerca de unas 200 enzimas (del posible total de unas 5000) y quizás en los próximos años aumente de modo considerable este número.

Para extraer las enzimas de las células que las contienen, a menudo es necesario dividir finamente el tejido, por medio de un homogeneizador o una licuadora; los tratamientos más enérgicos comprenden la molienda del tejido con arena el empleo de vibraciones ultrasónicas, los procesos alternados de congelamiento y descongelamiento, la autólisis, el desecado con calor o el empleo de solventes como la acetona, el éter y el tolueno. El desecado con acetona y la producción de los llamados polvos acetónicos constituyen un excelente ejemplo de rotura de la membrana celular y la obtención de un material rico en enzimas y de fácil conservación.

Cuando las enzimas están asociadas a lípidos, como sucede con las enzimas mitocondriales, es ventajoso el tratamiento con sustancias de tipo detergente o con butanol que disgregan la estructura lipoprotéica y permiten la salida de las enzimas.

La purificación de las enzimas con método de precipitación fraccionada recurre a diversos procedimientos, el cambio de pH quita las nucleoproteínas y el material grueso, con lo que se facilitan los pasos siguientes. Con el empleo del calor a veces se logra la desnaturalización de material proteico inactivo.

En otros casos se emplean solventes orgánicos como el etanol, muy utilizado para separar diversas proteínas del suero sanguíneo y la acetona; o las sales, como el sulfato de amonio,

que es muy soluble en agua, por lo que se puede manejar a elevadas concentraciones, y en general no ataca la estructura de las enzimas.

La absorción fraccional tiene gran utilidad para absorber gran material indeseable o para absorber la enzima y luego desprenderla del material absorbente en una forma más pura; muy usado con este fin en el gel de aluminio C.

En los últimos años se han logrado adelantos notables en materia de fraccionamiento proteico con el empleo de técnicas cromatográficas en columnas que se basan en fenómenos de absorción, de intercambio iónico o de una verdadera "filtración molecular". Se agrega a una columna con el material activo la solución de la enzima que queda fijada a dicho material; se lava la columna con soluciones de sales, cada vez más concentradas o con distinto pH, etc. y se recogen los lavados en fracciones de volúmenes determinadas; en alguna porción sale la enzima en estudio, en forma más pura.

El paso final de la purificación es el de la cristalización de la enzima que debe repetirse varias veces pues los primeros cristales suelen estar contaminados con otras enzimas. A pesar de esto, la obtención de cristales no demuestra que la enzima esté 100% pura, es solo obtención de una actividad específica de un valor constante ante las recristalizaciones repetidas la que ofrece la seguridad de su pureza.

El estudio de la pureza de una enzima comprende la aplicación de las técnicas empleadas para el estudio de la pureza de las proteínas, el análisis por ultracentrífuga, el análisis electroforético, etc. Sin embargo, aún es posible, si se somete la enzima a fraccionamientos más sensitivos, como los de la electroforesis en gel de agar, de almidón, o de acrilamida demostrar que la enzima en cuestión puede estar formada por varias proteínas, algunas de las cuales tienen la misma actividad enzimática, pero que por tener propiedades físicas o estructurales diferentes se deben considerar como isoenzimas, y otras que son proteínas que se han procesado a lo largo de todas las etapas de purificación.

En general las enzimas se consideran especies químicas homogéneas y puras cuando llenan requisitos como los siguientes: su actividad no debe aumentar después de que se la recristaliza repetidas veces; su solubilidad no aumenta al elevar la cantidad de cristales de la proteína problema que se pone en solución; tanto en el análisis realizado con la ultracentrífuga como en los diversos métodos electroforéticos se encuentra un patrón de movilidad único y persistente.

### **3.5. Enzimas como reporteros bioquímicos del procesamiento de alimentos**

El control de calidad de ciertos alimentos se puede llevar a cabo rutinariamente de manera indirecta a través del análisis de la actividad de ciertas enzimas; la presencia o la ausencia de algunas enzimas en particular se relaciona con una determinada condición microbiológica o química de un producto.

Por ejemplo, la pasteurización y el escaldado son procesos térmicos que se han diseñado para la eliminación de ciertas enzimas o microorganismos. En este sentido, se ha encontrado que la inactivación de la peroxidasa, puede indicar el grado de escaldado en vegetales, que como ya se ha explicado anteriormente, se utiliza para inactivar enzimas que causan el oscurecimiento de tejidos vegetales. Si la peroxidasa se inactiva totalmente, eso indicaría un tratamiento excesivo que repercutiría en detrimento de la textura del vegetal.

El tratamiento correcto sería tal que se conservara del 5 al 10% de la actividad presente originalmente. La actividad de esta enzima también se ha utilizado para determinar el tratamiento óptimo para desnaturalizar enzimas lipolíticas que pueden causar rancidez en avena.

Otro ejemplo importante es la determinación de la actividad de la fosfatasa alcalina endógena de la leche, 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.

**CUADRO 5.20** Enzimas como índice de calidad de alimentos<sup>16</sup>

<i>Propósito</i>	<i>Enzima</i>	<i>Alimento</i>
Evaluación de tratamiento térmico	Peroxidasa	Vegetales
	fosfatasa alcalina	Leche, lácteos
	$\beta$ -acetilglucosaminidasa	Huevo
Evaluación de congelación/descongelación	Enzima málica	Ostras
	Glutamato oxaloacetato transaminasa	Carne
Evaluación de contaminación bacteriana	Fosfatasa ácida	Carne, huevo
	Catalasa, reductasa o glutamato descarboxilasa	Leche
Detección de infestación de insectos	Uricasa	Cereales, frutas
Índice de frescura	Lisolecitinas, xantino oxidasa	Pescado
Índice de madurez	Sacarosa sintetasa	Papas
	Pectinasa	Peras
	Amilasa	Harina
Indicador de germinación	Peroxidasa	Trigo
Modificación de color	Polifenol oxidasa	Café, trigo, aguacate, duraznos
	Succinato deshidrogenasa	Carne
	Aliinasa	Cebolla, ajo
Indicador de sabor	Glutaminil traspeptidasa	Cebolla
	Proteasas	Digestibilidad
Índice de calidad nutricional	Ureasa	Inhibidores de proteasas
	L-aminoácido descarboxilasa	Aminoácidos esenciales
	Lisina descarboxilasa	Lisina

El extraordinario desarrollo de las técnicas de manipulación de ADN ha tenido un efecto muy importante en la producción de enzimas utilizando microorganismos, ya que se han podido sobre expresar en organismos diferentes lográndose una mayor productividad o se han modificado sus características operacionales de acuerdo a las necesidades industriales. El principio de la tecnología de ADN recombinante, o ingeniería genética, es la clonación, que consiste en obtener el gen que codifica para la proteína de interés para después insertarlo en un vector que, generalmente, tiene una alta frecuencia de replicación. Posteriormente, varias moléculas del vector, con el gen clonado, se introducen en un organismo hospedero donde se va a producir la enzima de interés, proceso conocido como: transformación.

El gen, una vez clonado, puede ser sujeto a modificaciones en su secuencia, con el fin, por ejemplo, de aumentar la termo estabilidad, mejorar la eficiencia catalítica o modificar la especificidad enzimática, actividad que se conoce como “ingeniería de proteínas”. Los avances, utilizando esta tecnología, han hecho posible clonar y manipular cualquier gen, así

como sobre producir la proteína de interés en un hospedero de naturaleza bacteriana o fungal, preferentemente. *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* se utilizan como hospederos cuando se busca una alta expresión de enzimas no glicosiladas.

En particular se elige al bacilo cuando se quiere que la enzima se produzca extracelularmente. Levaduras como *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* o *Pichia pastoris* y hongos como *Aspergillus niger*, son los hospederos de elección cuando se trata de expresar una proteína extracelular que requiere ser glicosilada.

Los procedimientos para la transferencia de genes entre especies, que pueden estar muy alejadas filogenéticamente, tuvieron algunos problemas en el inicio, sobre todo cuando se intentó clonar genes de organismos eucariotes en procariotes debido a la presencia de intrones, fragmentos del gen que no codifican para la proteína, y que los últimos no son capaces de procesar.

El problema se resolvió partiendo del ARN mensajero maduro, que ya ha eliminado autocatalíticamente los intrones, para la síntesis del ADN complementario (cADN) utilizando la enzima transcriptasa reversa. Una vez teniendo el cADN se siguió la misma metodología para clonar en un vector de expresión y poder transformar a la célula hospedera. Éste fue el procedimiento utilizado para clonar la quimosina, de origen bovino, en hospederos como *E. coli*.

### **3.6. Producción industrial de enzimas a través de los alimentos**

Los alimentos son parte de nuestra vida diaria y es muy común que los consideremos principalmente desde un punto de vista culinario, o quizá, de repente, algunos de nosotros les lancemos una fugaz mirada desde una óptica nutricional. Esta vez, los invitamos a observarlos desde un enfoque más profundo, ya que todo lo que constituye nuestra alimentación está formado por compuestos químicos más o menos complejos. Ya sea que estemos saboreando una fruta fresca, un mole poblano, un jugo de manzana o un vaso de leche, ahí está presente la química, y la bioquímica también.

En efecto, los alimentos se pueden observar desde el punto de vista químico como una mezcla de moléculas entre las que se encuentran principalmente proteínas, carbohidratos, lípidos y agua; así como el resultado de reacciones que se dan entre dichos componentes

para generar otras moléculas que aportan características sensoriales al alimento, como ocurre con el oscurecimiento de la costra del pan al ser horneado.

Mientras que la bioquímica, por otro lado, permite explicar algunos cambios que ocurren cuando hay alguna actividad biológica implicada, por ejemplo, cuando se oscurece un plátano o una manzana al quitarles la cáscara y exponerlos al aire. Es normal que no seamos conscientes de que nuestra alimentación comprende el consumo de tejidos vegetales y animales (crudos o procesados), así como productos relacionados con el metabolismo de microorganismos sobre sustratos animales o vegetales, tales como los alimentos fermentados, por ejemplo, el yogurt, la cerveza o el pan.

Actualmente se sabe que la primera etapa de la fermentación alcohólica se lleva a cabo por 10 enzimas y se llama glucólisis, del griego glycos (azúcar) y lysis (ruptura). Como producto de la glucólisis se obtiene piruvato, el que transforma en etanol debido a la acción de dos enzimas más. Buchner nunca imaginó la importancia que las enzimas tendrían décadas después de sus descubrimientos, ya que en la actualidad muchos de los procesos industriales se llevan a cabo en presencia de estas proteínas catalizadoras (aceleradoras) de reacciones químicas.

Adicionalmente, ahora sabemos que virtualmente todas las reacciones en los seres vivos son catalizadas por enzimas. Las enzimas son proteínas que forman parte de las células de todos los seres vivos. Debido a que son capaces de acelerar la velocidad de reacciones químicas es que se les considera catalizadores biológicos y son esenciales para que la célula esté metabólicamente activa. Sin ellas, muchas de las reacciones químicas dentro de la célula serían muy lentas, tanto, que no serían compatibles con la vida.

En el área de alimentos, las enzimas juegan un papel destacado, dado que muchas reacciones catalizadas por éstas se llevan a cabo en los alimentos o en procesos alimentarios, tanto que el 30% de las enzimas que se producen industrialmente se utilizan en el área de alimentos y bebidas. Estas proteínas se clasifican de acuerdo con las reacciones que catalizan en: oxidoreductasas (aceleran reacciones de óxido-reducción), transferasas (transfieren grupos químicos entre moléculas), hidrolasas (rompen o sintetizan enlaces covalentes de las moléculas), liasas (rompen enlaces formando a su vez dobles ligaduras), isomerasas (catalizan un rearrreglo espacial de grupos químicos en la molécula sin modificar su

composición química) y ligasas (promueven unión covalente de dos moléculas acopladas con la ruptura de un enlace pirofosfato como fuente de energía).

Las enzimas pueden estar relacionadas directamente con las reacciones metabólicas de las células que constituyen un alimento. Por ejemplo, el que un fruto madure depende directamente de un grupo de enzimas que se expresan diferencialmente de acuerdo con la etapa de maduración. Este es el caso de las pectinasas del jitomate, manzanas y peras, entre otras, que son responsables del ablandamiento que sufren los frutos al madurar.

Actividades:

El alumno realizará un cuadro sinóptico de la unidad.

Lectura 7

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Enzimas. Qué son las Enzimas”. **Principios de Bioquímica, de Lehninger** (ver bibliografía). Páginas 189 - 191.

Lectura 8

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Las Enzimas como catalizadores: Cinética enzimática”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 279 - 291.

Lectura 9

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Enzimas y su importancia en los alimentos”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 299 - 329.

## UNIDAD 4

### Otros constituyentes naturales

#### 4.1. Vitaminas.

Las vitaminas son nutrimentos que facilitan el metabolismo de otros nutrimentos y mantienen diversos procesos fisiológicos vitales para todas las células activas, tanto vegetales como animales. En los alimentos se encuentran en cantidades muy pequeñas, que van de unos cuantos microgramos hasta 200 mg por kilogramo, lo que representa desde 1/10,000 hasta 1/100,000,000 de la dieta. Sin embargo, si su presencia pasa desapercibida su ausencia, que se acompaña de cuadros clínicos graves y aparatosos, es sumamente notoria.

Los problemas ocasionados por su carencia son conocidos desde la época de las antiguas civilizaciones de Egipto, Grecia y Roma; de tal forma que, en el papiro de Ebers, escrito hace 3,500 años, se hace referencia a enfermedades como el escorbuto, el raquitismo y la ceguera nocturna; actualmente se sabe que estos problemas de salud se relacionan con la falta de vitaminas.

En 1912, Casimiro Funk aisló una fracción del arroz que curaba el beriberi; debido a que ésta tenía propiedades de amina (tiamina), la llamó vitamine (del inglés vital amine), que significa amina vital o indispensable para la vida. Posteriormente se encontró que no todos estos compuestos eran aminas, y en lugar de vitamine se les designó con el nombre de vitamin. En 1948, con el descubrimiento de la cianocobalamina, se terminó el periodo de 36 años en el que se identificó al resto de las vitaminas.

El término vitamina puede resultar confuso para mucha gente que le atribuye a estos compuestos poderes —mágicos—, que proporcionan salud y fuerza por el solo hecho de consumirlas; nada más alejado de esto. La mejor forma de obtenerlas es mediante la ingesta de una dieta equilibrada y sólo en casos muy concretos se debe acudir a las presentaciones farmacéuticas. Los excesos y sobredosis de vitaminas, como la A, D y B6, traen consigo intoxicaciones, algunas incluso pueden ser graves.

Bajo este nombre se agrupan 13 compuestos con estructuras químicas orgánicas muy distintas, que funcionan en concentraciones pequeñas (por eso se clasifican como

micronutrientes), comparadas con los macronutrientes en su conjunto. Las vitaminas, como tales, no generan energía, pero actúan en el control de diversas reacciones propias del anabolismo y del catabolismo de hidratos de carbono, de proteínas y de grasas, que a su vez generan energía y propician la síntesis de otros compuestos, además de que facilitan algunos mecanismos fisiológicos. Cabe mencionar que, en ciertos casos, esta actividad biológica no es exclusiva de un sólo compuesto ya que hay varias sustancias, llamadas vitámeros, que cumplen la misma función en el hombre, aunque con diferente poder vitamínico.

Por ejemplo, en la vitamina B6 existen tres vitámeros: piridoxina, piridoxal y piridoxamina; dos en la niacina: ácido nicotínico y nicotinamida; dos en la D: ergocalciferol y colecalciferol; dos en la C: ácidos ascórbico y deshidroascórbico; ocho en la E: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles; etcétera. Por otra parte, en muchos alimentos, las vitaminas se encuentran en una forma química inactiva sin funcionalidad, como la niacina, por lo que se requiere convertirlas a su estado activo a través de diversas reacciones.

También existen las provitaminas o precursores, como los carotenoides que en sí no tienen actividad biológica, pero que se convierten en vitamina A en el tracto gastrointestinal. Todavía no se conoce perfectamente la función que desempeña cada una de ellas en el hombre, aunque su importancia se ha demostrado en muchas ocasiones, ya que su deficiencia produce malestares o enfermedades, a pesar de consumirse una dieta rica en los demás nutrientes.

Para el buen funcionamiento del cuerpo humano se llevan a cabo miles de transformaciones químicas que requieren de las correspondientes enzimas con sus respectivos cofactores, muchos de los cuales son vitaminas; y se les llama indispensables porque el organismo, al no sintetizarlas todas en cantidades suficientes, requiere ingerirlas de la dieta diaria; la microflora intestinal del hombre, y la de muchos animales, constituida por varias decenas de especies que viven simbióticamente es capaz de producir cantidades importantes de algunas de ellas, como biotina, ácido pantoténico, cobalamina y vitamina K, y en menor proporción, tiamina, niacina, ácido fólico, vitamina B6 y riboflavina. Parte de estas vitaminas es aprovechada al ser absorbida directamente a través de la pared del tracto gastrointestinal; la ingesta de antibióticos destruye dicha microflora y trae consigo una reducción en la síntesis de estos nutrientes.

Los requerimientos diarios de vitaminas varían entre mujeres y hombres y también con la edad, así como en el caso de las mujeres embarazadas y lactantes. En el cuadro 6.1 se muestran las recomendaciones de consumo de vitaminas y de algunos elementos químicos para tres grupos de la población mexicana; debido a que se trata de información oficial, con base en estos datos se calculan los aportes indicados en las etiquetas de los productos comerciales. Observe que, en el caso de las vitaminas, la máxima cantidad corresponde a 60 mg de la C, mientras que de la B12 es de tan sólo 2 mg; es decir, hay una diferencia de 30,000 veces entre las dos recomendaciones. En general, las dietas balanceadas constituidas por una amplia variedad de alimentos son suficientes para satisfacer todos los requerimientos vitamínicos diarios.

En algún tiempo, a dicha lista de 13 vitaminas se le incluyeron otras sustancias, como el ácido orótico (llamada vitamina B13), el inositol, el ácido lipoico, la rutina (vitamina P), la colina (forma parte de la lecitina y de la acetilcolina, un neurotransmisor), la xantopterina (vitamina B14), el ácido pangámico (vitamina B15), la carnitina (vitamina T), los flavonoides y la ubiquinona, pero en general no han sido aceptadas como tal por ser dispensables y desconocerse los problemas que causa su carencia en la dieta.

La disponibilidad comercial de las vitaminas sintetizadas químicamente o por métodos biológicos hace que la industria alimentaria pueda emplearlas en una forma muy variada; se utilizan para fortificar algunos productos de consumo cotidiano y también como antioxidantes y hasta como colorantes. De todos, el aspecto más importante es el empleo de las vitaminas como nutrimentos, sobre todo en aquellos alimentos que por razones de procesamiento las han perdido.

El técnico puede contribuir considerablemente a mejorar el bienestar y la salud del público consumidor al manejar los productos de tal manera que la destrucción de nutrimentos sea mínima o añadir éstos cuando así se requiera. Las vitaminas no pertenecen a un grupo específico de compuestos y tienen estructuras químicas diferentes entre sí; debido a esto no se han podido clasificar con base en su estructura, sino más bien por su solubilidad: liposolubles e hidrosolubles.

**CUADRO 6.1** Ingestión diaria de nutrimentos recomendada en México<sup>45</sup>

<i>Nutrimentos</i>	<i>Adultos</i>	<i>Niños de 6 a 11 meses cumplidos</i>	<i>Niños de 1 a 3 años cumplidos</i>
Proteína, g	75	14	20
Vitamina A, $\mu\text{g}$ equivalentes de retinol*	1,000	400	400
Vitamina E, mg	10	4	6
Vitamina C, mg	60	40	40
Tiamina, mg	1.5	0.45	0.7
Riboflavina, mg	1.7	0.55	0.8
Niacina, mg equivalentes**	20	7	9
Vitamina B <sub>6</sub> , mg	2	0.60	1
Folacina, $\mu\text{g}$	200	35	50
Vitamina B <sub>12</sub> , $\mu\text{g}$	2	0.5	0.7
Calcio, mg	800	600	800
Fósforo, mg	800	500	700
Hierro, mg	15	10	15
Magnesio, mg	350	60	80
Zinc, mg	15	5	15
Yodo, $\mu\text{g}$	150	50	70

\*Un equivalente de retinol = 1  $\mu\text{g}$  de retinol o 6  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno.

\*\*Un equivalente de niacina = 1 mg de niacina o 60 mg de triptófano.

### Contenido de vitamina en los alimentos.

Al revisar las diversas fuentes de información sobre el contenido vitamínico de los alimentos se encuentra que existen grandes variaciones, algunas muy importantes; éstas se acentúan aún más en productos procesados, sometidos a alguna transformación que provocó modificaciones en sus constituyentes. En general, los vegetales contienen una mayor proporción de hidrosolubles que de liposolubles, situación que se invierte en los alimentos de origen animal; sin embargo, hay varias excepciones, como las espinacas y las coles, ricas en vitamina K, las oleaginosas que tienen un porcentaje importante de vitamina E, o del hígado de distintos animales que son buena fuente de algunas vitaminas hidrosolubles.

Su concentración en los vegetales está en función de aspectos genéticos, prácticas culturales, radiación solar (influye en la vitamina C y la tiamina), disponibilidad de agua, época del año, fertilización, temperatura promedio (influye en los carotenos), topografía, cosecha, almacenamiento, madurez en el momento del consumo, forma de preparación en el hogar, etcétera; todos estos factores causan las discrepancias observadas en la literatura.

Por su parte, el contenido de vitaminas en el huevo, la carne, la leche, etcétera, depende de la raza, de la dieta y de la salud del animal, entre otros factores; el suministro de

suplementos con vitaminas liposolubles a los animales se refleja en el alimento producido, pero esto no sucede normalmente con las hidrosolubles.

Algunas frutas, como las fresas, sintetizan el ácido ascórbico paralelamente a los pigmentos, aun cuando éste disminuye una vez recolectadas; en el caso de las ciruelas, la situación es inversa, puesto que el contenido se incrementa después de la cosecha. La cantidad de tiamina de la manzana está en relación con su estado fisiológico.

Incluso, dentro de un mismo fruto, la distribución de vitaminas no es homogénea; como en el durazno, en el que existe un incremento de concentraciones del centro hacia el exterior; esta heterogeneidad también se presenta en muchos otros productos, como la manzana, que acumula hasta el 80% de ácido ascórbico en la cáscara, o la zanahoria que es abundante en niacina en su parte más externa; en el corazón o centro de la piña se encuentra la mayor cantidad de vitamina C. En diversas frutas, como en los cítricos (naranja y limón), de un 50 a un 60% del ácido ascórbico está presente en el albedo y flavedo, partes de la corteza que generalmente no se consumen; el contenido vitamínico incluso varía de acuerdo con la localización del fruto en el árbol, los más externos contienen una mayor proporción que los internos, por la incidencia solar.

Por su parte, la germinación de algunas semillas propicia la síntesis de vitaminas, como es el caso de la soya y de los chícharos, que incrementan considerablemente su concentración de ácido ascórbico, riboflavina, niacina y biotina. En los cereales (arroz, trigo, centeno, avena, etcétera), estos nutrimentos por lo general se ubican en la cascarilla que los cubre, por lo que la eficiencia de su molienda y de su extracción industrial determina la concentración residual de vitaminas. En el caso del arroz, la molienda provoca un desperdicio de salvado, germen y cascarilla que hace que se pierda un porcentaje elevado de estos nutrimentos.

### **Vitamina liposoluble.**

Las vitaminas de este grupo (A, D, E y K) son solubles en disolventes orgánicos y en aceites, pero insolubles en agua; sin embargo, comercialmente existen preparaciones micro encapsuladas en gomas y en otros polímeros hidrófilos, que las hacen estables en soluciones acuosas. Sus estructuras contienen dobles enlaces sensibles a las reacciones de oxidación (más la A y la E).

El hombre, al igual que otros mamíferos, las retiene en el tejido adiposo, principalmente del hígado, por lo que una persona bien alimentada puede sobrevivir durante varias semanas sin necesidad de consumirlas; por el contrario, las hidrosolubles, deben ingerirse de manera sistemática, ya que no se almacenan tan fácilmente y pueden presentarse problemas si no se ingieren. Su función biológica no está muy clara, se conoce menos que la de las hidrosolubles, y hasta ahora no se ha observado que tengan acción como coenzima en alguna reacción específica. Sin embargo, sí se identifican las enfermedades y los problemas que puede ocasionar su ausencia en la dieta; en este sentido, de las cuatro, las actividades fisiológicas que mejor se entienden son las de la A y la D.

### **Vitamina A.**

Esta vitamina se encuentra sólo en el reino animal, principalmente en el hígado, así como en la leche, el huevo, el pescado, etcétera. Desde hace miles de años en Egipto y en Grecia se sabía que para curar la ceguera nocturna era necesario consumir hígado; esta vitamina puede presentarse en las formas retinoides de alcohol o retinol, de aldehído o retinal y de ácido retinoico.

En los vegetales no existe como tal, pero sí como sus provitaminas o precursores carotenoides, de los cuales existen más de 500, aun cuando el b-caroteno es el más importante, seguido de otros como el b-apo-89-carotenal, la criptoxantina, el a-caroteno, etcétera. En la conversión del b-caroteno en vitamina A, ocurren reacciones de oxidación-reducción que primero lo transforman en retinal, después en retinol, para finalmente almacenarse en el hígado como el derivado palmitato.

En teoría, la ruptura enzimática de los dos carbonos centrales del b-caroteno en la mucosa intestinal liberaría dos moléculas de retinal; sin embargo, en la práctica esta transformación no se logra totalmente y sólo se alcanza el 50% de efectividad; por esto el b-caroteno, que es la provitamina más activa, sólo tiene un poder del 50% de la vitamina A. Para hacer referencia a su potencia biológica y a las recomendaciones de consumo, en la literatura técnica se emplean diversos términos, como Unidad Internacional, UI; Equivalente de Retinol, ER, (RE en inglés, Retinol Equivalent), y otros, que llegan a ocasionar confusiones. La UI corresponde a 0.3 mg de retinol, a 0.6 mg de b-caroteno, o a 0.344 mg de acetato de trans-retinilo, mientras que el ER, equivale a 1 mg de retinol o a 6 mg de b-caroteno.

Aunque no se conoce totalmente su función biológica, 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 e de la lisina, en la síntesis del pigmento rodopsina; en el ciclo visual de los bastones, la rodopsina sufre una transformación cis-trans por la acción de la luz, al tiempo que se rompe en opsina y en trans-retinal, para nuevamente isomerizarse y realizar un proceso cíclico.

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 mediante preparaciones farmacéuticas puede ocasionar una intoxicación, lo cual no sucede si se lleva una alimentación balanceada.

Se ha identificado como una carencia nutrimental importante en niños menores de 12 años en México.<sup>46</sup> 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.

## **Vitamina D**

Con este nombre se conocen 11 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<sub>2</sub>) y el colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) son los más importantes.

A su vez, estos dos tienen sus precursores, ergosterol y 7-deshidrocolesterol, respectivamente, que no presentan actividad biológica, pero que se transforman en la respectiva vitamina cuando se irradian con luz ultravioleta.

El primero se localiza básicamente en las plantas, mientras que el segundo abunda en el tejido animal y en los aceites de pescado. La fotoconversión implica una ruptura del anillo b en el sistema esteroideal, 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 de las cuales pueden ser tóxicas.

La función de estos compuestos, en forma de la hormona 1,25-dihidroxicolecalciferol, es ayudar a absorber y transportar el calcio y el fósforo a través de la pared intestinal, pero también a liberar el calcio de la estructura ósea, en caso necesario, para regular su concentración y la del fósforo en el plasma; en estos procesos actúan las hormonas paratiroidea y calcitonina, para lograr una sana integración ósea. Su deficiencia provoca osteomielitis o una mala formación de los huesos; los síntomas del raquitismo se describieron a mediados del siglo XVII, y años después se usó el aceite de bacalao para curarlo.

## **Vitamina E**

Con este nombre se conocen ocho compuestos de las familias de los tocoferoles y de los tocotrienoles, el a, b, g y d-tocoferol y el a, b, g y d-tocotrienol. El más activo es el a-tocoferol (100% de potencia), seguido del b (50%), el g (5%) y el d (1%). La palabra tocoferol proviene del griego tokos que significa descendencia, se le añade a la molécula para indicar que es un fenol. Las diferencias químicas entre los tocoferoles se muestran en y se basan en el número y la posición de los grupos metilo sustituyentes en el anillo de cromano.

Debido a la presencia de los tres carbonos asimétricos que contienen, existen diversos estereoisómeros con dos posiciones quirales designadas como R y S para cada carbono, por lo que se forman ocho posibles combinaciones (RSR, SRR, SRS, etcétera) con diferente poder vitamínico; el a-tocoferol (5,7,8-trimetiltocol) es el más abundante en los alimentos, se designa como RRR-a-tocoferol y por ser el más activo biológicamente se toma de referencia para medir la potencia del resto de los isómeros. Por su parte, el producto comercial sintético de acetato es en realidad una mezcla de todos los isómeros, y para designarlo se utiliza el término acetato de todo-rac-a-tocoferilo (equivalente al antiguo acetato de dl-a-tocoferilo), en el que rac se refiere a que está racemizado en su totalidad; su actividad biológica es de aproximadamente 80% de la del RRR-a-tocoferol.

Se recomienda una dieta rica en vitamina E cuando se consumen concentraciones elevadas de dichos ácidos; la vitamina C le ayuda a recuperar su función de antioxidante después de que actúa como tal. Su deficiencia en animales se manifiesta por degeneración tubular renal, pigmentación de los depósitos lipídicos, necrosis hepática y distrofia muscular. En ratas de laboratorio previene la esterilidad y los abortos, por lo que algunos investigadores erróneamente concluyeron, hace algunas décadas, que tenía el mismo efecto en el hombre;

por esta razón a la vitamina E también se la llamó factor antiesterilidad. Las cantidades de consumo recomendadas.

### **Vitamina K.**

En la década de 1930 se descubrió un componente de los aceites que actuaba como factor antihemorrágico, al cual se le llamó vitamina K por la palabra alemana Koagulation. En este término se incluye a cada uno de los derivados de la naftoquinona, cuya función biológica más conocida es en la coagulación de la sangre; y su ausencia hace que el hígado no sintetice la protrombina, que es el principal precursor del agente coagulante trombina. Existen varios vitámeros naturales, aunque los principales son la vitamina K1 (2-metil-3-fitilnaftoquinona-1,4), filoquinona que está presente en las hojas de las plantas, y la vitamina K2 (2-metil-3-difarsenil-naftoquinona-1,4), menaquinona que es sintetizada por las bacterias intestinales; sin embargo, hay otros de origen sintético que son aún más potentes, como la menadiona (2-metil-naftoquinona-1,4), que no contiene la cadena lateral, y que se usa de referencia para medir la actividad biológica y como aditivo en alimentos.

Las menaquinonas contienen una cadena isoprenoide con distintas longitudes, y una parte (40- 60%) de lo que produce la microflora en el tracto gastrointestinal se absorbe; esto hace que, junto con la dieta, los requerimientos diarios de un hombre bien alimentado puedan satisfacerse sin problema alguno, por lo que los casos de deficiencias son pocos. El sangrado constante y la presencia de moretones pueden ser una señal de deficiencia de esta vitamina.

La vitamina K1 es un aceite amarillo, mientras que la K2 y la menadiona son sólidos cristalinos con puntos de fusión de 54.5 y 106°C, respectivamente. Son muy estables al calor, pero sensibles a los hidróxidos alcalinos y a la luz; normalmente existen pocas pérdidas durante los distintos tratamientos y procesos a los que se someten los alimentos. Su cuantificación se efectúa con cromatografía líquida de alta presión.

### **Vitaminas hidrosolubles.**

A diferencia de las liposolubles, el hombre tiene una capacidad limitada para almacenar las vitaminas hidrosolubles, por lo que requiere un consumo continuo, a pesar de que algunas son sintetizadas por la flora intestinal y una fracción se absorbe.

Al ingerir una cantidad excesiva, sólo se aprovecha una fracción y la otra se elimina en la orina, y esto se debe tener en cuenta cuando se administran megadosis, como las preparaciones comerciales de soluciones inyectables de vitamina B12, que contienen varios miligramos, mientras que los requerimientos diarios son muy bajos, es decir, una sola ampolleta es suficiente para cubrir las necesidades de un individuo durante muchas semanas. Las vitaminas hidrosolubles están constituidas por el complejo B, que incluye tiamina (B1), riboflavina (B2), vitamina B6, vitamina B12, biotina, folatos, niacina y ácido pantoténico, y por la vitamina C. Excepto en el caso de esta última, la función biológica de las demás es conocida: actúan como coenzimas. En general, muchas de las B se encuentran juntas en los alimentos de origen vegetal. Por ser solubles en agua, la lixiviación es un mecanismo común de pérdida para todas ellas.

### **Tiamina**

Esta vitamina está constituida químicamente por un anillo de pirimidina unido a otro de tiazol, mediante un puente metilénico muy sensible a los ataques nucleófilos. El nitrógeno del tiazol es cuaternario y normalmente está ionizado en el pH de la mayoría de los alimentos, lo que provoca que actúe como una base fuerte.

En forma de pirofosfato de tiamina interviene como coenzima en diversas reacciones oxidativas de descarboxilación, en el metabolismo de aminoácidos ramificados y en la utilización de hidratos de carbono, sobre todo de la glucosa y en el ciclo de las pentosas.

Su deficiencia en el hombre causa beriberi, el cual se manifiesta con pérdida de la memoria, dificultad para hablar e incapacidad para ciertos movimientos musculares, polineuritis (inflamación simultánea de varios nervios), problemas gastrointestinales, cardiovasculares y del sistema nervioso. Esta enfermedad se presenta en los países orientales donde su dieta se basa en arroz pulido, es decir, arroz al que se le ha eliminado la cascarilla que contiene la mayor proporción de tiamina. Su absorción se lleva a cabo en la mucosa del yeyuno y del ileon e inmediatamente se fosforila, y el exceso ingerido se elimina en la orina.

En muchos alimentos se encuentra naturalmente en forma libre, o bien como el derivado pirofosfato en las levaduras, la carne de cerdo, el pericarpio y el germen de los cereales, las nueces, el huevo, la leche, y el corazón, hígado y riñón de los animales. La oxitiamina y la piritiamina son antagonistas, y su presencia en los alimentos implica requerimientos mayores de tiamina; los ácidos cafeico y tánico, y en general los taninos, inactivan su función

biológica. En forma comercial se encuentra como clorhidrato o como mononitrato, ambos solubles en agua que se usan para enriquecer algunos alimentos. Las recomendaciones de consumo se muestran.

Debido a su estructura química, la tiamina es, junto con el ácido ascórbico, una de las vitaminas más inestables, sobre todo afectada por el pH; incluso se sugirió como índice de retención de nutrimentos, considerando que, si soportara un determinado proceso, las otras vitaminas también se conservarían. Es hidrosoluble y, por lo tanto, se pierde por lixiviación en el agua de lavado, enjuague, etcétera, que está en contacto con los alimentos, o bien, en el agua de descongelamiento de productos cárnicos. En general, como pirofosfato es más inestable a las altas temperaturas y a los agentes químicos que en estado libre, pero esto depende de la presencia de polímeros (p. ej., almidón o caseínas) que ejercen un efecto protector.

Soporta la esterilización comercial a  $\text{pH} < 3.5$ , pero se vuelve muy inestable a pH mayores, sobre todo en la neutralidad o alcalinidad, que propician la ruptura de la unión del carbono metilénico con el nitrógeno cuaternario del imidazol, produciendo los dos anillos constituyentes, el derivado pirimidínico es estable y no sufre reacciones secundarias, pero no sucede lo mismo con el grupo metil-tiazólico que se descompone y produce compuestos furánicos, tiopenos y anhídrido sulfuroso que imparten olores muy peculiares a los alimentos cocidos y que recuerdan los de los derivados cárnicos.

De hecho, esta transformación se ha aprovechado para desarrollar algunos sabores a reacción, a base de la degradación controlada de la tiamina.

### **Riboflavina.**

La riboflavina está formada por un anillo heterocíclico de isoaloxacina combinado con una molécula del azúcar-alcohol ribitol, derivado de la ribosa; dentro de esta designación se incluyen varios compuestos. En general, la riboflavina se encuentra fosforilada e integra el dinucleótido de flavina y adenina (FAD) y el mononucleótido de flavina (FMN) que se sintetizan y almacenan en el hígado; ambos funcionan como coenzimas del grupo de las flavoproteínas que regulan los procesos de transferencia de hidrógenos en reacciones de oxidación-reducción de aminoácidos y de otros compuestos. Su deficiencia produce dermatitis seborreica, vascularización corneal, coloración anormal de la lengua, etcétera.

La flora microbiana del intestino grueso del hombre la sintetiza y un cierto porcentaje es absorbido y aprovechado; el hígado humano tiene la capacidad de almacenar una pequeña fracción, pero es insuficiente para satisfacer las necesidades diarias por periodos largos. En el cuadro 6.5, que muestra el contenido de vitaminas de diversos alimentos, se observa que los hígados vacuno y porcino son los más ricos en riboflavina; también la leche (0.16 mg/100 g), el queso (0.45 mg/100 g), la levadura de cerveza y los vegetales de hoja verde son una fuente importante, al igual que el corazón y el riñón de los animales, mientras que las frutas no lo son.

Debido a la solubilidad de la riboflavina, se puede perder en el agua de remojo o en la del lavado de las frutas y hortalizas, así como durante su cocción. I, 16, 58 Su estabilidad a altas temperaturas es buena (mejor que la tiamina) en la mayoría de los alimentos, ya que resiste la esterilización a pH ligeramente ácidos, pero a medida que se acerca a la neutralidad, se vuelve sensible, y en condiciones alcalinas es definitivamente muy termolábil.

### **Niacina.**

Con este nombre se designa a dos vitámeros con estructura semejante a la pirimidina: el ácido nicotínico (ácido piridín-3-carboxílico), que se encuentra en las plantas y se sintetiza vía el quinolinato, y a su correspondiente amida, la nicotinamida (piridín-3-carboxiamida) del reino animal, producida a partir del triptofano. La nicotinamida es indispensable para dos coenzimas muy importantes, el dinucleótido de adenina y nicotinamida (NAD) y su derivado fosfatado (NADP), son los encargados de la transferencia de hidrógenos en muchas reacciones metabólicas de las deshidrogenasas que actúan en proteínas, hidratos de carbono y lípidos.

La importancia del NAD y del NADP radica en la facilidad con la que se reducen a NADH y NADPH, y en la facilidad con la que se oxidan. Su deficiente consumo da origen a la enfermedad llamada pelagra (del italiano “piel quebrada”), que ocasiona problemas de diarrea, dermatitis y demencia, por lo que también se le ha llamado la enfermedad de las “3D”. Los requerimientos diarios para el hombre se expresan como equivalentes de niacina. Los excesos consumidos se eliminan en la orina. Participa en la síntesis (anabolismo) y en la degradación (catabolismo) de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos a través de dos coenzimas, la NAD (nicotinamida adenín dinucleótido) y la NADP (nicotinamida adenín dinucleótido fosfato).

A pesar de encontrarse ampliamente distribuida en la naturaleza, mucha de niacina no está disponible, ya que forma complejos no asimilables con diversos constituyentes de los alimentos; el resultado de su análisis químico cuantitativo no refleja la cantidad que verdaderamente se puede aprovechar biológicamente, como es el caso de los cereales que la contienen unida a una proteína, y que forma un complejo difícil de romper en el tracto gastrointestinal. Esto es más notorio con el maíz, quien presenta grandes variaciones de biodisponibilidad de la vitamina entre los granos crudo, hervido y nixtamalizado (hervido con 1-3% de cal/20-40 min y reposo de 8-10 horas).

Actualmente existen muchas poblaciones de Asia y de África que sufren de pelagra por tener un régimen alimentario muy pobre a base de maíz hervido.

Cuando el grano se consume nixtamalizado, como en todo México, no sucede lo mismo pues dicho complejo se disocia y se libera la niacina; sin embargo, hay zonas en el sureste de la República que, para obtener una masa más blanca, lavan intensamente el maíz nixtamalizado, provocando la pérdida por lixiviación de la vitamina liberada.

El tratamiento térmico-alcálico, además de hacer que la niacina esté disponible, también facilita el aprovechamiento del triptófano.

Comercialmente existen sus dos vitámeros sintéticos, que se añaden para fortificar algunos alimentos. Su determinación puede efectuarse usando el *Lactobacillus arabinosis*, o con diversos métodos espectrofotométricos y cromatográficos.

### **Ácido pantoténico.**

Su nombre indica su amplia distribución en la naturaleza (del griego, pantós que significa en todas partes). Esta vitamina es ópticamente activa, aunque sólo la forma dextrorrotatoria presenta propiedades biológicas; su importancia radica en que es parte de la coenzima A, además de que participa en la transferencia de grupos acetilo, como donador y receptor de H, y en el metabolismo de moléculas con dos átomos de carbono, como en la utilización de hidratos de carbono y en la hidrólisis y síntesis de lípidos (ácidos grasos, colesterol y otros esteroides).

Se encuentra en muchos alimentos, tanto en forma libre como ligada, en cereales, levaduras, hígado, huevo, leche, etcétera, y por tanto es difícil observar casos de deficiencia en el hombre; sin embargo, cuando se presenta, el cuadro clínico incluye fatiga, náusea,

problemas de sueño y ardor en los pies y las piernas. No hay recomendaciones de consumo diario, pero se considera que para un adulto, 10 mg diarios cubren todas las necesidades.

Se pierde por lixiviación, y aun cuando es estable a un pH 4-7, puede degradarse por efecto de las altas temperaturas, por lo que los productos esterilizados o deshidratados muestran pérdidas considerables; en pH muy ácidos o alcalinos se provoca su hidrólisis. Su determinación se efectúa microbiológicamente por medio del crecimiento del *Lactobacillus plantarum* o del *Saccharomyces cerevisiae* y por métodos químicos. Comercialmente existe como pantotenato de calcio, y se usa en la fortificación de los alimentos, ya que es más estable que la forma de ácido libre.

### **Piridoxina.**

Con este nombre se conocen tres vitámeros biológicamente activos con una estructura química semejante: piridoxina o piridoxol (alcohol), piridoxal (aldehído) y piridoxamina (derivado amina). Estos compuestos se encuentran en la sangre del hombre, la cual los distribuye por todo el cuerpo. En forma de fosfato, el piridoxal es la coenzima de un gran número de reacciones metabólicas que incluye la utilización y la síntesis de aminoácidos por medio de mecanismos de transaminación, descarboxilación y desulfhidración; también interviene en el metabolismo de lípidos y en la producción de aminas indispensables como serotonina, norepinefrina, adrenalina, dopamina, etcétera, algunas de las cuales son neurotransmisores.<sup>6</sup> Su deficiencia puede causar desórdenes nerviosos, provocar convulsiones y neuropatías.

En los vegetales se encuentra como piridoxol y en los alimentos de origen animal, como piridoxal y piridoxamina, la microflora intestinal del hombre la sintetiza, aprovechándose una porción que se absorbe; el tejido muscular tiene una cierta capacidad de almacenarla en forma fosforilada unida a la proteína y con una dieta adecuada y variada no suelen presentarse deficiencias. Esta vitamina se asocia mucho con las proteínas de los alimentos.

En general, los tres vitámeros resisten la mayoría de los tratamientos térmicos, pero la piridoxina es el más estable de ellos, por lo que es la forma que se usa para la fortificación. Al igual que la riboflavina y la vitamina C, la B6 es fotosensible, aunque en menor grado. Las altas temperaturas no les afectan cuando el pH es ácido, pero su sensibilidad se incrementa a medida que se aproxima a la neutralidad y más aún en la alcalinidad.

Cuando se calienta en presencia de aminoácidos (ácidos aspártico y glutámico y los azufrados) o de algunos péptidos, se inducen reacciones que destruyen su actividad biológica. Su degradación térmica se ha evaluado principalmente en sistemas modelo, tanto líquidos, como deshidratados.

Sin embargo, los datos provenientes de estos modelos no necesariamente pueden extrapolarse y aplicarse a un alimento cuya composición química sea más compleja y en el que intervenga un gran número de otras variables; por ejemplo, con la caseína se observó que sucede una rápida interconversión de piridoxal y de piridoxamina, y que la estabilidad de la piridoxina es de 2 a 3 veces mayor que la de las otras dos. Las energías de activación para llevar a cabo su destrucción son de 27.3, 23.7 y 20.8 kcal/mol para la piridoxina, la piridoxamina y el piridoxal, respectivamente.

Por otra parte, se han realizado diversos estudios para determinar sus mermas en los alimentos comercialmente procesados, pero no hay uniformidad en los datos con que se cuenta; sólo como referencia, las pérdidas en los enlatados van de un 57 hasta un 78% en vegetales, y de un 42 a un 49% en carnes y pescados.<sup>52</sup> La forma comercial más empleada en la industria de los alimentos es la de clorhidrato de piridoxina, que son cristales incoloros sensibles a la humedad y a la luz.

### **Biotina.**

Es una vitamina que corresponde al ácido carboxílico del heterociclo de la condensación de los anillos de imidazol y de tiofeno hidrogenados, que puede existir en ocho isómeros diferentes, pero sólo el d, que se encuentra en la naturaleza, tiene actividad biológica. Funciona como coenzima en la hidrólisis y la síntesis de ácidos grasos y de aminoácidos a través de reacciones de carboxilación y de transcarboxilación.

Está presente en la levadura de cerveza deshidratada y en diversos alimentos (cuadro 6.4), sobre todo en los de origen animal, como hígado, riñón y músculo, y en los cereales; además, la microflora intestinal la sintetiza, por lo que el hombre generalmente no padece problemas por su deficiencia; sin embargo, cuando ocurre, su carencia provoca fatiga, depresión, náuseas, dermatitis y dolores musculares.

### **Ácido fólico.**

Es una vitamina que corresponde al ácido carboxílico del heterociclo de la condensación de los anillos de imidazol y de tiofeno hidrogenados, que puede existir en ocho isómeros diferentes, pero sólo el d, que se encuentra en la naturaleza, tiene actividad biológica.

Funciona como coenzima en la hidrólisis y la síntesis de ácidos grasos y de aminoácidos a través de reacciones de carboxilación y de transcarboxilación. Está presente en la levadura de cerveza deshidratada y en diversos alimentos, sobre todo en los de origen animal, como hígado, riñón y músculo, y en los cereales; además, la microflora intestinal la sintetiza, por lo que el hombre generalmente no padece problemas por su deficiencia; sin embargo, cuando ocurre, su carencia provoca fatiga, depresión, náuseas, dermatitis y dolores musculares.

La folacina se encuentra en los vegetales de hojas verdes, en el hígado (150 mg/100 g), en la carne (5 mg/100 g), en el riñón (30 mg/100 g) y en menor cantidad en las frutas. El hígado de pollo es particularmente importante y una ración de 20-25 g es suficiente para llenar los requerimientos de folatos y de vitamina A, conjuntamente. Es indispensable para el crecimiento del *Lactobacillus casei*, que es la base de su análisis cuantitativo, aun cuando hay métodos de cromatografía líquida de alta presión. En relación con su estabilidad, en la literatura se encuentran cifras algo disímolas, ya que cada folato tiene una cinética de destrucción diferente, aun cuando todos se pierden por lixiviación.

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 conocimiento de los alimentos, tanto en el hogar como en la industria.

### **Cianocobalamina.**

Esta vitamina tiene la estructura química más compleja, está constituida por cuatro anillos pirrólicos integrando un núcleo de corrina con un átomo de cobalto quelado y al cual se le une, por un lado, el 5,6-dimetilbencimidazol y por el otro, distintos grupos como el 59-desoxiadenosilo, el cianuro, el nitrito, el metilo, el sulfito, el agua, etcétera; se presenta un intercambio entre los grupos anteriores para producir las diversas formas químicas de esta vitamina, algunas de las cuales tienen una actividad biológica. La más conocida es la cianocobalamina, que es la que normalmente se adiciona a los alimentos.

Esta vitamina no existe en alimentos vegetales y sólo se encuentra en la leche, la carne, el huevo y en otros productos de origen animal, como el hígado, corazón y riñones. Por esta razón, los vegetarianos estrictos, y también los niños amamantados por madres vegetarianas, pueden presentar problemas de anemia perniciosa.<sup>3</sup> Debido a que los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) la sintetizan, los alimentos fermentados la contienen y, de hecho, muchas de sus preparaciones comerciales provienen de fermentaciones. Su determinación cuantitativa se lleva a cabo por métodos microbiológicos, usando el *Lactobacillus leichmannii*.

Es estable a las temperaturas de esterilización en un intervalo de pH de 4 a 6, aun cuando los tratamientos térmicos muy intensos, como la evaporación de la leche, provocan fuertes pérdidas. En condiciones alcalinas se vuelve muy inestable a las radiaciones electromagnéticas del UV y al calor, y la presencia del ácido ascórbico, de tiamina y de niacina conjuntamente, puede causar su destrucción. Las sales férricas la estabilizan y las ferrosas la destruyen. En general, la mayoría de los procesos industriales y caseros de preparación de los alimentos causan pocas mermas.

### **Ácido ascórbico.**

Existen varias sustancias que presentan una actividad biológica de vitamina C, pero con excepción del ácido L-ascórbico y el ácido L-deshidroascórbico (producto de la oxidación del anterior), las demás tienen una importancia nutricional insignificante; sólo los isómeros L de estos dos vitámeros actúan como tal, ya que, por ejemplo, el ácido D-ascórbico no es activo. El ácido L-deshidroascórbico representa aproximadamente un 80% de la potencia vitamínica del ácido L-ascórbico.

La vitamina C es un derivado de los hidratos de carbono (su síntesis química parte de la D-glucosa), tiene una estructura de cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-l-gulofuranolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y altamente reductor, por lo que se oxida muy fácilmente.<sup>37</sup> Se encuentra principalmente en vegetales frescos y los cereales, al igual que la leche, las carnes y los pescados y sus derivados, no la contienen; por esta razón, el consumo rutinario de frutas y verduras aporta la vitamina C requerida diariamente, ya que, al ser hidrosoluble, el hombre no la almacena.

A diferencia de otras vitaminas, el humano no la sintetiza, mientras que algunos animales sí la producen, por lo que para ellos no es indispensable. El jugo de 1 o 2 naranjas contiene aproximadamente 80 mg de ácido ascórbico, suficiente para satisfacer las necesidades de 60 mg diarios en los adultos (cuadro 6.1); los fumadores, los alcohólicos, los niños y las mujeres lactantes requieren de un mayor consumo. Su absorción ocurre en el intestino delgado mediante un mecanismo dependiente de Na a una velocidad de 1.2 g/día, por lo que los excesos de las megadosis se eliminan en la orina.

#### **4.2. Minerales.**

Por tradición, la palabra “minerales” (traducción directa de minerals) se usa para referirse a los diversos elementos químicos que se identifican en los alimentos; sin embargo, en los diccionarios se encuentra que mineral se equipara con lo “inorgánico” o “con las minas para el beneficio de los metales”.

En la literatura científica en español se sigue usando el término “minerales”, aun cuando hay voces que sugieren que se debe sustituir por “nutrimentos inorgánicos” por considerarlo más correcto. El análisis de las cenizas de plantas, microorganismos, animales y cadáveres de seres humanos revela la presencia de más de 60 elementos químicos, de los cuales 36 se encuentran con regularidad: aluminio, antimonio, arsénico, azufre, bario, boro, bromo, cadmio, calcio, cinc, cloro, cobalto, cobre

#### **Pigmentos.**

romo, 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. De manera conjunta, estos elementos representan aproximadamente el 4% del peso total del cuerpo humano, donde resaltan el calcio con un 2% y el fósforo con un 1 por ciento.

Al igual que las vitaminas, algunos elementos químicos son nutrimentos indispensables para el buen funcionamiento del organismo humano y su carencia puede provocar serios

problemas de salud; la alimentación variada, cuando es viable, es la forma de evitar cualquier deficiencia de éstos y de otros nutrimentos.

Actúan de diversas maneras en la formación de tejidos rígidos del cuerpo (Ca, P, F, Mg, etcétera), como cofactor de enzimas (Mn, Zn, Cu, Mo, Na, etcétera), como integrante de vitaminas, hormonas, mioglobina y hemoglobina (Co, I, Fe, etcétera), para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y del pH (Na, K, Cl, etcétera) y como parte constitutiva de algunas macromoléculas (S, P, Fe, etcétera). El hecho de consumirlos en la dieta no representa que se absorban y se aprovechen en el organismo humano, ya que su biodisponibilidad es muy distinta entre ellos; el sodio, potasio y cloro forman compuestos sencillos que existen en disolución, por lo que forman iones libres fácilmente absorbibles, mientras que el calcio, hierro, fósforo y magnesio, que integran compuestos insolubles, son más difíciles de asimilar. Las funciones y necesidades de Ca, I, Fe, Mg, Se y Zn en el hombre han sido estudiadas ampliamente por la FAO/WHO.

A diferencia de las vitaminas que se sintetizan in situ, todos los elementos químicos encontrados en los alimentos de origen animal y vegetal provienen de los productos del campo, que, a su vez, dependen de las prácticas agrícolas, la genética, el suelo, los fertilizantes, los plaguicidas, el agua, etcétera. Debido a que son hidrosolubles, la mayor parte de sus pérdidas se producen por lixiviación en cualquier etapa en la que exista un contacto del alimento con el agua. Una dieta balanceada aporta todos los nutrimentos inorgánicos suficientes para satisfacer las necesidades del hombre; sin embargo, es práctica común la adición de algunos de ellos, sobre todo de calcio, hierro, yodo y cinc. Además de esto, los distintos aditivos, como antiaglomerantes, emulsificantes, sequestradores, amortiguadores de pH, sales de horneado, etcétera, contienen diversos elementos químicos que igualmente contribuyen al contenido de los alimentos.

### **Calcio.**

Es el elemento químico más abundante en el ser humano y llega a representar hasta el 2% del peso corporal, equivalente a 1,000-1,500 g en un adulto. Aproximadamente, el 99% de este elemento se encuentra distribuido en las estructuras óseas y el resto, 1%, en los fluidos celulares y en el interior de los tejidos. A pesar de que esta segunda fracción es muy pequeña, tiene una enorme influencia funcional ya que interviene en un gran número de

transformaciones y mecanismos, como son la coagulación de la sangre, la contracción muscular, la activación enzimática, la transmisión de impulsos nerviosos, etcétera.

Se recomienda una ingestión diaria de 800 mg para adultos y niños en crecimiento, pero en el caso de embarazadas y madres lactantes esta cifra se incrementa hasta en un 50%. Del calcio que se consume, aproximadamente el 40% se absorbe a través del intestino delgado y el resto se elimina en las heces; la absorción se favorece por la acción de la vitamina D, la lisina, la arginina, la lactosa y pH ácidos, ya que es insoluble en condiciones alcalinas.

La lactosa, al fermentarse en la parte distal del intestino delgado, produce ácido láctico que reduce el pH y solubiliza el calcio para facilitar su absorción; la leche contiene una alta concentración de Ca, además de vitamina D y lactosa, por lo que es la mejor fuente de este elemento para los humanos. La fracción de calcio que no se absorbe (aproximadamente 60% del ingerido) y que se elimina, se incrementa por las dietas altas en grasas y bajas de vitamina D y por la presencia de alcohol, fosfatos, fitatos, oxalatos, tiroxina y corticoides, así como por la inmovilidad del individuo.

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 que integra la estructura rígida del hueso.

### **Fosforo.**

Este elemento se encuentra como fosfato, representa 1.0% del peso corporal, está muy relacionado con el calcio ya que juntos forman la hidroxiapatita y 80% se localiza en los huesos y en los dientes; el resto se concentra en los fluidos extracelulares y actúa como un amortiguador del pH en la sangre, o en las células en donde participa en el metabolismo de las proteínas, los lípidos y los hidratos de carbono; interviene en la fosforilación de la glucosa y del glicerol, se combina con ácidos grasos en los fosfolípidos, es parte del trifosfato de adenosina (ATP) y de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), forma las fosfoproteínas, etcétera. Su absorción es más sencilla que la del calcio, aunque se ve afectada por los mismos factores que antes se mencionaron; su biodisponibilidad varía, pero se considera que se aprovecha un 70% del consumidor y el 30% restante se desecha en las heces.

## **Hierro.**

Este elemento cumple diversas funciones biológicas en el humano, principalmente al transportar y almacenar el oxígeno mediante la hemoglobina y la mioglobina, respectivamente, además de actuar como cofactor de varias enzimas.

Está presente en los alimentos en dos formas: como Fe hemo que se encuentra en la res, pollo, pescado, etcétera, y como Fe no-hemo o inorgánico presente en los granos, leguminosas y vegetales en general. El primero tiene una mayor biodisponibilidad (20-30%) que el segundo, que es de tan sólo de 2-10% y que depende de la presencia de los inhibidores de la absorción (fitatos, polifenoles, calcio y fosfatos) y de los promotores de la absorción (vitamina C, ácido cítrico, péptidos con cisteína, etanol y productos fermentados).

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<sup>3</sup> se reduce a Fe<sup>2</sup> gracias al ácido estomacal y en esta forma atraviesa la mucosa gastrointestinal. Su deficiencia provoca anemia, que ha sido identificada en niños menores de 10 años en las zonas rurales de México.

## **Otros elementos.**

En forma conjunta, el cloro y el sodio forman parte del plasma sanguíneo y del líquido extracelular que rodea las células, en donde ayudan a mantener la presión osmótica, la acidez y la carga eléctrica. Además, el cloro se utiliza para la síntesis del ácido clorhídrico estomacal, mientras que el sodio actúa en la contracción muscular y en la conducción nerviosa. El NaCl es la principal fuente de sodio y se encuentra en la mayoría de los alimentos, aun cuando en ocasiones se usa en exceso en la cocina; la hipertensión arterial es común en personas con alta ingesta de sodio.

Por su parte, el cinc actúa como coenzima en las carboxipeptidasas y deshidrogenasas y su deficiencia causa pérdida de apetito y problemas en el crecimiento de los niños; su absorción en el intestino delgado, al igual que sucede con el Ca, Mg y Fe, se ve reducida cuando forma complejos con los fitatos, por ejemplo, con los de la soya y de los cereales.

La res, el pollo y el pescado son las mejores fuentes de estos elementos. El magnesio interviene en la formación de huesos y dientes, como coenzima en el metabolismo de hidratos de carbono y constituyente de diversos líquidos intracelulares. El cobre es cofactor de varias enzimas. El yodo participa de la tiroxina de la hormona tiroidea y se encuentra en los alimentos de origen marino; junto con el flúor se ha usado para enriquecer la sal de mesa en una concentración de 25-50 mg/kg.

### **4.3. Pigmentos.**

El color es una propiedad de la materia directamente relacionada con el espectro de la luz y que, por lo tanto, puede medirse físicamente en términos de energía radiante o intensidad, y por su longitud de onda. El ojo humano sólo puede percibirlo cuando su energía corresponde a una longitud de onda que oscila entre 380 y 780 nm; de ahí que una definición de color sea “la parte de la energía radiante que el humano percibe mediante las sensaciones visuales que se generan por la estimulación de la retina del ojo”.

La calidad de un alimento, sin tomar en cuenta los aspectos sanitarios, toxicológicos y nutricionales, se basa en los siguientes parámetros: color, sabor y olor, y textura. Sin embargo, el primer acercamiento del consumidor al alimento es por su color, ya que relaciona lo adecuado con la aceptación o el rechazo. En algunos alimentos, el color es el resultado conjunto de sus características físicas y de los compuestos pigmentantes. Tal es el caso de la carne en la que, dependiendo del grado de turgencia de las fibras musculares, se percibe de rosa pálida a roja oscura. En la leche, el color se debe al efecto de dispersión de la luz que causan los glóbulos de grasa, las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también influye la presencia de carotenos y de riboflavina; cuanto más pequeños sean los glóbulos de grasa, los principales responsables de la dispersión de la luz, mayor será el efecto de la dispersión y mayor la blancura. Los colores de los alimentos se deben a diferentes compuestos, principalmente orgánicos, algunos de los cuales se producen durante su manejo y procesamiento, como es el caso del color que se desarrolla debido a las reacciones de Maillard, a la caramelización o a los pigmentos sintetizados o modificados por procesos de fermentación.

Sin embargo, la mayoría de los alimentos deben su color a las sustancias pigmentantes que contienen o que se añaden. En la mayoría de los casos, estos pigmentos también tienen una

función biológica; éste es el caso de la clorofila en la fotosíntesis y de la mioglobina en el almacenamiento del oxígeno en el músculo, entre otros. Muchos pigmentos también se extraen de su fuente natural y se emplean como colorantes en la elaboración de un gran número de alimentos.

#### **4.4. Aditivos en la industria alimentaria.**

Que un consumidor acepte un alimento depende de muchos factores, entre los que resaltan el color (como primer contacto), el aroma, el sabor, la textura, el costo, el valor nutritivo, la facilidad de preparación, la vida de anaquel y, en muchos casos, el sonido que produce al consumirse. Cada componente del alimento influye en alguna medida en estas características; sin embargo, en ocasiones éstas necesitan reforzarse con el fin de obtener mejores resultados y generar productos más atractivos y diferenciados para el consumidor. Un aditivo, ya sea natural o sintético, es una sustancia o mezcla de varias sustancias, que se adiciona intencionalmente al alimento durante las etapas de producción, envasado y conservación, para lograr ciertos beneficios.

Es claro que en esta definición no se incluyen materiales contaminantes indeseables, tales como plaguicidas, fumigantes, metales pesados y otros que pueden causar algún daño al hombre. Existe controversia sobre su uso, sobre todo entre la gente que desconoce los aspectos legales y las ventajas que representa su adecuada aplicación. Los aditivos deben emplearse como una ayuda en la fabricación de los alimentos, pero nunca para enmascarar materias primas o productos de mala calidad; en este sentido, el profesionalismo del técnico es primordial para no engañar al consumidor mediante el abuso indiscriminado de estas sustancias.

Cada país tiene sus propias leyes al respecto, y algunos de ellos llevan a cabo estudios para determinar la inocuidad de cada aditivo. La FAO (Food and Agriculture Organization) y WHO (World Health Organization; OMS, Organización Mundial de la Salud), emiten recomendaciones para el consumo de los aditivos mediante el Codex Alimentarius; estas dos organizaciones internacionales han establecido la ingesta diaria aceptable, IDA (Acceptable Daily Intake, ADI), y han clasificado a los aditivos en tres categorías, A, B y C, de acuerdo con su seguridad; los A son los más inocuos, mientras que los C tienen limitaciones para su empleo. La IDA es la cantidad de un compuesto que puede consumir

un hombre de por vida, sin que represente riesgo para la salud, con respecto al peso corporal (por ejemplo, mg del compuesto/kg de peso).

Para determinarla se efectúan pruebas agudas, administrando sobredosis a los animales de laboratorio; o pruebas crónicas, en las que se proporcionan cantidades bajas durante largos periodos; con esto se determina su toxicidad (alteración temporal o permanente de las funciones normales), mutagenicidad (mutaciones en los tejidos), teratogenicidad (malformación en los tejidos embrionarios) y otros posibles daños.

Las leyes sanitarias permiten usar los aditivos en concentraciones máximas que previamente se establecen, según los resultados de los análisis toxicológicos; dichos máximos son muchas veces menores que las dosis que causan afecciones a los animales. Entre la lista de los varios miles de aditivos permitidos, existen algunos muy conocidos como la sacarosa, los ácidos acético y cítrico, el cloruro de sodio y muchos otros, que se emplean desde hace siglos para conservar los alimentos y mejorar sus propiedades sensoriales; además, estos compuestos también se encuentran en forma natural, por lo que a través de los años se ha comprobado la seguridad de su consumo. En este caso, la mayoría de los países no restringe su uso y la única limitante se relaciona con aspectos de aceptación por el consumidor.

Algunos aditivos, como los sulfitos, la tartracina y el glutamato monosódico son conocidos por provocar alergias a personas sensibles, por lo que es importante que el consumidor conozca de su presencia en los alimentos que adquiere. El empleo de aditivos aumenta cada vez más en los países desarrollados, ya que demandan un mayor número de alimentos preparados y listos para servirse. Por el contrario, en los países en vías de desarrollo donde aún se consiguen fácilmente muchos productos frescos y hay tradición en la preparación hogareña, su uso es más reducido.

Los aditivos se aplican por muchas razones: para incrementar el valor nutritivo, como las vitaminas, aminoácidos y elementos químicos; para la preservación de los alimentos, como los conservadores, antioxidantes, agentes que reducen la actividad del agua, antiendurecedores y otros; y para mejorar las propiedades sensoriales, como los saborizantes, colores, edulcorantes, espesantes, espumantes, gelificantes y emulsionantes. Sin embargo, muchos de ellos cumplen más de una función al mismo tiempo: los polioles, que reducen la actividad del agua, también son edulcorantes y humectantes; los antioxidantes igualmente presentan cierta actividad antimicrobiana; los acidulantes abarcan

una gama muy amplia de acciones; los espesantes, como gomas o proteínas, también estabilizan emulsiones de aceite en agua; los diversos fosfatos comerciales (fosfatos, metafosfatos, hexametáfosfatos, tripolifosfatos y pirofosfatos) desarrollan muchas funciones, tales como amortiguador de pH, emulsionante, antiaglomerante, secuestrador, dispersante, en sales de panificación.

#### **4.5. Principales aditivos utilizados en la industria alimentaria.**

Que un consumidor acepte un alimento depende de muchos factores, entre los que resaltan el color (como primer contacto), el aroma, el sabor, la textura, el costo, el valor nutritivo, la facilidad de preparación, la vida de anaquel y, en muchos casos, el sonido que produce al consumirse. Cada componente del alimento influye en alguna medida en estas características; sin embargo, en ocasiones éstas necesitan reforzarse con el fin de obtener mejores resultados y generar productos más atractivos y diferenciados para el consumidor. Un aditivo, ya sea natural o sintético, es una sustancia o mezcla de varias sustancias, que se adiciona intencionalmente al alimento durante las etapas de producción, envasado y conservación, para lograr ciertos beneficios.

#### **Grupos de aditivos según su función**

1. Acentuadores de sabor: Sustancia o mezcla de sustancias destinadas a realzar los aromas o los sabores de los alimentos.
2. Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH: Sustancia que modifica o mantiene la acidez o alcalinidad de los productos.
3. Acondicionadores de masa: Sustancia que se utiliza en panificación para mejorar diversas cualidades de la masa.
4. Antiaglomerantes: Sustancia o mezcla de sustancias que se agrega a los productos o aditivos para evitar su cohesión.
5. Antiespumantes: Sustancia o mezcla de sustancias que, adicionada durante la elaboración de los productos, disminuye la formación de espuma.
6. Antihumectantes: Sustancia que disminuye las características higroscópicas de los productos.
7. Antioxidantes: Sustancia o mezcla de sustancias destinada a retardar o impedir la oxidación y enranciamiento de los productos.

8. Antisalpicientes: Sustancia o mezcla de sustancias que añadidas a las grasas emulsionadas con agua, evitan que al calentarlas se esparzan.
9. Clarificantes: Sustancia que elimina la turbidez en un líquido, dejándolo claro.
10. Colorantes y pigmentos: Sustancia que tiene la propiedad de impartir color al medio que lo contiene según la solubilidad que tenga en el medio, ya sea un medio hidrofílico o lipofílico o a otro material o mezcla, elaborado por un proceso de síntesis o similar, por extracción o por separación, obtenido de una fuente animal, vegetal o mineral y que posteriormente se ha sometido a pruebas fehacientes de seguridad que permiten su uso en alimentos y que, directamente o a través de su reacción con otras sustancias, es capaz de impartir el color que le caracteriza.
11. Conservadores: Sustancia o mezcla de sustancias que previene, retarda o detiene la fermentación, el enmohecimiento, la putrefacción, acidificación u otra alteración de los productos causados por algunos microorganismos y por algunas enzimas.
12. Edulcorantes no nutritivos: Sustancia natural o sintética, que puede sustituir parcial o totalmente el dulzor del azúcar.
13. Emulsificantes, emulsivos, estabilizadores, espesantes y gelificantes: Sustancia o mezcla de sustancias que mantiene homogéneos a los productos constituidos por dos o más fases inmiscibles, impidiendo su separación.
14. Enturbiadores: Sustancia o mezcla de sustancias que al agregarse a un líquido le resta claridad, o sirve para equilibrar la baja densidad de los aceites esenciales en un producto determinado.
15. Enzimas: Sustancia proteica producida por células vivas que catalizan reacciones específicas en diversos procesos de elaboración de productos.
16. Espumantes: Sustancia que adicionada a un líquido, modifica su tensión superficial y estabiliza las burbujas formadas, o favorece la formación de espuma.
17. Gasificantes para panificación o polvos para hornear: Sustancia o mezcla de sustancias que adicionadas durante el proceso de elaboración de productos de panadería favorece el desprendimiento de dióxido de carbono.
18. Humectantes: Sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir la pérdida de humedad de los productos.

19. Leudantes: Levadura de cerveza prensada, húmeda o deshidratada, obtenida por proliferación del *Saccharomyces cereviceae*, empleada en productos de panadería para favorecer la formación del dióxido de carbono.

20. Oxidantes: Sustancia o mezcla de sustancias que por proceso de oxidación condiciona o mantiene determinadas características en algunos ingredientes de los productos y que también puede emplearse como blanqueador.

21. Otros.

En la legislación mexicana se consideran 402 aditivos y coadyuvantes, 51 colorantes, 54 enzimas, 386 saborizantes sintéticos artificiales y 2,177 saborizantes idénticos al natural; esto hace un total de más de tres mil compuestos usados como aditivos y que pueden emplearse en la manufactura de alimentos. Por mucho, los saborizantes son el grupo más numeroso.

Dentro de la categoría de conservadores destacan los ácidos benzoico, sórbico, acético y propiónico y sus sales, los parabenos, los sulfitos, los nitritos y los nitratos, los antibióticos, el pirocarbonato de etilo y los epóxidos.}

## **Emulsionantes**

También llamados emulsificantes, emulsivos o emulgentes, estabilizan las mezclas de líquidos inmiscibles, evitando la sinéresis o separación de fases. Algunos emulsionantes empleados en la industria alimentaria:

- Monoestearato de propilenglicol
- Monoestearato de glicerilo
- Monooleato de sorbitol
- Monoestearato de sorbitol
- Monoestearato de diglicerilo
- Monopalmitato de lactoilo
- Monolaurato de polioxietilen sorbitol
- Monooleato de polioxietilen sorbitol
- Oleato de sodio
- Estearoíl-2-lactilato de sodio

## **Acidulantes, alcalinizantes y reguladores de pH**

Los acidulantes además de reducir el pH, cumplen un gran número de funciones: amortiguador de pH; conservador; saborizante; promotor de reacciones de curado en los cárnicos; secuestrador; modificador de la viscosidad; coagulante de la leche; inhibidor de las reacciones de oscurecimiento; hidrolizante de la sacarosa y del almidón; promotor de la gelificación de las pectinas; inhibidor de la cristalización de la sacarosa.

En esta categoría de aditivos se encuentran varios compuestos, entre los que destacan los ácidos orgánicos: acético, adípico, benzoico, cítrico, fumárico, láctico [CH<sub>3</sub>CH(OH)COOH], málico, propiónico, sórbico, succínico y tartárico, muchos de los cuales son policarboxílicos. El fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) es el ácido inorgánico más común y es empleado en las bebidas de cola; el clorhídrico (HCl) se utiliza para catalizar algunas reacciones de hidrólisis.

### **4.6. Propiedades sensoriales en los alimentos.**

La aceptación de un alimento depende de muchos factores, entre los que destacan sus propiedades sensoriales como el color, el aspecto, el sabor, el aroma, la textura y hasta el sonido que se genera durante la masticación. Hasta este capítulo se han estudiado los macrocomponentes de los alimentos, como agua, hidratos de carbono, proteínas y lípidos, y otros que se encuentran en menor proporción, como vitaminas, minerales y pigmentos. Los compuestos responsables del aroma y del sabor son los constituyentes que están en la menor concentración, pero tienen un efecto fundamental en la calidad y aceptación de los alimentos. Los hábitos alimentarios de un pueblo están determinados en gran medida por el aroma y el sabor de los productos que consumen y que permiten su desarrollo y sobrevivencia. Se ha demostrado que la selección de alimentos e incluso la percepción agradable o desagradable de los mismos dependen de factores sociales y culturales, pero que las necesidades nutricionales y el estado de salud del ser humano tienen un mayor impacto en el momento de la ingesta.

Por ejemplo, si un individuo ha pasado mucho tiempo sin tomar sal, el sabor salado le resultará muy agradable, pero cuando se ha consumido un exceso de sal ocurrirá lo contrario. En general, el dulzor se asocia con una fuente energética y el amargor con sustancias potencialmente tóxicas. Los niños prefieren los sabores dulces a los amargos, y

a medida que crecen aceptan otros que no necesariamente se relacionan con sus necesidades metabólicas. Los cambios en el patrón de consumo tradicional, así como el avance en el conocimiento de la generación de aromas y sabores, han hecho posible el desarrollo de nuevos alimentos. Si bien, el mercado de nuevos productos se basa en grandes campañas de mercadotecnia y publicidad, los consumidores aceptarán o rechazarán los productos primordialmente en función de sus características de aroma y sabor, independientemente de la calidad nutricional, toxicológica o de las ventajas del nuevo alimento. Por esta razón, para desarrollar nuevos productos es necesario conocer los factores involucrados en la generación y estabilidad de aroma y sabor; así como de la correcta adición de aromatizantes y saborizantes empleados para restituir y conservar las características sensoriales que tienen en su forma natural, con lo que se garantiza su consumo y aceptación.

A nivel mundial, la industria de sabores y aromas reportó un crecimiento anual del 5.4%, con ventas de 18.4 billones de dólares durante el año 2004. En el mismo periodo, América del Norte representó el 32% del mercado, seguido de Europa con un 30%, Asia Pacífico con 26%, Sudamérica con 6% y Oriente Medio junto con África representaron el 6%. Se prevé un incremento en el mercado para China, India, España, Brasil, México y Chile.

Asimismo, las tendencias señalan que, los aceites esenciales, los extractos naturales y los sabores complejos idénticos a los naturales desplazarán a los productos sintéticos. Por lo que el reto para este sector de la industria de alimentos será la creación de aromas y sabores idénticos a los naturales, que sean seguros, de alta calidad y que se encuentren en equilibrio con el resto a los componentes del producto; tanto para alimentos tradicionales como en alimentos funcionales, bajos en grasa o en carbohidratos, nutraceuticos, alimentos infantiles y geriátricos, suplementos alimenticios, etcétera.

Si bien el aroma y el sabor de los alimentos son fenómenos fisiológicos estrechamente relacionados entre sí, los compuestos responsables en cada caso tienen propiedades físicas y químicas diferentes: son sustancias de mayor peso molecular, no volátiles, solubles en agua, están en menor número que aquellas relacionadas con el aroma, la naturaleza quiral de estos compuestos, ya que los receptores químicos del aroma y sabor son capaces de distinguir entre las diversas formas enantioméricas.

Actividades:

El alumno realizará una infografía (super nota) de la unidad.

Lectura 10

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Vitaminas: clasificación de las vitaminas”. **Bioquímica: Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular, de Lehninger** (ver bibliografía). Páginas 343 y siguientes.

Lectura 11

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Pigmentos: sintéticos y naturales”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 401 y siguientes.

Lectura 12

Leer, analizar y concluir los aspectos importantes del tema “Aditivos: principales aditivos usados en la industria”. **Química de los alimentos de Badui** (ver bibliografía). Páginas 507 y siguientes.

## Bibliografía básica y complementaria:

- Charley, Helen. Tecnología de alimentos. 1ª edición. Editorial LIMUSA, S.A. de C.V. México, 1987. ISBN-968-18-1953-5
- Badui Dergal, Salvador. Química de los alimentos. 5ª edición. PEARSON EDUCACIÓN, México, 2013. ISBN: 978-607-32-1508-4
- Lehninger, Albert L., Nelson, David L., Cox, Michael, M. Principios de Bioquímica. 7ª edición. Ediciones Omega. Barcelona. 2006. ISBN 978-84-282-1486-5.
- Lehninger, Albert L. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular. 2ª edición. Ediciones Omega. Barcelona. 19856. ISBN 84-282-02117.
- LANSING M. Precott. (2004) Microbiología. México.McGraw Hill .
- Eduardo primo yufera química de los alimentos, 2008 editorial síntesis.
- Zeller,B.L. and Saleeb,F.Z. 1996. Production of Microporous Sugars for Adsorption of Volatile Flavors, J. Food Sci.
- [www.gettingwell.com/drug\\_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/](http://www.gettingwell.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/)
- [www.ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper](http://www.ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper)
- [www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/)