

Avances de ciencia y tecnología alimentaria en México



José Alberto Ramírez de León
Rocío M. Uresti Marín
María Lourdes Aldana Madrid
Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
(coordinadores)

PARA QUE EL
CONOCIMIENTO
SEA PATRIMONIO
DE LA HUMANIDAD

Edición
Especial
Española

Avances de ciencia y tecnología alimentaria en México

José Alberto Ramírez de León
Rocío M. Uresti Marín
María Lourdes Aldana Madrid
Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
(coordinadores)



Primera edición: enero 2013

D.R.© Universidad Autónoma de Tamaulipas
Matamoros s/n, Centro,
Ciudad Victoria, Tamaulipas, 87000
México
© José Alberto Ramírez de León; Rocío M. Uresti Marín;
María Lourdes Aldana Madrid; Ma. Guadalupe Flavia Loarca

© Plaza y Valdés, S. A. de C. V.
Manuel María Contreras 73. Colonia San Rafael
México, D. F. 06470. Teléfono: 5097 20 70
editorial@plazayvaldes.com
www.plazayvaldes.com

Plaza y Valdés Editores
Calle Murcia 2. Colonia de los Ángeles
Pozuelo de Alarcón 28223, Madrid, España
Teléfono: 91 862 52 89
madrid@plazayvaldes.com
www.plazayvaldes.es

ISBN: 978-607-402-576-7

Corrección de estilo: Alejandro Suverza
Formación tipográfica: Carlos A. Dirceu León González y Manuel Cortés Reyes
Idea original de portada: Iván de Jesús Tolano Villaverde
Diseño de portada: Elizabeth Mercado León

Impreso en México / *Printed in Mexico*

Un agradecimiento especial al fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica, Conacyt-Gobierno del Estado de Tamaulipas por el apoyo brindado para la publicación de este libro.

Contenido

Sección 1. Alimentos, Nutrición y Salud

La evolución de la salud y la alimentación	13
<i>Rocío M. Uresti Marín, Frida C. Caballero Rico, Manuel Vázquez Vázquez, José Alberto Ramírez de León</i>	
Importancia de la alimentación saludable y el ejercicio físico en el combate de la obesidad infantil.....	39
<i>Octelina Castillo Ruiz, Rodrigo Montes Zorrilla, Margarita Hurtado González, Guadalupe Bustos Vázquez, Simón J. Téllez Luis</i>	
El valor no nutrimental de frutas y su impacto en la salud	61
<i>Alma Vázquez-Luna, y Rafael Díaz Sobac</i>	
Propiedades nutricionales del maíz de alta calidad proteica	77
<i>José Ernesto Cervantes Martínez, Yolanda Salinas Moreno, Griselda Vázquez Carrillo, María Guadalupe Bustos Vázquez,</i>	
Compuestos bioactivos en los alimentos	89
<i>Miguel Aguilera Ortiz, Patricia Ramírez Baca, María Guadalupe Candelas Cadillo, Jorge Armando Meza Velázquez, Juan Ramón Esparza Rivera</i>	
Golosinas con ingredientes funcionales: tendencias, innovación y desarrollo.....	109
<i>Laura Eugenia Pérez Cabrera, Karina Reyes Bernal, Alejandra Godines Hoyos y Rafael Alejandro Casillas Peñuelas</i>	

Antocianinas como colorantes naturales
para la industria alimentaria 125
*Miguel Aguilera Ortiz, Patricia Ramírez Baca,
María Guadalupe Candelas Cadillo, Jorge Armando Meza
Velázquez, María del Carmen Reza Vargas*

Actividad biológica de hidrolizados enzimáticos
de especies marinas 143
*Josafat Marina Ezquerro-Brauer, Dulce Alondra
Cuevas Acuña, Enrique Márquez Ríos, Maribel
Robles Sánchez, Wilfrido Torres Arreola*

Beneficios del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*)
contra cáncer de colon 161
*Jorge Alberto Acosta Gallegos, Rocío Campos Vega, Rakel Cruz
Bravo, Ana Angélica Feregrino Pérez, Ramón Gerardo
Guevara González, Guadalupe Loarca Piña,
Minerva Ramos Gómez, Rosalía Reynoso
Camacho, Haydé A. Vergara Castañeda*

Sección 2. Inocuidad Alimentaria

Estrategia para medir la cinética
de deterioración en alimentos 183
*Reyna Luz Vidal Quintanar
y Ofelia Rouzaud Sánde*

Potencial alergénico de frutas y hortalizas:
un riesgo a la seguridad alimentaria 203
*Rafael Díaz Sobac
y Alma Vázquez Luna*

Evaluación y métodos de análisis
de los plaguicidas en plantas 223
*Fabiola Gabriela Zuno Floriano,
María Isabel Silveira Gramont, Marion Miller
y María Lourdes Aldana Madrid*

Niveles de plaguicidas organoclorados en niños de la comunidad de Pótam, Sonora y evaluación de posibles rutas de exposición..... 253
Raymundo Orduño Valenzuela, María Mercedes Meza Montenegro, Ana Isabel Valenzuela Quintanar, José de Jesús Balderas Cortés, Anacleto Félix Fuentes, Iram Mondaca Fernández, Patricia Grajeda Cota, Roberto Rodríguez Ramírez

El análisis de colinesterasa y paraoxonasa séricas para evaluar la exposición crónica a plaguicidas organofosforados..... 271
María de Lourdes Gutiérrez Coronado, Ana Isabel Valenzuela Quintanar, María de Lourdes Aldana Madrid, Patricia Grajeda Cota, Rosa María Cabrera Pacheco, Martha Nydia Ballesteros Vázquez, María del Socorro Saucedo Tamayo, María Isabel Ortega Velez y Daniel Fierros Mendiola

Sección 3. Avances en el procesamiento de alimentos

Obtención, valoración y utilización de albúmina porcina en productos de panadería 293
Gabriela Ramos-Clamont Montfort, Silvia Guadalupe Fernández Michel, María Cristina Cueto Wong y Luz Vázquez Moreno

Proteínas de la sangre animal: obtención industrial, valor nutritivo y funcionalidad 321
Gabriela Ramos-Clamont Montfort y Luz Vázquez Moreno

Importancia del *rigor mortis* en productos pesqueros..... 359
Edgar Iván Jiménez Ruiz, Víctor Manuel Ocaño Higuera, Enrique Márquez Ríos, Abril Zoraida Graciano Verdugo, Alfonso N. Maeda Martínez, Francisco Javier Castillo Yáñez

Presencia de aminas biogénicas en pescado 379
Guillermo Barba Quintero, José Alberto Ramírez de León, Gonzalo García Tapia

Evaluación y control de los cambios fisicoquímicos que se presentan durante el esterilizado de la carne de jaiba azul (<i>Callinectes sapidus</i>) capturada en la Laguna Madre de Tamaulipas.....	389
<i>Wendy Marisol Mazón Abarca, Rocío M. Uresti Marín, José Alberto Ramírez de León, Gonzalo Velazquez de la Cruz</i>	
Concentrados proteicos de calamar gigante: obtención, caracterización fisicoquímica y propiedades funcionales	401
<i>Iván de Jesús Tolano Villaverde, Guadalupe Dihort García, Victor Manuel Ocaño Higuera, Josafat Marina Ezquerra Brauer, Edgar Iván Jiménez Ruiz y Enrique Márquez Ríos</i>	
Características fisicoquímicas de tripsinas de peces y su aplicación en la industria alimentaria	419
<i>Ramón Gertrudis Valdez Melchor, Enrique Márquez Ríos, Victor Manuel Ocaño Higuera, Joe Luis Arias Moscoso, Santiago Valdez Hurtado y Francisco Javier Castillo Yáñez</i>	
Tendencias en la elaboración de botanas de maíz.....	435
<i>Karla Yuritzí Amador Rodríguez, Laura Eugenia Pérez Cabrera y Fernando Bon Rosas</i>	
Ecología y potencial de valor agregado en especies aromáticas silvestres de Tamaulipas.....	457
<i>Margarita Hurtado González, Arturo Mora-Olivo y Ramón López de León</i>	
Desarrollo y conservación de pitahaya (<i>Hylocerus undatus</i> , Haworth) en la Península de Yucatán	471
<i>Alma Rosa Centurión Yah, Lourdes Vargas Vargas, Luis Cuevas Glory, Crescenciano Saucedo Veloz, Reginaldo Báez Zañudo, Edmundo Mercado Silva, Enrique Sauri Duch</i>	

Uso potencial de extractos vegetales, aceites esenciales y quitosano para reducir el daño causado por hongos postcosecha en productos hortofrutícolas.....	491
<i>Porfirio Gutiérrez Martínez, Silvia Bautista Baños, Laura L. Barrera Necha</i>	
Incorporación de compuestos fenólicos a películas y recubrimientos comestibles	503
<i>Cesiah Jemimah Guillén-Román, Ramón Guevara-González, Lorenzo Guevara-Olvera, Francisco Villaseñor-Ortega y Cristina I. Pérez-Pérez</i>	
Impacto del uso de los azoles: implicaciones agrícolas y daños a la salud	523
<i>Eber Addí Quintana Obregón, Maribel Plascencia Jatomea y Mario Onofre Cortez Rocha</i>	
Aplicaciones de control biológico para la obtención de alimentos orgánicos	537
<i>Alejandro Sánchez Varela, Isabel Cristina Rodríguez Luna</i>	
Producción de transglutaminasa microbiana y sus aplicaciones potenciales en México.....	557
<i>Guadalupe Concepción Rodríguez Castillejos, Simón Josías Téllez Luis, Manuel Vázquez Vázquez, Jorge Lois, José Alberto Ramírez de León</i>	
Identificación biológica animal para la sanidad y seguridad alimentaria	579
<i>Ana María Sifuentes Rincón, Gaspar Manuel Parra Bracamonte, Xochitl Fabiola de la Rosa Reyna, Williams Arellano Vera</i>	
Marcadores de ADN como promotores de alimentos funcionales.....	597
<i>Gaspar Manuel Parra Bracamonte y Ana M. Sifuentes-Rincón</i>	

Biotecnología y enzimas de interés en alimentos: glucosa oxidasa, mecanismo de acción, importancia industrial y aplicaciones	617
<i>María del Rosario González González, Virgilio Bocanegra García, Gildardo Rivera, Isaías Balderas Rentería</i>	
Modelo para transferencia científica y tecnológica. Universidad– gobierno–empresa: caso del cuerpo académico de alimentos y nutrición de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.....	635
<i>Frida Carmina Caballero Rico, Rocío Margarita Uresti Marín, Manuel Vázquez Vázquez, José Alberto Ramírez de León y Gonzalo Velazquez de la Cruz</i>	
Acerca de los autores	673

Sección 1. Alimentos, Nutrición y Salud

La evolución de la salud y la alimentación

*Rocío M. Uresti Marín, Frida C. Caballero Rico,
Manuel Vázquez Vázquez, José Alberto Ramírez de León*

Resumen

Mantener la salud integral es el principal reto que enfrenta todo individuo para tener una óptima calidad de vida. La salud integral involucra el funcionamiento adecuado del cuerpo físico, el alma y el espíritu. El tener conciencia de los elementos que integran la vida de un ser humano, permite ofrecer a los individuos alternativas para una vida saludable, incluyendo una dieta nutritiva asociada con la naturaleza de cada persona. Es importante considerar que los estudios científicos suelen realizarse en forma independiente para las diferentes disciplinas, por lo que existen escasos trabajos multidisciplinarios que abarquen las tres áreas incluidas en la salud integral. Esta falta de enfoque multidisciplinario provoca que los padecimientos, incluyendo aquellos asociados a los alimentos y la nutrición en general, sean tratados con fármacos, métodos quirúrgicos y terapias para restablecer la salud después de una enfermedad. Así mismo se le da prioridad a los estudios científicos con esta perspectiva, sin embargo es necesario replantear el enfoque y comenzar por educar sobre cómo “alimentar y nutrir” todo el Ser para evitar las enfermedades. Es importante concientizar sobre las ventajas y desventajas de las decisiones de la vida, que anteceden a las enfermedades. Conocer el cuidado y alimento que requiere el cuerpo, alma y espíritu, permitirá distinguir las mejores opciones para decidir vivir con salud.

Palabras clave: alimentación, salud, ser humano, ciencia.

Evolución de la historia de la salud y su relación con la nutrición

En la evolución de la ciencia de la salud se ha llegado a grandes innovaciones desde diferentes disciplinas. En el siglo IV a.C., Hipócrates desarrolló la Teoría de los Cuatro Humores, que pocos años después se vio reforzada por Platón (427-347 a.C.) y Aristóteles (384-322 a.C.), así como también por algunos de sus discípulos de la Escuela Peripatética, y sostenía que los hombres tenían que estar perfectamente equilibrados con el fin de evitar todo tipo de enfermedades tanto del cuerpo como del espíritu. En el año 372 a.C., Teofrasto de Ereso, autor del libro “Sistema Natura”, elaboró un estudio donde describió que la personalidad y el carácter de los seres humanos estaba basado en los humores y que “aquellos individuos con mucha *sangre* eran sociables, aquellos otros con mucha *flema* eran calmados, aquellos con mucha *bilis amarilla* eran coléricos y aquellos con mucha *bilis negra* eran melancólicos”. Desde el siglo IV a.C., en adelante y hasta bien entrado el siglo XIX el “*humorismo*” dominaba la práctica médica en todo occidente e incluso se extendió con gran rapidez entre otras civilizaciones con médicos dispuestos a hacer diagnósticos basados en la estación del año y en el carácter del enfermo. Una vez diagnosticado el humor que estaba descompensado en el paciente, se procedía a su curación.

En el siglo I a.C., la ciencia de la salud era considerada originalmente parte de la filosofía, de manera que la cura de las enfermedades y la contemplación de la naturaleza nacieron entre las mismas autoridades, entre los que la buscaban con mayor afán, y en esa misma época la medicina fue dividida en tres partes: la que curaba mediante la dieta; la que sanaba mediante los medicamentos y la que lo hacía mediante la mano. A la primera, los griegos la llamaron “dietética”, a la segunda “farmacéutica” y, a la tercera “cirugía” (Koeing y colaboradores, 2001).

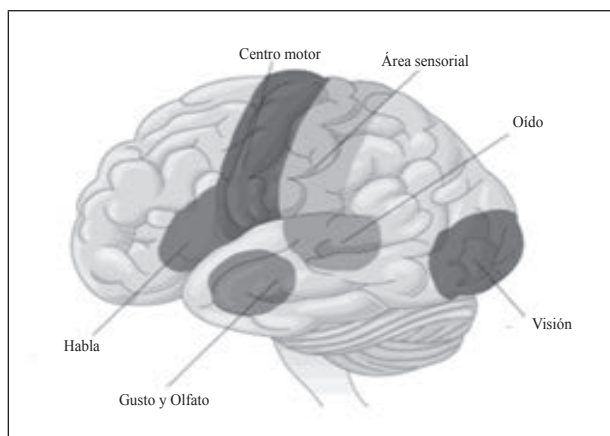
La teoría hipocrática, se extendió por el médico y filósofo persa Avicena, (980-1037) autor de más de 450 libros entre tratados filosóficos y de medicina, ya que descubrió que los *cuatro humores primarios* se derivaban de las digestiones de las comidas y eran utilizados por el cuerpo como componentes de nutrientes para el crecimiento y para la reposición en el organismo de toda la energía que habría ido perdiendo durante el día y añadió a la teoría los humores secundarios responsables de fluidos intracelulares y extracelulares que se encontraban entre los tejidos del cuerpo humano. Según Avicena, los humores estaban muy equilibrados de por sí, y no tenían por qué desequilibrarse ya que el peor humor era el de la bilis negra, la que fue responsable del desarrollo de cáncer y de otras enfermedades ya que se trataba de una toxina. Actualmente, las teorías de Los Cuatro Humores, no han sido tomadas en cuenta por la medicina moderna, pero estudios científicos han demostrado que la salud ha sido proporcional a la atención y cuidado a los estilos de vida.

Mente y salud

Una antigua teoría, la “frenología”, desarrollada al rededor del 1 800 y hoy considerada una pseudociencia, afirmaba la posible determinación del carácter y los rasgos de la personalidad, basándose en la forma del cráneo, cabeza y facciones. La “frenología” fue el primer intento de relacionar sistemáticamente la topografía cerebral con las funciones psíquicas y mentales, que a pesar de sus grandes limitaciones metodológicas, abrió el camino para el estudio de la función cortical y postuló que el cerebro no era un órgano unitario indiferenciado. En la década de los cuarenta, la utilización en neurofisiología de técnicas para el registro de la actividad de células nerviosas individuales en animales, supondría un paso importante para la convergencia entre las neurociencia y la psicología (Sierra-Fitzgerald y Munéva, 2007).

En la mente humana, la información acumulada por el sistema sensorial, fluye a través de un sistema cognitivo cuyos componentes básicos son la atención, la percepción y la memoria. El ser humano establece el primer contacto con su entorno a partir de la sensación que constituye la fase inicial en la recepción de la información, y se produce cuando uno de nuestros sentidos es estimulado. El órgano del sentido correspondiente capta esta energía y la transmite por los nervios, mediante conexiones sinápticas al cerebro, que recibe toda esa información y la procesa. A los cinco sentidos básicos se les llama exteroceptores, que captan la información del mundo exterior por medio del olor, color, sabor, textura y sonido (figura 1).

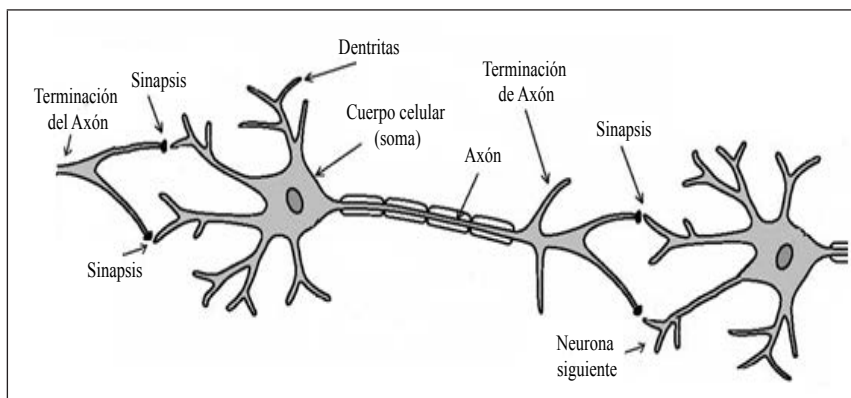
Figura 1. Percepción de información sensorial en el cerebro



Fuente: elaboración propia.

La neurociencia estudia la estructura y función química, farmacología, y patológica del sistema nervioso y de los procesos de interacción entre los diferentes elementos de este sistema que origina la conducta. La totalidad de las funciones vitales del organismo, se llevan a cabo por el sistema nervioso el cual está constituido por un órgano maestro: el cerebro y por los nervios que son el conjunto de estructuras que le permiten llevar información y ejecutar acciones. El estudio biológico del cerebro es un área multidisciplinar que comprende varias disciplinas, desde el estrictamente molecular hasta el específicamente conductual y cognitivo, pasando desde el nivel celular individual, hasta el nivel más alto del sistema nervioso. El cerebro recibe la información del medio ambiente, la apropia e interpreta con relación a experiencias anteriores y así se genera el pensar y actuar. La recepción de señales por parte del cerebro da lugar al procesamiento cerebral de la información recibida, lo que origina una respuesta mental que se expresa mediante la manifestación de un comportamiento. Dentro de este campo se encuentra la neurociencia celular que estudia los procesos fisiológicos y los mecanismos electroquímicos entre las neuronas (células nerviosas) y las señales transmitidas dentro del soma, las partes que intervienen son *neuritas* (responsables de recibir información y conducirla hacia el cuerpo), *dendritas* (receptores de impulsos nerviosos que reciben la excitación, que puede ser de estímulos en el ambiente o de otra célula), los *axones* (especializados para conducir los impulsos nerviosos desde el soma hacia otra célula) y *somas* (cuerpos celulares que mantienen la integridad anatómica y funcional de la neurona, sintetizan sustancias químicas mensajeras, aquí nacen las dendritas y axones) (figura 2) (Le Doux, 2002).

Figura 2. Neurona y sus partes



Fuente: elaboración propia.

La conducta humana, a nivel del sistema nervioso central se traduce en la sinapsis, que es la relación funcional de contacto entre las terminaciones nerviosas. La llegada de información al cerebro por las diferentes vías, se puede registrar como actividad eléctrica. Entre todo ese proceso de interpretación, registro, integración y acción, existen sustancias químicas denominadas neurotransmisores que intervienen en la producción de impulsos nerviosos, a nivel de las uniones sinápticas entre neuronas. Los neurotransmisores no se distribuyen al azar, éstos aparecen organizados de acuerdo a los diferentes grupos de nervios, vías, fibras, trayectos y núcleos, que se proyectan hacia regiones de alta especificidad. De las interrelaciones entre los neurotransmisores, resultan los distintos comportamientos humanos.

Los estudio más modernos del cerebro, han incluido *scanners* que han utilizado técnicas de imágenes de la estructura de neuronas y proyecciones de fibras, flujo sanguíneo y metabolismo energético del cerebro, así como cambios en la actividad neuronal que se producen después de inducir diferentes actividades. La primera técnica funcional que se desarrolló fue la llamada Tomografía por Emisión de Positrones (PET), por imagen capaz de medir la actividad metabólica del cuerpo humano, que se puede utilizar para la realización de mapas de cambios en el Flujo Cerebral Sanguíneo (CBF). Este método permitió localizar donde residían las funciones sensoriales, motoras y cognitivas en el cerebro humano.

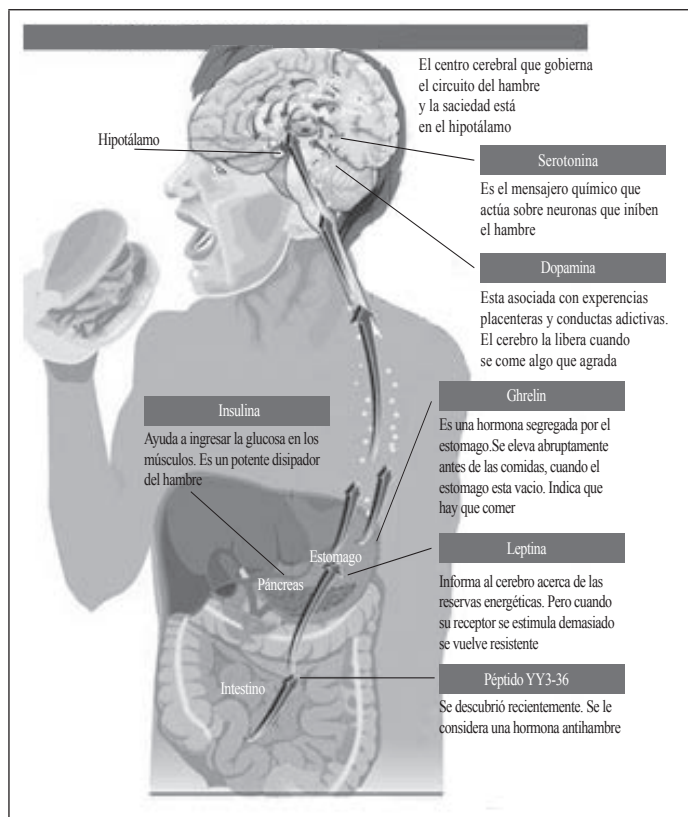
Fisiología nutricional: el hambre y el apetito

El hambre es una necesidad fisiológica de supervivencia, a diferencia del apetito que es una actitud aprendida y modificada por nuestro entorno sociocultural. El sistema nervioso junto con el sistema endocrino son los dos sistemas que desempeñan la mayoría de las funciones del organismo tendiendo a mantener el equilibrio del medio interno (homeostasis). El sistema neuroendocrino (neuro = nervio, endocrino = hormona) es una compilación de entradas del sistema nervioso, así como de glándulas a través del cuerpo que secretan químicos. Toda la información que puede recibir el cerebro del mundo exterior, se obtiene por medio de los sentidos (gusto, tacto, olfato, vista y oído) cuyas sensaciones se reciben a través de los órganos respectivos (lengua, piel, nariz, ojos y oídos). Dentro de la alimentación del cuerpo humano, el hambre, la saciedad y el balance energético, se regulan por un sistema neuroendocrino, integrado a nivel de hipotálamo, que es responsable del mantenimiento del peso corporal. La ingesta de alimentos está regulada por un sistema de control inmediato que transmite información entre el estómago y los centros hipotalámicos. En la actualidad, se han conocido muchos aspectos que han influido y han regulado

el apetito, como los aspectos moduladores (psicosociales, tipo de nutriente, aspectos metabólicos, propiedades sensitivas de los alimentos, hormonales, fisiológicos de la digestión) que se han integrado en nuestro Sistema Nervioso Central (SNC), fundamentalmente en el área hipotalámica (núcleo ventromedial y paraventricular), y condujeron a determinados hábitos alimentario (Rocandio, 2000).

La regulación alimentaria en el ser humano ha sido compleja y la relación entre la ingesta dietética y su relación con el peso corporal ha sido ampliamente estudiada. El mantenimiento del peso corporal se ha debido a un equilibrio entre el aporte calórico y el gasto energético. Se definieron tres conceptos para comprender la fisiología de la toma de alimentos: hambre, apetito y saciedad (Blundell, 1991).

Figura 3. Hambre y saciedad



Fuente: Marcelo Rubinstein, AAAS.

En los últimos años se han observado dos fases notables en el desarrollo homínido, comenzando con una fase de la evolución biológica que se caracterizó por el rápido aumento del tamaño del cerebro (Carter, 2012). Una convergencia de factores contextuales, plataformas tecnológicas y los marcos de investigación de la genómica del cerebro y la cognición humana han generado un nuevo modelo post-genómico para el estudio de la raza y el coeficiente intelectual (Richardson, 2011). Este complejo estudio del crecimiento y la reorganización del cerebro y el funcionamiento de los factores hereditarios y sus influencias externas crearon una oportunidad para considerar las implicaciones de la evolución cultural y de las facultades cognitivas, que han tenido mucha relación con los trastornos alimentarios (Blazek y colaboradores, 2010).

El hombre como un ser integral

El ser humano constituyó desde el punto de vista biológico, una especie animal bajo la denominación científica de *Homo sapiens*, donde Homo significó género y sapiens significó “sabio” o “capaz de conocer”, y se refirió a la consideración del ser humano como animal racional, al contrario de todas las otras especies. Para que un ser humano tuviera un óptimo desarrollo fue indispensable que contara con salud, ya que ésta desarrolla capacidades y habilidades como persona individual y única. El hombre está compuesto de espíritu, alma y cuerpo (cuadro 1). El cuerpo es el vehículo físico de nuestra alma, con el que nos movemos y percibimos el mundo a través de nuestros sentidos, el alma es donde se encuentra nuestra información personal y por medio de nuestro libre albedrío elegimos nuestra naturaleza y con esto creamos un espíritu o carácter que define nuestra personalidad.

El cuerpo físico del hombre tiene un promedio de vida de 70 años, cuando se nutre y se cuida adecuadamente (Roth, 2009). En la actualidad en México, se han desarrollado más estudios científicos en el área de salud física, que en las áreas psicológica y espiritual, porque la cultura actual ha sido creer que la salud corporal es más importante que la salud del alma o del espíritu. Los filósofos presocráticos concibieron el alma como el principio vital que determinaría las actividades de los seres vivos, pero no alcanzaron una comprensión del alma como una realidad independiente del cuerpo, divina e inmortal, debido posiblemente a que los grandes filósofos y pensadores antiguos eran de la época anterior a Cristo donde aún no nacía el espíritu puro (Lin, 1999). Hoy en día en la psicología existen muchos estudios en el área de la psicología sobre el alma y las emociones, sin embargo con el incremento del conocimiento y del razonamiento cognitivo, nos hemos adaptado más al mundo físico y hemos perdido nuestra conexión con el mundo espiritual, ocasionando errores en la

comprensión del espíritu, nulificando lo espiritual como parte del ser humano, por lo que se ha requerido concientizar sobre la correcta alimentación del espíritu, para desarrollar correctamente la personalidad.

Cuadro 1. Integración del ser humano

<i>Cuerpo</i>	<i>Alma</i>	<i>Espíritu</i>
El cuerpo físico está organizado en diferentes niveles jerarquizados. Así está compuesto de aparatos, éstos los integran sistemas, que a su vez están compuestos por órganos conformados por tejidos, células y moléculas. Su principal función es ser el vehículo físico del alma.	Es nuestro “yo personal”. Aquí se forma nuestro ego y personalidad, intelecto, pensamientos, emociones, sentimientos, y la información procesada de nuestra vida, gustos, anhelos y sueños. El alma tiene la capacidad de elegir cómo vivir por medio del libre albedrío.	Es aquella parte del ser humano que se forma por las decisiones que elegimos por medio del libre albedrío, podemos crear un espíritu puro o impuro, con esto se forma el carácter y tiene tres funciones primarias: “Conciencia”, “intuición” y “comunidad”. Es el vehículo invisible del alma por el que nos comunicamos con el mundo espiritual sin ninguna intervención de la lógica y el razonamiento humano.

Fuente: elaboración propia.

Neurogastroenterología

El doctor Gershon (padre de la Neurogastroenterología) cuyos estudios se centraron en la comprensión de los nervios del tracto gastrointestinal, propuso que el intestino humano en realidad tenía un cerebro propio (un conjunto de células nerviosas localizadas en el esófago, el estómago y el intestino delgado). Este segundo sistema nervioso se completaba con una red de más de 100 millones de neuronas y los neurotransmisores con un circuito complejo que le permitían controlar el intestino. En el aparato digestivo estaban presentes todos los tipos de neurotransmisores que existían en el cerebro, el 95% de la serotonina, (neurotransmisor) más importante del cuerpo, se encontraban en el intestino. Con estos nuevos descubrimientos, se asentó una base científica del instinto y una comprensión nueva y revolucionaria de los trastornos nerviosos y el intestino. Con estos estudios se demostró como el sistema nervioso entérico le hablaba al cerebro y éste le respondía. Las células nerviosas en el intestino utilizaban serotonina para enviar una señal al cerebro. Esta información nos alertaba a no comer ciertos alimentos mediante la sensación de malestar estomacal y sensaciones negativas. La irritación del intestino pudo afectar el humor, y la estimulación del nervio principal que conectaba al cerebro con el intestino (el vago)

podía ayudar a aliviar la depresión, y ha sido usado para tratar la epilepsia. Este segundo cerebro no era sede de pensamientos conscientes ni de toma de decisiones y en parte determinaba nuestro estado mental y tenía un papel clave en determinadas enfermedades que afectaban otras partes del organismo. Gershon afirmó que el bienestar emocional cotidiano quizá también dependía de mensajes que el cerebro intestinal enviaba al craneano (Gershon, 1998).

Recientemente, las investigaciones sobre salud y espiritualidad, han mostrado que las personas religiosas tendieron a tener mejor salud mental y física, que los que no se involucraron en prácticas religiosas (Koenig, 2001), personas que vivían en paz consigo mismas y con la sociedad que las rodeaba, eran “equilibradas” y raramente padecían enfermedades y mucho menos contrajeron enfermedades graves. La frase de Hipócrates: “la mitad de la curación está en la voluntad del enfermo” continuó vigente. Recordemos también que en esa época predominaba la espiritualidad y la veían como algo natural, contrario a lo que sucede en esta época en la que se ha perdido la fe en la espiritualidad como parte de la salud y sanación. No obstante, investigaciones realizadas en el campo de la neurociencia y la salud, han permitido el desarrollo de una nueva área de estudio, la “neuroteología”, que se ha enfocado a las áreas del cerebro que se relacionan con las experiencias místicas que tienen relación con la fe y la sanación (Newberg y Waldman, 2007).

La alimentación humana

La nutrición como ciencia surgió a finales del siglo XVIII y principios del XIX. Los estudios sobre alimentos se enfocaron en conocer la composición de los alimentos y la naturaleza de sus componentes, así como las necesidades cuantitativas y cualitativas del ser humano.

Nuestro entendimiento en el conocimiento de una buena alimentación corporal ha evolucionado ampliamente. Cada vez se ha comprendido más el metabolismo, la importancia de los nutrientes y las sustancias funcionales. No obstante, apenas comenzó a integrarse todo este conocimiento requerido para lograr una salud óptima de la población.

Antes de continuar, fue necesario considerar la definición de varios términos relacionados con la nutrición y la salud integral, por lo que se utilizaron las definiciones de los mismos, dados por la Real Academia de la Lengua Española (RAE), para comprender su significado:

Salud. Del lat. *Salus, -ūtis.* a) Estado en que el ser orgánico ejerce normalmente todas sus funciones. b) Condiciones físicas en que se encuentra un organismo en un momento determinado. c) Estado de gracia espiritual.

Alimento. Del lat. *Alimentum.* Conjunto de cosas que el hombre y los animales comen o beben para subsistir.

Cuerpo. Del lat. *Corpus.* Conjunto de los sistemas orgánicos que constituyen un ser vivo.

Alma. Del lat. *Anīma.* a) Vida humana. b) f. Principio que da forma y organiza el dinamismo vegetativo, sensitivo e intelectual de la vida.

Espíritu. Del lat. *Spirītus.* a) Ser inmaterial y dotado de razón. b) Don sobrenatural y gracia particular que Dios suele dar a algunas criaturas.

Los descubrimientos realizados en nutrición durante el período comprendido entre 1912 a 1944 —considerado “la edad de oro de la nutrición” para algunos autores— fueron tantos y tan importantes que algunos investigadores pensaron que el tema de la nutrición estaba agotado. El tiempo ha mostrado que los estudios nutricionales requeridos cambiaron con el tiempo, Por ejemplo, hace 30 años estaban enfocados en paliar la desnutrición, en tanto que ahora los problemas de salud y alimentación se han centrado en el exceso de peso ocasionado por trastornos alimentarios y el estudio de los alimentos funcionales y su relación con la salud (Blazek y colaboradores, 2010).

Cada vez ha existido más conciencia del riesgo de elegir una alimentación deficiente de nutrientes. La necesidad de contar con alimentos que fueran más benéficos para la salud, también se vio apoyada por los cambios socioeconómicos y demográficos que se han dado en la población. El aumento de la esperanza de vida, que ha tenido como consecuencia el incremento de la población de adultos mayores y el interés de mantener una buena calidad de vida, así como el aumento de los costos sanitarios, han potenciado que los gobiernos, los científicos, los profesionales de la salud y la industria alimentaria buscaran la manera de controlar estos cambios de forma más eficaz. Las investigaciones se han enfocado ahora en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos, que ofrecieran la posibilidad de mejorar las condiciones óptimas del organismo, para disminuir el riesgo a las enfermedades (Smith y Charter, 2010). Los alimentos funcionales estaban orientados a modificar aspectos genéticos y fisiológicos y a la prevención y tratamiento de enfermedades, más allá de la mera cobertura de las necesidades de nutrientes. Se han conocido innumerables sustancias con actividad funcional. Estos alimentos han operado su actividad en múltiples sistemas, especialmente el gastrointestinal, cardiovascular e inmunológico, se han comportado como potenciadores del desarrollo, moduladores del metabolismo de nutrientes, la expresión génica, el estrés oxidativo y la esfera psíquica (cuadro 2) (Silveira y colaboradores, 2003).

Cuadro 2. Principales beneficios de los alimentos funcionales

<i>Sistema que beneficia</i>	<i>Función biológica</i>
Desarrollo fetal y primeros años de la vida	Crecimiento y desarrollo (sistema nervioso central, otros sistemas y órganos).
Aparato digestivo	Modificación y equilibrio de la microflora colónica Inmunidad Incremento de la biodisponibilidad de nutrientes Mejora del tránsito/motilidad Proliferación celular Fermentación de sustratos
Aparato cardiovascular	Homeostasis de lipoproteínas Integridad endotelial Antitrombogénesis
Metabolismo de macronutrientes	Mejora de la resistencia a la insulina Rendimiento óptimo de actividad física Mantenimientos del peso Composición corporal (grasa).
Metabolismo xenobiótico	Cognición Estado de ánimo
Esfera psíquica	Instintos (apetito/saciedad) Nivel de estrés emocional

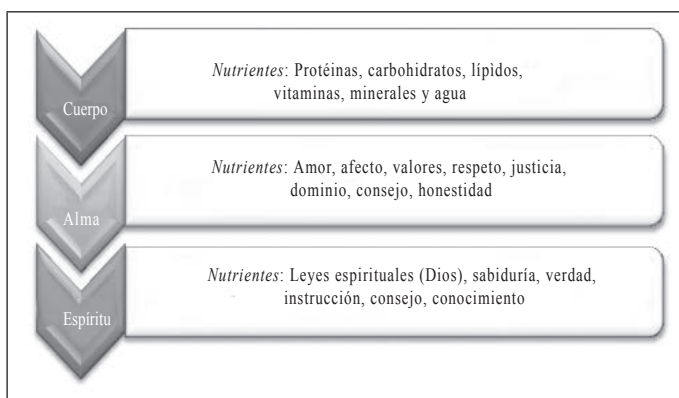
Fuente: elaboración propia.

La industria alimentaria y restaurantera ha sido un negocio lucrativo, que ha usado diferentes estrategias de publicidad, cuyo objetivo ha sido aumentar las ventas para obtener mejores ganancias. Desafortunadamente, también han existido riesgos de salud en la manipulación de la publicidad para atraer la atención de la población hacia sus negocios, porque al perfeccionar las propiedades organolépticas de los alimentos se tendió a comer en exceso. Fue un factor que impactó en el incremento de las enfermedades crónico degenerativas, ya que la acción de comer involucró sensaciones, emociones y sentimientos y aunque los alimentos biológicos sólo debían usarse para proveer los nutrientes adecuados, en personas con problemas psicológicos se

utilizaron en exceso como instrumentos de deleite, o como premio o castigo, o para generar emociones y sentimientos de placer y desahogo, provocando con ello padecimientos psicológicos, trastornos alimenticios como gula o bulimia, además de daños cerebrales, ya que se ha descubierto que se activaron senderos del sistema inmunológico habitualmente dormidos en el cerebro, lo que hizo que las células inmunes atacaran y destruyeran a invasores que no estaban allí (Meng y Cai, 2011).

La dieta y la salud han tenido suficiente evidencia científica que las relaciona. Esta reciprocidad no sólo ha hecho referencia a las enfermedades somáticas (patología cardiovascular, diabetes, etc.), sino que comprendió trastornos de índole psíquica, como la depresión, ansiedad, y estrés. Investigaciones recientes sostuvieron que el tipo de ácidos grasos que contenía la dieta podría tener un papel determinante en distintos aspectos de la salud mental. La alimentación de cada área del ser humano, ha requerido una adecuada nutrición y los nutrientes adecuados en cada área han sido específicos y debían ir enfocados para el desarrollo óptimo de un individuo (figura 4).

Figura 4. Alimento nutritivo para el correcto desarrollo de nuestro ser integral



Fuente: elaboración propia.

Algunos investigadores se centraron en encontrar la relación entre los niveles de inteligencia emocional y el autoestima y el estado de ánimo positivo, encontrando una relación positiva entre la inteligencia emocional y ambas variables. Varios autores han teorizado que una alta inteligencia emocional pudo llevar a grandes sentimientos de bienestar emocional y fueron capaces de tener una mejor perspectiva de

la vida. Ha existido también evidencia empírica que pareció demostrar que la alta inteligencia emocional se asoció con menor depresión, mayor optimismo y una mejor satisfacción con la vida. Por tanto, esto sugirió un vínculo entre inteligencia emocional y bienestar emocional. La inteligencia emocional incluyó la habilidad para comprender y regular las emociones, el bienestar emocional incluyó el estado de ánimo positivo y una autoestima alta (Schutte y colaboradores, 2002)

La investigación sobre la relación entre emoción y salud se ha centrado, principalmente, en dos grandes aspectos. En primer lugar, en establecer la etiopatogenia emocional de ciertas enfermedades, intentando relacionar la aparición de determinadas emociones (ansiedad, ira, depresión) con trastornos psicofisiológicos específicos (trastornos coronarios, alteraciones gastrointestinales, o del sistema inmunológico, por ejemplo). En segundo lugar, en el papel que ejerció la expresión o inhibición de las emociones en la salud y la enfermedad (Choliz, 2005).

Hay dos tipos de procesos que afectan nuestro equilibrio emocional: los internos, donde el flujo y el reflujo de los neurotransmisores eleva o baja la excitación, y los externos, las interacciones con el ambiente, incluidos los intercambios con otra gente. Las emociones son reacciones psicofisiológicas que representan modos de adaptación a ciertos estímulos ambientales o de uno mismo. Las emociones nacen del alma y son la respuesta del estado afectivo que experimentamos. Una reacción subjetiva al ambiente que viene acompañado de cambios orgánicos (fisiológicos y endócrinos) de origen innato, influidos por la experiencia. Las pautas fisiológicas o musculares habituales comienzan a determinar por sí mismas los estados anímicos. Las emociones básicas o primarias son seis: ira, alegría, asco, tristeza, sorpresa y miedo. Cuando algo nos atrae, nos sorprende, nos disgusta, nos aterroriza, nos hace sentir vulnerables o solos. Todo nace de una primera sensación percibida por los sentidos, que genera una reacción emocional involuntaria. El proceso de percepción tiene un componente fisiológico y otro cognitivo. Nuestros sentidos aportan una información que es analizada y genera como resultado un pensamiento. Durante el proceso de desarrollo de todo nuestro ser, estamos expuestos a **métodos de aprendizaje** perceptivo, práctico y cognitivo. Tenemos la decisión de aprender y elegir para nuestra vida lo que consideremos bueno. Sin embargo, antes de eso debemos de ser intuitivos para tomar las decisiones de forma correcta, por eso es importante la sabiduría, la inteligencia y el conocimiento adecuado como factores importantes en el desarrollo del dominio de las emociones, para lograr una comprensión y distinguir lo admisible para tener una calidad de vida aceptable. Puesto que una de las funciones principales de las emociones es facilitar la aparición de las conductas apropiadas, la expresión de las emociones permite a los demás predecir el comportamiento asociado con las mismas, lo que tiene un indudable valor en los procesos de relación

interpersonal. El estudio madre-bebé de Huebner e Izard (1988) mostró cómo la expresión emocional de una persona pudo provocar reacciones conductuales específicas en otra persona, como facilitar la interacción social, controlar la conducta de los demás, permitir la comunicación de los estados afectivos o promover la conducta prosocial (más sociables, cooperativas y ayudar más a los demás). Emociones como la felicidad favorecen los vínculos sociales y relaciones interpersonales, mientras que la ira pueden generar repuestas de evasión o de confrontación.

La autoestima desempeña un papel muy importante en la respuesta emocional, ya que es la valoración que uno hace de sí mismo con base a percepciones, pensamientos, características físicas, estados de ánimo y temperamento. Esta evaluación personal puede ser de tipo alto o bajo. La llamada autoestima alta está representada en personas seguras de sí mismas que no tienen inconveniente en exhibir sus sentimientos ni en sentir orgullo propio por los logros obtenidos. Al tener un concepto positivo de uno mismo, se logra confianza y respeto hacia lo que uno es y no brota la necesidad de modificar conductas o de castigarse por ciertos comportamientos que no satisfacen al propio individuo. Esta clase de seres son conscientes de sus virtudes, pero también reconocen sus limitaciones sin que ello sea motivo de malestar, sino por el contrario se convierte en un disparador de progresos. En cambio, al tener una autoestima baja se queda expuesto a todo tipo de inseguridades y surgen así dificultades a la hora de relacionarse, tendencias a ocultar lo que se siente, temores, inestabilidad emocional y un pensamiento pesimista que sólo parece aceptar que el destino reserva fracasos. También existe una tercera opción que se conoce como autoestima relativa y es resultado de una combinación de reacciones derivadas de la sobrevaloración, ya que provoca un cuadro confuso frente al que es difícil advertir si la persona se cree valiosa o no se acepta tal cual es. El narcisismo es un trastorno patológico extremo dentro de los desórdenes de la personalidad y sus síntomas son que el individuo se sobreestima y tiende a realzar de forma exagerada sus cualidades y llegan al extremo de adorarse y creerse superiores al resto.

Los nutrientes y el metabolismo han sido un factor determinante en la salud mental de los seres humanos y ha sido investigado cada vez más ampliamente en diversas áreas y algunos autores señalaron que se pudo influir en el funcionamiento cerebral con la manipulación de las sustancias que ingiere el individuo (Campos, 1999). El objetivo final del consumo de alimentos ha sido aportar los nutrientes necesarios para el funcionamiento normal del organismo, cualquier déficit metabólico como el que se ha presentado en los trastornos mentales requiere un aporte suplementario adicional (Horrobin y colaboradores, 1994). Una dieta adecuada en macronutrientes y micronutrientes pudo jugar un papel determinante en la función

cognitiva normal y patológica de un individuo (Smith, 1994). Está demostrado el impacto que provocó el proceso alimentario y metabólico en el fenómeno psíquico (Bates y colaboradores, 1992).

La alimentación del cuerpo físico

El cuerpo físico necesita materiales con los que pueda construir o reparar su propio organismo, energía para hacerlo funcionar y reguladores que controlen ese proceso. En las diferentes edades y situaciones biológicas dentro de éstas, los requerimientos nutricionales poseen características distintas y por ende, la alimentación es también particular para cada etapa. Una buena alimentación para tener salud corporal, requiere ser nutritiva y esto significa que los alimentos presentes en la dieta deben ser balanceados, para cubrir los requerimientos calóricos, debe de ser equilibrada de acuerdo con la etapa y requerimientos propios de la edad para mantener la salud del organismo y prevenir las enfermedades y trastornos específicos que suelen presentarse en cada etapa. En la actualidad, existe un exceso de publicidad, buena y mala, para hacer conciencia en cambiar hábitos alimentarios y tener un estilo de vida con más actividad física. Es sorprendente como un individuo puede encontrar un texto sobre la mejor manera de perder peso y al mismo tiempo encuentre información indicándole que esa dieta es peligrosa para la salud.

El cuerpo físico tiene necesidades nutritivas y estas deben de ser suplidas correctamente. Es importante prestar atención a los mensajes de apetito, pero esto no significa gratificar el cuerpo. Si el cuerpo es complacido cada vez que pide uno alimento aunque se tenga obesidad, se volverá un amo con más y más exigencias, y tendrá el control de nuestro ser. El alma también se verá envuelta en sus apetitos y caerá en el hedonismo (búsqueda del placer). Debemos de tener control mental sobre la alimentación del cuerpo físico que no puede exigirnos comida mientras tengamos sobrepeso, ya que tenemos reserva de grasa acumulada para épocas de hambruna. Se debe de buscar la razón por la que se come de más para tratar el trastorno alimenticio.

La alimentación del alma

Existen muchos estudios científicos sobre la forma correcta de alimentar nuestro cuerpo físico. Sin embargo, aún existe polémica sobre la forma correcta de alimentar nuestra alma y los nutrientes que necesita. El alma es nuestra entidad inmaterial,

cuyas características varían según los factores (positivos o negativos) con los que se nutre (cuadro 2).

Cuadro 2. Factores que ayudan a formar la personalidad

<i>Factores internos</i>	<i>Factores externos</i>
Mentales	Culturales
Físicos	Ambientales
Psicológicos	Sociales
Espirituales	Religiosos

Fuente: elaboración propia.

Durante toda la existencia de la humanidad los filósofos han especulado mucho en cuanto al significado del alma desde el área filosófica y psicológica y la han definido de diferente manera. Algunos negaron la existencia del alma, aunque en el área espiritual religiosa y, concretamente en la biblia, se reveló que el alma se encontraba en la sangre (Levítico 17:11). Desde hace dos mil 500 años, las emociones se han considerado como una parte innata del ser humano. Neurológicamente el sistema límbico, (parte más antigua filogenéticamente del cerebro) gestionó las emociones además del aprendizaje y la memoria. Es un área del cerebro que incluía al hipotálamo, amígdala, hipocampo y cuerpos mamilares (Rosenzweig y Leiman, 1996). Este sistema controla el estado de ánimo, las emociones y la motivación. Este proceso nace de la activación de un conjunto de neuronas del sistema límbico como si fuese un circuito integrado. Este circuito para poderse activar y funcionar requiere necesariamente de la secreción de mensajeros neurotransmisores, para que las neuronas que la integran logren comunicarse. Los neurotransmisores tenían como función llevar el mensaje en la comunicación entre las neuronas a través de las sinapsis y así producir un cambio electroquímico, que era la forma en que las neuronas interpretaban la información (Vander y colaboradores, 1997). Espiritualmente, la emoción nace del alma por medio del libre albedrío, es la respuesta que generamos (positiva o negativa) al recibir el estímulo o información de los sentidos (fisiológico) y de cómo entendemos la información (cognoscitivo). En el alma, se centran el principio de la necesidad de amor, afecto, apetitos y pasiones, y se tiene que aprender a sujetar y dominar el alma y vivir más espiritualmente. El crecimiento y desarrollo de un ser humano se lleva a cabo en las áreas física,

emocional, racional y espiritual. Para alcanzar su completa madurez intelectual se requiere desarrollar virtudes que permitirán generar un espíritu pródigo, para crear un ser humano íntegro (cuadro 3).

Cuadro 3. Virtudes o defectos que se eligen de acuerdo al libre albedrío

<i>Virtudes</i>	<i>Defectos</i>
Sabiduría	Ignorancia
Humildad	Soberbia
Generosidad	Avaricia
Castidad	Sensualidad
Paciencia	Ira
Frugalidad	Gula
Confianza	Celos
Diligencia	Pereza

Fuente: elaboración propia.

Los nutrientes emocionales

La nutrición emocional nace de un vínculo significativo que permite al ser humano ser dirigido por alguien, pero sólo es efectivo si existe un contexto de relación de respeto y amor filial. El ser humano requiere desde su nacimiento y hasta la pre-adolescencia de una buena nutrición emocional basada en el amor filial. Durante los dos primeros años de vida está influirá positivamente en el neuro-desarrollo y ayudará a moldear la personalidad, y fortalecerá la autoestima, que le permitirá tener seguridad y desarrollar las inteligencias múltiples (Coleman, 1997). Conforme el individuo se va desarrollando y creciendo, experimenta la sensación de afecto que proviene de muestras de cariño, de ser respetado, valorado, escuchado, reconocido, y comprendido. Esto se logra a través de una comunicación y educación adecuada. Las investigaciones han demostrado que los niños que crecieron con una buena autoestima, crearon un concepto de sí mismos favorable que los equipó con las herramientas necesarias para lidiar de manera más adecuada con las exigencias del mundo externo. Está comprobado que la existencia de privaciones emocionales vividas en la infancia, pudieron marcar la vida adulta y producir síntomas que alteraron la forma de vivir, y de esto nació que muchas personas comieran en exceso. Para satis-

facer la carencia emocional, la compensaron en el mejor de los casos, con el placer de degustar una comida succulenta.

Un alto porcentaje de personas percibieron el placer de comer como de gran valor emocional para compensar emociones negativas, ya sea la soledad, la tristeza, la culpa o la ansiedad. Las emociones perturbadoras y las relaciones tóxicas han sido identificadas como factores de riesgo que favorecieron la aparición de algunas enfermedades. Han sido muchas las investigaciones que han puesto de manifiesto que las personas que gestionaron de manera consciente y sosegada su vida afectiva gozaron de una salud comparativamente mejor (Gardner, 1998).

La alimentación del espíritu

El espíritu del hombre es la parte más importante de su ser, por eso necesitamos conocer qué es y cómo debemos nutrirlo. Hemos nacido para creer en casi cualquier cosa, y cada individuo comienza a entender el mundo de acuerdo a la programación mental que desarrolla a través de las primeras experiencias en su niñez con sus sentidos. El área espiritual de nuestra vida tiene gran similitud con la vida física o emocional, ya que espiritualmente hay que nacer, vivir, alimentarse, crecer, desarrollarse (madurar). Tal como en la vida física y emocional, la vida espiritual también se debilita, desanima, desmoraliza, se duerme, se enferma, o se muere si no se nutre y no se le da la atención adecuada.

En los primeros años de vida los individuos indiscutiblemente aprenden de las creencias de las personas más cercanas, (padres, abuelos, familia, maestros y amigos), y aprenden un patrón de conducta que los ayudará a sobrevivir en el mundo. Los padres transmiten a los hijos sus creencias y actitudes, les enseñan los valores con el ejemplo de sus hábitos, estilos de vida y comportamiento. Es importante que el ejemplo esté en el actuar y no sólo en el decir de los padres y maestros, porque las incongruencias y las mentiras llevan a los niños y jóvenes a confusiones mentales y a frustraciones creadas por conductas deshonestas, provocadas por quienes los educan. Si se quiere desarrollar en un individuo un espíritu puro, se debe de alimentar primero con amor, después con verdad, respeto, honestidad, sabiduría, inteligencia y con esto crear una forma de pensar correcta que le permita entender la mejor forma de vivir la vida con calidad y con la congruencia crear un espíritu alentador de fe en lo bueno a pesar del caos que se vive día a día (Thompson, 2005).

Descubrimientos recientes sobre la forma en que el cerebro creó la memoria, pensamientos, comportamientos y emociones, pudieron proveer un concepto más claro con el que examinaríamos cómo y por qué creemos, también podrían ayudar a

ver cómo las creencias emergieron del proceso de percepción en el cerebro y como estaban determinadas por las relaciones personales, las influencias sociales y las actividades educativas y espirituales (Newberg y colaboradores, 2001).

Los avances científicos que se han producido durante los últimos 150 años sobre la estructura y el funcionamiento del sistema nervioso han puesto de manifiesto el papel rector que el cerebro ejerció respecto del resto del organismo. D'Aquili y Newberg (2000) de la Universidad de Pensilvania, sugirieron que estábamos capacitados naturalmente para tener percepciones espirituales. En la neuroteología, neurólogos y psicólogos han intentado descubrir las regiones que se han activado y desactivado durante la experiencia espiritual. Las investigaciones recientes trataron de identificar los circuitos cerebrales que tienen mayor actividad durante dicha experiencia (Newberg, 2010). En la percepción espiritual se debió de contar con fe, para dejar atrás el miedo a lo desconocido, la autoconciencia y el tiempo e interrumpir ciertos circuitos del cerebro, como la actividad en la amígdala, (que monitorea al ambiente y registra el miedo), los circuitos del lóbulo parietal, (que nos orientan en el espacio y marcan la diferencia entre lo propio y el mundo). Los circuitos frontales y temporales, que marcaron el tiempo y generaron autoconciencia, debieron apagarse. Cuando esto ocurría “lo que consideramos como nuestras funciones superiores de autoconciencia parecen disolverse o desligarse de la conciencia” (Newberg y Waldman, 2006).

El alimento del espíritu es la palabra de Dios, que es la energía espiritual con la que vivificamos el espíritu. Cuando una persona tiene obsesiones compulsivas que no puede dominar es porque la parte del ser que domina su vida no es la espiritual. Cuando el espíritu se nutre con la palabra de Dios y con el conocimiento que en ella está, se puede tener dominio propio, vivir de forma más honesta y tener una calidad de vida apropiada. La alimentación del espíritu se elige al seguir las enseñanzas de un Jesucristo de amor y respeto. La religión (del lat. *religiō*, *-ōnis*), es el conjunto de creencias o dogmas acerca de la divinidad, de sentimientos de veneración y temor hacia ella, de normas morales para la conducta individual y social y de prácticas rituales, principalmente la oración y el sacrificio para darle culto.

Es importante considerar seguir una práctica espiritual con bases éticas y morales en la formación de un niño, ya que son los fundamentos para que en la edad adulta continúe siendo una persona honesta. Cuando el niño se convierte en un joven capaz de entender los privilegios de vivir una vida honesta y elegir un camino recto, tendrá una vida satisfactoria, ya que comprenderá que lo que importa en la vida es el amor y la familia y, por lo tanto, tendrá menos riesgos de enfermedades. Se han escrito artículos científicos que demostraron que cuando una persona practicó las reglas de la religión, es menos vulnerable a las enfermedades, porque tiene la conciencia limpia (Koenig, 2001).

La plasticidad neuronal de nuestro cerebro nos permite hacer cambios sutiles en nuestros sistemas de creencias conforme vamos adquiriendo más conocimiento y vamos comprendiendo de forma diferente lo que sólo creíamos. Cuando estamos expuestos a nuevas ideas, tenemos la capacidad biológica para alterar nuestras creencias anteriores, debido a la capacidad intelectual que vamos desarrollando. En la actualidad, diversos reportes científicos unieron la religión y la espiritualidad con la salud física (George y colaboradores, 2002; Koenig y colaboradores, 2002; Larson y colaboradores, 1998; Weaver y colaboradores, 1998; Craigie y colaboradores, 1988; Seybold y Hill, 2001; Thoresen y colaboradores, 2001; Powell y colaboradores, 2003).

El espíritu del ser humano puede ser bueno cuando es alimentado con sentimientos positivos, producto de emociones benéficas. El espíritu del hombre es el lugar en que establecemos toda comunicación con Dios, siempre y cuando sea un espíritu puro (Romanos 8: 14-16). El espíritu (de quien ha sido regenerado) tiene tres funciones principales: conciencia, que discierne lo bueno y lo malo (1 Corintios 2: 12; Ezequiel 11: 19), intuición, con la que se sabe y se sienten los movimientos del Espíritu Santo (1 Corintios 2: 11), y la comunión, con que se adora a Dios (1 Juan 4: 24). Estas tres funciones están profundamente ligadas y operan coordinadas. Antes de la caída, el espíritu del hombre era la parte más noble de todo su ser, y tanto el alma como el cuerpo le estaban sujetos. Por el espíritu, Adán percibía a Dios y tenía comunión con él. Pero con la caída, el espíritu murió, perdió el control y la comunión con Dios y comenzó a vivir por el alma, el espíritu del hombre quedó bajo el poder y la opresión del alma, hasta quedar fusionado con ella. El propósito de Dios es que el espíritu recupere el gobierno sobre el alma, y a través de ésta, sobre el cuerpo, de aquí surge una lucha entre el alma y el espíritu, y como en toda lucha, vencerá el que es más fuerte. El alma (aliada con los apetitos del cuerpo) es quien debe de ser dominada para evitar los placeres de la carne y evitar enfermedades ocasionadas por la gula, vicios y con eso evitar enfermedades físicas (Gálatas 5: 17). Si vivimos por el espíritu debemos andar conforme al espíritu y desarrollar los frutos del espíritu de Dios que son amor, gozo, paz, paciencia, benignidad, bondad, fidelidad, mansedumbre y dominio propio (Gálatas 5: 22-23).

Conclusiones

La salud de un individuo esta íntimamente relacionada con su alimentación y esto se conoce desde tiempos antiguos. En la alimentación integral lo ideal es considerar los fundamentos de la vida para comprender la manera adecuada en la que debe ser nutrido el organismo. Los nutrientes deben de considerarse para las tres aéreas del

Ser: espíritu, alma y cuerpo. Cada área debe ser alimentada con el nutriente correcto, para evitar enfermedades y mantener una calidad de vida aceptable. La falta de conocimiento para unir las tres áreas ha llevado al hombre a cometer graves errores en la percepción de las causas de las enfermedades, por lo que es importante avanzar en su integración.

Aunque existen suficientes estudios científicos que relacionan el área corporal y el área emocional en el tratamiento de las enfermedades, aún falta integrar más sólidamente el área espiritual, tema en el que aún se tienen pocos avances por el grado de dificultad en la aceptación de las áreas espirituales en la ciencia. La creación de una nueva especialidad en este campo, la neuroteología, que estudia la base neurocognitiva de la experiencia religiosa y la espiritualidad, ha ayudado a entender las diferencias entre la neurotransmisión de la información cerebral de religiosas y no religiosas.

La falta de equilibrio del aporte eléctrico y energético de las tres áreas, conduce a enfermar alguna de las áreas, por lo que es importante conocer y entender sobre los nutrientes adecuados, ya que al igual que para el cuerpo físico, existen alimentos que no contienen los nutrientes adecuados que se requieren para el buen funcionamiento del espíritu o del alma.

La salud se logra alimentando el espíritu, el alma y el cuerpo con los nutrientes adecuados y de manera equilibrada.

Referencias

- Bates, C., D. Horrobin and K. Ells (1992), "Fatty acids in plasma phospholipids and cholesterol esters from identical twins concordant and discordant for schizophrenia", *Schizophrenia Research*, vol., 6, pp. 1-7.
- Blazek, V., J. Bruzek and M. F. Casanova (2011), "Plausible mechanisms of brain structural and size changes in human evolution", *Collegium Antropologicum*, vol. 35 (3), pp. 949-955.
- Blundell, J. E. (1991), "The biology of appetite", *Clinical Applied Nutrition*, num., 1, pp. 21-23.
- Campos, E. (1999), *Nutrire il cervello*, Barcelona, Océano Ibis.
- Carter, B. (2012), "Hominid evolution: genetics versus memetics", *International Journal of Astrobiology*, vol. 11 (1), pp. 3-13.
- Chóliz (2005), "Psicología de la emoción: el proceso emocional", disponible en <http://www.uv.es/=choliz/>; consultado el 30 de marzo de 2011.
- Coleman, D. (1997), *Inteligencia emocional*, Vergara.

- Craigie, F. C., I. Y. Liu., D. B. Larson and J. S. Lyons (1988), “A systematic analysis of religious variables”, *Journal of Family Practice*, num. 27, pp. 509–513.
- D’Aquili E. G. and A. B. Newberg (2000), *The neuropsychology of aesthetic, spiritual, and mystical states*, Zygon, vol. 35 (1), 39-51.
- Gardner, H. (1998), *Inteligencias múltiples*, Paidós.
- George, L. K., C. G. Ellison and D. B. Larson (2002), “Exploring the relationships between religious involvement and health”, *Psychological Inquiry*, vol. 13, pp. 190-200.
- Gershon, M. D. (1998), *The second brain: The scientific basis of gut instinct and a groundbreaking new understanding of nervous disorders of the stomach and intestines*, Harper Collins.
- Horrobin, D., A. Iain, M. Glen and K. Vaddadi (1994), “The membrane hypothesis of schizophrenia”, *Schizophrenia Research*, vol. 13, pp. 105-207.
- Huebner, R. R. and C. E. Izard (1988), “Mothers’ responses to infants’ facial expressions of sadness, anger, and physical distress”, *Motivation and Emotion*, vol. 12, pp. 185-196.
- Koenig, H. G. (2001), “Religion and medicine III: Developing a theoretical model. *International Journal of Psychiatry in Medicine*”, vol. 31 (2), pp. 199-216.
- _____ (2001), “Religion and medicine IV: Religion, physical health, and clinical implications”, *International Journal of Psychiatry in Medicine*, vol. 31 (3), pp. 321-336.
- Koenig, H. G., M. E. McCullough y D. B. Larson (2001), *Handbook of religion and health*, New York, Oxford University Press.
- Larson, D. B., J. P. Swyers y M. E. McCullough (1998), “Scientific research on spirituality and health: *A report based on the scientific progress in spirituality conferences*”, Bethesda, MD, National Institute for Healthcare Research.
- Le Doux, J. (2002), *Synaptic self, how our brains become who, we are*, Viking.
- Lin, T. (1999), “Como obra el espíritu Santo en la vida del creyente hoy”, disponible en <http://www.bsmi.org/download/espanol/EspirituSanto.pdf>.
- Meng, Q. Y. and D. S. Cai (2011), “Defective hypothalamic autophagy directs the central pathogenesis of obesity via the I kappa B kinase beta (IKK beta)/NF-kappa B pathway”, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 286 (37), pp. 32324-32332.
- Newberg A. B. (2010), *Principles of Neurotheology. Ashgate Science and religion series*.
- _____ and M.R. Waldman (2006), *Born to believe, God, science, and the origin of ordinary and extraordinary beliefs*, Free Press.
- _____, E. G. d’Aquili and V. P. Rause (2001), *Why God won’t go away: brain science and the biology of beliefs*, New York, Ballantine Publishing Group.
- Powell, L. H., L. Shahabi and C. E. Thoresen (2003), “Religion and spirituality: Linkages to physical health”, *American Psychologist*, vol. 58, pp. 36-52.

- Richardson, S. S. (2011), "Race and IQ in the postgenomic age: The microcephaly case", *Biosocieties*, vol. 6 (4), pp. 420-446.
- Rocandio, A. M. (2000), "El apetito en el control del peso corporal", *Zainak*, vol. 20, pp. 123-133.
- Rosenzweig, M. R. and A. L. Leiman (1996), *Psicología fisiológica*, Mc Graw Hill.
- Roth, R. A. (2009), *Nutrición y dietoterapia*, México, McGraw-Hill Interamericana.
- Schutte, N. S., J. M. Malouff, M. Simunek, J. Mc Kenley and S. Hollander (2002), "Characteristic emotional intelligence and emotional well-being", *Cognition and emotion*, vol. 16 (6), pp. 769-785.
- Seybold, K. S. and P. C. Hill (2001), "The role of religion and spirituality in mental and physical health", *Current Directions in psychological Science*, vol. 10, pp. 21-24.
- Sierra-Fitzgerald O. y G. Munéva (2007), "Nuevas ventanas hacia el cerebro humano y su impacto en la neurociencia cognoscitiva", *Revista latinoamericana de psicología*, núm. 39 (1), pp 143-157.
- Silveira R. MB, M. S. Monereo y B. B. Molina (2003), "Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o Lejos?", *Revista española de salud pública*, núm. 77 (3), pp. 317-331.
- Smith, U. (1994), "Carbohydrate, fat and insulin action". *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 49 (suppl), 686S.
- Smith, J. and E. Charter (2000), *Functional food product development*, Wiley.
- Thompson, C. J. (2005), "Preliminary remarks toward a constructive encounter between. St. Thomas and clinical psychology", *Catholic Social Science Review*. num. 10, pp. 41-52.
- Thoresen, C. E., A. H. Harris and D. Oman (2001), "Spirituality, religion, and health: evidence, issues, and concerns", in T. G. Plante y A. C. Sherman (eds.), *Faith and elath*.
- Vander, A. J., J. H. Sherman and D. S. Luciano (1997), *Human physiology*, McGraw-Hill.
- Weaver, A. J., A. E. Kline, J. A. Samford, L. A. Lucas, D. B. Larson and R. L. Gorsuch (1998), "Is religion taboo in psychology? A systematic analysis of research on religion in seven major American Psychological Association journals: 1991-1994", *Journal of psychology and Christianity*, num. 17, pp. 220-232.

Importancia de la alimentación saludable y el ejercicio físico en el combate a la obesidad infantil

Octelina Castillo Ruiz, Rodrigo Montes Zorrilla, Margarita Hurtado González, Guadalupe Bustos Vázquez, Simón J. Téllez Luis

Resumen

En América Latina, se ha observado al aumento del sobrepeso y la obesidad infantil convirtiéndose en un problema relevante para la salud pública. En México la prevalencia de obesidad en niños y adolescentes se ha incrementado en las últimas décadas. Este problema de salud pública presentó como factores de riesgos la ingesta excesiva de alimentos ricos en calorías y falta de actividad física o de algún deporte. La prevalencia del sedentarismo ha ido en aumento como consecuencia de los avances en la urbanización de las comunidades, falta de instalaciones para realizar actividad física, inseguridad en las ciudades, lo que a su vez provocó que los niños prefirieran quedarse en casa frente a la televisión o entretenidos en juegos electrónicos, ocasionando que las calorías ingeridas fueran almacenadas en forma de grasa. Las estrategias de solución han sido promover programas de actividad física adecuada para aumentar el gasto energético del organismo y disminuir la grasa corporal. Actividad que debió cumplir con la duración, frecuencia e intensidad adecuada. Debía ser divertida para los niños, programada con espontaneidad para mantenerlo atractivo durante el día, acompañado de una alimentación equilibrada, armónica y adecuada a la edad, con dirección hacia el mantenimiento de un óptimo nivel de salud que fortalezcan un crecimiento y desarrollo saludable.

Palabras claves: obesidad infantil, alimentación saludable, ejercicio.

El sedentarismo y la obesidad

En América Latina, se ha observado una tendencia al aumento del sobrepeso y la obesidad infantil convirtiéndose en un problema relevante para la salud pública. Los factores de riesgo han incluido el peso al nacimiento, la obesidad de los progenitores, las horas dedicadas a la televisión, el rebote temprano de adiposidad y la duración del sueño. Otros factores conductuales asociados fueron el temperamento del niño, la frecuencia de pataletas y la preocupación de los padres por el peso del niño (Domínguez y colaboradores, 2008). En pleno siglo XXI, nuestros niños y niñas se han estado alimentando de manera menos saludable y han desarrollado enfermedades que hasta ahora eran propias de los adultos. No debemos olvidar que lo que comemos afecta nuestro organismo y que en la mayoría de los casos la salud y la enfermedad entran por la boca (Sánchez, 2009).

En los niños, la obesidad ha desencadenado múltiples alteraciones como adelanto de maduración ósea, adelanto de maduración sexual, alteraciones emocionales, hiperlipidemia, aumento de gasto cardíaco, hígado graso, hiperinsulinismo, problemas ortopédicos, apnea del sueño, pseudotumor cerebral, colelitiasis e hipertensión arterial (Vera y colaboradores, 2005). La obesidad, en la niñez y la adolescencia, ha pasado de ser una enfermedad rara a una epidemia emergente, con consecuencias adversas en etapas posteriores de la vida. Gómez y colaboradores, (2008), mencionaron que se ha evidenciado el incremento del sobrepeso y obesidad en niños alterando el metabolismo de los carbohidratos, enfermedad cardiovascular, problemas psicosociales y trastornos alimentarios. Estos autores afirmaron que el inicio de las estrategias de prevención y tratamiento debía ser multidisciplinario, con la intervención no sólo de profesionales de la salud, sino de todos los involucrados en el ámbito escolar, familiar y gubernamental. Las razones por las que no se ha tenido éxito tenían que ver con factores culturales, creencias y prejuicios, pero también se relacionó con la insuficiente preparación del personal involucrado en su manejo.

En México, la prevalencia de obesidad en niños y adolescentes se ha incrementado, al igual que en otros países. Han constituido un reto para los profesionales encargados de vigilar la salud, el crecimiento y desarrollo de los niños en el contexto de lograr una prevención eficaz a través de la detección oportuna, así como de la educación y fomento de hábitos de alimentación y estilos de vida saludables (Romero y colaboradores, 2006). En la obesidad, la relación existente entre la ingesta de alimentos ha ido muy relacionada a la situación familiar en la que se desarrollaron y en forma directa con quién les dio el alimento, por el exceso en la ingesta y el sedentarismo (Castañeda, 2005). En el estudio de Romero y colaboradores, (2006), se

mencionó que los niños y adolescentes no-obesos que practicaron un deporte consumieron más calorías en respuesta a mayores demandas impuestas por el ejercicio, mientras que los obesos que participaron en una actividad deportiva pudieron realizarla con menor intensidad sin que implicara un incremento en la demanda de energía (Wong y Leatherdal, 2009).

La prevalencia del sedentarismo va en aumento como consecuencia de los avances en la urbanización de las colonias, ya que disminuyeron las instalaciones para realizar actividad física. Hay menos espacios libres, aumentó la delincuencia e inseguridad en las ciudades, lo que a su vez ha provocado que los niños prefirieran quedarse en casa a ver televisión o entretenidos en juegos electrónicos (Cornejo y colaboradores, 2008).

Todos los niños de edad escolar deberían participar diariamente en al menos 60 minutos acumulativos de actividad física de moderada a vigorosa. Esto sería apropiado, agradable e incluiría una variedad de actividades. Dentro de cada semana, al menos tres días deberían incluir actividades de intensidad vigorosa (Bennett y Sothorn, 2009). La práctica de actividad física, de manera regular y adaptada a las capacidades y características individuales de las personas, conlleva efectos patentes benéficos para la salud orgánica y fisiológica (González, 2004).

El practicar algún deporte y el desarrollar habitualmente un cierto grado de actividad física serían medidas muy eficaces para la prevención y el tratamiento de numerosas enfermedades. Si al estilo de vida físicamente activo, sumamos un plan de alimentación correcto, entonces estarán bajo control dos factores potentes para influenciar positivamente nuestra salud y tratar numerosas enfermedades (Campillo, 2010). Las personas que mantuvieron niveles razonables de actividad, especialmente en la edad adulta y en la vejez, tuvieron una menor probabilidad de padecer enfermedades crónicas o una muerte prematura (Márquez y colaboradores, 2006). El sedentarismo ha estado asociado con factores de riesgo cardiovascular en adolescentes, especialmente en los obesos. La adiposidad abdominal parecía ser más importante en el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular que la adiposidad general (Martínez-Gómez y colaboradores, 2010).

En el estudio de He y colaboradores, (2011), les pidieron la opinión a maestros y directores sobre el sedentarismo en niños y el resultado que obtuvieron fue la preocupación por el excesivo tiempo que los niños pasaban en actividades de pantalla, pero no percibieron que ellos ocuparan un papel importante en reducir estos comportamientos. Ellos incluyeron demandas limitadas de recursos, espacio o gimnasio reducidos dentro de la escuela, falta de control sobre el ambiente en casa, y una percepción hacia los padres de que eran un pobre ejemplo a seguir (Menéndez y colaboradores, 2009).

Otro factor de riesgo en los niños fueron los comerciales de alimentos que transmitían un mensaje mixto ya que los actores de los comerciales se veían saludables y delgados a pesar de estar consumiendo alimentos de bajo contenido nutricional como cereales azucarados, dulces, bocadillos, meriendas, golosinas saladas, bebidas dulces (gaseosas y no gaseosas) y más recientemente, establecimientos de comida rápida (Tucci, 2010). Estos resultados fueron encontrados inicialmente por Gómez (1995). Además, en los comerciales de alimentos transmitidos durante los programas infantiles se utilizaron con mayor frecuencia estrategias publicitarias como asociar el producto con emociones positivas y con promociones. La televisión se convirtió en un sustituto o un mecanismo de escape a toda esta falta de motivación.

Pérez y colaboradores (2010) mencionaron, que en la programación televisiva de la ciudad de México no se identificaron anuncios que promovieran el consumo de frutas. Además, la publicidad de vegetales fue mínima, particularmente durante la programación infantil, situación que también ocurría en otros países. Estos datos indicaron la necesidad de utilizar los medios masivos de comunicación para promover hábitos alimentarios saludables. También demostraron que el tiempo dedicado a publicidad durante los programas infantiles era mayor, comparado con el tiempo que se dedicó a los programas dirigidos a la audiencia general.

Estilo de vida con relación a la actividad física y deportiva

El acercamiento descriptivo permitió identificar las motivaciones de los jóvenes, sus tipos de implicación en los deportes y las actividades físicas. Incluso la frecuencia y la intensidad de participación, su misma percepción de salud, habilidad atlética, competencia en deporte, actitud hacia la escuela y la importancia dada a las diversas actividades de ocio, contribuyeron a identificar las relaciones entre los motivos de participación y las implicaciones en actividades físicas regulares (Pieron, 2004).

Hellín y colaboradores (2006), señalaron la percepción de competencia para la práctica físico-deportiva según la edad. Los jóvenes tenían una percepción más positiva de su propia competencia, asociada a los niveles de habilidad y destreza más propios de los jóvenes que de los mayores. Respecto al género, los varones se sintieron más competentes para la práctica físico-deportiva que las mujeres. Consecuentemente mostraron un perfil de auto percepción más positiva que las niñas. Moreno y colaboradores (2007 y 2008), reforzaron que el autoconcepto físico pudo ser uno de los factores predictores para ser físicamente activo. Estudiaron una muestra de 988 estudiantes de educación secundaria obligatoria, a quienes se aplicaron las Escalas del Autoconcepto Físico (PSPP) y de la Intención de ser Físicamente Activo

(MIFA). Los resultados revelaron que la Intención de ser Físicamente Activo fue predicha por el autoconcepto físico. La competencia percibida fue el mayor predictor. Considerando sumamente importante, en la promoción de la práctica físico-deportiva, que el profesor de educación física estableciera estrategias de intervención en su proceso de enseñanza-aprendizaje para mejorar la percepción de competencia, condición física, imagen corporal y autoestima.

Valero (2007), mencionó que los motivos que tenía la población para no realizar actividad físico-deportiva durante su tiempo libre fueron la falta de tiempo, porque no les gustaba, o por problemas de salud.

Los niños que no practicaban actividad física argumentaron que esto se debía a la “falta de tiempo”. Cabría preguntarse de qué forma se pudo incidir en este aspecto y si realmente se estaba llenando la agenda de los niños con innumerables actividades extraescolares, ya que los hábitos de ejercicio se debían fortalecer en la niñez para que se establecieran de manera permanente en la adolescencia. La labor como educadores radicó en buscar estrategias que aumentaron la práctica deportiva en los grupos de menor edad, estrategias que no sólo se centraran en la promoción de la práctica de actividad física, sino también en una dieta sana como el pilar básico en la prevención de numerosas enfermedades (De Hoyos y colaboradores, 2007).

El juego como deporte a través de la historia

Diferentes civilizaciones primitivas y culturas en general, han venido desarrollando numerosas formas y actividades motrices con significados socialmente relevantes para esa época como la caza y la pesca, ritos y danzas sagradas, festivales, juegos, deportes y otras. En Grecia los Juegos Olímpicos en honor a Zeus eran el festival que más relevancia obtuvo en la época y que se extendería hasta nuestros días. Los juegos de los niños griegos y romanos eran de roles, que mostraban representando papeles de adultos. En Latinoamérica se ha popularizado un juego similar llamado “el pueblo manda...”. Se juega por bandos y un equipo dispone al otro una actividad o prenda diciendo “... ahora el pueblo manda... ¡saltar con un pie!”. La civilización azteca representó una de las culturas precolombinas más importantes en cuanto al desarrollo de actividades físicas y deportivas. Los juegos elegidos por los niños aztecas eran variados. De igual manera en Perú y sur de Ecuador, se jugaba una especie de Hockey, un juego similar al tenis. Gallos fue un juego que se realizaba con un saquito lleno de arena al que se le añadían unas plumas en un extremo (juego similar al bádminton en la actualidad) (Acosta, 2005).

Hace 20 años, los niños, las niñas y jóvenes jugaban en la calles, potreros, en jardines o patios de sus casas, pero hoy ¿Qué pasó? Esos espacios desaparecieron. La mayoría de los espacios de las ciudades se ocupó por la circulación de vehículos, las calles se convirtieron un espacio peligroso. Las áreas verdes y espacios destinados al juego se han reducido, no hay espacio para jardines ni patios, ahora predominan las casas juntas, multifamiliares y condominios en forma vertical.

Meneses y Monge (2004) encontraron que a partir de los beneficios que el juego brindaba a los niños, también los campos de juego eran una alternativa para que ellos se desarrollaran armoniosamente, ya que convergían factores intrínsecos y extrínsecos a la personalidad. Jugar no significaba opacar el cerebro, sino hacerlo trabajar. A partir de la enseñanza de las señales que componen el juego, se logró que el niño tuviera una respuesta a cada estímulo, que aprendiera a elegir entre varias posibilidades, fuera capaz de expresar verbalmente lo que hace, adquiriera conceptos y terminara por aprender las reglas (Berdonces, 2007).

Edad adecuada para comenzar el entrenamiento

La edad de inicio comprendía entre los seis-siete y catorce-quince años aproximadamente. Es innegable que dentro de estas edades existían varios periodos más sensibles que otros para el aprendizaje deportivo. Cuando se aplicó y se controló el entrenamiento desde el punto de vista médico y pedagógico, tomando en cuenta la edad biológica del niño y el correcto aporte nutricional, se logró el éxito deportivo (Latorre y colaboradores 2009). Fue necesario distinguir la edad biológica cronológica, ya que pudo haber hasta tres años de diferencia entre una y otra. Estas diferencias se situaron entre los once y los catorce años en las niñas y, entre los trece y dieciséis, en los niños (Berdonces 2007). La iniciación deportiva debió ser un proceso en el que el niño se iniciaría en uno o varios deportes, recomendando la formación multi-deportiva con el fin de que en el futuro el joven pudiera elegir, a partir de sus propios criterios, el deporte que le guste, pero ya con una base integral y sólida con relación a su competencia motora (Gonzales y colaboradores 2009). Las etapas de iniciación deportiva del niño fueron:

- Desarrollo de habilidades: de 5 a 7 años.
- Entrenamiento y familiarización con la actividad deportiva: de 8 a 12 años.
- Etapa de entrenamiento sistematizado (especialización): a partir de los 12 años.

Posibles riesgos del entrenamiento intensivo

El niño que ha realizado un adecuado control médico deportivo, con consejos sobre sus exigencias y que realizó un correcto ejercicio físico, aumentaría y fortalecería la estructura ósea, Si la actividad física se practica en forma indiscriminada, entonces el deporte ocasionaría lesiones y alteraciones físicas únicamente por práctica inadecuada a la edad (tanto en intensidad como en frecuencia) o en ambientes con exceso de temperatura (Desia, 2004). Algunos riesgos pudieron ser las restricciones de alimentos y líquidos en atletas de élite, especialmente en deportes estéticos y de clasificación por pesos, y pudieron ser potencialmente peligrosas durante el período de crecimiento (Boisseau, 2006). Estos fueron los posibles riesgos que enfrentaron los niños y jóvenes deportistas debido a una mala alimentación:

- Disfunción menstrual y capacidad reproductora.
- Traumatismos.
- Estados de déficit del hierro y anemia.
- Efectos de la deshidratación.
- Trastornos del apetito.

Las lesiones deportivas pudieron ser provocadas por trauma directo, indirecto o por sobre entrenamiento, producidas por una actividad musculo-esquelética repetitiva, con sobrecarga de estructuras normales. Los factores predisponentes fueron el entrenamiento inadecuado, correr en superficies duras y el uso de calzado deportivo inadecuado (Pose, 2005). Las lesiones más frecuentes fueron en las regiones epifisarias de los codos, las muñecas, rodillas y calcáneos de los niños beisbolistas, futbolistas, tenistas y gimnastas. El micro trauma repetitivo que pudo ocurrir en carreras de larga distancia como un maratón y en el entrenamiento para este tipo de distancias pudo causar el mismo daño que un golpe grande a un hueso que causaría una fractura epifisial (Sarango, 2004).

Programas de ejercicio para la reducción de peso

La educación física ha estado estrechamente vinculada a la salud desde su inclusión en los currículos educativos (Santos, 2005). La práctica regular de actividad física/ ejercicio físico se ha convertido en uno de los objetivos principales de los planes de salud pública, debido a su relación con la prevención y tratamiento de la obesidad (García y colaboradores, 2009).

Aunque el ejercicio de resistencia también jugó un papel importante en el control de peso, el mejor tipo de programa de ejercicio para bajar la grasa corporal involucró el ejercicio aeróbico. En la obesidad infanto-juvenil, fue suficiente con estabilizar el peso, sin pretender una reducción ponderal, puesto que el incremento de masa muscular asociado al crecimiento permitiría en muchas ocasiones normalizar el peso corporal (Mataix y colaboradores, 2009). Los puntos clave de un programa de ejercicio aeróbico los presentó (Williams, 2006):

- Debe involucrar grupos musculares: caminar, trotar, subir escaleras, correr, patinar y andar en bicicleta involucran las piernas. Mientras que la natación enfatiza principalmente los brazos. El uso de pesas sostenidas en las manos al caminar incorpora la acción de los brazos con las piernas. El esquí a campo traviesa, remo, y salto de la cuerda utiliza los brazos y las piernas, al igual que una buena rutina de danza aeróbica.
- Entre mayor sea la intensidad del ejercicio, más calorías se gastan por unidad de tiempo. La caminata normal usa menos calorías que trotar lentamente, lo que utiliza menos calorías que correr rápido. La intensidad y duración están interrelacionadas, pero para metabolizar la mayor parte de las calorías totales
- El factor más importante en el gasto energético total es la duración del ejercicio. En la natación, el ciclismo, la carrera o caminata, la distancia es la clave. Por ejemplo, correr 1.6 km le cuesta a una persona de tamaño promedio alrededor de 100 Kcal. Ocho kilómetros serán aproximadamente 500 Kcal. A una persona que corre 1.6 km diariamente le llevaría un mes bajar 454 g de grasa, mientras que si corre 8 km diarios, ese lapso se acortaría a una semana.
- Entre más frecuente se haga el ejercicio, mayor será el gasto calórico total por semana. En general, de tres a cuatro veces por semana sería satisfactorio, siempre y cuando la duración y la intensidad fueran adecuadas, pero seis a siete veces por semana casi duplicaría el gasto de energía.
- Al verlo como juego debe ser un hábito de vida. La siguiente vez que se pase la aspiradora o se corte el pasto, se debe tratar de pensar como un buen ejercicio en vez de un trabajo.
- Las bicicletas estacionarias, los simuladores de esquí a campo traviesa, las máquinas de remo, las caminadoras y los simuladores de escaleras. Todos pueden proporcionar un ejercicio aeróbico, la caminadora es el mejor sistema para hacer ejercicio en interiores y mejorar el gasto energético.

- Si se planea hacer ejercicio durante una hora diaria, se puede correr media hora y andar en bicicleta otra media hora. Hacer combinaciones de ejercicio, es una forma efectiva de entrenamiento cruzado.

Recomendaciones de los programas para prevención y control de peso

Los programas escolares multifacéticos que promocionaron la actividad física y la modificación de la dieta y que se centraron en los comportamientos sedentarios pudieron contribuir a la reducción de la prevalencia de la obesidad (Colomer y colaboradores, 2005).

- Por medio del control del comportamiento sedentario.
- La modificación del estilo de vida de los padres es más efectiva que los dirigidos únicamente a los cambios de comportamiento en los niños.
- La prevención de la obesidad infantil desde la atención pediátrica, ya que las investigaciones desde este ámbito se han dirigido fundamentalmente hacia el tratamiento.

En la edad escolar, los maestros trabajaron la resistencia aeróbica de forma global y natural a través de juegos y diferentes tipos de actividades. La resistencia aeróbica, junto con la fuerza y la velocidad mejoraron con la edad en la etapa de primaria (Ruíz y colaboradores, 2005). En general, todos los programas de actividades físicas para los niños obesos se apoyaron en los siguientes puntos (Korbman, 2007).

- Una frecuencia de entre tres a cinco veces por semana.
- Una duración inicial de unos 15 minutos para llegar paulatinamente hasta los 30 a 40 minutos.
- Una intensidad que no sobrepase entre 50 y 69% de la frecuencia cardiaca máxima.

Fue importante promocionar todo tipo de actividades físicas relacionadas con la vida cotidiana del niño obeso, como bajar y subir escaleras en lugar de usar el ascensor, ir y volver a la escuela caminando, y moverse en bicicleta en lugar del automóvil o el transporte público (cuadro 1).

Cuadro 1. Actividades recomendadas para niños con sobrepeso y obesidad

<i>Sobrepeso</i>	<i>Ejercicio recomendado</i>
Sobrepeso (menor a 150% de su peso ideal)	Caminata, subir escaleras, fútbol, tenis, saltar cuerda, natación, baile y deportes de gimnasio
Obesos (de 150% a 200% de su peso ideal)	Natación, ciclismo, baile y caminata con intervalos frecuentes de descanso
Obesidad grave (mayor a 200% de su peso ideal)	Natación, ejercicios aeróbicos sentados y bicicleta

Fuente: Korbman (2007).

Recomendaciones alimentarias para mantener el peso corporal

Para la elaboración de la prescripción dietética, fue fundamental determinar la ingesta nutricional, los requerimientos calóricos y las comorbilidades. Lo más recomendado fue disminuir diariamente 500 calorías del gasto calórico total estimado para inducir una reducción de peso de aproximadamente 0.5 kg por semana.

La utilización de dietas muy bajas en calorías (≤ 800 cal/día) debió ser supervisada estrictamente. Éstas generaron mayores bajas de peso iniciales, pero no mostraron diferencias a largo plazo en comparación con aquellas de mayor aporte calórico (Cuevas y Reyes, 2005).

El inconveniente de entrenar con intensidad y estar con dietas restrictivas fue que incrementaron el catabolismo proteico y liberaron cortisol y catecolaminas, que pudieran comprometer la función del sistema inmune, con especial predisposición a sufrir enfermedades, aparición de los síntomas físicos y psicológicos propios del sobre entrenamiento y como sería normal, una pérdida del rendimiento deportivo (Pérez, 2009). La alimentación debería ser suficiente para asegurar el crecimiento y evitar que se recurriera a la proteína para obtener energía, pero a la vez no sería tan excesiva como para provocar obesidad. La proporción sugerida de energía fue de 50 a 60% a expensas de carbohidratos, de 25 a 35% a expensas de grasas y de 10 a 15% a expensas de proteínas (Lucas, 2001). La prioridad nutricional de los jóvenes era satisfacer los requerimientos diarios de energía, por carbohidratos, proteínas, micronutrientes (zinc, hierro, cobre, folato, calcio) y fluidos. A pesar de que los jóvenes utilizaron más grasas como fuente de energía, no fue recomendable que consumieran una dieta alta en grasas. La educación nutricional debió ser parte de la formación integral y las familias debieron ofrecer una alimentación adecuada que sustentara la

actividad deportiva (Umaña y colaboradores, 2005). Las diferencias metabólicas entre jóvenes y adultos al practicar un deporte fueron las siguientes:

- Los jóvenes
- Cuentan con menos reservas de glucógeno muscular.
- Utilizan mayor cantidad de grasas como fuente energética.
- Tienen una menor capacidad anaeróbica.
- La termorregulación no es tan eficiente como en los adultos.

Recomendaciones de actividad física para niños y adolescentes

Las actividades físicas que desarrollaron la flexibilidad y la fuerza debían incluirse con una frecuencia semanal de dos a tres veces y, paralelamente, reducirse la actitud sedentaria mediante el control de las horas delante de los diferentes tipos de pantalla (TV, ordenadores, juegos electrónicos) (Garrido y colaboradores, 2008).

Con relación al perfil bioenergético, diversos estudios sugirieron que los niños tenían menor capacidad anaeróbica o glucolítica para producir adenosín trifosfato (ATP) durante el ejercicio físico. Respuestas cardiorrespiratorias y metabólicas durante la prueba de esfuerzo progresivo fueron diferentes en niños en comparación con los adultos. Específicamente, estas diferencias revelaron que los niños tenían menor eficiencia cardiovascular y respiratoria (Prado y colaboradores, 2010). Es por eso que el entrenamiento con sobrecarga fue una actividad recomendada para niños al igual que cualquier otra, pero se debía estar con supervisión continua (Cappa, 2008). Fue fundamental que los educadores físicos, entrenadores deportivos o instructores de ejercicio, elaboraran planes de trabajo ideales, para que el niño disfrutara y estuviera satisfecho con su intervención y así alargar su ciclo de vida activa, evitando el abandono, y el riesgo de padecer enfermedades crónicas y degenerativas (Garita y colaboradores, 2006).

Para la mayoría de las personas sanas, la máxima forma cardiovascular pudo obtenerse mediante un programa de ejercicio aeróbico vigoroso durante 15-45 minutos de dos a cuatro veces por semana, alcanzando frecuencias cardíacas de $(220 - \text{edad}) \times 70$ por ciento. El ejercicio debía adaptarse a las condiciones personales de edad, sexo, estado de salud y nivel socioeconómico (Serra y colaboradores, 1994).

La escuela y el hogar como parte fundamental para la prevención de la obesidad infantil

Martínez y colaboradores (2010), dijeron que a partir de la inclusión en la dieta familiar, disminuyó el consumo de frutas y verduras y aumentó el de alimentos altamente calóricos, lo que llevó a la estructuración temprana de hábitos inadecuados que se convirtieron en antecedentes de riesgo de obesidad, ya fuera en edad infantil o adulta. Desde que el individuo abandonó la lactancia debió iniciarse poco a poco la ingestión de frutas, verduras y pescados, según las indicaciones del pediatra. Fue necesario que los padres y madres controlaron el consumo de golosinas, dulces y bollería industrial. Cada mañana debería realizarse un desayuno completo antes de ir a la escuela (Sánchez, 2009). También integrarse estrategias educativas en nutrición y alimentación dirigidas a la población (Landaeta y colaboradores, 2010).

En el estudio de Dwyer y colaboradores (2008), los padres estuvieron consientes de que los niños deberían hacer ejercicio, pero les preocupaban las áreas de juego. Los entrenadores dijeron que las actividades de juego de los niños se habían perdido y el sedentarismo estaba aumentando significativamente.

Acuerdo para combatir la obesidad en México

El combate a esta epidemia se consideró un reto urgente y complejo en muchos países. En México, durante el gobierno del presidente Felipe Calderón Hinojosa, se estableció la implementación del Acuerdo Nacional de Salud Alimentaria, a través del cumplimiento de 10 objetivos prioritarios (Córdova, 2010).

- Fomentar la actividad física en la población en los entornos escolar, laboral, comunitario y recreativo, con ayuda de los sectores público, privado y social.
- Aumentar la disponibilidad, accesibilidad y consumo de agua potable.
- Disminuir el consumo de grasas y azúcar en bebidas.
- Incrementar el consumo diario de frutas y verduras, leguminosas, cereales de granos enteros y fibra en la dieta.
- Mejorar la capacidad de toma de decisiones informadas de la población sobre una dieta correcta a través de un etiquetado útil.
- Promover y proteger la lactancia materna exclusiva hasta los seis meses de edad y favorecer la alimentación complementaria adecuada a partir de los seis meses de edad.
- Disminuir el consumo de azúcares y colaboradores edulcorantes calóricos añadidos en los alimentos.

- Disminuir el consumo diario de grasas saturadas en la dieta y reducir al mínimo las grasas trans de origen industrial.
- Orientar a la población sobre el control del tamaño de las porciones recomendables de los alimentos, poner a su disposición alimentos procesados que se lo permitan, e incluir tamaños de porciones reducidas en restaurantes y expendios de alimentos.
- Disminuir el consumo diario de sodio, reduciendo la cantidad de sodio adicionado y aumentando la disponibilidad y accesibilidad de productos de bajo contenido o sin sodio.

Los primeros seis objetivos dependían principalmente de la voluntad individual. Los otros cuatro requirieron una decidida participación del gobierno, de los sectores sociales y de la industria alimentaria:

- Promover el acceso a la información y la toma de decisiones adecuadas y basadas en evidencia en la población para mejorar la calidad de su alimentación, incrementar la actividad física y, en general, promover estilos de vida saludables.
- Con la participación de autoridades, la sociedad civil y la industria, promover una alimentación correcta y una mayor actividad física.
- Para identificar oportunidades de mejoramiento, asegurar el cumplimiento de las acciones y corregir posibles fallas.
- Desarrollar una agenda de investigación básica, clínica, epidemiológica y de sistemas de salud para sustentar la toma de decisiones sobre prevención de obesidad y enfermedades crónicas.

Gasto energético y beneficios de acuerdo con la actividad física

La actividad física de intensidad baja-moderada (marcha aeróbica, carrera suave, natación, ciclismo incluso en bicicleta estática) modificó favorablemente el perfil metabólico si se practicó en sesiones de larga duración (> 30 min/sesión). Aunque las modificaciones cuantitativas de los parámetros lipídicos pudieron ser modestas, indujeron cambios cualitativos y disminuyeron significativamente la capacidad aterogénica de las lipoproteínas de baja (LDL), intermedia (IDL) y muy baja (VLDL) densidad, y reforzaron el papel antiaterogénico de las de alta densidad (HDL) (Carreras y Ordoñez, 2007). En la cuadro 2 se describió el gasto calórico y beneficios de acuerdo con la actividad física y deporte.

Cuadro 2. Gasto calórico y beneficios de acuerdo con la actividad física y deporte

<i>Deporte</i>	<i>Beneficio aeróbico</i>	<i>Fuerza muscular</i>	<i>Control de peso</i>	<i>Calorías p/hora</i>
Trote	Muy bueno	Bueno	Muy bueno	600
Danza aeróbica	Muy bueno	Bueno	Muy bueno	600
Bicicleta	Muy bueno	Bueno	Muy bueno	500
Natación	Muy bueno	Muy bueno	Bueno	500
Squash	Bueno	Muy bueno	Bueno	420
Voleibol	Bueno	Bueno	Bueno	420
Baloncesto	Bueno	Bueno	Bueno	420
Tenis	Bueno	Bueno	Bueno	410
Calistenia	Moderado	Muy bueno	Moderado	320
Caminar	Bueno	Pobre	Bueno	320
Softbol	Moderado	Moderado	Pobre	264
Beisbol	Moderado	Moderado	Pobre	264
Golf	Moderado	Pobre	Pobre	250
Bolos	Pobre	Pobre	Pobre	240

Fuente: Martínez (1984).

Alustiza y colaboradores (2004), mencionaron que el ejercicio debía ser de inicio suave, diario, mejor practicado con dos o tres personas con fines parecidos y búsqueda del aspecto de juego y diversión. Dicho tratamiento fue difícil y a menudo frustrante, con la particularidad de que en la edad pediátrica debió conseguirse una pérdida de peso conservando el crecimiento longitudinal. Los niños y adolescentes tenían necesidades nutricionales específicas y una programación de actividades diarias diferente de los adultos. Además, la educación relacionada con la salud fue percibida de manera diferente (González y colaboradores, 2008). Además, el ejercicio debía ir acompañado de una alimentación equilibrada y balanceada para que hubiera un crecimiento adecuado en los niños como se describió en el cuadro 3.

Cuadro 3. Recomendaciones para una vida saludable en niños y adolescentes

<i>Crear hábitos de 6 a 9 años</i>	<i>Consolidar los hábitos de 10 a 13 años</i>
Practicar actividad física todos los días	Sigue siendo activo a diario. Lo mejor es hacer deporte en grupo
¡Come de colores! Ya verás que divertido	Toma mucho líquido, tu cuerpo lo necesita. Somos un 65% de agua
Intenta practicar varios tipos de deporte	Aprende las reglas deportivas y respétalas
Recarga las pilas cada mañana. No olvides el desayuno. Y llévate el almuerzo al colegio	Come variado
Juega dentro y fuera de casa. Diviértete con tus amigos	¡No olvides calentar antes y estirar después!
Es importante que adquieras el hábito de realizar cinco comidas al día	Aumenta el tamaño de las raciones acorde con el crecimiento y la actividad física
¿Qué significa “deporte” a esta edad?	¿Qué significa “deporte” a esta edad?
Juegos de iniciación al deporte	Formación deportiva básica
Desarrollo de capacidades perceptivas y condición física	Desarrollo perceptivo-motriz
Aprendizaje de habilidades básicas (correr, saltar, golpear, girar, lanzar)	Aprendizaje de habilidades específicas. Crear en el niño hábitos de actividad físico-deportiva

Fuente: González y colaboradores (2008).

Si los niños y adolescentes siguieran estos consejos mejorarían en salud y reducirían los factores de riesgo teniendo un desarrollo alegre y apropiado hacia la edad adulta (González y colaboradores, 2008).

Deporte alternativo

La regulación emocional ha mostrado la importancia y la influencia que ejerció sobre diversas áreas del desarrollo del individuo, especialmente sobre su funcionamiento social durante la infancia. El trabajo de regulación emocional para los nadadores de categorías menores (6 a 12 años), se realizó bajo la modalidad de talleres juegos-pedagógicos que intentaron que el joven deportista adquiriera la capacidad de anticipar y evaluar los resultados de sus reacciones de emociones negativas y positivas, producto de encuentros deportivos, como victorias, pérdidas, lesiones propias del proceso deportivo (Velásquez y Guillén, 2007). Como se mostró en el cuadro 5, fue necesario fortalecer pensamientos positivos.

Cuadro 5. Posibles pensamientos de un niño deportista

<i>Categoría</i>	<i>Pensamientos</i>
Adivinación Haciendo mal	Como voy en un mal carril, seguro lo seguiré
	Voy a perder
	Me voy a cansar
	Seguro me van a descalificar
	No me voy a sentir bien
	Me voy a quedar a mitad de camino
	Para que compito con él (o ella), si me va a ganar
Generalización Me va a ir mal	Es un rival muy fuerte, no podré vencerlo
	Como en la anterior prueba me fue mal, también en esta
	Nunca me sale nada bien
	A todos les va bien, menos a mí
	Tengo mala suerte
Tengo y debo	Tengo que ganar
	Tengo que bajar mis tiempos
	No puedo perder esta competencia
	Debo ganar por lo menos tres medallas
Magnificación	Perder (ser descalificado, retirado o lesionado) sería lo peor que me podría pasar
	No me puedo dar el lujo de cometer errores
	Soy un fracaso
	Siempre soy el mejor
	Nadie me puede vencer (mejorar, ganar...)
	No soy capaz

Fuente: Velásquez y Guillén (2007).

Conclusiones

El gasto calórico diario que genera la actividad física tiene como objetivo lograr un balance negativo de energía favoreciendo la pérdida de peso corporal o en su defecto mantener el peso del niño y permitir que el crecimiento longitudinal disminuya el índice de masa corporal. La actividad física en conjunto con un programa de alimentación adecuado es fundamental para combatir el sobrepeso y la obesidad. Actividad que debe ser gradual y de acuerdo con las habilidades psicomotoras del niño, debe ser divertido y no como un requisito para poder practicar deporte o destacar en esto, para evitar que el niño se sienta estresado y disfrute el tiempo de juego sin preocupación de ganar. Es necesario hacer mención que el problema del sedentarismo que se ha generado en el país, por la inseguridad o por la falta de áreas recreativas, se ha convertido un factor de riesgo para desarrollar sobrepeso u obesidad, siendo los gobiernos y los profesionales de la salud pieza clave para buscar alternativas de solución participando en la elaboración de políticas gubernamentales que incluyan espacios seguros, educación nutricional, actividad física y de igual manera recomendar la supervisión estricta de los programas para que se llevaran a cabo correctamente y pudieran causar impacto en la salud de la población.

Referencias

- Acosta, F. (2005), “Juego y deporte en Grecia y en la civilización Azteca e Inca. Educación física y deportes”, disponible en [http:// www.efdeportes.com.10\(90\);](http://www.efdeportes.com.10(90);) consultado en enero 2011.
- Alustiza, E. y J. Aranceta (2004), “Prevención y tratamiento de la obesidad infantil en atención primaria, *Revista española de nutrición comunitaria*, núm. 10(4), pp. 192-196.
- Benneth, B. and M.S. Sothorn (2009), “Diet, exercise, behavior: The promise and limits of lifestyle change”, *NIH Public Access*, num. 18(3), pp. 152-158.
- Berdonces, S. (2007), *El deporte en niños y jóvenes. El deporte a lo largo de la vida. El gran libro de la salud*, Océano, cap. 19, pp. 714-718.
- Boisseau, N. (2006), “Consecuencias de la restricción de peso impuesta por el deporte en la infancia”, *Annales Nestle*, núm. 64, pp. 77-84.
- Campillo Á, J. E. (2010), *El mono obeso. El sedentarismo ¿Es una enfermedad carencial?*, Critica.
- Cappa, D. F. (2008), “Entrenamiento de sobrecarga en niños”, *Archivos de medicina y deporte*, vol. 25 (126), pp. 289-299.

- Carreras González, G., J. Ordoñez Llanos (2007), “Adolescencia, actividad física y factores metabólicos de riesgo cardiovascular”, *Revista española de cardiología*, núm. 60(6), pp. 581-588.
- Castañeda C, A. M. (2005), “La adaptación del niño obeso y la relación con la actitud materna”, *Avances de psicología*, vol. 13(5), pp. 125-148.
- Colomer, J. (2005), “Prevención de la obesidad infantil”, *Revista pediátrica de atención primaria*, vol. 7(26), pp. 255-275.
- Córdova V, J. A. (2010), “El acuerdo nacional para la salud alimentaria como una estrategia contra el sobrepeso y la obesidad”, *Cirugía y cirujanos*, vol. 78(2), pp. 105-107.
- Cornejo B, J., R. J. D. Llanas and C. C. Alcazar (2008), “Acciones, programas, proyectos y políticas para disminuir el sedentarismo y promover el ejercicio en los niños”, *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, núm. 65, pp. 616-625.
- Cuevas, A. y M. S. Reyes (2005), “Lo último en diagnóstico y tratamiento de la obesidad. ¿Hay lugar aun para la terapia conservadora?”, *Revista Médica de Chile*, núm. 133, pp. 713-722.
- De Hoyo L, M. y C, B. Sañudo (2007), “Motivos y hábitos de práctica de actividad física en escolares de 12 a 16 años en una población rural de Sevilla”, *Revista internacional de medicina y ciencias de la actividad física y el deporte*, núm. 7(26), pp. 87-98.
- Desia (2004), “La práctica deportiva en niños, niñas y adolescentes”, *Pediatría*, vol. 31(1).
- Domínguez V, P., V. Olivares y J. L. Santos (2008), “Influencia familiar sobre la conducta alimentaria y su relación con la obesidad infantil”, *Archivos Latinoamericanos de nutrición órgano oficial de la sociedad latinoamericana de nutrición*, núm. 8(3), pp. 249-255.
- Dwyer, G.M., V. Higgs, L. L. Hardy and L. A. Baur (2008), *What do parents and preschool staff tell us about young children’s physical activity: a qualitative study. International Journal of Behavioral Nutrition and physical activity*, pp. 1-11.
- García H, A., V. Domínguez, Y. Escalante y G, J. M. Saavedra (2009), “Aplicación de un programa de ejercicio físico para niños con obesidad infantil severa”, *Revista de ciencias del deporte*, núm. 5(1), pp. 33-43.
- Garita A, E. (2006), “Motivos de participación y satisfacción en la actividad física, el ejercicio físico y el deporte”, *Revista en ciencias del movimiento humano y salud*, núm. 3(1), pp. 1-17.
- Garrido, G. P., A. A. García y O. M. Alonso (2008), “Recomendaciones de dieta y ejercicio en niños y adolescentes”, *Pediatría extra hospitalaria: Fundamentos clínicos para la atención primaria*, vol. 4, pp. 137-143.

- Gómez, A. (1995), “La influencia de la televisión en nuestros alumnos”, *Comunicar*, vol. 4, pp. 103-105.
- Gómez D, R. A., R. R. Rabago, S. E. Castillo E, F. Vázquez, R. Barba, A. Castell, H. S. Andres y N. H. Wacher (2008), “Tratamiento del niño obeso”, *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, vol. 65, pp. 528-546.
- González J, J. A. (2004), *La actividad física orientada a la promoción de la salud. Escuela abierta*, pp. 73-96.
- González, M., J. J. Gómez, J. Valtueña, J. C. Ortiz y A. Meléndez (2008), “La pirámide del estilo de vida saludable para niños y adolescentes”, *Nutrición Hospitalaria*, vol. 23(2), pp. 159-168.
- Gonzales V. S., L. L. M. García, J. O. R. Contreras y M. D. S. Mora (2009), “El concepto de iniciación deportiva en la actualidad”, *Retos. Nuevas tendencias en educación física, deporte y recreación*, vol. (15), pp. 14-20.
- He, M., L. Piche, C. Beynon, J. Kurtz and S. Harris (2011), “Screen-related sedentary behaviours of school-aged children: Principal’s and teacher’s perspectives”, *Health Educ. J.* vol. 70(1), pp. 32-38.
- Hellín, P., J. A. Moreno y P. L. Rodríguez (2006), “Relación de la competencia motriz percibida con la práctica físico-deportiva”, *Revista de Psicología del Deporte*, núm. 15(2), pp. 219-231.
- Korbman, R. (2007), *Tratamiento y prevención de la obesidad en niños y adolescentes: Guía práctica para psicólogos, nutriólogos, padres y maestros. Nutrición*, Trillas, cap. 7, pp. 94-95.
- Landaeta J, M., E. Patiño y N. Galicia (2010), “Campaña de educación nutricional contra la malnutrición por medios de comunicación masivos en Venezuela”, *Anales venezolanos de nutrición*, vol. 23 (1), pp. 26-33.
- Latorre, P. A., F. Gasco, M. García, R. M. Martínez, O. Quevedo, F. J. Carmona, P. J. Rascon, V. Romero, G. A. Lopez y J. Malo (2009), “Analysis of the influence of the parents in the sports promotion of the children”, *Journal Of Sport and Health Research*, vol. 1(1), pp. 12-25.
- Lucas, B. (2001), *Nutrición en la infancia. Nutrición y dietoterapia de krause*, cap. 10, Mc Graw Hill, decima edición, pp. 263.
- Márquez R. S., O. J. Rodríguez y O. S. De Abajo (2006), *Sedentarismo y salud: efectos beneficiosos de la actividad física. Actividad física y salud*, pp. 12-24.
- Martínez L Elkift (1984), *El ejercicio la mejor alternativa para el obeso. Educación Física y deporte*, vol. 6(2), pp. 31-36.
- Martínez-Gómez, D., J. C. Eisenmann, S. Gómez-Martínez, A. Veses, M. Ascensión, L. O. Veiga (2010), “Sedentarismo, adiposidad y factores de riesgo cardiovascular en adolescents”, *Revista Española de Cardiología*, vol. 63(3), pp. 277-285.

- Martínez V. R. I., R. G. A. Alvarado, P. M. C. Sánchez, L. L. A. Blanco, J. M. M. Sánchez, M. J. U. Blazquez y C. S. Méndez (2010), “Estudio de las pautas alimentarias para la introducción de alimentos complementarios y su diversidad a través de la incorporación a la dieta familiar”, *Revista de especialidades médico-quirúrgicas*, núm. 15(3), pp. 114-124.
- Mataix, V. J. y J. Salas (2009), “Obesidad. Nutrición y alimentación humana”, (*Situaciones fisiológicas y patológicas*), vol. 2, cap. 45, pp. 1097.
- Menéndez G. R. A. y D. F. J. Franco (2009), “Publicidad y alimentación: influencia de los anuncios gráficos en las pautas alimentarias de infancia y adolescencia”, *Nutrición Hospitalaria*, vol. 24(3), pp. 318-325.
- Meneses M, M. y A. M. A. Monge (2004), “¿A donde juegan nuestros niños y niñas?”, *Revista Electrónica “Actualidades Investigativas en educación”*, núm. 4(002), pp. 1-13.
- Moreno, J. A., E. Cervello, C. Martínez y N. Alosó (2007), “Los comportamientos de disciplina e indisciplina en la educación física”, *Revista iberoamericana de educación*, núm. 44, pp. 167-190.
- _____ y R. Moreno (2008), “Importancia de la práctica físico deportiva y del género en el auto concepto físico de los 9 a los 23 años”, *International Journal of clinical and Health psychology*, núm. 8(1), pp. 171-183.
- Pérez S. D., M. J. A. Rivera y H. L. Ortiz (2010), “Publicidad de alimentos la programación de la televisión mexicana: ¿los niños están más expuestos?”, *Salud pública de México*, vol. 52(2), pp. 119-126.
- Pieron, M. (2004), “Estilo de vida, practica de actividades físicas y deportivas, calidad de vida”, *Fitness y performance Journal*, vol.(1), pp. 1-12.
- Pérez, J. (2009), “Rendimiento deportivo: composición corporal, peso, energía-macronutrientes y digestión”, *Archivos de medicina del deporte*, vol. 26(133), pp. 389-394.
- Pose, G. (2005), “Lesiones deportivas osteocartilaginosas en el niño y el adolescente”, *Revista chilena de radiología*, vol. 11(2), pp. 91-100.
- Prado L. D. M., B. A. M. F. Wanderley, R. M. U. Pinto, A. L. Ferreira, D. N. J. L. Matos, C. E. Negrao y T. Credicio (2010), “Comportamineto cardiorespiratorio en niños saludables durante el ejercicio progresivo máximo”, *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol. 94(4), pp. 477-483.
- Romero V. E., R. O. Campollo, H. J. F. Castro, O. R. M. Cruz y G. E. M. Vásquez (2006), “Hábitos de alimentación e ingestión de calorías en un grupo de niños y adolescentes obesos”, *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, núm. 63(3), pp. 187-194.
- Sánchez R. J. (2009), “Educar la alimentación en la etapa infantil”, *Revista internacional de audición y lenguaje, logopedia y apoyo a la integración*, pp. 35-38.

- Santos M. S. (2005), “La educación física escolar ante el problema de la obesidad y el sobrepeso”, *Revista internacional de medicina y ciencias de la actividad física y el deporte*, vol. 5(19), pp. 179-199.
- Sarango, A. J. (2004), “Niño, deporte y entrenamiento intensivo”, *Revista peruana de pediatría*, vol. 57(2), pp. 46-49.
- Serra M. L. L., S. De Cabra, E. Salto, E. Roura, F. Rodríguez, C. Vallbona y L. Salleras (1994), “Consejo y prescripción de ejercicio físico”, *Medicina Clínica*, vol. 102(1), pp. 100-108.
- Tucci, S. (2010), “Efecto de los comerciales de televisión en la escogencia y consumo de los alimentos en los niños”, *Revista Venezolana de Endocrinología y metabolismo*, núm. 8(1), pp. 11-18.
- Umaña, M. (2005), “Nutrición para futbolistas jóvenes”, *Revista internacional de fútbol y ciencia*, núm. 3(1), pp. 13-22.
- Valero V. A., L. M Gómez, G. J. Gavala, J. F. Ruiz y M. M. E. García (2007), *¿Porque no se realiza actividad físico-deportiva en el tiempo libre? Motivos y correlatos sociodemográficos. Retos nuevas tendencias en educación física, deporte y recreación*, tomo (12), pp. 13-17.
- Velásquez V. M. T, y R. N. Guillen (2007), “Regulación emocional en nadadores en proceso de formación deportiva, categoría infantil”, *Avances en psicología latinoamericana*, vol. 25(002), pp. 112-125.
- Vera, L., C. Salvi, O. Figueroa, I. Soto de Sanabria y A. López (2005), “Evaluación nutricional y seguimiento de niños y adolescentes obesos en una consulta especializada”, *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría*, vol. 68(3), pp. 122-130.
- Williams, M. H. (2006), *Nutrición para la salud, condición física y deporte*, Mc Graw Hill, séptima edición.
- Wong, S. L. y S. T. Leatherdale (2009), “Association between sedentary behavior, physical activity, and obesity: inactivity among active kids”, *Preventing chronic disease public health research, practice, and policy*, vol. 6(1), pp. 1-7.

El valor no nutrimental de frutas y su impacto en la salud

Alma Vázquez Luna y Rafael Díaz Sobac

Resumen

En la actualidad se le ha dado especial importancia al interés de que los alimentos deban de contener sustancias fisiológicamente activas, que cumplan al igual que los nutrientes esenciales, una función de beneficio y contribuyan a promover y mantener la salud, además de prevenir la incidencia de enfermedades crónico degenerativas. Las frutas además de ser excelentes fuentes de micronutrientes, contienen biomoléculas que se producen en el metabolismo secundario, como los compuestos de tipo fenólico, biomoléculas nitrogenadas, organosulfuradas, de tipo terpénico, y algunas otras como las acetogeninas y las aminas biogénicas. En los últimos años se han realizado estudios *in vitro* con estos compuestos, para identificar su posible actividad antioxidante, anticancerígena, la disminución de obesidad y de colesterol. Sin embargo, aún no están claros los mecanismos de acción de estos compuestos, debido a que su efecto es el resultado de muchas interacciones entre los distintos componentes de los alimentos y con el propio organismo. La comprensión científica de los mecanismos de acción fisiológica, molecular y genómico funcional, que los componentes no nutrimentales o fitoquímicos llevan a cabo en el organismo, es un reto para la generación de nuevos y mejores conocimientos.

Palabras clave: frutas, biomoléculas, salud, nutrición.

El concepto tradicional de alimentación saludable

El concepto tradicional respecto a que la dieta diaria debía proveer cantidades adecuadas de macro y micronutrientes esenciales para el mantenimiento de una salud óptima, se ha ido modificando en la medida que se reconoce que se requieren “nuevos alimentos” para “nuevas formas de vida” y se le ha dado especial importancia a que los alimentos debían contener también sustancias fisiológicamente activas, que cumplieran al igual que los nutrientes esenciales, una función de beneficio y contribuyeran a reducir la incidencia de enfermedades crónicas. Estudios y diferentes ensayos clínicos, han demostrado que una dieta con base en el consumo de vegetales pudo reducir el riesgo de enfermedades de tipo inmune y de deterioro y muerte celular, ocasionadas por la presencia de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Esto ha generado que el interés de los consumidores por obtener dietas óptimas para mantener buena salud y extender el tiempo de vida, se incrementara rápidamente, y también la necesidad de contar con sistemas de producción agrícola seguros e inocuos, así como de mecanismos de almacenamiento postcosecha, que garantizaran la adecuada calidad de vegetales en general, y de formas de procesamiento que no dañaran o modificaran las propiedades biológico-funcionales de los alimentos.

Las frutas además de aportar macronutrientes y micronutrientes, como carbohidratos, vitaminas, minerales, ácidos orgánicos, y polisacáridos (fibra), contienen una serie de biomoléculas de naturaleza fitoquímica, que se producen en el metabolismo secundario de los vegetales, y aun cuando no tienen una función nutricional reconocida y no se consideran esenciales para la salud humana, han mostrado que pueden tener un impacto significativo para nuestra salud en el largo plazo.

En los últimos años, se ha dado un aumento en el interés de identificar fitoquímicos o compuestos vegetales que tienen efectos positivos en la salud. Se han realizado ensayos para identificar estos compuestos bioactivos, que han cubierto una amplia área de investigación, que incluyó estudios sobre la actividad antioxidante, anti cancerígena, la disminución de obesidad y de colesterol. Con frecuencia, el éxito de la caracterización de un fitoquímico pudo conducir al desarrollo de nuevos alimentos o suplementos con actividades que favorecieron a la salud. El beneficio del consumo de frutas en la salud ha estado relacionado con la presencia de un amplio número de compuestos que pertenecían al grupo de los denominados fitoquímicos o sustancias bioactivas. Sus efectos benéficos se relacionaron con su papel en la prevención del desarrollo de distintos tipos de cáncer, de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, e incluso de la enfermedad de Alzheimer. Aún no están claros los mecanismos de acción de estos compuestos, pero su efecto fue el resultado de

muchas interacciones entre los distintos componentes de los alimentos, y con el propio organismo. En este sentido, no fue seguro que pudieran conseguirse los mismos beneficios con los componentes aislados como los que se consiguieran con una dieta equilibrada adecuada.

La comprensión científica de los mecanismos de acción fisiológica, molecular y genómico funcional que los componentes no nutrimentales o fitoquímicos llevan a cabo, para actuar en el organismo ha sido un reto para la generación de nuevos y mejores conocimientos.

Biomoléculas funcionales o genómica nutricional

En las últimas décadas se ha progresado mucho en el conocimiento de la relación de alimentos de origen vegetal y frutas, con la salud. La investigación de componentes no nutritivos presentes en los alimentos ha sido extensa especialmente bajo dos consideraciones: la capacidad de promover y mantener la salud, evitando o retardando la aparición de ciertas patologías, y la mejora de la funcionalidad del organismo en conjunto. Estos conceptos, han dado paso al desarrollo de la industria de la nutrición y de los alimentos funcionales que en la actualidad pueden considerarse como “alimentos” que han proporcionado determinados efectos fisiológicos benéficos no nutricionales que pueden mejorar la salud de los consumidores, por la acción de biomoléculas esteroespecíficas que actúan selectivamente sobre receptores fisiológicos, utilizando mecanismos moleculares propios del individuo. Hasta hace algunos años, un alimento se consideraba “funcional” por las características de composición química intrínseca. Actualmente, el concepto de funcionalidad se ha ido modificando, debido a que se ha demostrado que lo que pudo ser fisiológicamente apto para un individuo o un conjunto de individuos, pudo no serlo para otro u otros, ya sea por desconocimiento de una dosis eficaz (edad, sexo y características fisiológicas de los consumidores) o, en muchos casos, porque ésta sea tóxica. **El impacto de los componentes biológicos activos que han aportado las frutas a la dieta, no ha sido ampliamente conocido y la comprensión de los mecanismos de acción en condiciones fisiológicas ha sido aún más limitado.** Muchos de los resultados que actualmente se ha conocido derivaron de estudios, con moléculas altamente puras en formas y concentraciones a las que los tejidos del cuerpo nunca serían expuestos. Fue necesario experimentar con sistemas modelos reales fisiológicamente, en los que se incluyeran la caracterización del efecto de la tasa de absorción, la dispersión en el tejido y los sitios blancos de compuestos metabólicamente importantes, además de desarrollar estudios en tiempo real del efecto dosis/respuesta. Tradicionalmente la nutrición se

ha centrado en la investigación reducida a unos pocos tejidos para estimar el riesgo de individuos a desarrollar ciertas enfermedades por la acción de los alimentos, pero cada vez resultó más importante y útil la evaluación integral de estos alimentos sobre el genoma, teniendo en cuenta que han existido una heterogeneidad genética dentro de la especie humana.

Aun cuando la relación entre la dieta y la salud ha sido un hecho ampliamente demostrado, ha habido un interés creciente en cuáles de los componentes no nutrimentales de la dieta fueron biológicamente activos y cómo éstos ejercieron su efecto funcional. Estas preguntas han sido ejes centrales del desarrollo de la genómica nutricional. La genómica nutricional es la aplicación de las tecnologías utilizadas en la alimentación funcional para entender, a nivel genómico, el efecto que tienen cada uno de los componentes nutrimentales y no nutrimentales presentes en un alimento, basándose en la individualidad metabólica que se ha identificado en los últimos años. Actualmente, se sabe que el genoma es individualizado y que la expresión de su contenido informacional es un universo único, que depende no sólo de factores externos, sino que es modulado de manera muy compleja por múltiples factores internos. El complemento a desarrollar para comprender con claridad la funcionalidad biológica de moléculas no nutrimentales, es entendiendo los múltiples factores que influyen en la salud humana y la cuantificación de la acción de los metabolitos en cada individuo. De esta manera resulta indispensable la construcción de bases de datos, sobre el tipo y la concentración de metabolitos celulares, como recurso predictivo para cuantificar las relaciones entre éstos y la salud. Por lo que la metabolómica (informática de los metabolitos) es fundamental para entender el papel de la nutrición en la modificación del metabolismo y desde luego en la promoción de la salud.

Fitoquímicos biológicamente activos presentes en frutas

Como parte de la composición considerada como no nutrimental, las frutas contienen grupos de compuestos bioactivos, que se pueden ubicar en cuatro grandes grupos:

Compuestos fenólicos

Por ser mayoritarios en las frutas y las verduras, han sido los más estudiados. Son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxilos, incluyendo derivados funcionales ésteres, metil ésteres, y glucósidos. La naturaleza de los fenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta

compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se encuentran comúnmente en forma de glicósidos conjugados, con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque algunos pueden tener uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Los azúcares asociados pueden ser de tipo monosacárido, disacárido o incluso oligosacárido, siendo los más comunes: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos. Se clasifican en cuatro familias en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos: flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos (Singh y colaboradores, 2003; Sudjaroen, 2009).

Son compuestos con especial interés ya que se les ha atribuido actividad antioxidante. Muchas enfermedades degenerativas han estado relacionadas con la oxidación de moléculas biológicas, membranas y tejidos, inducidas por el oxígeno activo y mediada por radicales libres que son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado y que, debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivos, lo que ha sido la base de su toxicidad, éstos actúan como mediadores y reguladores a concentraciones fisiológicas, mientras que a concentraciones elevadas pudieron actuar como potentes oxidantes citotóxicos (González y Prisecaru, 2005).

La producción de los radicales libres que se dan constantemente “*in vivo*”, ha permitido desarrollar diversos mecanismos de defensa antioxidante, como medios de protección. A nivel fisiológico y celular, un antioxidante es una molécula que previene el daño oxidativo en otra molécula. Ya que en los sistemas vivos, de forma continua y natural se han generado radicales libres (sobre todo del oxígeno), el consumo de biomoléculas antioxidantes ha sido fundamental para mantener un adecuado sistema de bloqueo e inactivación de estos, siendo las frutas y vegetales en general la principal fuente de antioxidantes en una dieta adecuada (Olsson y colaboradores, 2004). Las *ERO*'s incluyen anión superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH), alcóxido (RO^-) y peróxido (ROO^-). Entre los derivados no radicales se encuentran el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Ácido Hipocloroso ($HClO$), ozono (O_3) y oxígeno singulete (AO_2) (Ugartondo, 2009). Estas se generan constantemente en el organismo, la mayoría a partir de las cadenas de transporte de electrones en la mitocondria. Otra fuente endógena es la relacionada con las diversas reacciones de defensa del sistema inmunitario frente a las agresiones de diversa índole, como en las inflamaciones crónicas o pueden provenir de fuentes externas como el tabaco, contaminación atmosférica, radiación Ultra Violeta UV , radiación electromagnética de baja longitud de onda, ozono y hasta medicamentos como paracetamol, pueden interaccionar dividiendo el agua en el organismo para generar el radical hidroxilo (OH). De forma análoga, existen

Especies Reactivas del Nitrógeno (ERN), del Cloro (ERCL) y del Bromo (ERBR) (Peng y colaboradores, 2008).

Cuando el organismo se ve desbordado por un exceso de especies reactivas, prácticamente cualquier estructura biológica que lo integra (ADN, ARN, proteínas, carbohidratos y lípidos) puede resultar dañada, originando lesiones en el ADN: pérdida de la función de enzimas, incremento de la permeabilidad celular, disrupción de la señalización en la célula y en ocasiones muerte celular programada (Ugartondo, 2009). Es común relacionar el daño provocado por las diversas especies reactivas con la fisiopatología de varias enfermedades como el cáncer, diabetes, enfermedades pulmonares (fibrosis pulmonar, enfisema, neumonía, bronquitis crónica), cardiovasculares (aterosclerosis, isquemia, infarto al miocardio), neurológicas (alzheimer, esquizofrenia), autoinmunes como artritis reumatoide, enfermedades oculares como cataratas y retinopatías, entre otras (Hassimotto y colaboradores, 2007; Oyagbemi, 2009; Ugartondo, 2009).

El sistema antioxidante de defensa está constituido por compuestos de naturaleza enzimática como las enzimas: superóxido dismutasa que remueve el O_2° convirtiéndolo en H_2O_2 , que es transformado por las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa, en agua (H_2O), éstas últimas también forman parte de la primera línea de defensa antioxidante, así como la glutatión transferasa y glutatión reductasa (Kurata y colaboradores, 2007). Dentro de los antioxidantes endógenos de naturaleza no enzimática están la ceruloplasmina, transferrina y lactoferrina, haptoglobina y albúmina.

Flavonoides

Es la familia de compuestos fenólicos más abundante, son de bajo peso molecular formados por la combinación de derivados de fenilalanina y el ácido acético. Comparten una estructura común caracterizada por tener un esqueleto difenilpropano ($C_6C_3C_6$) basado en el núcleo flavonoide, formado por tres anillos conocidos como A, B y C. El anillo aromático A está condensado con un anillo de seis carbonos (C), un heterociclo oxigenado, que en posición dos tiene un anillo bencénico como sustituyente (B) (Merken y Beecher, 2000).

Presentan más de cinco mil estructuras diferentes. Las diferencias entre los diversos grupos de flavonoides se establecen por el grado de aromaticidad (dobles enlaces conjugados), el patrón de hidroxilación (orden y número), el tipo de sustituciones (glicosilación, metilación y sulfatación) y el grado de polimerización de sus estructuras. Las moléculas de flavonoide no unidas a un grupo glucósido se conocen como agliconas, mientras que las formas glicosiladas se llaman glicósidos de flavonoides.

Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavanoles (catequinas y proantocianidinas) y antocianidinas, así como en alimentos y bebidas obtenidas a partir de estos (Ramos, 2007).

Son utilizados para tratar desórdenes cardiovasculares y prevenir algunos tipos de cáncer (Lako y colaboradores, 2006), ya que neutralizan las especies reactivas de oxígeno *ERO's*, ayudan a atraparlas ó evitan que se propague la reacción química que genera radicales libres, actúan regulando ciertas actividades enzimáticas celulares relacionadas con la capacidad de los flavonoides de alterar la estructura de la membrana celular, influyendo en la señalización y ciclo celular, metabolismo de ácido araquidónico y proliferación celular, apoptosis o muerte celular programada (Carvalho y colaboradores, 2008). Por esta razón, ha habido un interés creciente en entender sus efectos protectores e identificar los componentes con efectos anticarcinogénicos.

Se ha demostrado que los flavonoides regulan en gran proporción la expresión de enzimas antioxidantes como la hemoxigenasa 1 (HO-1) mediante la activación del factor nuclear eritroide (NRF2). Muchas investigaciones han examinado que las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKS) están involucrados en los mecanismos de protección de daño del hepatocito y la disfunción hepática. Hesperidina y la Quercetina han sido utilizados eficazmente como agentes suplementarios en los protocolos de tratamiento de los estudios de investigación. Muchos de ellos se han centrado en los usos potenciales como captadores de radicales libres e inhibidores de la peroxidación lipídica para prevenir el daño oxidativo. Además de la donación directa de hidrógeno y las propiedades para calmar las especies reactivas del oxígeno (ROS), recientemente la atención se ha centrado en la influencia de los flavonoides en la vía de señalización y su interacción indirecta con el sistema de defensa antioxidante endógeno (Lako y colaboradores, 2010).

Compuestos fenólicos no flavonoides

Dentro de este grupo, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillínico, p-hidroxibenzoico, y los de tipo aldehídico como la vainillina, son abundantes en el reino vegetal. Los ácidos cinámicos como el cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico, raramente se encuentran libres, y generalmente están presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra unido por enlace ester con el ácido quínico formando el ácido clorogénico y sus isómeros: isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente unidas por enlaces glicosídicos a monosacáridos, mientras que los

cromonoles, compuestos responsables de una amplia variedad de colores en frutas y vegetales, son menos conocidos tanto en su estructura como en su actividad funcional, y se forman a partir de las antocianidinas.

Lignanos y neolignanos

Son metabolitos presentes principalmente en las plantas y en partes no comestibles de frutas y vegetales. Son de bajo peso molecular, formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de p-hidroxi fenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano.

Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 y tres mil Daltons, que contribuyen al sabor amargo y a las astringencia de algunas frutas y vegetales inmaduros. Estos compuestos contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales (1 a 2 por 100 D), siendo capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas.

Biomoléculas nitrogenadas y de tipo proteico

Los compuestos nitrogenados suelen ser biológicamente muy activos y tradicionalmente se cree que pueden generar problemas de toxicidad, aun en bajas concentraciones. No obstante, existen biomoléculas como las lectinas que son un grupo variado de proteínas de bajo peso molecular, distribuidas ampliamente en la naturaleza, encontrándose en pulpa y cáscara de diversas frutas. Se han encontrado lectinas en las hojas y la corteza del árbol de mango, una de ellas ya ha sido caracterizada y se le conoce como Mangífera Índica Aglutinina (MIA), que tiene un efecto inhibitorio sobre la α -amilasa, inhibiendo potencialmente la absorción de los carbohidratos en el intestino delgado y previniendo una concentración alta de glucosa en la sangre.

Los extractos acuosos de las hojas de MIA administrados en concentración de 1g de lectina/Kg de peso, fueron probados en ratas normoglicémicas, ratas diabéticas inducidas con glucosa y ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina (STZ), reduciendo los niveles de glucosa en sangre en animales normoglicémicos y en los hiperglicémicos inducidos con glucosa, pero no tuvieron ningún efecto en las ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina. También fueron comparados los efectos hipoglicémicos de los extractos acuosos con los producidos por una dosis oral de cloropropamida (200 mg) bajo las mismas condiciones. Los resultados de este estudio indicaron que los extractos acuosos de las hojas de MIA podrían tener actividad hipoglicémica. Esta acción pudo deberse a una reducción intestinal de la absorción de la glucosa, sin embargo no debió excluirse algún otro mecanismo (Aderibigbe y colaboradores, 2001).

En otro estudio de Makare (1999), reportó la observación de los efectos de la administración oral de extractos acuosos de MIA sobre la actividad inmunomoduladora en ratones. En este estudio, se investigó el extracto alcohólico de la corteza del tronco de MIA sobre las células mediadoras y los componentes humorales del sistema inmune del ratón. La administración del extracto produjo un incremento de los Anticuerpos Humorales (HA) retardando la hipersensibilidad en las ratas. El estudio concluyó que los extractos de MIA podrían ser usados en algunos tratamientos médicos, como una prometedora droga con propiedades inmunoestimulantes.

Biomoléculas organosulfuradas

Los compuestos sulfurados existen de forma natural en muchos alimentos vegetales. Además, muchos organosulfurados se han considerado como aditivos alimentarios reconocidos como seguros (GRAS, siglas en inglés), entre ellos: el alil isotiocianato, alil mercaptano, bencil disulfuro, bencil mercaptano, bencil sulfuro, butil sulfuro, dialil disulfuro, dialil sulfuro, dimetil mercaptano, furfuril mercaptano, metil mercaptano, metil 2- metiltiopropionato, propil disulfuro, 2-tienil mercaptano, 2-tienil-tiol. El ajo y otras especies de *Alliumhan* han sido fuentes ricas de organosulfurados, incluyendo precursores del dialil sulfuro y dialil disulfuro. Entre estos compuestos organosulfurados presentes se encuentran: la alicina y aliina, además de la alixina, que es un compuesto fenólico. Diversas publicaciones han reportado que el consumo de ajo se ha asociado con una disminución en la incidencia de cáncer. En Italia y China, se han dado a conocer estudios que relacionaron la no incidencia de cáncer gástrico con el consumo de ajo, sin embargo, no se ha encontrado que el consumo de cebollas, puerros, o suplemento de ajo inhiban el cáncer de pulmón o de mama.

El desarrollo de tumores de mama en ratones fue inhibido al ser alimentados con ajo, sin que se hubiera inactivado la aliinasa, lo cual sugiere que ésta pueda actuar como agente quimiopreventivo. No todos los efectos anticarcinógenos del ajo deben ser atribuidos a los compuestos sulfurados. Se ha reportado actividad antitumoral para la alixina, un compuesto fenólico. El dialilsulfuro ha sido el más estudiado en animales de laboratorio, el cual ha servido de modelo para inhibir la carcinogénesis química en colon, hígado, esófago, pulmón y diversos tejidos. También el dialil disulfuro dietético fue probado disminuyendo el número de adenocarcinomas de colon, inducidos por azoximetano en ratas, encontrando que los compuestos que tienen el grupo *alilo* son más efectivos en la quimiopreención del cáncer, que los que no presentaron este grupo.

También se han reportado efectos protectores de otros compuestos como: 1,2-dimetil hidracina, *benzo(a)pireno*, *4-(metilnitrosamino)-1-beta-piridil-1-butanona* (NNK) y otras nitrosaminas, con propiedades carcinogénicas. Se demostró la importancia de los grupos alilo en oposición a los grupos propil saturados para los efectos de los compuestos organosulfurados sobre la carcinogénesis. Varios compuestos organosulfurados fueron examinados por su capacidad de inhibir la carcinogénesis inducida por n-nitrosodietilamina, y el más potente fue el dialil-disulfuro el cual redujo los tumores de estómago hasta un 90 por ciento. Los compuestos liposolubles como el di-alil disulfuro fueron efectivos para reducir la proliferación de neoplasias. El compuesto hidrosoluble S-alil-cisteína, responsable del característico a ajo, se ha reportado como efectivo para reducir el riesgo de tumores inducidos químicamente en animales de experimentación, sin embargo, no tiene efecto sobre tumores establecidos.

Isotiocianatos

Como sus glucosinolatos conjugados, se encuentran en una amplia variedad de vegetales *Crucíferos*. Cuando se dañan o rompen las células vegetales, la enzima mirosinasa es liberada y cataliza la hidrólisis de los glucosinolatos formando isotiocianatos por un arreglo tipo Lossen. Los isotiocianatos son responsables, en parte del sabor agudo de ciertos vegetales crucíferos. El consumo de cantidades normales de vegetales como el berro o el repollo (col) libera miligramos de isotiocianatos, estos están entre los agentes quimiopreventivos más efectivos conocidos. Una amplia variedad de ellos previenen el cáncer de diferentes tejidos incluyendo el de pulmón, glándula mamaria, esófago, hígado, intestino delgado, colon y vesícula biliar, evidenciado en experimentos con ratas. El estudio del mecanismo de acción ha demostrado que la actividad quimiopreventiva de los isotiocianatos se debió a la modificación favorable

del metabolismo carcinógeno de la fase I y fase II, que resultó en el aumento de la excreción de los carcinógenos o desintoxicación y la disminución de las interacciones carcinógenos-ADN. En la mayoría de los estudios reportados, los isotiocianatos estuvieron presentes en el momento de la exposición al carcinógeno, con el fin de observar la inhibición de la tumorigénesis (Wannabe y colaboradores, 2003).

Glucosinolatos

Se trata de sustancias aromáticas picantes que conceden un sabor especial a la mostaza, rábano rústicano, coles y otras verduras. Sólo cuando se cortan o desmenuzan las verduras, se liberan sus compuestos aromáticos y bioactivos: isotiocianatos, tio-cianatos e indoles. Se les atribuye efectos anticancerígenos y eliminadores de microorganismos indeseables. Son efectivos en infecciones urinarias (rábano y berros). El aceite de mostaza es una especie de *antibiótico de amplio espectro*, actúa sobre el metabolismo de los microorganismos impidiendo su normal desarrollo. Tradicionalmente, el rábano rústicano (picante), los berros y la lechuga capuchina se han empleado en el tratamiento de heridas e infecciones urinarias. Se ha calculado que la toma de 10 a 20 g de rábano picante al día puede acabar con infecciones bacterianas o micóticas (hongos), y que la toma de 10 a 40 g de hojas de berros o de lechuga capuchina puede combatir con éxito la cistitis. También se han conseguido efectos positivos ante infecciones víricas. El consumo de estos aceites penetrantes y picantes no debe exagerarse, ya que su exceso puede irritar el estómago y los intestinos. Los glucosinolatos son sustancias liposolubles, se absorben en el intestino delgado y se eliminan de forma prácticamente inalterada por las vías urinarias y respiratorias, por lo que sus aceites aromáticos de las raíces y hojas picantes de las plantas mencionadas anteriormente, son efectivos en las inflamaciones de la vejiga y contra la tos.

Biomoléculas de tipo terpénico

Estos compuestos están presentes en cualquier comida natural y se pueden dividir en tres clases principales: mono, di y tetraterpenos.

Muchos estudios han demostrado que diferentes monoterpenos inhibieron la iniciación y promoción de la tumorigénesis en modelos animales, y pudieron inducir la regresión de tumores mamarios y pancreáticos establecidos. Se ha reportado que el limoneno, carvon, carveol, mentol, alcohol perillil y geraniol previnieron la carcinogénesis y su desarrollo, o generaron regresión en tumores de riñón, piel,

pulmón, estómago, mama, colon, páncreas, melanomas y leucemias. Dicha inhibición en la formación de tumores y los efectos en la promoción y regresión del tumor en animales con monoterpenos ocurrió a través de diferentes mecanismos, que incluyeron la inducción de apoptosis en células cancerosas. Los mecanismos propuestos para sus propiedades quimioterapéuticas y quimiopreventivas incluyeron la inhibición de la prenilación de proteínas afectando la transducción de señales, disminución de *Ras*, inducción de c-Jun, que junto con el factor de transcripción *AP-1* jugó un papel importante en la muerte celular, también generaron inducción del factor de crecimiento transformador β (*TGF- β*) y su receptor (*TGF- β RR*), que indujeron apoptosis en células transformadas y del complejo manosa-6-fosfato, receptor del factor de crecimiento tipo-insulina II, que es un posible supresor de tumores. Entre los diterpenos, los retinoides como el *all-trans-retinol* y tanto el ácido retinoico *all-trans*, como su isomero *13-cis*, han mostrado tener un efecto importante al suprimir el desarrollo de cáncer de piel, mama, cavidad oral, pulmón, próstata, hígado, páncreas y vejiga en modelos animales. Además de inhibir la proliferación celular *in vitro* en células de adenocarcinoma y hepatocarcinoma humano, también inhiben el desarrollo del cáncer primario de piel, cabeza y cuello después de cirugía o radioterapia y de pulmón e hígado en mujeres premenopáusicas. Son útiles en el tratamiento de leucemias promielocíticas. Esos efectos se han asociado a su capacidad de antioxidantes primarios y sinérgicos, aunque también se ha probado que pudieron generar apoptosis directamente. Se ha probado que los mecanismos mediante los que los retinoides desencadenaron la apoptosis pudieron variar dependiendo de la línea celular utilizada, aun cuando ambas sean del mismo tipo de cáncer, pero dejando de lado las líneas utilizadas. Entre los mecanismos observados se han visto descensos en las moléculas anti-apoptóticas survivina y *Bcl-xL*, activación de caspasas 8 y 3, y ligeros aumentos de la pro-apoptótica *Bax*. Varios estudios epidemiológicos con tetraterpenoides demostraron que los carotenoides eran agentes potenciadores en la prevención de las carcinogénesis, observándose reducciones en la mortalidad por cáncer de estómago y displasia esofágica. Ciertos datos sugirieron que la incorporación de alimentos ricos en luteína a la dieta diaria redujo el riesgo de desarrollar cáncer de colon. Estudios *in vitro* señalaron que la incorporación de licopeno disminuyó la apoptosis inducida por etanol y minimizó el riesgo de cáncer digestivo, de próstata y pulmón. Los carotenoides han demostrado ser muy efectivos contra los radicales libres, pero por sí solos son antioxidantes muy poco efectivos, aunque actuando sinérgicamente con tocoferoles pudieron cumplir satisfactoriamente su función de antioxidante. A los carotenoides se les ha asociado propiedades antioxidantes, también la inducción y estimulación de la comunicación intercelular vía “gap junctions”, regulando el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis. Estudios

clínicos con humanos y animales demostraron que grupos específicos de tetraterpenoides, entre ellos el β -caroteno aumentaron la mortalidad por cáncer de pulmón en individuos fumadores. Este efecto negativo se ha atribuido a que la atmósfera –rica en radicales libres en los pulmones de los individuos expuestos al humo del cigarro– pudo aumentar la oxidación del β -caroteno y mediante esto la formación de ciertos metabolitos que aceleran el proceso tumorigénico.

Otras biomoléculas de importancia funcional presentes en frutas

Acetogeninas

La *annona muricata* (guanábana), posee más de 50 acetogeninas con diferentes actividades biológicas encontradas en fruta, corteza y hojas. Son miembros de una clase de derivados policétidos que se caracterizan por poseer una larga cadena alifática de 35 ó 37 átomos de C, con uno, dos o tres anillos de tetrahidrofurano adyacentes o no, así como sustituyentes oxigenados (hidroxilos, cetonas y epóxido) o dobles enlaces, localizados a lo largo de la cadena. En uno de sus extremos presentan un anillo de γ - lactona α o β insaturado, metil sustituido, en ocasiones saturado o rearmado como cetolactona. También se han descrito compuestos con dobles enlaces en cadena alifática, compuestos con anillos epoxi o THP, así como lineales (Bajin ba Ndob y colaboradores, 2009; Champy y colaboradores, 2009; Márquez, 2009).

Son compuestos provenientes de plantas, animales o microorganismos. Se consideran como los metabolitos secundarios más potentes de inhibidores del complejo I mitocondrial. Muestran un efecto antiproliferativo sobre líneas celulares cancerosas, aún en aquellas con multi-resistencia a drogas (Adewole y colaboradores, 2009).

Los mecanismos para explicar la actividad biológica fueron dos sitios blancos en la célula: Complejo I (NADH: Ubiquinona oxidoreductasa) mitocondrial y la NADH oxidasa de las membranas plasmáticas. El complejo I mitocondrial ha tenido un papel importante en la síntesis de ATP, a partir de moléculas reducidas que se formaron en el metabolismo central celular y se especuló que debido a la rápida proliferación de las células cancerosas, éstas requirieron de niveles altos de energía, por lo que pudieron ser más sensibles a su descenso y presentaron cambios morfológicos importantes de pérdida de asimetría de la membrana plasmática, fragmentación del ADN y la condensación nuclear. También la transducción de señales en cascada, como las proteasas de la familia de las caspasas, la expresión de factores antiapoptóticos y

la respuesta antioxidante con enzimas de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, así como el incremento de proteínas apoptóticas bad y bax (Liaw y colaboradores, 2003; Quispe y colaboradores, 2006; Schlie y colaboradores, 2009).

Aminas biogénicas

Las aminas biogénicas son bases orgánicas de bajo peso molecular que se forman por la descarboxilación de algunos aminoácidos. Son precursores en la síntesis de hormonas, alcaloides, ácidos nucleicos, proteínas y compuestos aromáticos. Poseen actividad biológica, son formadas y degradadas durante el metabolismo normal de animales, plantas y microorganismos.

Concentraciones importantes de aminas biogénicas se han identificado en frutas cítricas y sus jugos, principalmente en naranja y toronja, aunque también en pulpa de kiwi, carambola, maracuyá, guaraná y fresa. Las aminas procedentes de la dieta no se retienen en el intestino, si no que son enviadas a los distintos órganos y ahí se usan cuando son requeridas. Juegan un papel importante para la presión sanguínea y el sistema nervioso. Las aminas biógenas son compuestos que, cuando se consumen en altas cantidades pueden producir problemas toxicológicos en el organismo. La histamina y la tiramina han sido las aminas biógenas más estudiadas debido a sus efectos tóxicos. La presencia de otras aminas, como putrescina y cadaverina, pudieron potenciar la toxicidad de ambas. Las aminas biogénicas como tiramina, triptamina y feniletilamina tendieron a aumentar la presión sanguínea porque hicieron constricción en el sistema vascular y aumentaron la velocidad y fuerza de contracción del corazón. La histamina un fuerte dilatador capilar, que produjo efectos hipotensivos y también es causante de intoxicaciones y alergias, la sinefrina es una amina simpático-omimética que generó vasoconstricción e incrementó la presión sanguínea y relajación del musculo bronquial y como estimulante y descongestionante (Castillo-Villanueva y Abdullaev, 2005).

Referencias

- Aderibigbe, A. O., T. S. Emudianughe and B. A. Lawal (2001), "Evaluation of the antidiabetic action of *Mangifera indica* in mice", *Phytotherapy Research*, vol. 15(5), pp. 456-458.
- Adewole, S., and J. Ojewole (2009), "Protective effects of *Annona muricata* linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in

- hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats”, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, núm. 6, pp. 30-41.
- Bajin ba Ndob, T., P. Champy, C. Gleye, G. Lewin and B. Akendengue (2009), “Annonaceous acetogenins: Precursors from the sedes of *Annona squamosa*”, *Phytochemistry Letters*, vol. 2, pp. 72- 76.
- Carvalho, M., P. Ferreira, V. Mendes, R. Silva, J. Pereira, C. Jerónimo and B. Silva (2010), “Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L”, *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, pp. 441–447.
- Castillo-Villanueva A. y F. Abdullaev (2005), “Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer”, *Revista de Investigación Clínica*, vol. 57 (1), pp. 55-64.
- Champy P., D. Fall, C. Gleye y A. Melot (2009), “Apolar Annonaceous Acetogenins from the Fruit Pulp of *Annona muricata*”, vol. 14, pp. 4387-4395.
- _____ (2009), *Phytochemistry Letters*, vol. 2, pp. 72–76.
- González M. E. and V. I. Prisecaru (2005), “Lectins as Bioactive Plant Proteins: A potential in Cancer Treatment”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 45, pp. 425-445.
- Hassimotto, N., M. Genovese, and F. Lajob (2009), “Antioxidant capacity of Brazilian fruits, vegetables and commercially frozen pulps”, *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 22, pp. 394-396.
- Kurata, R., M. Adachi, Y. Osamu and Y. Makoto (2007), “Growth suppression of Human Cancer Cells by Polyphenolics from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves”, *J. Agric. Food Chem*, vol. 55, pp. 185-190.
- Lako, J., T. Craige, M. Wahlqvist, N. Wattanapenpaiboon, S. Sotheeswaran y R. Premier (2007), “Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods”, *Food Chemistry*, vol. 101, pp. 1727-1741.
- Liaw, C., Y. Nakanishi, F. Chang, Y. Wu, K. Bastow, y K. Lee (2003), “Acetogenins as Selective Inhibitors of the Human Ovarian 1A9 Tumor Cell Line”, *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 46 (15), pp 3185-3188.
- Márquez, J. (2009), *Caracterización fisiológica, fisicoquímica, reológica, nutracéutica, estructural y funcional de la guanábana (*Annona muricata* L. cv. Elita)*, Medellín, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, pp. 195.
- Olsson, M., K. Gustavsson, S. Andersson, A. Nilsson, and R. Duan (2004), “Inhibition of Cancer Cell Proliferation in Viitro by Fruit and Berry Extracts and Correlations with Antioxidany Levels”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, pp. 7264-7271.

- Oyagbemi, A., O. Azeez y A. Saba (2009), “Interactions between Reactive Oxygen Species and Cancer: the Roles of Natural Dietary Antioxidants and their Molecular Mechanisms of Actions”, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 10, pp. 535-544.
- Peng, B., Q. Chang, L. Wang, Q. Hu, Y. Wang, J. Tang and X. Liu (2008), “Suppression of human ovarian SKOV-3 cancer cell growth by Duchesnea phenolic fraction is associated with cell cycle arrest and apoptosis”, *Gynecologic Oncology*, vol. 108, pp. 173-181.
- Quispe, A., D. Zavala, M. Passo, J. Rojas y A. Vaislerg (2007), “Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanábana) en cultivo de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar”, vol. 12, núm. 17, CIMEL, pp. 265-269.
- Ramos S. (2007), “Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention”, *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 18, pp. 427-442.
- Schlie, M., A. González, y L. Luna, (2009), “Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas”, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 4, núm. 8, BLACPMA, ISSN 0717 7917, pp. 245-257.
- Singh Birbal, Bhat Tej. K. and Shing Bhupinder (2003), “Potential Therapeutic Applications of Some Antinutritional Plant Secondary Metabolites”, *Journal Agriculture Food Chemistry*, vol. 51, pp. 5579 -5597.
- Sudjaroen, Y. (2009), “Plant derived phenolic antioxidants and cáncer prevention”, *Thai Cancer Journal*, vol. 29, p. 3.
- Ugartondo, V. (2009), “Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares”, Universitat de Barcelona, tesis doctoral.
- Watanabe, M., M. Ohata, S. Hayakawa, M. Isemura, S. Kumazawa, T. Nakayama, M. Furugori, and N. Kinae (2003), “Identification of 6-methylsulfinylhexyl isothiocyanate as an apoptosis-inducing component in Wasabi”, *Phytochemistry*, vol. 62, pp. 733-739.

Propiedades nutricionales del maíz de alta calidad proteica

José Ernesto Cervantes Martínez, Yolanda Salinas Moreno, Griselda Vázquez Carrillo y María Guadalupe Bustos Vázquez

Resumen

Después del arroz y el trigo, el maíz ha sido el tercer cereal en importancia que se ha consumido directamente, y su ingesta ha sido particular preponderancia en la población humana de los países en desarrollo de África, América y Asia, aportando más del 30% de la proteína consumida, aunque, el maíz por sí solo no les proporciona todos los nutrimentos necesarios para una dieta sana. Esto se debe a que el maíz común contiene proporciones muy bajas de lisina y triptófano, que son dos de los aminoácidos esenciales para la síntesis de proteína altamente nutritiva en infantes y lactantes. Con el descubrimiento del gene *opaco-2* del maíz que indujo incrementos del doble de dichos aminoácidos, se generaron los maíces de Alta Calidad de Proteína (ACP) que han resultado muy nutritivos en los humanos, principalmente en la población infantil. La producción y consumo de maíz ACP se ha iniciado en muchos países de Latinoamérica y Asia con resultados sorprendentes. En México, ha existido esta opción para proporcionar alimento nutritivo a las poblaciones de escasos recursos y marginadas que en su mayoría ha contado con el maíz como único alimento. Se han evaluado maíces ACP en casi todos los estados de la república, y además de resultar con alta lisina y triptófano, la mayoría han sido potencialmente similares en producción de grano al compararlos con los maíces normales en uso comercial. El híbrido de maíz ACP “*Nutri-UAT*”, recomendado para Tamaulipas ha tenido rendimientos de nueve y 15 toneladas de grano y elote,

respectivamente, cuando se produce en condiciones óptimas, además de contener en la proteína del grano el doble de lisina y triptófano. En esta revisión se proporcionan detalles tecnológicos y referencias de los alcances obtenidos y potenciales con el uso de maíces.

Introducción

El grano de maíz ha sido el alimento básico más importante de México, ya que ha aportado en promedio 39% de la proteína asimilable y 59% de la energía (Pérez y colaboradores, 2006). Aun cuando hay muchas formas de consumo de productos derivados del maíz, la mayor parte se realiza en forma de tortillas con 12.3 millones de toneladas anuales, por lo que para satisfacer la demanda nacional, en 2011 se importaron entre 5 y 7 millones de toneladas (FAOSTAT, 2011), ya que la producción interna de grano de maíz no es suficiente.

El maíz ha constituido una buena fuente de calorías o energía digestible (85–90% del total de las calorías), pero ha presentado baja calidad de proteína ya que ésta ha sido deficiente en dos de los aminoácidos esenciales, lisina y triptófano, que han sido requeridos para un sano crecimiento en la población infantil y lactantes. En México la desnutrición ha afectado por lo menos a 40 millones de personas, donde el 43% fueron niños que presentaron problemas de crecimiento (Chávez y Chávez, 2004).

Descubrimiento del maíz con Alta Calidad de Proteína (ACP)

En la búsqueda de una buena fuente de proteína de calidad para mejorar la alimentación, en 1963 los doctores Edwin T. Mertz, Oliver E. Nelson J., y Lynn S. Bates de la Universidad de Purdue, Indiana, USA, identificaron varios genes mutantes de maíz, de alta lisina y triptófano, entre ellos los genes *opaco-2* (O2), *harinoso-2* (F12), *opaco-7* (O7), *opaco-6* (O6), *harinoso-3* y el endospermo defectivo (*De-B30*) (Vasal, 2001). En Ghana, el estudio de los ACP empezó en 1970 con un progreso pequeño debido a problemas de bajo potencial de rendimiento, vigor pobre de planta, baja viabilidad de semilla y una alta susceptibilidad a la pudrición y a las plagas durante el almacenaje (Sallah y colaboradores, 2000). Pese a que se había determinado que este gen disminuía la fracción zeína entre 30-50 %, contribuyendo a que las otras fracciones se incrementaran y consecuentemente se aumentara el contenido de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano. La

reducción de la zeína causó el incremento proporcional de éstas fracciones, ocasionando incremento de dichos aminoácidos en la proteína y, en consecuencia, aumentó la calidad proteínica (cuadro 1).

La principal diferencia entre un maíz común y el maíz ACP ha radicado en la composición proteínica del endospermo: su matriz proteínica es más delgada y presenta menos y más pequeños cuerpos proteicos, pues en el maíz ACP ocurrió una menor síntesis de zeína, que fue deficiente en lisina y triptófano, lo que condujo a un incremento de las otras fracciones de globulinas, glutelinas y albúminas, mismas que tenían un mejor balance en los contenidos de estos aminoácidos lisina y triptófano, a diferencia del maíz común, donde la fracción más abundante fue la zeína (Tsai y colaboradores, 1983; FAO, 1992; Vasal, 2001).

El cambio que generaron estos mutantes en el perfil de los aminoácidos originó un incremento de lisina y triptófano, así como en otros aminoácidos: histidina, arginina, ácido aspártico y glicina. Además, algunos aminoácidos disminuyeron su contenido con relación al maíz común. Estos fueron: ácido glutámico, alanina y leucina, principalmente. Esto fue muy favorable, ya que la proporción leucina-isoleucina se hizo más propicia para la liberación de más triptófano para la biosíntesis de la niacina (Vasal, 2001).

Cuadro 1. Componentes nutricionales del grano de tres tipos de maíz

<i>Componente</i>	<i>Maíz común</i>	<i>Opaco-2</i>	<i>Maíz ACP</i>
Lisina (%)	0.21	0.47	0.34
Triptófano (%)	0.043	0.12	0.085
Proteína (%)	9.2	8.0	9.93

Fuente: (Mertz, 1992).

Después de cuatro décadas de investigación agronómica, el Dr. Vasal y la Dra. Villegas, lograron desarrollar variedades e híbridos con alta calidad de proteína, específicamente con alta lisina y triptófano, con características de endospermo cristalino y duro y rendimientos iguales o superiores a los maíces comerciales que fueron puestos a disposición de productores. A la fecha estos maíces se han sem-

brado en los estados de: Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Veracruz, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, Tamaulipas, Puebla y México (Serna-Saldívar y colaboradores, 2008; Pérez y colaboradores, 2006; Vázquez y colaboradores, 2004).

Consumo en países pobres

En Nicaragua, el maíz ha constituido un alimento básico de la dieta, consumido como tortilla por 79.8% de los hogares. La Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), estima que entre los años 2001 y 2003, el maíz y sus productos contribuyeron en un 21% a la energía dietética y en un 20% a la proteína dietética de los nicaragüenses. Por sus mayores requerimientos de proteína para el crecimiento y para combatir enfermedades, los niños preescolares fueron especialmente vulnerables a dietas bajas en calidad y cantidad de proteína. Una de las alternativas que pudo ayudar a mejorar la nutrición en niños fue el uso de variedades de maíz de alta calidad de proteína (*Quality Protein Maize*, QPM) (Ortega y colaboradores, 2008).

El maíz (*Zea mays* L.), ha sido el principal cultivo producido en Ghana y en muchos otros países de África. Se considera que cerca del 50% de la población en la sub-región ha consumido el maíz como alimento principal. Los granos se han procesado principalmente y se usan en la preparación de varios platillos indígenas. En muchos países, el maíz ha sido ampliamente consumido para reemplazar la etapa de lactancia de los infantes, sin algún suplemento proteínico, razón por la que frecuentemente los infantes han sufrido desnutrición de proteína-energía y desarrollan la enfermedad conocida como “Pelagra”. La principal razón era que las proteínas del maíz normal son deficientes en dos aminoácidos esenciales, lisina y triptófano que se requieren en la dieta de humanos (Sallah y colaboradores, 2000).

A partir de 1996, el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) ha generado híbridos y variedades de maíz de Alta Calidad Proteínica (ACP), que contenían hasta 100% más de lisina y triptófano que los maíces comunes (Sierra y colaboradores, 2010). Estos maíces los ha puesto a disposición de instituciones de investigación y universidades para que sean usados en sus programas de investigación y transferencia de tecnología. Variedades e híbridos ACP con endospermo claro y con un excelente potencial de rendimiento se han puesto a disposición de los productores en muchos países, incluyendo México (Serna-Saldívar y colaboradores, 2008).

Efectos nutricionales del maíz ACP

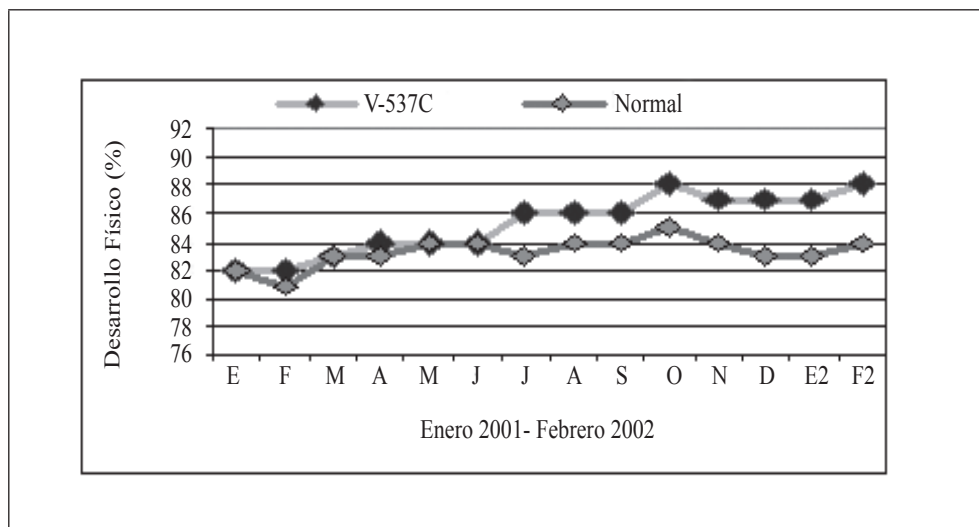
El consumo del maíz ACP podría contribuir más eficientemente al combate de la desnutrición de 27 millones de habitantes en las zonas rurales y urbanas marginadas de México (Vázquez y colaboradores, 2004). Los niños que han mostrado un mayor requerimiento de proteína para el crecimiento y para combatir enfermedades, han sido el sector más vulnerable a dietas bajas en calidad y cantidad de proteína. Infantes nicaragüenses con una desnutrición leve o moderada, recibieron un complemento formulado con maíz ACP o maíz de endospermo normal. Al concluir el estudio se registró una mejora en el estado nutricional en los niños que consumieron el maíz ACP (Ortega y colaboradores, 2008).

Dicho maíz ha representado una fuente potencial para mejorar el problema de la desnutrición de los grupos más vulnerables de la sociedad, los niños, mujeres embarazadas y ancianos. El avance nutricional que presentaron ha sido demostrado en forma clara y repetitiva en diversos estudios realizados en varios países, así como en ensayos de alimentación animal en los que han demostrado ser aprovechados eficazmente, favoreciendo la velocidad de crecimiento (Burgoon y colaboradores, 1992; Knabe y colaboradores, 1992; Villegas-Moreno, 1994).

Investigaciones realizadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), el CIMMYT y otras instituciones en México, han demostrado el beneficio real del consumo de los alimentos preparados con maíz ACP. En un estudio realizado en el año 2001 en las regiones Mazateca y Mixteca de Oaxaca, se seleccionaron 67 familias que tenían niños con algún grado de desnutrición y edades entre dos y cinco años. De éstas, 35 familias adoptaron en su dieta el maíz ACP variedad V-537C y el resto (32 familias) continuaron usando el maíz común por 13 meses, período en el que se registró el peso y la talla de los infantes. Los resultados indicaron que cuando estos se alimentaron con tortillas de maíz ACP obtuvieron un mejor desarrollo físico recuperando el grado normal de nutrición, respecto a los alimentados con tortillas de maíz de endospermo normal (figura 1).

Las tasas de digestibilidad defirieron notablemente, ya que de una ingesta de 48 g de nitrógeno contenidos en el maíz común, sólo se absorbieron 39.4 g y se eliminaron en las heces 8.6 g y, en el caso del maíz ACP, de una ingesta igual de nitrógeno, se absorbieron 4.8 g más que en el maíz común y, por lo tanto, en las heces se perdieron sólo 3.8 g. Con esto se demostró una de las ventajas nutricionales que debiera impulsar la producción y consumo de maíz ACP (Serna-Saldívar y Rooney, 1994).

Figura 1. Efecto del consumo de maíz ACP (V-537C)



Fuente: Desarrollo físico de niños de las regiones Mazateca y Mixteca en el estado de Oaxaca, México, elaboración propia.

En maíces ACP aún con proporciones similares de proteína fue mayor su calidad y valor biológico, pues se aprovechó el doble respecto al maíz común. Por ejemplo, el valor biológico de la proteína del maíz común fue aproximadamente el 40% del valor biológico de la proteína de la leche, en contraste con el de la proteína del maíz ACP que fue más del doble (90%) de dicho valor biológico. De esta forma, los beneficios nutricionales de los maíces ACP fueron similares a los de la proteína de la leche, un estándar común de excelencia nutricional (Ruskin, 1988).

Se trataron más de 20 niños mal nutridos con maíz ACP en un hospital de Guatemala. En la serie de pruebas, los médicos encontraron que fue un remedio flexible a la desnutrición infantil, gracias a la aceptabilidad y al valor biológico superior que presentó. Investigadores en Lima, Perú, han demostrado que los niños en su segundo año de vida crecieron de forma normal cuando se alimentaron con maíz ACP como única fuente de proteína en la dieta (Ruskin, 1988).

Según Villegas-Moreno (1994), las principales regiones donde los maíces ACP ofrecieron beneficios potenciales para el consumo humano fueron América Latina, África y el este de Asia, ya que pudieron ser utilizados como ingredientes en la preparación de harinas compuestas como suplemento de la harina de

trigo para la elaboración de pan, sobre todo considerando que muchos de estos países tenían ecologías tropicales donde el tipo de clima evitaba el crecimiento del trigo, por tanto eran dependientes de la importación de este cereal. Ante esta situación, los maíces ACP, debían jugar un papel muy importante en la nutrición humana, especialmente para los infantes y jóvenes de los bajos estratos socioeconómicos.

Figura 2. El efecto nutricional del maíz en el crecimiento de cerdos jóvenes



Fuente: (foto tomada de National Research Council, 1988. Quality Protein Maize. National Academy Press, Washington, D.C.).

En experimentos conducidos en Colombia, el maíz ACP conteniendo el gene opaco-2, incrementó cuatro veces el tamaño en cerdos gemelos idénticos. En cada caso, el maíz fue la única fuente de proteína

El ambiente modifica los maíces ACP

Los maíces ACP desarrollados para la Mesa Central de México, modificaron la calidad de sus granos, proteína y tortillas por efecto de la densidad de población, variedad e interacción de los mismos. El cultivo con 67 mil plantas por hectárea, permite la producción de maíz ACP con buena calidad para la industria nixtamalera-tortillera, pero el aumento en la población de plantas hasta alcanzar las 80 mil plantas por hectárea indujo mayor suavidad en el endospermo del grano y alto contenido de proteína, lisina y triptófano.

En el sur de Tamaulipas se ha investigado con maíz ACP desde 1998 encontrándose que híbridos y variedades se adaptaron a las condiciones ecológicas de la región y mostraron la calidad de proteína sugerida en estudios de otras regiones y países. Particularmente, el híbrido *Nutri-UAT* producto de dos líneas de maíz con el gene *opcao-2* mostró rendimientos de nueve toneladas por hectárea cuando se cultivó en condiciones óptimas y con densidades de población de 70 mil plantas por hectárea en otoño-invierno y bajo riego. El grano de este maíz poseía más lisina y triptófano en la proteína y era ideal para elaborar tortillas blancas y de textura adecuada (Cervantes y colaboradores, 2007).

Cuadro 2. Características químicas del grano de maíces de Nutri-UAT C y de sus progenitores

Maíz	Aceite# (%)	Proteína ^s (%) Endospermo	Lisina ^{&}		Triptófano ^{&}	
			Endospermo	Grano	Endospermo	Grano
Progenitor macho	4.3	10.3	0.315	0.409	0.060	0.106
Progenitor hembra	4.8	10.3	0.306	0.421	0.065	0.112
Nutri-UAT	5.5	10.5	0.299	0.429	0.066	0.119
Maíz normal	--	--	0.209	--	0.031	--
DMS**	1.21	0.99	0.013	0.017	0.004	0.004

Fuente: elaboración propia. #En grano entero, libre de humedad. ^sNX6.25; informados en muestras libres de grasa y humedad. [&]mg de aa/100 mg de muestra libre de grasa y humedad. **DMS= Diferencia Mínima Significativa.

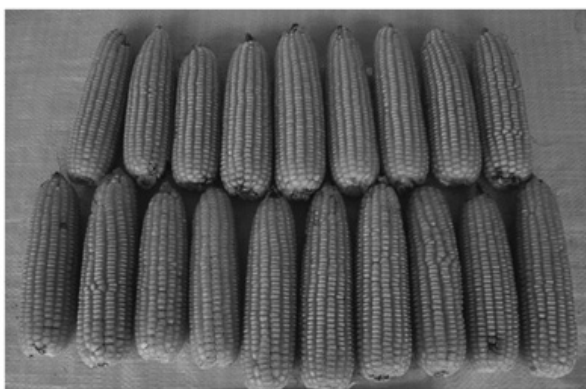
Figura 3. Nutri-UAT, híbrido de maíz tropical



Fuente: fotografía del autor.

El híbrido de maíz tropical de alta calidad de proteína resistente al acame y enfermedades, apto para grano, elote y forraje. Fue adaptado al sur de Tamaulipas y región de las Huastecas.

Figura 4. Nutri-UAT maíz blanco



Fuente: fotografía del autor.

El maíz blanco Nutri-UAT es opaco y resistente a enfermedades de mazorca con textura suave del grano y fortificado con alto contenido de lisina y triptofano.

Referencias

- Burgoon, K. G., J. A. Hansen, D. A. Knabe y A. J. Bockholt (1992), “Nutritional value of quality protein maize for starter and finisher swine”, *Journal Animal Science*, vol. 70(3), pp. 811-817.
- Cervantes Martínez J. E., M. G. Bustos Vazquez, M. A. García Delgado y H. Mata Vazquez (2011), *Nutri-UAT, híbrido de maíz tropical de alta calidad de proteína*, Ciencia-UAT (en preparación).
- Chávez, A. y M. M. Chávez (2004), *La tortilla de alto valor nutritivo*, Mc Graw Hill, México, D. F. p. 110.
- FAO (1992), “El maíz en la nutrición humana. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)”, *Colección FAO Alimentación y Nutrición*, núm. 25. Italia, p. 160.
- FAOSTAT (2011), disponible en www.fao.org; consultado el 15 Abril de 2011.
- Knabe D. A., J. S. Sullivan, K. G. Burgoon, A. J. Bockholt and E. T. Mertz (1992), *QPM as a swine feed. American Association of Cereal Chemists USA*, pp. 225-238.
- Mertz, E. T. (1992), *Quality Protein Maize. American Association of Cereal Chemists*, pp. 294.
- Ortega, A. M. C., R. A. J. Coulson, A. L. I. Ordoñez y H. Pachón (2008), “Efectos de la ingesta de maíz de alta calidad de proteína (QPM) versus maíz convencional en el crecimiento y la morbilidad de niños nicaragüenses desnutridos de 1 a 5 años de edad”, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, vol. 58(4), pp. 377-385.
- Pérez, C. J. P., H. A. Ramirez, G. G. Zacatenco, S. F. Romero, G M. Morales, Vázquez C G, C. V. Cabrera y G. C. Zaquera (2006), *Impacto del maíz de alta calidad de proteína (ACP) en la nutrición humana y animal en Hidalgo. Memoria técnica de Investigación y desarrollo tecnológico en el Campo Experimental Pachuca*, CIR-CENTRO-INIFAP, pp. 71-87.
- Ruskin, F. R. (1988), *Quality-Protein Maize. Report of an Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovation Board on Science and Technology for International Depeloment National Research Council. In: Cooperation with the Board on Agriculture National Research Council. National Academy Press, USA*, pp. 18-57.
- Sallah, P. Y. K., K. Obeng-Antwi, E. A. Asiedu, M. B. Ewool and B. D. Dzah (2002), *Recent advances in the development and promotion of quality protein maize in Ghana*, Crops Research Institute, pp. 410-424.

- Serna-Saldivar, S. O., C. A. Amaya-Guerra, P. Herrera-Macias, J. L. Melesio-Cuellar, R. E. Preciado-Ortiz, A. D. Terron-Ibarra and G. Vazquez-Carrillo (2008), "Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico", *Plant Foods Hum Nutr*, vol. 63, pp. 119-125.
- Serna-Saldivar, S. O. y L. W. Rooney (1994), "Quality protein maize processing and perspectives for industrial utilization", en B. A. Larkins y E. T. Mertz (eds), *Quality Protein Maize 1964-1994*, EMBRAPA/cnpms, Brasil, pp. 89-120.
- Sierra-Macias, M., A. Palafox-Caballero, M. G. Vázquez-Carrillo, F. Rodríguez-Montalvo y A. Espinosa-Calderón (2010), "Caracterización agronómica, calidad industrial y nutricional de maíz para el trópico mexicano. Agronomía Mesoamericana", vol. 21(1), pp. 21-29.
- Tsai, C. Y., H. L. Warren, D. M. Haben and R. A. Bressani (1983), "Interaction between the kernel N sink, grain yield and protein nutritional quality of maize", *Journal Science Food Agriculture*, vol. 34, pp. 255-263.
- Vasal, K., S. (2001), "High Quality Protein Corn", en A. R. Hallauer (ed), *Specialty Corns*, CRC Press USA, pp. 85-129.
- Vázquez, C. M. G., G. M. Morales y P. E. Rendón, (2004), "Tortillas elaboradas con maíz de alta calidad proteínica", *Folleto técnico Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, núm. 18, p. 20.
- Villegas-Moreno, E. (1994), "Factors limiting quality protein maize (QPM) development and utilization", en B. A. Larkins y E. T. Mertz (eds), *Quality Protein Maize 1964-1994*, EMBRAPA/CNPMS, Brasil, pp. 79-88.

Compuestos bioactivos en los alimentos

*Miguel Aguilera Ortíz, Patricia Ramírez Baca,
María Guadalupe Candelas Cadillo,
Jorge Armando Meza Velázquez,
Juan Ramón Esparza Rivera*

Resumen

Desde hace algún tiempo se ha sabido que las dietas ricas en alimentos de origen vegetal han proporcionado, además de los macro y micronutrientes esenciales, algunos compuestos químicos que han ejercido una alta actividad biológica. Estos compuestos han sido llamados compuestos bioactivos y pudieron desempeñar diversos papeles en beneficio de la salud humana. En este sentido, varios estudios que abordaron principalmente el consumo de frutas y verduras han mostrado resultados interesantes, indicando que esos alimentos fueron capaces de ejercer una influencia positiva en la reducción del riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles, como las cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer, disturbios metabólicos, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades inflamatorias. Esta posibilidad de reducción del riesgo de enfermedades a través de la dieta ha llamado la atención de la comunidad científica y de las industrias alimenticias con el objetivo común de desarrollar los actualmente conocidos alimentos funcionales o alimentos ricos en uno o más compuestos bioactivos que han presentado efectos positivos en la salud. Los compuestos bioactivos variaron extensamente en su estructura química y, consecuentemente, en su función biológica. Las sustancias consideradas como bioactivas han sido nutrientes como la vitamina C, vitamina E, β -caroteno, ácido fólico, calcio y niacina o no nutrientes, incluyendo diferentes tipos de compuestos

químicos presentes en frutas y hortalizas. Entre los más investigados también se encontraron: fibras, compuestos fenólicos, terpenoides, carotenoides, minerales como el selenio, el calcio y los isotiocianatos aromáticos.

Palabras clave: frutas, verduras, compuestos bioactivos.

Introducción

Cuando hablamos de calidad nutritiva de los alimentos, tenemos que recordar que entre los nutrientes que nos han proporcionado, existen los denominados macronutrientes y los micronutrientes. Los primeros se requieren en mayor proporción: proteínas, carbohidratos y lípidos. Entre los segundos se incluyen otros componentes que se necesitan en menor cantidad, aunque son fundamentales para el organismo, por intervenir en los más variados procesos: vitaminas y los elementos minerales, ácidos grasos y aminoácidos esenciales. En la actualidad, como hemos mencionado se ha dado gran importancia a compuestos bioactivos denominados fitoquímicos en los vegetales (Cámara y colaboradores, 2012). Los alimentos además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias que pueden ser protectores contra enfermedades crónicas, a los que genéricamente se han denominado como fitoprotectores, compuestos bioactivos o fitoquímicos. Son compuestos químicos que ejercen un efecto beneficioso para alguna función corporal del individuo, produciendo una mejora en su salud y bienestar o reduciendo un riesgo de enfermedad. Se trata de constituyentes extranutricionales presentes normalmente en pequeñas cantidades en los alimentos, que tienen una actividad biológica dentro del organismo. Estos compuestos con capacidad biológica, se encuentran abundantemente en frutas, verduras y en productos lácteos obtenidos por fermentación ácido láctica. Una amplia variedad de vegetales son altamente apreciados por su potencial terapéutico atribuido al contenido de compuestos conocidos como componentes bioactivos. Estos compuestos son sustancias orgánicas provenientes del reino vegetal y generalmente de baja masa molecular, no son sintetizados por los humanos y presentan una acción protectora en la salud humana cuando se encuentran en la dieta en cantidades significativas (Dragone, 2011). Los alimentos de origen vegetal, en especial las frutas presentes en la dieta, de acuerdo a estudios epidemiológicos realizados, pudieron ejercer un efecto protector contra algunas enfermedades degenerativas como el cáncer y trastornos cardiovasculares, de tal manera que el consumo de éstas puede ser una estrategia para la prevención. Tales efectos protectores se atribuyeron a la presencia de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante como los polifenoles que incluyen a las antocianinas, proantocianinas, flavononas y flavoles (Padilla y colaboradores,

2008; Reyes-Carmona y colaboradores, 2005). En general, se ha dado gran importancia a los vegetales de hoja verde (verduras, a veces poco conocidas) por su interés nutricional. Estas hojas verdes se caracterizan por un alto contenido de β -caroteno, hierro y ácido fólico. En algunos casos tienen propiedades fisiológicas importantes, lo que ha dado lugar a que se consideraran sustancias bioactivas y se denominaran fitoquímicos cuando se trató de compuestos de origen vegetal. Entre ellos, destacaron algunos carotenoides, como el licopeno, pigmento de color rojo que se encuentra principalmente en el tomate y se ha considerado factor preventivo del cáncer de próstata o las xantofilas, especialmente la luteína, en vegetales de hoja verde y cuyo papel en la visión está actualmente comprobado (Cámara y colaboradores, 2012).

Compuestos fenólicos

Recientemente la funcionalidad fisiológica de los productos alimenticios está siendo intensamente analizada, específicamente los efectos del consumo de compuestos fitoquímicos presentes naturalmente en frutas, vegetales, cereales y especias (Azuma y colaboradores, 1999). Numerosas encuestas han demostrado una inversa correlación entre el consumo de ciertos tipos de alimentos y la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Rice-Evans y colaboradores, 1997), y algunos tipos de cáncer, como el pancreático, de esófago y de estómago (Franceschi y colaboradores, 1994). Dichos efectos benéficos en la salud han sido atribuidos a la presencia en esos productos de compuestos polifenólicos, vitaminas C y E, carotenoides y flavonoides (Rice-Evans y colaboradores, 1997).

Un compuesto fenólico o polifenol ha podido ser definido químicamente como una sustancia que posee un anillo aromático con uno o más hidroxilos sustituyentes, incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil éter, glucósidos) (CSIC, 2007) e incluyeron a los fenoles simples y ácidos fenólicos, así como derivados de ácido hidroxicinámico y flavonoides (Karakaya, 2004). Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxilos, incluyendo derivados funcionales como ésteres, metil ésteres y glicósidos (Almeida y Nogueira, 1995). En el cuadro 1 se enlistó la mayor parte de los grupos fenólicos en función del número de átomos de carbono que formaron su esqueleto básico.

La mayoría de los compuestos fenólicos tienen dos o más grupos hidroxilo, y son sustancias bioactivas producidas ampliamente por plantas que son regularmente consumidas en la dieta. En las plantas se presentan en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua

y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos (García y colaboradores, 2002; Kuskoski, 2004). Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Padilla, 2008; Cabrera, 2009). Los fenólicos también contribuyeron a los atributos sensoriales de estos productos, como sabor y color (Donovan y colaboradores, 1998) y prácticamente estaban presentes en cada parte de las plantas: ramas, raíces, hojas, flores, semillas, cáscaras, frutos, etc. (Kahkonen y colaboradores, 1999).

La composición de fenólicos en los alimentos vegetales fue determinada por la variedad de la fruta y factores que afectaron al desarrollo de esta, como la localización geográfica, el clima y el suelo (Lovino, 2006). La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (García y colaboradores, 2002). Aunque existe una gran variedad de compuestos fenólicos en las plantas (más de ocho mil), la mayor parte de éstos tienen como origen metabólico común la ruta del ácido shiquímico y el metabolismo de los fenilpropanoides (Taiz y Zeiger, 2006). Los fenilpropanoides simples poseen un esqueleto básico de nueve carbonos (C6-C3) y derivaron de los aminoácidos fenilalanina y tirosina producidos en la ruta del ácido shiquímico. Los flavonoides son los fenoles más abundantes, aunque existe también un número considerable de quinonas, lignanos, xantonas y cumarinas acompañados de fenoles monocíclicos simples. Estas estructuras cuentan una gran actividad biológica por su facilidad para ser absorbidas. Esta diversidad estructural se debe a la gran variedad de modificaciones en regiones específicas, que incluyeron hidroxilaciones, glicosilaciones, acilaciones, sulfataciones o metilaciones (Romero, 2008; Barquera y colaboradores, 2008).

Algunas de las supuestas propiedades de estos compuestos incluyen antimicrobiciadas, antiinflamatorias, anti mutagénicas, y quizás las más interesantes, como antioxidantes *in vivo* y anticarcinogénicas (Madhavi, 1995; Monagas, 2005; Vásquez, 2007). Los compuestos polifenólicos actúan como antioxidantes debido a su capacidad para donar electrones provenientes de sus grupos fenólicos, además de su potencial como agentes quelantes de metales, protegiendo de esta manera a las células en contra de reacciones con radicales libres inducidas por el cobre o el hierro (Rice-Evans y colaboradores, 1995). Los antioxidantes están clasificados de varias maneras, pero una de las clasificaciones más usadas dependía de su origen, pudiendo ser naturales (normalmente presentes en plantas, bacterias, algas y algunos animales) o sintéticos (producidos industrialmente). Desde su introducción al mercado algunos de los antioxidantes sintéticos han sido regularmente usados en la Industria Alimenticia, pero en recientes

años su uso ha sido severamente restringido debido a su potencial actividad como agentes pro cancerígenos (Velioglu y colaboradores, 1998). Por ejemplo, generalmente se añaden agentes antioxidantes a grasas y aceites o alimentos conteniendo grasas para prevenir la formación de varios compuestos de sabor que resultan de la oxidación de lípidos. Algunos de los antioxidantes sintéticos más ampliamente usados, como el BHA y BHT, tenían efectos insuperados en varios sistemas alimenticios además de su alta estabilidad, bajo costo y otras ventajas prácticas (Madhavi, 1995). Sin embargo, su uso en alimentos ha ido decayendo debido a su sospechosa acción como promotores de carcinogénesis debido al rechazo de los aditivos sintéticos para alimento (Madhavi, 1995; Vásquez y colaboradores, 2007).

Cuadro 1. Clases de compuestos fenólicos mayoritarios en plantas (Almaeida y Nogueira, 1995)

<i>Núm. de átomos de C</i>	<i>Esqueleto básico</i>	<i>Clase</i>
6	C6	Fenoles simples, benzoquinonas
7	C6-C1	Ácidos fenólicos
8	C6-C2	Acetofenonas, ácidos fenilacéticos
9	C6-C3	Ácidos hidroxicinámicos, fenilpropanos, Cumarinas, Isocumarinas, Cromonas
10	C6-C4	Naftoquinonas
13	C6-C1-C6	Xantonas
14	C6-C2-C6	Estilbenos, antroquinonas
15	C6-C3-C6	Flavonoides, isoflavonoides
18	(C6-C3) ₂	Lignanós, neolignanós
30	(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoides
N	(C6-C3) _n	Ligninas
	(C6) _n	Catecol melaninas
	(C6-C3-C6) _n	Taninos condensados

Fuente: elaboración propia.

Así pues, han existido un interés mundial en encontrar nuevos y más seguros compuestos antioxidantes ya sea para su uso como agentes conservadores en la industria alimenticia, o para utilizarlos como ingredientes nutracéuticos en la formulación de productos alimenticios promotores de efectos benéficos en la salud (Vásquez y colaboradores, 2007; Kaur y colaboradores, 2007).

Algunos compuestos como los fenólicos, tocoferoles, tocotrienoles y flavonoides presentaron una alta capacidad de capturar radicales, por lo que en muchas ocasiones resultó de gran utilidad su evaluación. Generalmente el contenido total de fenoles de los productos vegetales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Truong y colaboradores, 2007; Vásquez y colaboradores, 2007).

Carotenoides

Los pigmentos carotenoides proveen a las frutas y flores de sus colores rojo, naranja y amarillo, así como de diversos aromas, lo que los hizo comercialmente importantes en la agricultura, industria de alimentos e industria cosmética (Cuttriss y colaboradores, 2006).

Los carotenoides han sido nutrientes esenciales en la dieta humana. Se requieren para la visión, actúan como antioxidantes y como secuestradores de radicales libres (Sander y colaboradores, 2000). Se les atribuyeron funciones que promovieron la salud como inhibición del cáncer, prevención de enfermedades cardiovasculares, disminución del riesgo de formación de cataratas, prevención de degeneración muscular, mejoramiento del sistema inmune y actividad como provitamina A (Sharma y colaboradores, 2011).

Van Bremen (1996) mencionó que los carotenoides son sintetizados en microorganismos fotosintéticos y plantas, pero no en animales que deben consumir otros organismos para obtener estas sustancias. En este sentido, se pudieron adicionar a los embutidos para realzar el color, el sabor y en general la calidad sensorial. Además, estos compuestos fueron estables durante el procesamiento cuando se añadieron a tales alimentos (Sachindra y Mahendrakar, 2010).

La mayoría son polienos de 40 carbonos y todos se derivan del fitoeno. Su estructura es lineal o contiene grupos cíclicos al final de la cadena. Estos últimos generalmente son anillos β -iononas de β -caroteno y sus derivados (Cuttriss y colaboradores, 2006).

La cadena poliénica es la causa de la inestabilidad de los carotenoides incluyendo su susceptibilidad a la oxidación (combinación con oxígeno) e isomerización geométrica (cambio de la geometría del enlace doble). El calor, la luz y los ácidos promueven la isomerización de los carotenoides *trans* -su configuración habitual en la naturaleza- a la forma *cis*. La oxidación, la causa principal de las pérdidas de carotenoides, depende del oxígeno disponible, los carotenoides involucrados y su condición física. La luz, calor, metales, enzimas y peróxidos estimulan la oxidación que es inhibida por los antioxidantes como tocoferoles (vitamina E) y ácido ascórbico (vitamina C).

Estos pigmentos fueron mucho más lábiles cuando las células del alimento se deterioraron durante el cortado o la obtención de pulpa, y fueron aún más frágiles cuando se extrajeron o disolvieron en solventes orgánicos (Mercadante, 2008). Por

lo anterior, fue recomendable conocer la retención de carotenoides en diferentes métodos de procesamiento, validando así las técnicas para obtener productos alimenticios de más alta calidad nutricional (Vimala y colaboradores, 2011).

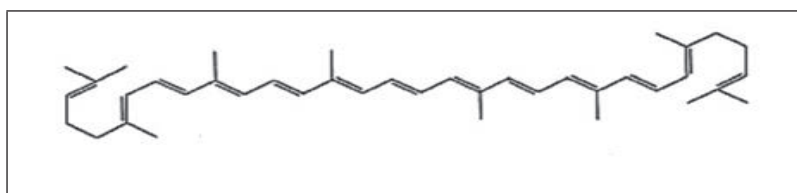
Los carotenoides generalmente tienen una estructura alifática o alifática acíclica que consiste en 8 isoprenoides y se clasifican en dos grupos. Los carotenoides no oxigenados se denominaron carotenos, mientras que los derivados oxigenados se designaron como xantofilas (Cuttriss y colaboradores, 2006). Los carotenos más frecuentes son el b-caroteno y el licopeno, que se encontraron almacenados en los cromoplastos de las flores y de algunas frutas y ejemplos de xantofilas son luteína, zeaxantina y violaxantina (Kim y colaboradores, 2010).

Los carotenos, incluyen a, b, y e-caroteno, poseen actividad como vitamina A, de ellos el b caroteno es el más activo. Éstos, conjuntamente con el g-caroteno, el licopeno y la luteína, que no tienen actividad como vitamina A, parecían ofrecer protección contra el cáncer de los pulmones, colorectal, de las glándulas mamarias, del útero y de la próstata. Los carotenos tenían un efecto favorable para el sistema inmunológico y protegían la piel contra la radiación ultravioleta (Vasconcellos, 2000).

β-caroteno

El β-caroteno tiene aplicaciones en las industrias de alimentos, cosmética y farmacéutica como colorante, antioxidante y agente anticancerígeno (Zhu y Jian, 2008).

Figura 1. Estructura de *all trans* β-caroteno (Rao y Rao, 2007)



Fuente: elaboración propia.

El β-caroteno está presente en vegetales diversos distribuidos por todo el planeta. Las hojas verdes y las zanahorias representan las fuentes más importantes de b-caroteno en la dieta, debido a que están disponibles en todo el mundo durante todo el año (Mercadante, 2008). Para cuantificarlo se utilizan soluciones de

diferentes concentraciones del estándar de b-caroteno con acetona pura y se analizan a una longitud de onda de 450 - 453 nm (Zhu y Jian, 2008).

Mercadante (2008) mencionó que se analizaron 19 diferentes cultivares de zanahoria y encontraron que el contenido de b-caroteno varió entre 46 a 103 $\mu\text{g/g}$ y el de a-caroteno desde 22 hasta 49 $\mu\text{g/g}$.

Gupta y Prakash (2009), estudiaron vegetales de hoja verde de la india y encontraron 34.78–64.51 mg/100g de carotenos totales y 4.23–8.84 mg/100 g. de β -caroteno. Kim y colaboradores (2010), demostraron que el β -caroteno aislado fue relativamente estable al calor, permaneciendo viables el 80% de las moléculas a 80 °C. Las pérdidas de β -caroteno iniciaron a los 40 °C, y fueron significativas hasta los 60 °C.

El contenido de β -caroteno en los vegetales que se someten a procesamiento disminuyó. Por ejemplo, de acuerdo con Sharma y colaboradores (2011), las zanahorias frescas contienen 39.6 ± 0.81 mg de β -caroteno/100g; las rodajas deshidratadas, 24.7 ± 0.73 (37% de pérdidas); las tiras deshidratadas, 22.5 ± 0.68 (43% de pérdidas) y el polvo de zanahoria, 23.9 ± 0.24 (40% de pérdidas). La menor retención de carotenoides totales (63%-73%) y de β -caroteno (63%-73%) se registró en el secado solar.

Vimata y colaboradores (2011), encontraron que en el camote, el intervalo de retención de carotenoides varió con el método de procesamiento. La retención más alta se observó en el horneado (del 90–91% de carotenoides totales y del 89%-96% de β -caroteno), seguido por la ebullición (del 85%-90% de carotenoides totales y del 84%-90% de β -caroteno) y por el freído (del 77%-85% de carotenoides totales y del 72%-86% de β -caroteno).

En contraparte, el β -caroteno de la pulpa de camote naranja procesada que significativamente más bioaccesible comparado con el camote crudo, disminuye la cantidad de *all-trans* β -caroteno e incrementa el 13-*cis*- β -caroteno (Tumuhimbise y colaboradores, 2009). Por otro lado, Gupta y Prakash (2009), encontraron correlación entre la actividad secuestrante de radicales libres con la concentración de carotenos totales ($r^2=0.87$) y de β -caroteno ($r^2=0.91$).

Cuando las zanahorias se deshidrataron o se congelaron, generalmente se sometieron a un proceso de escaldado. Se compararon cuatro tratamientos de escaldado: a temperatura alta y tiempo corto (TATC), 95 °C y 1 min. A temperatura baja y tiempo largo (TBTL), 63 °C y 30 minutos. Un control (25 °C, 10 min) y un testigo (sin escaldar). Se encontró que había mayor retención de carotenos totales en las zanahorias con el tratamiento TBTL, aunque la cromaticidad y el tono disminuyó en los tratamientos escaldados, lo que sugirió que ocurrió isomerización de *trans*- β caroteno a otras formas menos coloreadas. La pulpa de zanahoria contiene alrededor del 50% de los carotenoides y cantidades importantes de fibra, lo que la hizo rentable para utilizarse en el desarrollo de productos de valor agregado. También puede usarse

para suplementar como pan, pasteles y bísquets. Para explotar las propiedades antioxidantes y las fibras dietéticas de la pulpa de zanahoria, fue necesario desarrollar productos con el contenido óptimo de fitoquímicos sin sacrificar el gusto o conveniencia.

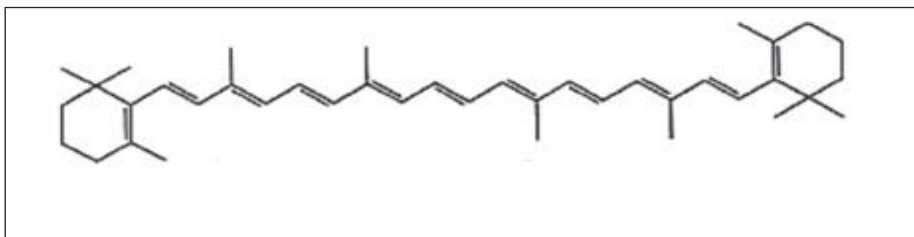
Licopeno

En el caso del licopeno, Vasconcellos (2000) mencionó que se encontraba presente en forma abundante en tomates, toronjas rojas, sandías y pimientos rojos. Es el carotenoide encontrado en más alta concentración en el plasma sérico humano.

Es el caroteno predominante en tomate y representa del 65 al 98% del contenido total de carotenoides. En sandía, 87 y 98 por ciento. En diferentes cultivares de papaya, entre 56 y 66% y en toronja roja del 24 al 58% (Mercadante, 2008).

El licopeno, tiene características estructurales y químicas únicas que pudieron contribuir a sus propiedades biológicas específicas. Es soluble en grasas y lípidos y es de color rojo. Es un carotenoide acíclico con 11 enlaces dobles conjugados arreglados linealmente y se encuentra en relativamente pocos alimentos (figura 2).

Figura 2. Estructura del *all trans* Licopeno (Rao y Rao, 2007)



Fuente: elaboración propia.

Diversos autores reportaron el contenido de licopeno en tomates frescos. Clinton (1998) mencionó que las concentraciones de licopeno en las cepas muy rojas se aproximaron a 50 mg/kg comparados con sólo 5 mg/kg en las variedades amarillas. La concentración de licopeno encontrado por Ré y colaboradores (2002), en una variedad de tomate mediterráneo fue de 99.4 ± 9 mg/kg de peso seco en el fruto fresco, equivalente a 7 mg/kg de peso fresco.

Martínez-Valverde y colaboradores (2002), analizaron nueve variedades comerciales de tomate producidos en España y encontraron que las concentraciones estuvieron

entre 50 y 30 mg/kg, con excepción de la variedad Liso con menos de 20 mg/kg. Arias y colaboradores (2000), encontraron para la etapa ligeramente rojo 4.95 mg/100g de licopeno; para la etapa de maduración rojo intenso firme, 12.2 mg/100g; y para la etapa rojo intenso suave, el promedio fue 11.996 mg/100g.

Bicanic y colaboradores (2010), observaron que las mejores correlaciones lineales para la concentración de *trans*-licopeno en el rango de 10-40 $\mu\text{g/g}$ de peso fresco, fueron con el parámetro de color a^* , C^* (cromaticidad) y C^{*2} .

Lee y Chen (2002), mencionaron que cuando el licopeno era expuesto a 100 y 150 $^{\circ}\text{C}$, la degradación ocurrió más rápido que la isomerización. Mientras que, cuando se expuso a la luz, la isomerización fue la principal reacción.

Anguelova y Warthesen (2000) han sugerido que la primera etapa de la degradación del licopeno durante el secado y el almacenamiento de polvo de tomate es la isomerización reversible de licopeno *all-trans* a *cis* isómeros menos coloreados y más oxidables. La autooxidación del *all-trans* licopeno y los *cis* isómeros ocurrieron paralelamente a la *tran-cis* isomerización, causando una división de la molécula de licopeno en fragmentos más pequeños como aldehídos y cetonas volátiles desarrollando sabores. En productos procesados de tomate, la isomerización y autooxidación causan una disminución del contenido de licopeno, una reducción en la proporción de licopeno *all-trans*, pérdida de color y formación de sabores desagradables.

De acuerdo con Shi y Le Maguer (2000) en general, los tomates deshidratados y en polvo tenían una pobre estabilidad del licopeno a menos que hubieran sido cuidadosamente procesados, colocados apropiadamente en almacenamiento en atmósfera inerte y sellados herméticamente. En muestras de tomate deshidratado usando diferentes métodos, detectaron incrementos significativos en los *cis* isómeros con una reducción simultánea en los *all-trans* isómeros.

Se hizo un estudio sobre la estabilidad del licopeno en jugo de tomate deshidratado por aspersión con diferentes parámetros de operación, como temperatura del aire de entrada y porcentaje de maltodextrina 10 DE con base a sólidos solubles de tomate: 170 $^{\circ}\text{C}$ y 80%, 170 $^{\circ}\text{C}$ y 100%, 180 $^{\circ}\text{C}$ y 80%, 180 $^{\circ}\text{C}$ y 100%. La concentración de licopeno en el tomate fresco fue 917.6 $\mu\text{g/g}$ sólidos (± 140.9), y el tratamiento con mayor retención fue el de 180 $^{\circ}\text{C}$ y 100% de maltodextrina (77%) y el de menor retención fue el de 180 $^{\circ}\text{C}$ y 80% de maltodextrina (28%).

Es necesario seguir haciendo investigación sobre el efecto de los diferentes procesos en los componentes bioactivos de los alimentos considerados como funcionales, en este caso b-caroteno y licopeno. Lo anterior permitirá que la industria alimentaria ofrezca a los consumidores alimentos procesados confiables, nutritivos y con mejores beneficios para su salud.

Los ácidos poliinsaturados (PUFA)

Durante la década de 1980, la idea de la interdependencia entre nutrición y salud dio origen al concepto de “alimentos funcionales” o “nutracéuticos” que se definen como: cualquier alimento o ingrediente que tiene un efecto positivo en la salud de un individuo, rendimiento físico o estado mental, además de su valor nutricional (Cortes y colaboradores, 2005).

Los ácidos poliinsaturados (PUFA) forman parte de la familia de los lípidos que incluye subgrupos identificados en su estructura por la posición de su última doble ligadura como los ácidos PUFA *n*-3, ácido alfa linolénico (ALA), eicosapentanoico (EPA), docosahexaenoico (DHA), y los *n*-6 como el ácido linoléico (LA) y el arachidónico (AA) (Zuliani y colaboradores, 2009). Particularmente, los ácidos ALA, EPA y DHA aportaron muchos beneficios a la salud humana, ya que han jugado un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer de colon y enfermedades inmunológicas, y han sido de vital importancia en el desarrollo del cerebro y la retina (Yashodhara y colaboradores, 2009). Investigaciones recientes muestran una importante disminución sobre los niveles de triglicéridos llegando a ser hasta del 50% en pacientes hipertriglicéridémicos. Parece ser que este último efecto estaba relacionado con la inhibición de la hormona-sensitiva lipasa, la secreción del VLDL, incremento de la degradación *apoB* e incremento en la actividad de la lipasa.

Una buena fuente natural de estos ácidos grasos han sido los pescados y mariscos, especialmente los pescados grasos (Calder y Yaqoob, 2009), crustáceos y moluscos (Yashodhara y colaboradores, 2009). Un punto de enorme interés en la industria de los productos lácteos se encuentra en su grasa, propiamente debido al interés por la función de uno de sus componentes: el ácido linoléico conjugado (CLA por sus siglas en inglés) y su relación con la salud humana proveniente de la acumulación de evidencias en estudios animales. Expertos en producción pecuaria están enfocando su atención al enriquecimiento, con ácidos grasos W-3, de productos como huevo, leche y carne, con el fin de hacer llegar a la mayor parte de la población los beneficios de estos nutrimentos.

Ácido linoléico conjugado

El descubrimiento de CLA como un “alimento funcional” ocurrió hace más de tres décadas, cuando investigadores encontraron en la carne un factor anti-mutagénico que consistía en una serie de isómeros conjugados del ácido linoléico (Park y Pariza, 2007). Luego, varios estudios demostraron que el CLA sintetizado químicamente podía reducir

la incidencia de varios tipos de tumores en modelos animales. Mientras el CLA se estudiaba biomédicamente, se evidenció que éste presentaba una gama de efectos positivos en la salud de animales experimentales. Estos efectos beneficiosos incluían: la reducción en el aumento de las grasas corporales, retraso en el inicio de la diabetes tipo II, retardo en el desarrollo de la arterosclerosis, mejoramiento de la mineralización de los huesos y modulación del sistema inmune (Park y Pariza, 2007), lo que, ha dado lugar a un aumento exponencial en la investigación de CLA en los últimos años.

El CLA es un ácido graso natural producido en el rumen por bacterias fermentativas del tipo *Butyrovibrio fibrisolvens*, que isomeriza al ácido linoléico a CLA, se forma en el primer estómago de los rumiantes producto de un compuesto intermedio de la biohidrogenación dietética de los ácidos grasos insaturados por las bacterias del rumen, aunque otra fuente de CLA en rumiantes es su síntesis vía la Δ -9-desaturasa de *trans*-11 ácido octadecadienoico (Tricon y colaboradores, 2004). Las grasas animales son fuente natural rica en CLA (Lin, 2006) y prácticamente todo que contiene la leche y el queso se encuentra esterificado en triacilglicéridos variando su cantidad considerablemente debido a diferentes factores, encontrándose predominantemente en alimentos provenientes de animales rumiantes, como yogurt, leche y queso o en carne de vacuno y de oveja (Dongyan y colaboradores, 2004).

El CLA es una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoléico (Ω -6 ácido linoléico *cis*-9, *cis*-12, octadecadienoico) que contienen un sistema de doble ligadura (Sailas y Spener, 2009) siendo el isómero *cis*-9, *trans*-11 octadecadienoico, el más activo e importante del CLA, al que se le denomina “ácido ruminal” (Moon y colaboradores, 2008).

Los beneficios nutricionales asociados con el consumo de CLA demostrados *in vitro* y en modelos animales incluyen propiedades como agente antiateroesclerosis, anticarcinógeno, modulador del sistema inmune, agente antidiabético, ayuda a la mineralización del hueso, y como facilitador de masa corporal magra (Huang y colaboradores, 2008). También se tienen reportes de que actúa como agente antimicrobial y existen datos que le atribuyen una importante actividad en la disminución del colesterol, además de favorecer el crecimiento. El CLA normaliza los problemas de tolerancia a la glucosa, y previene la hiperinsulinaemia y baja las concentraciones de ácidos grasos libres en plasma (Silva-Hernández y colaboradores, 2007). Los resultados en pruebas con seres humanos demuestran que el CLA es efectivo en la reducción de masa grasa (Whigham y colaboradores, 2007) lo que resulta atractivo, debido a los marcados incrementos en la obesidad en sociedades desarrolladas. Se han reconocido efectos positivos en humanos debidos, además del CLA al ácido transvaccénico (TVA) y a los ácidos *omega*-3. Los ácidos *omega* 3 también tienen una función en la prevención de ciertas enfermedades cardiovasculares (Huang y colaboradores, 2008).

Contenido de CLA en alimentos

El contenido de CLA en productos animales es mucho más alto que en aceites vegetales, y entre los productos animales, el contenido de CLA generalmente se encuentra en cantidades más altas en tejidos de rumiantes que en el de no rumiantes, y los productos lácteos se distinguen como fuentes importantes de CLA, localizándose en sus tejidos grasos.

CLA en derivados lácteos

El contenido de CLA en la mayoría de los productos lácteos varía de 2.5-7.0 mg/g de grasa. En productos como helados sin grasa y el yogurt sin grasa los valores de éste ácido son relativamente bajos (0.6 y 1.7 mg/g de grasa respectivamente). También se han llegado a reportar de hasta de 30 mg/g de grasa. Esta variabilidad parece depender de las condiciones de proceso y del estado de maduración de los productos, de hecho, existe una relación positiva entre la maduración del queso y el contenido de CLA y, en general, el queso procesado contiene más CLA (Cannella y Giusti, 2000), aunque la concentración de CLA en leche puede incrementarse al variar el nivel y fuentes de grasas insaturadas en la dieta de la vaca (Chichlowski y colaboradores, 2005) y en leche de oveja se reporta que la incorporación de semilla de linaza tiende a mejorar tanto el desarrollo del animal como la calidad nutricional de los lípidos, sin cambios aparentes en su aceptación por el consumidor (Gómez-Cortés y colaboradores, 2009).

La producción de leche de cabra y de oveja es de importancia económica en diversos países, especialmente los de la región del Mediterráneo, donde esta leche es utilizada en la producción de muchos quesos finos. En algunas ocasiones, la leche de cabra se utiliza como sustituto de la de vaca en alimentos infantiles y en leches para personas con problemas alérgicos a la leche de vaca o con problemas del orden digestivo. La leche de cabra de las regiones alpinas de Canadá llegan a tener contenidos de CLA de 10.5 mg/g de grasa. En Australia, cabras Saanen produjeron leche con un contenido de 5.8 mg/g de grasa. En Alemania, el contenido de CLA en cabras en pastoreo llega a 6.5 mg/g de grasa (Parodi, 2003).

CLA en carne y productos derivados de la carne

Las investigaciones sugieren que las dietas a base de pastizales incrementan significativamente la composición de ácidos grasos y del contenido de antioxidantes en

carne, favoreciendo particularmente el contenido de CLA, aunque el consumidor deberá estar consciente de que este tipo de alimentación y de las diferencias en el contenido de ácidos grasos le proporcionan un sabor y apariencia más amarilla, debido también al elevado contenido de carotenos (Daley y colaboradores, 2010).

CLA en aceites vegetales

Aunque existe un amplio número de ácidos grasos con ligaduras insaturadas conjugadas en aceites de semillas, el CLA no se encuentra presente. Se pueden formar pequeñas cantidades como resultado del calentamiento, blanqueo, deodorización y durante el proceso de refinación. Los contenidos de CLA en aceites de coco, girasol, cacahuete, canola, maíz, olivo, y azafrán varían de 0.1 mg/g de grasa en el primero y de 0.7 mg/g de grasa en el último (Parodi, 2003). En mantecas y margarinas, la hidrogenación parcial del aceite vegetal para su producción puede producir CLA: en mantecas, el contenido encontrado en aceite procesado de soya varía de 3 a 6 mg/ de grasa, en margarinas de 3 a 8 mg/g de grasa.

CLA en leche materna

Este tipo de alimentos produce un crecimiento óptimo durante el primer año de vida y puede ayudar a prevenir las enfermedades posteriores y el CLA puede tener una función importante en esta dieta. El contenido de CLA en mujeres de Australia, Canadá, Alemania, y Estados Unidos varía según la región de donde provenga y se encuentra relacionado con el tipo de alimentación de las mujeres (Parodi, 2003). Estudios para observar la cinética de la aparición de CLA en leche materna sugieren que los ácidos grasos en la leche se observan dentro de las 28 h posteriores a la ingesta de productos ricos en CLA (Moutsioulis y colaboradores, 2008).

Conclusiones

La alta prevalencia de enfermedades cardiovasculares a nivel mundial y el impacto que los alimentos tienen como agentes terapéuticos en el control de estas enfermedades, han motivado a los consumidores a exigir productos saludables, listos para consumo, libres de aditivos y seguros microbiológicamente y además, con alto potencial antioxidante. La tarea no es sólo para los industriales, sino para un grupo

interdisciplinario conformado por nutriólogos, médicos, tecnólogos en alimentos y expertos en mercadeo. Las tecnologías emergentes “suaves” particularmente las que involucran el procesamiento mínimo, no sólo deben asegurar que la calidad visual de los alimentos no sea alterada, sino que además se asegure su calidad nutricional y potencial antioxidante. La búsqueda y caracterización de componentes bioactivos de fuentes alimenticias incluidas en la dieta diaria, así como la investigación de sus propiedades farmacológicas son de crucial importancia en la industria de alimentos para el desarrollo racional de alimentos funcionales inocuos y efectivos para el tratamiento y/o prevención de enfermedades. El consumo de componentes bioactivos con propiedades antioxidantes presentes en alimentos incluidos en la dieta diaria, además de aportar nutrientes esenciales para el buen funcionamiento de nuestras actividades metabólicas, tiene un efecto benéfico en el mediano y largo plazo en la prevención de enfermedades coronarias, cáncer y de cambios hormonales ocurridos en la menopausia.

Referencias

- Almeida, N.E.M. and J. N. Nogueira (1995), “The Control of Polyphenol Oxidase Activity in Fruits and Vegetables. A Study of the Interactions Between the Chemical Compounds Used and Heat Treatment”, *Journal Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 47, pp. 245-256.
- Anguelova, T. and J. Warthesen (2000), “Lycopene Stability in Tomato Powders”, *Journal of Food Science*, vol. 65 (1), pp. 67-70.
- Arias, R., T. C. Lee, L. Logendra and H. Janes (2000), “Correlation of lycopene measured by HPLC with the L, a, b color reading of a hidroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content”, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 1697-1702.
- Azuma, K., M. Nakama, M. Koshioka, K. Ippoushu, and Y. Yamagushi (1999), “Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L.”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, pp. 3963-3966.
- Barquera, R. D. R., C. E. C. Narváez, and S. L. P. Restrepo (2008), *Evaluación del contenido de Vitamina C, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante en pulpa de guayaba (Psidium guajava L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. Memorias RED ALFA LAGROTECH. Comunidad Europea. Cartagena.*
- Bicanic D., D. Dimitrovski, S. Luterotti, K. Marković, C. van Twisk, J. G. Buijnsters and O. Dóka (2010), “Correlation of trans-Lycopene Measurements by the HPLC Method with the Optothermal and Photoacoustic Signals and the Color Readings

- of Fresh Tomato Homogenates”, *Food Biophysics*, vol. 5, pp. 24-33. doi: 10.1007/s11483-009-9140-9.
- Cabrera, S.M.L., M. Y. Salina, C. A. Velázquez, and T. E. Espinosa (2009), “Contenido de Fenoles Solubles e Insolubles en las Estructuras de Grano de Maíz y su Relación con Propiedades Físicas”, *Agrociencia*, vol. 43, pp. 827-839.
- Calder, P. C. and P. Yaqoob (2009), “Understanding Omega-3 polyunsaturated fatty acids”, *Postgraduate Medical Journal*. vol. 121: pp. 148-157.
- Cámara, H. M., M. M. C. Sánchez and I. M. E. Torija (2012), “Frutas y verduras, fuentes de salud”, *Nutrición y Salud*, pp. 3-79.
- Cannella, C. and A. M. Giusti (2000), “Conjugated linoleic acid- A natural anticarcinogenic substance from animal food. Review”, *Italian Journal of Food Science*, vol. 12, pp. 123-127.
- Chichlowski, M. W., J. W. Schroeder, C. S. Park, W. L. Keller and D. E. Schimek, (2005), “Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets”, *Journal of Dairy Science*, vol. 88, pp. 3084-3094.
- Clinton, S. K. (1998), “Lycopene: Chemistry, Biology and Implications for Human Health and Disease”, *Nutrition Reviews*, vol. 56 (2), pp. 35-51.
- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) (2007), “Compuestos Fenólicos en Alimentos”, disponible en www.csic.es
- Cortes, R. M., B. A. Chiralt and D. L. Puente (2005), “Functional foods: a history with a lot of present and future”, *Vitae*, vol. 12, pp. 5-14.
- Cuttriss, A. J., J. L. Mimica, C. A. Howitt and B. J. Pogson (2006), “Carotenoids”, In Wise R. R. and J. K. Hooper (eds.), *The Structure and Function of Plastids. Advances in Photosynthesis and Respiration*, vol. 23. doi: 10.1007/978-1-4020-4061-0.
- Daley, C. A., A. Abbott, P. S. Doyle, G. A. Naden, and S. Larson (2010), “A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef”, *Nutrition Journal*, vol. 9, pp. 1-12.
- Donovan, J. L., A. S. Meyer, and A. L. Waterhouse (1998), “Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46, pp. 1247-1252.
- Dragone, G. (2011), “Compuestos bioactivos”, *Indualimentos*, pp. 38-40.
- Franceschi, S., E. Bidoli and C. La Vecchia (1994), “Tomatoes and risk of digestive tract cancers”, *International Journal of Cancer*, vol. 59, pp. 181-184.
- García A. J., M. J. Periago, G. M. L. Vidal and E. Cansto (2002), “Evaluación de las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutas rojas”, *An Vet*, vol. 18, pp. 103-114.

- Gómez-Cortes, P., A. L. Bach, P. M. Juárez and M. A. De la Fuente (2009), “Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes”, *Journal of Dairy Science*, vol. 92: 4122-4134.
- Gupta S. and J. Prakash (2009), “Studies on Indian Green Leafy Vegetables for their Antioxidant Activity”, *Plants Foods Human Nutrition*, vol. 64, pp. 39-45. doi: 10.1007/s11130-008-0096-6.
- Huang, Y., B. Schoomaker, J. Bradford and D. C. Boltz (2008), “Response of milk fatty acid composition to dietary supplementation of soy oil, conjugated linoleic acid, or both”, *Journal of Dairy Science*, vol. 91, pp. 260-270.
- Kahkonen, M. P., A. I. Hopia, H. J. Vuorela and J. P. Rauha (1999), “Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds”, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 47, pp. 3954-3962.
- Karakaya, S. (2004), “Bioavailability Of Phenolic Compounds”, *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*, vol. 44, pp. 453-464.
- Kaur, C., K. Kumar and D. Anil (2007), “Variations in antioxidant activity in broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 31, pp. 621-638.
- Kim J. K., J. I. Kim, N. K. Lee, Y. T. Hahm, M. Y. Baik and B. Y. Kim (2010), “Extraction of β -Caroteno Produced from Yeast *Rhodospiridium* sp. and its Heat Stability”, *Food Science and Biotechnology*, vol. 19 (1), pp. 263-266, doi:10.1007/s10068-010-0038-6.
- Kuskoski, E. M., A. G. Asuero, P. M. C. García, A. M. Troncoso and R. Fett (2004), “Actividad Antioxidante de pigmentos antocianicos”, *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 24(4), pp. 691-693.
- Lee M. T. and B. H. Chen (2002), “Stability of Lycopene During Heating and Illumination in a Model System”, *Food Chemistry*, vol. 78 (4), pp. 425-432.
- Lin, T. Y. (2006), “Conjugated linoleic acid production by cells and enzyme extract of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* with additions of different fatty acids”, *Food Chemistry*, vol. 94, pp. 437-441.
- Lovino, R. B. A., S. Pati, M. Facia and G. Gambacorta (2006), “Phenolic Composition Of Red Grapes Grown In Southern Italy”, *Italian Journal of Food Science*, vol. 18, pp. 177-186.
- Madhavi, D. L. (1995), *Food Antioxidants Technological, Toxicological And Health*, New York, Dekker.
- Martínez-Valverde I., M. J. Periago, G. Provan and A. Chesson (2002), “Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in comercial varieties of tomato

- (*Lycopersicum esculentum*)”, *Journal of the Science of Food Agriculture*, vol. 82 (3), pp. 323-330.
- Mercadante A. Z. (2008), “Carotenoids in Foods: Sources and Stability during Processing and Storage”, In C. Socaciu (ed.), *Food Colorants. Chemical and Functional Properties*, CRC.
- Monagas, M. S. R., C. Gómez-Cordovés and B. Begoña (2005), “Simultaneous Determination Of Nonanthocyanin Phenolic Compounds In Red Wines By HPLC-Dad/Esi-Ms”, *Am Journal Enolic Vitic*, vol. 56, pp. 139-147.
- Moon, Hyun-Seuk, Lee, Hong-Gu, Chung, Chung-Soo, Choi, Yun-Jaie and Cho, Chong-Su (2008), “Physico-chemical modifications of conjugated linoleic acid for ruminal protection and oxidative stability”, *Nutrition and Metabolism*, vol. 5, p. 16.
- Moutsioulis, A. A., D. C. Rule, C. M. Murrieta, D. E. Bauman, A. L. Lock, D. M. Barbano and G. B. Carey (2008), “Human breast milk enrichment in conjugated linoleic acid after consumption of conjugated linoleic acid-rich food product: a pilot study”, *Nutrition Research*, vol. 28, pp. 437-442.
- Padilla, F. C., A. M. Rincón, and L. Bou-Rached (2008), “Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces”, *Archivos Latinoamericanos de nutrición*, vol. 58(3), pp. 303-308.
- Park, Y., and M. Pariza, (2007), “Mechanism for body modulation by conjugated linoleic acid (CLA)”, *Food Research International*, vol. 40, pp. 311-323.
- Parodi, P. W. (2003), “Conjugated linoleic acid in food”, *In Advances in conjugated linoleic acid research*, J. L. Sébédio, W. W. Christie y R. O. Adlof, Ill Champain, AOCS, vol. 2, pp. 101-122.
- Rao, A. V. and L. G. Rao (2007), “Carotenoids and human health”, *Pharmacological Research*, vol. 55, pp. 207-216.
- Ré R., P. M. Bramley and Rice-Evans (2002), “Effects of food processing on flavonoids and lycopene status in a Mediterranean tomato variety”, *Free Radical Research*, vol. 36 (7), pp. 803-810.
- Reyes-Carmona, J., G. Yousef, R. Martínez-Peniche, and M. Lila (2005), “Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions”, *Journal of Food Science*, vol. 7, pp. 497-453.
- Rice-Evans, C., N. J. Miller, P. G. Boldwell, P. M. Bramley and J. B. Pridham (1995), “The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids”, *Free Radical Research*, vol. 22 (4), pp. 375-383.
- Rice-Evans, C., N. J. Miller and G. Paganga (1997), “Antioxidant properties of phenolic compounds”, *Trends in Plant Science*, vol. 2(4), pp. 152-159.
- Romero, D. L. (2008), “Metabolismo de los fenilpropanoides y proteínas relacionadas con la patogénesis en el mecanismo de respuesta de uva de mesa (*Vitis vinífera*

- L. cv Cardinal) a elevadas concentraciones de CO₂ y bajas temperaturas”, *Memoria de Tesis Doctoral*, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, España.
- Sachindra N. M. and N. S. Mahendrakar (2010), “Stability of Carotenoids recovered from shrimp waste and their use as colorant in fish sausage”, *Journal and Food Science and Technology*, vol. 47 (1), pp. 77-83.
- Sailas, B. and F. Spener (2009), “Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits”, *Nutrition and Metabolism*, vol. 1 (36), pp. 1-13.
- Sander L. C., K. E. Sharpless and M. Pursch (2000), “C₃₀ Stationary phases for the analysis of food by liquid chromatography”, *Journal of Chromatography*, vol. 880, pp. 189-202.
- Sharma K. D., S. Karki, N. S. Thakur and S. Attri (2011), “Chemical composición, functional properties and processing of carrot—a review”, *Journal of Food Science and Technology*, doi: 10.1007/s13197-011-0310-7
- Shi J. and Le M. Maguer (2000), “Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing”, *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 20 (4), pp. 293-334.
- Silva-Hernández, E. M. M., M. M. Suárez-Jácome, R. G. Herrera-Lee, T. Nakano, L. Ozimek, and I. Verdalet-Guzmán (2007), “Alto contenido de ácido linoléico conjugado (CL[A] en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre riesgo trombo/aterogénico”, *Archivos. Latinoamericanos de Nutrición*, vol. 57 (2).
- Taiz, L. and E. Zeiger (2006), “Plant Physiology”, *Sinaver Associates Inc.*, disponible en <http://4e.plantphys.net/chapter.php?ch=13>; consultado en septiembre del 2010.
- Tricon, S., G. C. Burdge, S. Kew, T. Banerjee, J. J. Russell, E. L. Grimble, R. F. C. M. Williams, P. C. Yaqoob and Calder (2004), “Opposing effects of cis-9, trans-10, cis 12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans”, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 80, pp. 614-620.
- Truong, V. D., R. T. Thompson, L. L. Dean and B. Shofran (2007), “Phenolic Acid Content And Composition In Leaves And Roots Of Common Commercial Sweetpotato (*Ipomea Batatas* L.) Cultivars In The United States”, *Journal of Food Science*, vol. 72, pp. 343 - 349.
- Tumuhimbise G. A., A. Namuteb and J. H. Muyonga (2009), “Microstructure and *In vitro* Beta Carotene Bioaccessibility of Heat Processed Orange Fleshed Sweet Potato”, *Plants Foods Human Nutrition*, vol. 64, doi: 10.1007/s11130-009-0142-z, pp. 312-318.
- Van-Der- Rest B. D., A. M. Boudet and S. F. Rochange (2006), “Down-Regulation Of Cinnamoyl-Coa Reductase In Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Induces

- Dramatic Changes In Soluble Phenolic Pools”, *Journal Of Experimental Botany*, vol. 57, pp. 1399-1411.
- Vasconcellos J. A. (2000), “Alimentos funcionales. Conceptos y beneficios para la salud”, *The World of Food Science. IFT y IUFOST*, disponible en www.worldfoodscience.org.
- Vásquez, Á. C. M., I. Miranda, G. G. Tafurt, M. J. Martínez and E. E. Stashenko (2007), *Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de Salvia Aratocensis, Salvia Sochensis, Bidens Reptans Y Montanoa Ovalifolia. Scientia Et Technica*, pp. 205-207.
- Velioglu, Y. S., G. Mazza, L. Gao and B. D. Oomah (1998), “Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46, pp. 4113-4117.
- Vimala B., B. Nambisan and B. Hariprakash (2011), “Retention of carotenoids in orange-fleshed sweet potato during processing”, *Journal of Food Science and Technology*, doi:10.1007/s13197-011-0323-2.
- Whigham, L. D., A. C. Watras and D. A. Schoeller (2007), “Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans”, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 85, pp. 1203-1211.
- Yashodhara, B M, S. Umakanth, J. M. Pappachan, S. K. Bhat, R. Kamath and B. H. Choo (2009), “Omega-3 fatty acids: a comprehensive review of their role in health and disease”, *Postgraduate Medical Journal*, vol. 85, doi:10.1136/pgmj.2008.073338, pp. 84-90.
- Zhu Y. H., and J. G. Jian (2008), “Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of b-caroteno”, *European Food Research Technology*, vol. 227, doi: 10.1007/s00217-007-0789-3, pp. 953-959.
- Zuliani, G. G., E. M. Leithersdorf, E. Volpato, S. M. Cavalieri and R. Fellin (2009), “The role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the treatment of dyslipidemias”, *Current Pharmaceutical Design*, vol. 15, pp. 4087-4093.

Golosinas con ingredientes funcionales: tendencias, innovación y desarrollo

*Laura Eugenia Pérez Cabrera, Karina Reyes Bernal,
Alejandra Godines Hoyos y Rafael Alejandro Casillas Peñuelas*

Resumen

En una época, en la que los avances tecnológicos hacen a los consumidores cada vez más conscientes de su propia salud, existe una gran preocupación, por que los alimentos que se consumen no sólo satisfagan las necesidades nutrimentales básicas y/o cumplir con las características sensoriales como un producto apetitoso y atractivo, sino también, porque éste producto aporte un beneficio funcional al consumidor, así, se ha iniciado una tendencia en el mundo de las golosinas por ofrecer beneficios extra que promuevan la salud y prevengan enfermedades, más allá de su posible valor nutricional. Hay una amplia gama de compuestos bioactivos aplicables a la industria de las golosinas, debido a la gran diversidad que existe en este tipo de productos. Además, las golosinas son de los productos con un alto nivel de consumo y preferencia, por lo que representan un campo perfecto para incluir componentes benéficos para la salud, en especial porque tradicionalmente han sido considerados como productos con más desventajas que beneficios. En la actualidad, el consumidor adulto que realiza la compra de las golosinas para los menores, orienta su compra cada vez más hacia el dulce “útil”. Muchos compuestos bioactivos útiles no pueden presentar el rendimiento esperado ya que muchos son hábiles e inestables, en determinadas condiciones a los que normalmente sometidos. Una vez que se conocen los factores que pueden afectar a un compuesto bioactivo, es necesaria la implementación de tecnología alimentaria, que mejore la estabilidad y

permita su conservación dentro de los alimentos. Entre las técnicas disponibles para este propósito, se encuentra la microencapsulación, este método es muy utilizado en diferentes tipos de alimentos, con biomateriales muy variados (gomas, lípidos, celulosas), que sirven de barreras protectoras para los biocompuestos de interés, así como la fortificación y el enriquecimiento de las golosinas con una alternativa para cubrir los porcentajes de ingesta diaria recomendadas y la adición de compuestos bio-activos con efectos benéficos hacia la salud.

Palabras clave: Golosinas inteligentes, golosinas enriquecidas, innovación.

Introducción

Desde el punto de vista lexicológico, golosina, según el diccionario de la Real Academia de la Lengua Española (2001) es: “Manjar agradable, sabroso y delicado, generalmente dulce, que sirve más para satisfacer el gusto, que de utilidad o sustento, tanto para adultos como para niños como: caramelos, bombones, paletas, chocolates, malva-viscos, gomitas, chicles, mazapanes”. Procede del latín “*gulosus*”, cuyo significado es comer. Podría hacerse la advertencia de que las golosinas, son para ser disfrutadas inmediatamente, a diferencia de otros dulces, que se adquieren para su consumo como postre o merienda (jamoncillo, acitrón, cocadas, calabazate, pastelillos).

Los productos de confitería y chocolatería, tradicionalmente perseguidos por sus altos contenidos de azúcar y grasa, y asociados a problemas nutricionales y de salud (Kant, 2000); y por la lucha de los padres por evitar que sus hijos coman golosinas, viró hacia el empleo de estos productos como vehículos de vitaminas, minerales y otros nutrientes indispensables para un buen desarrollo físico y mental (Terry y Beck, 1985). A raíz de esta estrategia, los productos de confitería y chocolatería, ingresaron al grupo de los alimentos funcionales. Aunado a que el mayor obstáculo en el consumo de chocolates y productos de confitería, ha sido el sobrepeso que se han presentado por el consumo excesivo (Lewis y colaboradores, 1992). Es entonces una buena oportunidad para las empresas del sector, de reformular con el fin de obtener productos con menos calorías, con ingredientes con actividad biológica, con ingredientes antimicrobianos entre otros (Wollgast y Anklam, 2000).

Consumo

El consumo de productos de confitería es universal (Madrid y colaboradores, 1994). En los países industrializados más del 90% de la población compra dulces con regularidad.

De hecho, la confitería, es el primer tipo de alimento ocasional, un alimento que no necesita preparación y puede comerse entre comidas como un tentempié (Fisher y Birch, 1999). México, es un gran mercado para los productos dulces, incluso los adultos son grandes consumidores de confitería (Chaudhari, 2010). Según la Asociación Nacional de Fabricantes de Chocolates, Dulces y Similares (ASCHOCO), en el 2008 el consumo per cápita de dulces fue de 4.5 kg, 7.1% más que en el 2007, cuando llegó a 4.2 kg. Durante el 2006, el consumo total de la industria confitera sumó 315 mil 350 toneladas, de las que 148 mil 800 correspondió a dulces, 97 mil a chocolates y 69 mil a chicles. El consumo de dulces es cíclico y su demanda aumenta en los meses de octubre, noviembre y diciembre, debido a que durante esos meses desciende la temperatura y se incrementa la compra de regalos y las golosinas tienen una mayor demanda, según un informe elaborado por la Asociación Nacional de Tiendas de Autoservicio y Departamentales, A. C. de México (ANTAD), se podría decir que la demanda de golosinas es alta en invierno, moderada en la temporada de lluvias y decreciente en verano.

El grado de implicación del consumidor en la decisión de compra de los productos de confitería es total en México, es uno de los mercados más dinámicos en la categoría de alimentos y además ofrece una gran variedad en presentaciones y formatos (Abete, 2008). Continuamente se manejan alianzas estratégicas, ofertas cruzadas o promociones, sobre todo, al mercado infantil o femenino. Los hábitos de consumo de compra de productos de confitería se suele realizar normalmente por impulso. El consumo de productos de confitería en México, se caracteriza porque el consumidor mexicano prefiere los sabores muy dulces. Esto ha dado una tendencia que se da principalmente en los productos destinados a los niños (Abete, 2008). Además, en los artículos de confitería destinados a un público infantil, adolescente y adulto se caracterizaron por mezclas de sabores intensos: dulces, salados, ácidos y pungentes, como ejemplo *chamoy*, basados en la riqueza gastronómica y cultural de origen. Las inclinaciones y gustos del consumidor han sido muy marcadas en cuanto a su preferencia por productos tropicalizados en cuanto a sabor, color, tipo de empaque y envases. Otra característica del consumidor fue su gusto por el chocolate con mayor contenido de azúcar y leche en su formulación a diferencia de otros países (Abete, 2008). Ha sido destacable que cada vez más los consumidores, en particular los adultos, buscaron productos de confitería saludables, dietéticos, orgánicos y los bajos en calorías.

El mercado de la confitería en México (nos referimos a chicles, chocolates, galletas dulces y turrónes), generó un total de dos mil millones de dólares de beneficio en 2006, representando un índice de crecimiento anual de 1.1% del 2002 al 2006. Según el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), la producción

creció un 2% de media cada año aproximadamente y la tendencia en la producción anual ha sido creciente.

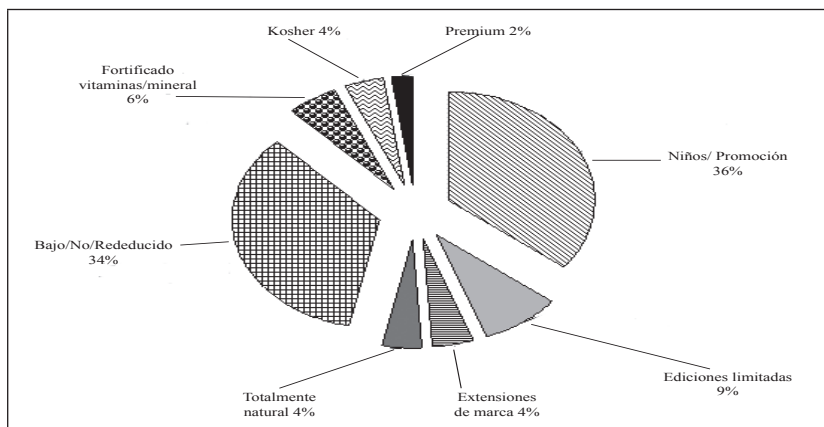
El mercado mexicano ofreció una gran variedad de productos, diferenciados por sus características y sabores y por la inversión en *marketing* (Anónimo, 2007). Ha existido una gran lealtad de los consumidores hacia determinados productos y marcas (Abete, 2008). México ha sido uno de los principales productores de confitería del mundo. Los precios de los chicles y dulces son accesibles para la mayoría de los consumidores mexicanos. Los dulces y chocolates elaborados en México están encontrando nuevos mercados en el exterior debido a tres argumentos principales: precio, calidad y, sobre todo, gran variedad.

En mercado mexicano, ha sido considerado como maduro y bien definido, ya que muchas de las marcas son muy fuertes y están completamente instaladas en el mercado. Los consumidores no están dispuestos a cambiar sus productos favoritos, por lo que es difícil persuadir a los compradores detallistas a comprar nuevos productos y, esto unido a niveles de crecimiento pequeños, dificulta el acceso de nuevas empresas al mercado (Abete, 2008). En cuanto a la venta de productos de confitería han sido los detallistas independientes (tiendas de barrio abarrotes y puestos callejeros) los que dominaron el canal, acaparando el 54.6% de las ventas.

Tendencias

El mercado de la confitería ha experimentado importantes cambios en los últimos años en un intento por satisfacer al consumidor (Verbeke y colaboradores, 2009). Los atributos de posicionamiento de nuevos desarrollos en confitería a nivel Latinoamérica se mostraron en la figura 1. La búsqueda de valor añadido para estos productos se centró sobretodo en elementos sorpresa, que lograran captar la atención del público infantil, que han demandado una innovación constante.

Figura 1. Atributos de posicionamiento de nuevos desarrollos a nivel Latinoamérica en el periodo 2004-2009



Fuente: Rivera (2009).

A nivel mundial los productos enfocados a consumidores niños, jóvenes y adultos, con mayor duración de sabor en boca, mejoras en proceso, contribución en aspecto funcional y líneas de productos *Premium* fueron las tendencias de las que México no está aislado, por lo que en los puntos de venta iban apareciendo distintas categorías de productos (Bentanachs y colaboradores, 2010). Algunas de las más destacadas se resumieron en el cuadro 1 (Beaver, 2010) de las que se destacaron: la confitería sin azúcar, donde se registraron, entre otras innovaciones, sabores nuevos así como presentaciones de chicles, caramelos y pastillas sin azúcar, o caramelos funcionales duros con Vitamina C.

Cuadro 1. Tendencias de Golosinas a abordar los problemas de salud y vitalidad

<i>Aliento fresco, blanqueamiento</i>	Ingredientes activos con nuevos formatos y sistemas de liberación que permiten una limpieza profunda y otras demandas de higiene bucal
<i>Terapéutica</i>	Ingredientes con actividad inmediata contra la tos y la resequedad de la garganta con una protección en el largo plazo debida al fortalecimiento de los ingredientes. Ingredientes descongestionantes nasales
<i>Energía y estado de alerta</i>	Diseño inspirado en las bebidas deportivas y energéticas, con vitaminas y minerales
<i>Sentirse bien</i>	Ingredientes que aportan frescura, la relajación y equilibrio, así como ayuda al sistema digestivo. Las hierbas medicinales como el ginseng, la manzanilla, la vainilla y la menta, que reivindican un beneficio físico por si mismas, además de tener un efecto calmante

Fuente: elaboración propia.

Conseguir mejoras en los beneficios del consumo de los caramelos, chicles, paletas, bombones, gomitas y gelatinas, pero sin perder de vista su carácter lúdico, ha sido uno de los grandes objetivos de las empresas del sector. La ventaja de disfrutar de un delicioso caramelo sin preocuparse de las temidas calorías ha convertido este tipo de productos en una estrella de ventas (Bougue y colaboradores, 2009), a pesar de los intentos por promover el consumo de golosinas sin azúcar por parte de empresas mexicanas, se proyectó para años futuros que la demanda de este tipo de golosinas continuaría siendo pequeña.

Para el año 2013, se prevé que los envases y sabores novedosos continuarán siendo el centro de la innovación, así como que los niños y los adolescentes continuarán siendo la principal base de consumidores de golosinas, pero con la atenuante del contenido calórico, ya sea con una reducción en la cantidad de azúcar en su formulación o el empleo de edulcorantes con menor contenido calórico. Se anticipó que dicho subsector de golosinas o dulces de azúcar registrarán tasas de crecimiento anual entre 2 y 3% (Anónimo, 2009b). Estos cambios han obligado a las industrias a innovar en la textura y en los gustos de las confecciones en lo que a golosinas a base de azúcar se refiere (Bentanachs y colaboradores, 2010). Para las confecciones de chocolate existirán variantes que se diferenciaron por los porcentajes de cacao que tienen en sus fórmulas, y lentamente estarán apareciendo las frutas deshidratadas que intentan ocupar una porción del mercado (*Codex Alimentarius Comisión*, 1998). Estos cambios son demostrativos de una tendencia global, caracterizada por la existencia de muchos consumidores que prefieren productos con beneficios adicionales. En medio de ese panorama, las estrategias de *marketing* han jugado un rol esencial a la hora de defender la participación de mercado. Se entiende como “estrategia de *marketing*” la innovación en nuevas presentaciones y nuevos productos, apoyados en el fortalecimiento de sus marcas, complementadas por permanentes inversiones en acciones comerciales y publicitarias en medios gráficos, radiales, televisivos e Internet.

Innovación

Los hábitos de compra han evolucionado y lo que antes podría ser un acto mecánico, ahora implica en las personas una mayor toma de conciencia (Glanz y colaboradores, 1998). Muchas de ellas, incluso, están disminuyendo la adquisición de productos no esenciales (Enneking, 2007). Los consumidores todavía quieren adquirir productos indulgentes, como es el caso de la confitería, pero ahora manifiestan un mayor interés por aquellos artículos que ofrezcan beneficios al organismo, “*Que aporten bienestar*”, el chocolate oscuro y los chicles y caramelos sin azúcar son el mejor ejemplo.

Estas nuevas necesidades como sentirse y verse bien, marcan el camino de la innovación, y en el mercado de la confitería el uso de ingredientes con propiedades funcionales, esencias naturales o edulcorantes con menor contenido calórico es cada vez más visible (Krystallis y colaboradores, 2008). Esta evolución está marcada por estudios que conocen con más detalle cada uno de los ingredientes utilizados en la elaboración de los productos. Mejoras que van de la mano con maquinarias más eficientes, sistemas de producción y distribución que consumen menos energía y el uso de materiales obtenidos a través de mecanismos que generan cada vez menos desechos. También cabe destacar la innovación para conseguir envases más cómodos y a la vez atractivos, y utilizar ingredientes obtenidos mediante prácticas responsables. Todo ello gracias a las constantes investigaciones realizadas por numerosas empresas y centros especializados, que aportan en su conjunto un dinamismo al sector para la mejora continua (Portía y colaboradores, 2004). Hoy en día, las personas no sólo quieren consumir productos más saludables y atractivos, también quieren que los fabricantes sean respetuosos con el medio ambiente y con las personas. Desean recibir, además de una tableta de delicioso chocolate, la certeza de que se trata de un alimento bien hecho. Identificar las necesidades de los consumidores e innovar constantemente en el desarrollo de nuevos productos para satisfacer dichas necesidades son factores esenciales para el crecimiento del mercado de la confitería, aunado a que la industria de la confitería es una de las más competidas. Por ello, el desarrollo y diversificación de productos mediante la innovación, es una buena estrategia para generar mayor valor agregado en lo que se produce, y así poder mantenerse en el gusto del público.

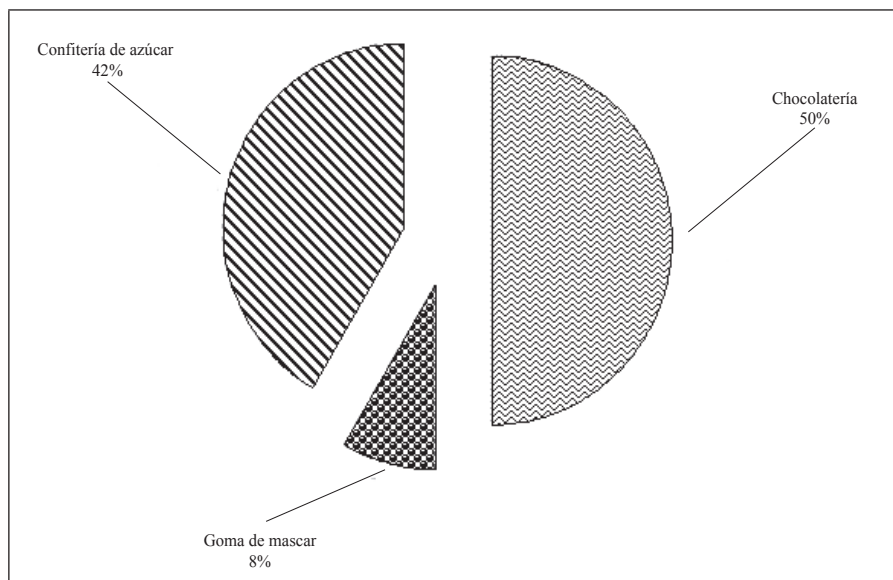
La responsabilidad que registran las empresas de confitería frente a un consumidor cada vez más exigente es el factor que orienta la inversión en la innovación de productos en todas las categorías. Su objetivo es proporcionar al consumidor:

- Las mejores fórmulas.
- Más posibilidades de elección.
- Productos más saludables.
- Sabores innovadores.
- Envases modernos.
- Productos con ingredientes naturales.
- Reducción de calorías y azúcares.
- Respeto por el medio ambiente.

Los lanzamientos en Latinoamérica de nuevos productos por subcategoría se muestran en la figura 2. El subsector chocolatería y derivados es el que se proyecta

con mayor desarrollo (50%) junto con el subsector de confitería de azúcar (42%), el 8% de los desarrollos se centró en el sector goma de mascar.

Figura 1. Lanzamientos en Latinoamérica de nuevos productos por subcategoría en el periodo 2004-2009



Fuente: Rivera (2009).

Las perspectivas en innovación se clasificaron por tipos de declaración en las etiquetas, ocupando el primer lugar la declaración “Bajo en azúcar”, esto coincide con la preocupación mundial por la obesidad y el sobrepeso. Luego de esta declaración, en confitería aparecieron las asociadas con reducción de grasa, fortificación con vitaminas y minerales y la frescura del aliento. En el mercado internacional existen productos funcionales provenientes de la industria confitera (Teratanavat y Hooker, 2006), que incluyen ingredientes con actividad funcional como aminoácidos, péptidos bioactivos antioxidantes, probióticos, prebióticos, vitaminas, minerales que pueden incidir en la calidad del sueño, apetito, humor, ansiedad y que modulan el sistema inmunológico y cardiovascular (cuadro 2). Las propiedades funcionales que se resumen en el cuadro 2 son muy variadas, indicativo del giro que se está dando en el sector confitero y chocolatero hacia la alimentación funcional.

Cuadro 2. Principales lanzamientos golosinas funcionales

<i>Descripción</i>	<i>País</i>
Menta digestiva con aceites esenciales de plantas y frutas	Bélgica
Chocolate con omega 3 y Colina para función mental	Canadá
Desarrollo galletas sin azúcar con germen de soya multivitaminizado con chocolate oscuro con aporte calórico menor a 100 Kcal	España
Caramelos para aumentar la flora intestinal	
Galletas con adición de bicarbonato de sodio para facilitar la digestión	Holanda
Caramelo con calcio DHA y vitamina C	Hong Kong
Goma de mascar con colágeno y sabor durazno	
Goma que sirve para humedecer la boca, formulada con dos veces mas ácidos orgánicos	Japón
Dulces de edición limitada con polifenoles	
Gomitas con adición de colágeno	
Goma de mascar con bicarbonato de sodio, libre de azúcar, blanquea los dientes	Rep. Checa
Goma de mascar con fluor que ayuda a neutralizar los ácidos	Suecia
Caramelo de leche con sabor zarzamora cubierto con chocolate que contiene calcio y magnesio	Suiza
Chocolate de leche con sabor canela, el producto contiene extractos naturales de germen de soya-Rejuvenecedor	
Chocolate con agentes antioxidantes	USA
Caramelos con coenzima Q ₁₀ y vitamina E	Alemania

Fuente: elaboración propia.

Los departamentos de investigación, innovación y desarrollo de nuevos productos tienen que buscar materiales que les permitan desarrollar nuevos productos con actividad funcional, con características que los diferenciaran de los demás y les permitan la viabilidad funcional a lo largo de los procesos de producción, distribución y consumo (Cox y colaboradores, 2008). Dentro de los ingredientes tradicionales que podrían auxiliar a incorporar ingredientes con actividad funcional, estarían la amplia gama de almidones modificados que podrían usarse en distintas aplicaciones, como gomitas, caramelos, dulces en polvo y azúcar glass (Mejorado, 2006). Particularmente en la fabricación de gomitas, se podría utilizar una mezcla de almidones para conseguir la textura deseada, ya sean gomitas suaves, duras o jaleas “*jelly*”. En cuanto a los ingredientes tradicionales el empleo de gomas como: carragenina, xantana, guar, algarrobo, tara, alginato, pectina, tragacanto, acacia, gellan, carboximetil celulosa, que pueden ser usadas combinadas o por separado, como gelificantes, espesantes, con el fin de lograr texturas diferentes a las convencionales (Jewell, 1986).

El desarrollo de productos con suero de leche y derivados ha aumentado. Se han podido realizar reemplazos del 100% de leche entera y fórmulas con bajo contenido de carbohidratos y sin azúcar. En chocolatería una buena alternativa de sustitución de la leche entera ha sido el suero, ya que ha permitido reducir costos sin sacrificar sabor, aportando niveles de proteína similares (Bouzas, 1999). También se emplean edulcorantes no calóricos, fibras de maíz, almidones modificados o proteínas modificadas como sustitutos de grasa donde su aporte calórico es de 4 Kcal/g a diferencia de las grasas que aportan 9 Kcal/g. También una opción con aplicaciones en confitería, es el uso de aislado de soya como sustituto parcial o total de la albúmina de huevo, para impartir propiedades de batido o espumantes en *nougats*, malvaviscos, jarabe de chocolate, coberturas batidas, coberturas de azúcar, postres congelados y varios tipos de pastelitos.

Los ingredientes funcionales que se han utilizado para la formulación de golosinas, chocolates y chicles incluyeron las vitaminas (B, C y D en particular), calcio, *Omega-3* y el *beta-caroteno*, así como fotoquímicos como la *L-teanina*, un aminoácido natural del té verde al que se le han atribuido propiedades de disminución del stress (Jeffery, 2004). También se han empleado extractos de té con alto contenido de catequizas, compuestos que se les ha asociado un activa participación en la captura de radicales libres en el organismo y en la prevención de la piel contra los rayos ultravioleta.

En cuanto al subsector chocolatería, también se ha orientado principalmente a desarrollar productos bajos en azúcares y grasas, enfatizando en la reducción de colesterol y grasas trans, realizando la adición de Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA) omegas-3 (Ácido Eicosapentaenoico, EPA, y Ácido Docosahexaenoico, DHA) que controlan los niveles de colesterol y los niveles de triglicéridos, disminuyendo los riesgos de enfermedad cardiovascular. Es importante destacar que el DHA, es fundamental en el adecuado desarrollo del sistema nervioso de los niños, por lo que es una buena estrategia emplear los chocolates como una forma para proporcionarles este nutriente. Los industriales del cacao son conscientes y han hecho del conocimiento del consumidor que su producto es una fuente natural de polifenoles, compuestos con una gran capacidad antioxidante.

En cuanto a la fortificación con minerales, en México, no es posible negar la situación de anemia que experimenta nuestro país. La carencia de hierro lleva a que la concentración de la hemoglobina disminuya experimentando ineficiencia, cansancio, problemas de aprendizaje en los niños y adolescentes. Entre las numerosas fuentes de hierro para fortificar está el pirofosfato y los complejos aminoquelados por su alta biodisponibilidad y bajo impacto en el perfil sensorial del producto. El enriquecimiento de las golosinas con calcio + Vitamina D₂ son una alternativa para cubrir

el (% IDR) de personas adultas principalmente, para obtener una mejor absorción de calcio y así evitar osteoporosis en mujeres adultas. La fortificación con sales de zinc y de cobre que se añaden a la composición química de la golosina para combatir la halitosis, que se muestran eficaces contra las bacterias de la lengua que producen los compuestos sulfurados responsables del mal aliento (Anónimo, 2009).

Aunado a la innovación, está la preocupación de los consumidores por la salud, la higiene bucal, la obesidad y la diabetes, que ha propiciado la demanda del mercado de dulces sin azúcar. La producción de nuevas líneas sin azúcar, permiten mayor valor añadido y más posibilidades de expansión entre el consumidor adulto (*American Association of Clinical Endocrinologists*, 2007). Los llamados “*edulcorantes de volumen*” o “*polioles*” proporcionan un intenso sabor dulce sin calorías, o con muy pocas, ya que contienen menos calorías por gramo que el azúcar (sacarosa) y tienen el mismo volumen. En este grupo se incluyen el sorbitol, manitol, isomalt, maltitol, lactitol y xilitol, pudiendo ser utilizados como edulcorantes para dulces y chicles (Jackson, 1990). Son materiales con excelente compresibilidad, buena fluidez, moderado dulzor relativo y pronunciado efecto refrescante. Además tienen un valor calórico reducido, son no cariogénicos y adecuados para diabéticos. Uno de los principales rechazos hacia los dulces es su relación con la caries dental y es en este aspecto donde más se han enfocado los productores, especialmente de gomas de mascar. La adición de polioles como xilitol y manitol, o edulcorantes no calóricos como la sucralosa y el aspartame, permite declarar que el producto no produce caries, incluso algunos productos basan su efecto anticariogénico en la neutralización de los ácidos que se forman en la boca y atacan el esmalte dental. No obstante, el mecanismo de acción de algunas sustancias no se conoce completamente debido al vacío legal que rodea a estos dulces, situados en la línea entre golosinas y medicinas. Por el momento, existen pocos compuestos en los que se haya definido las dosis recomendadas, la duración del tratamiento, y los efectos secundarios o contraindicaciones que puedan tener.

Desarrollo

El diseño y validación de golosinas en México ha tenido su expansión e incluso la consolidación de los productos libres de azúcar y un desarrollo significativo en golosinas que promocionan inhibidores del mal aliento y/o para contribuir al blanqueamiento de los dientes. La tendencia de consumo de estos productos se tiene en adultos (mayores de 20 años) ya que los consumidores se muestran más preocupados por limitar su ingesta de calorías para combatir la obesidad y consumir productos que

aporten un beneficio saludable. La categoría de las golosinas que contienen propiedades funcionales continúan representando un nicho muy pequeño, en el mercado aparecieron productos con vitaminas y antioxidantes desde 2001, sin embargo ha sido relativamente básica y no se han observado demasiadas innovaciones en los últimos años. Es destacable que los productos de confitería han sido excelentes vehículos para la fortificación, particularmente debido al sabor, ya que pueden fácilmente cubrir notas que pudieran afectar al producto final, debido a los sabores agregados y a la diversidad de sabores que se pueden obtener en una barra de caramelo o de golosina, ya que es mucho más fácil superar los obstáculos de sabor de fortificación en una goma o en una barra de chocolate que en una bebida, por ejemplo. Una vez que se conocen los factores que pueden afectar a un compuesto bioactivo, es necesaria la implementación de tecnología alimentaria que mejore la estabilidad y permita su conservación dentro de las golosinas. Entre las técnicas disponibles para este propósito se encuentra la microencapsulación, este método es muy utilizado en diferentes tipos de alimentos con biomateriales muy variados gomas, lípidos y celulosas, que sirven de barreras protectoras para los biocompuestos de interés.

Dos ejemplos de esto fueron golosinas que se han diseñado, desarrollado y evaluado. La primera: esferas de alginato sabor naranja adicionadas con vitamina C, utilizando la técnica de encapsulación iónica lo que permitió ampliar los estudios realizados sobre la función de gomas gelificantes, que crearon una red resistente al calor y de carácter irreversible, características apreciables en su función como barrera protectora del biocompuesto en golosinas moleculares. El nivel de protección de la vitamina C está asociado a la interacción entre las gomas que se emplearon, por ejemplo la combinación de las gomas: alginato-xanthana, alginato-guar y alginato-arábica promovieron una menor permeabilidad a través de la matriz formada y una menor velocidad de la difusión de sus componentes de la pared de la cápsula, disminuyendo la velocidad de liberación de vitamina C y por consiguiente su degradación. En comparación con la formulación que sólo contenía alginato. Es destacable que la formulación alginato-xanthana mostró una significativa mayor capacidad de protección de degradación de vitamina C ($5.96 \times 10^2 \text{ día}^{-1}$). También la esferas alginato-xanthana presentaron una estructura estable a lo largo del almacenamiento, lo que supuso que la naturaleza química, el grado de hinchamiento y de entrecruzamiento de los componentes de la cubierta, tenían un efecto en la disminución de la velocidad de liberación del compuesto. De esta forma se logró un mejor nivel de encapsulación asociado a una mayor calidad de gelificación, dependiente del entrecruzamiento de los componentes.

Y la segunda: laminillas o laminas refrescantes sabor naranja a base de mucílago de linaza, enriquecidas con calcio y vitamina D. Uno de los problemas asociados al

enriquecimiento o fortificación de sales orgánicas de Calcio en alimentos con sistemas coloidales complejos fue la estabilidad, la matriz acuosa de las laminillas donde intervinieron macromoléculas como fibra soluble, colorantes, saborizantes, lípidos y azúcares, debía garantizar su estabilidad en cuanto a migración y permanencia, además una desestabilización del mineral provocó una pérdida de calidad visual al mostrar una migración a la superficie, provocando una pérdida de luminosidad y brillo de la golosina. Las laminillas desarrolladas presentaron una estabilidad alta, ya que no registraron de forma visual la presencia de migración del mineral, así como ser flexibles, suaves y deformables. En cuanto al contenido de calcio fue de 5,9506 mg/kg de laminillas y el cálculo del %IDR con base a la NOM-086-SSA1-1994 propuso un consumo diario de 10 laminillas (~18 g de producto) lo cual cubrirá 14 y 73% de IDR recomendado para calcio y *Vit D₂*, respectivamente. El binomio vitamina *D₂* + Calcio orienta su beneficio a la salud ósea para la formación de huesos y dientes para niños y en el caso de adultos la fijación para evitar la osteoporosis.

Agradecimientos

Al Programa de Investigación en Alimentos (PIAL) de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y al Fondo Mixto de Consejo Nacional para la Cultura y las Artes (Conacyt)-Gobierno del Estado de Tamaulipas.

Referencias

- Abete, E. (2008), *El mercado de la confitería en México Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México*, pp. 15-25.
- American Association of Clinical Endocrinologists (2007), “Medical Guidelines for Clinical Practice for the Management of Diabetes Mellitus”, *Endocrine Practice*, vol. 1, pp. 3-68
- Anónimo (2007), *Dulcelandia. Industrias Alimenticias*, septiembre-octubre.
- Anónimo (2007b), *Confitería Saludable La Tour S.A.*, 30 Mayo.
- Anónimo (2009b), *Tendencias del mercado latinoamericano en golosinas*, Énfasis Alimentación, Euromonitor, Septiembre.
- Anonymous (2009), *Sweet success: Confectionery industry reaps rewards of innovation, Confectionery Food processing intelligence*, pp. 42-44.
- Asociación Nacional de Fabricantes de Chocolates, Dulces y Similares, A. C. (Aschoco).

- Asociación Nacional de Tiendas de Autoservicio y Departamentales de México, A. C. (Antad).
- Beaver, M. (2010), *Confectionery for healthy lifestyles Confectionery, Cereal & Snack Division*, Baker Perkins Ltd, p. 6.
- Bentanachs, J., M. Vidal and C. Nicolau (2010), *Anuario de Cafeteria Cadbury Sweet*, pp. 44-53.
- Bogue, J., D. Sorenson and M. O'Keeffe (2009), "Cross-category innovativeness as a source of new products ideas. Consumer's perceptions of over-the counter pharmacological beverages", *Food Quality and Preference*, vol. 20, pp. 363-371.
- Bouzas, J. (1999), *Whey products and lactose in confectionery applications. Applications monograph confectionery Published by U.S. Dairy Export Council*.
- Chaudhari, R (2010), *Golosinas Funcionales: Satisfacción Saludable para los Golosos. Mundo Alimentario*, mayo-junio.
- Codex Alimentarius Commission (1998), *Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Cocoa Products and Chocolate, Revision of Codex Standards*, november.
- Cox, D. N., G. Evans, and H. J. Lease (2008), "The influence of information and beliefs about technology on the acceptance of novel food technologies: A conjoint study of farmed prawn concepts", *Food Quality and Preference*, vol. 18, pp. 813-823.
- Enneking, U., C. Neumann, S. Henneberg (2007), "How important intrinsic and extrinsic product attributes affect purchase decision", *Food Quality and Preference*, vol. 18, pp. 133-138.
- Fisher, J. O. and L. L. Birch (1999), "Restricting access to foods and children's eating", *Appetite*, vol. 32, pp. 405-419.
- Glanz, K., M. Basil, E. Maibach, J. Goldberg and D. Snyder (1998), "Why Americans eat what they do: taste, nutrition, cost, convenience, and weight control concerns as influences on food consumption", *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 98, pp. 1118-1126.
- Hilliam, M. (2002), *Confectionery and Functional Foods A Healthy Future All Round?, Gelita Symposium*, pp. 18-19.
- Jackson, E. B. (1990), *Sugar Confectionery Manufacture (E. B. Jackson ed.)*, Van Nostrand Reinhold, New York, p. 232.
- Jeffery, M. S. (2004), *Functional Confectionery Technology Development of ingredients, formulation and manufacture. The Manufacturing Confectioner*, p. 47, August.
- Jewell, G. G. (1986), *Interactions of Food Components in Birch*, G. G. & Lindsay M., Elsevier Applied Science Publishers, London, p. 277.

- Kant, A. K. (2000), "Consumption of energy-dense, nutrient-poor foods by adult Americans: nutritional and health implications: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994", *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 72, pp. 929-936.
- Krystallis, A., G. Maglaras, S. Mamalis (2008), "Motivations and cognitive structures of consumers in their purchasing of functional foods", *Food Quality and Preference*, vol. 19, pp. 552-538.
- Lewis, C. J., Y. K. Park, P. B. Dexter and E. A. Yetley (1992), "Nutrient intakes and body weights of persons consuming high and moderate levels of added sugars", *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 92, pp. 708-713.
- Madrid, A., I. Cenzano, J. Madrid and A. Madrid (1994), *Manual de Pastelería y Confeitería*, Mundi-Prensa, España, pp. 5-21.
- Mejorado, N. M. (2006), *Confeitería, Industria Alimentaria*, Alfa Editores técnicos marzo-abril, pp. 10-17.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-086-SSA1-1994. Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales Dirección General de Normas. Estados Unidos Mexicanos.
- Portía, J., M. Romo and A. Castillo (2004), "Las golosinas en la alimentación infantil. Análisis antropológico nutricional", *Revista Médica de Chile*, vol. 132, pp. 1235-1242.
- Real Academia Española (2001), *Diccionario de la Lengua Española*, Espasa vigésima segunda edición, volumen I.
- Rivera, D. (2009), "El nuevo rostro de las golosinas", *Revista I Alimentos*, edición 9, mayo, pp. 54-56
- Teratanavat, R., N. H. Hooker (2006), "Consumer valuations and preference heterogeneity for a novel functional foods", *Journal of Food Science*, vol. 71, pp. 533-541.
- Terry, K. and S. Beck (1985), "Eating style and food storage habits in the home: Assessment of obese and nonobese families", *Behavior Modification*, vol. 9, pp. 242-261.
- Verbeke, W., J. Scholderer and L. Lähteenmäki (2009), "Consumer appeal of nutrition and health claims in there existing products concepts", *Appetite*, vol. 52, pp. 684-692.
- Wollgast, J. and E. Anklam (2000), "Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health?", *Food Research International*, vol. 33, pp. 449-459.

Antocianinas como colorantes naturales para la industria alimentaria

*Miguel Aguilera Ortiz, Patricia Ramírez Baca,
María Guadalupe Candelas Cadillo,
Jorge Armando Meza Velázquez,
María del Carmen Reza Vargas*

Resumen

El color en los alimentos depende de los pigmentos naturalmente presentes, pero con frecuencia se añaden colorantes sintéticos o artificiales para conferir el color deseado al producto final. Debido a que hay un incremento en la demanda de alimentos naturales, la producción industrialmente práctica y económica de colorantes naturales alimenticios es una meta deseable para la industria de ingredientes alimenticios. La disponibilidad de fuentes de pigmentos naturales, requerimientos de procesos de extracción y estabilidad de colorantes e idoneidad de uso debe ser tomado en cuenta en la producción de los ingredientes. Hay una fuente importante de pigmentos naturales presentes en frutas rojas y azules como cerezas, ciruelas, fresas, frambuesas, zarzamoras, uvas, higos, granadas, moras silvestres, pasas rojas y negras. Las restricciones en el uso de colorantes sintéticos en alimentos han conducido al interés en el uso potencial de antocianinas como un colorante alimenticio en bebidas, jarabes, jugos de frutas, gelatinas, mermeladas, helados, dulces de pasta y yogures, así como en pasta dental, productos farmacéuticos, cosméticos y colaboradores similares. Las antocianinas son pigmentos vegetales con gran potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos. Es de gran importancia

conocer los aspectos bioquímicos que enmarcan estos pigmentos. Las propiedades bioactivas de las antocianinas abren una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano. El objetivo de esta revisión es ofrecer un panorama actualizado de las propiedades químicas y funcionales de las antocianinas y de su potencial como colorantes de origen natural.

Palabras clave: pigmentos naturales, frutas, antocianinas, colorantes.

Introducción

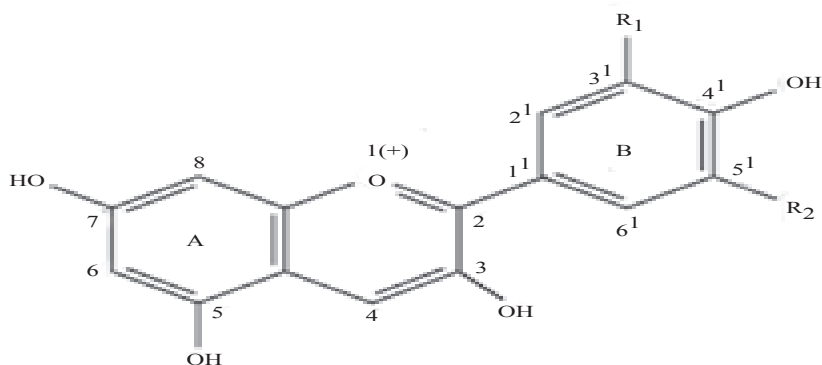
Las antocianinas son pigmentos responsables de los colores rojo, morado y azul de muchas frutas, vegetales y granos de cereales. En las plantas éstas sirven como atraerentes para la polinización y dispersión de semillas, generan protección en contra de los efectos dañinos de la irradiación Ultra Violeta (UV), y provee actividades antivirales y antimicrobianas. Debido a su importancia para la calidad del color de frutas y vegetales frescos y procesados, han sido ampliamente investigadas por horticulturistas y tecnólogos en alimentos. Además, siendo agentes colorantes *in situ*, los colorantes basados en antocianinas fueron manufacturados para uso alimenticio de cultivos hortícolas cultivados con ese propósito específico, también como de desechos de procesamiento. En la literatura científica han existido excelentes revisiones científicas sobre la química de los pigmentos de antocianinas y sus usos como colorantes alimenticios (Mazza y Miniati, 1993; Francis, 1999; Wrolstad, 2000; Delgado-Vargas y Paredes-López, 2002). El interés en los pigmentos de antocianinas ha crecido dramáticamente en años recientes debido a su posible papel en la reducción del riesgo de enfermedades coronarias, cáncer y problemas cardiovasculares. La preferencia común por colorantes naturalmente derivados ha sido debido a su inocuidad y excelente desarrollo. Varios colorantes sintéticos han sido prohibidos debido a que causan alergias o son cancerígenos (Chengaiyah y colaboradores, 2010). En adición a sus papeles funcionales como colorantes, los extractos de antocianinas pudieron mejorar la calidad nutricional de alimentos y bebidas (Wrolstad, 2004). Hubo un incremento en la demanda por colorantes alimenticios de fuentes naturales debido a que estos pueden sustituir a los colorantes sintéticos. Entonces, fue deseable un proceso para el desarrollo de antocianinas estables de fuentes naturales. La microencapsulación usando secado por aspersion fue una gran alternativa. Ersus y Yudagel (2007), afirmaron que la microencapsulación a través del secado por aspersion era un método económico para la preservación de colorantes naturales encapsulando los ingredientes en un material de cubierta. Pitalua y colaboradores

(2010), concluyeron que los microencapsulados representaron aditivos alimenticios interesantes para la incorporación a alimentos funcionales por sus propiedades antioxidantes y como colorantes rojos. Chetan y Rastogi (2010), afirmaron que los polvos de pigmento de antocianinas microencapsuladas pertenecían a una clase de productos alimenticios que eran altamente higroscópicos por naturaleza. También, Gong y colaboradores (2008), mostraron que el secado por aspersión pudo ser usado para procesar jugo de *bayberry* (fruto de la planta *Myrica gale*) y obtener un producto en polvo. Por aglomeración, el polvo de *bayberry* secado por aspersión pudo ser procesado a una bebida sólida instantánea.

Estructura de las antocianinas y color

Las antocianinas son parecidas a los compuestos flavonoides debido a que poseen el esqueleto carbónico característico $C_6C_3C_6$ y el mismo origen biosintético como otros flavonoides naturales (Eder, 1996; Jackman y Smith, 1992). Los pigmentos naturales antocianínicos (antocianinas) son siempre glucósidos que se separan en formas agliconas (antocianidinas) y azúcares por hidrólisis. Las antocianinas son derivados hidroxilados y metoxilados de sales de *2-fenilbenzopirilium* o flavilium (Eder, 1996). Antocianinas individuales son caracterizadas por el número de grupos hidroxilos en la molécula, el grado de metilación de estos grupos hidroxilo y la naturaleza, número y posición de azúcares adheridos a la molécula. Así que 17 antocianidinas naturalmente presentes son conocidas, pero solamente seis de ellas están ampliamente distribuidas y por lo tanto contribuyen comúnmente a la pigmentación de plantas. Estas seis antocianidinas comunes: cianidina (*cy*), delfinidina (*dp*), malvidina (*mv*), pelargonidina (*pg*), peonidina (*pn*) y petunidina (*pt*), son todas $C3$, $C5$, $C7$ y $C4'$ derivados hidroxilados (figura 1). Debido a que cada antocianidina puede ser glucosilada y acetilada por varios azúcares y ácidos en diferentes posiciones, el número de antocianinas es ~15-20 veces más alto que el número de antocianidinas. Los azúcares más comúnmente unidos a las antocianidinas son glucosa, galactosa, ramnosa y arabinosa. En algunos casos también di y trisacáridos. La glucosilación frecuentemente ocurre en $C3$, $C5$ y $C7$, pero la glucosilación en $C3'$, $C4'$ y $C5'$ ha sido también observada. Las antocianidinas glucósidos más comunes son 3-monósidos, 3-biósidos, 3,5-diglucósidos y 3,7-diglucósidos. El azúcar residual puede ser posteriormente acilado con ácidos orgánicos como el ácido *p-cumárico*, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido málico o ácido acético (Mazza y Miniati, 1993).

Figura 1. Estructura y sustituyentes de las antocianinas



<i>Aglicona</i>	<i>Substitución</i>		λ max (mn)
	R1	R2	
	H	H	espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fuente: Durst y Wrolstad (2001).

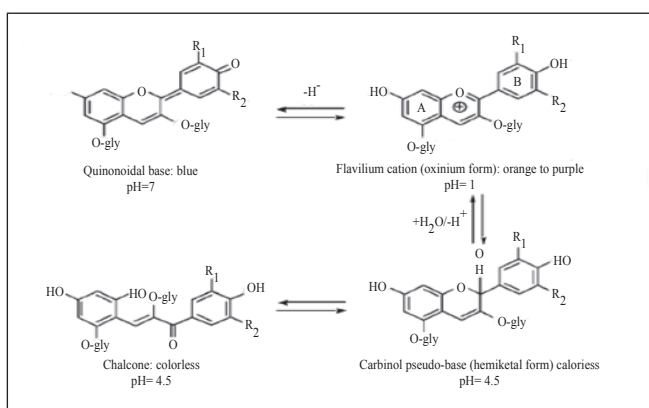
Factores que influyen el color y estabilidad de las antocianinas

Como con la mayoría de los colorantes naturales, las antocianinas han sufrido de inestabilidad inherente. Generalmente, las antocianinas fueron más estables bajo condiciones ácidas, pero pudieron degradarse por alguno de varios posibles mecanismos para formar primero productos incoloros, después productos oscuros e insolubles. La degradación pudo ocurrir durante la extracción/purificación y durante el procesamiento y almacenamiento normal de alimentos. Un conocimiento de los factores que influyeron en la estabilidad de las antocianinas y los mecanismos de degradación putativos fue vital para la eficiente extracción-purificación de antocianinas y para sus usos como colorantes alimenticios. Tal conocimiento pudo también conducir a

una selección más prudente de fuentes de pigmentos y desarrollo de más productos alimenticios altamente coloreados. Los principales factores que influyeron la estabilidad de las antocianinas son pH, temperatura y la presencia de oxígeno, pero la degradación enzimática y las interacciones con otros componentes alimenticios (ácido ascórbico, iones metálicos, azúcares, copigmentos) no fueron menos importantes (Jackman y Smith, 1992). En general, las antocianinas son más estables en medios ácidos, libres de oxígeno bajo condiciones frías y en oscuridad (Eder, 1996).

- a) Efecto del pH. Las antocianinas sufrieron transformaciones estructurales reversibles con cambio en el pH (figura 2), tuvieron un impacto principal sobre el color. La forma oxonium que predomina a pH 1.0 fue coloreada, mientras, la forma hemiketal fue incolora. Así, para la cianidina-3-glucósido, a pH 3.01, el 50% estará en la forma coloreada y 50% estará en la forma incolora. La sustitución glucosídica en la posición 5 disminuyó el pK_A , mientras, la acilación con ácidos cinámicos marcadamente incrementa el pK_A (cuadro 1). Los 3-*glucósidos* acilados predominan en las antocianinas de grosella negra. Esto amplía el rango de pH en el que la grosella negra pudo efectivamente ser usada para aplicaciones alimenticias. Vankar y Bajpai (2010) sugirieron que la selección de antocianinas de rosa como colorantes naturales para indicar niveles específicos de pH estaba basado en sus cambios químicos.

Figura 2. Transformaciones estructurales de pigmentos de antocianinas con cambio en el pH



Fuente: Wrolstad (2004).

Cuadro 1. Propiedades de cianidina-glucósidos

Compuesto	Ángulo Hue a pH 3.5	pk_A (μ mol Trolox)	ORAC
Cyd-3-glu	8°	3.01	2.26
Cyd-3-xyl-gal	3°	3.13	2.28
Cyd-3-xyl-glu-gal	4°	3.26	1.48
Cyd-3-sinap-xyl-glu-gal	349°	3.79	2.02
Cyd-3-ferul-xyl-glu-gal	354°	4.42	3.03
Cyd-3-soph-5-glu	356°	2.32	1.58
Cyd-3-coum-sinap-soph-5-glu	333°	3.12	2.58

Fuente: Stintzing y colaboradores (2002). Abreviaciones: cyd=cianidina, glu=glucosa, gal=galactosa, xyl=xilosa, soph=soforosa, sinap=sinafoil, ferul=feruloil, coum=coumaroil.

- b) Efecto del oxígeno y el ácido ascórbico. El efecto degradativo del oxígeno y el ácido ascórbico sobre la estabilidad de las antocianinas ha estado relacionado. Sondheimer y Kertesz (1953), reportaron que las condiciones que favorecían la oxidación aeróbica del ácido ascórbico en jugo de fresa y en sistemas modelo que contenían pelargonidina *3-glucósido* proveniente de la fresa causaban grandes pérdidas de antocianinas, pero cuando el oxígeno era excluido del sistema no se observaba deterioro del color. De igual manera, Markakis y colaboradores (1957), reportaron un efecto sinérgico entre el ácido ascórbico y el oxígeno sobre la degradación de la pelargonidina *3-glucósido* en solución.
- c) Efecto de la temperatura. Incrementos de temperatura provocaron la pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura del anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras (Timberlake, 1980). La antocianina fue destruida por el calor durante el procesamiento y almacenamiento (Giusti y Wrolstad, 1996). Un crecimiento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurrió con un incremento de la temperatura. Timberlake (1980) observó que el equilibrio entre las estructuras fue endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha: base quinoidal ↔ catión flavilio ↔ pseudobase carbinol ↔ chalcona. A altas temperaturas el equilibrio cambió hacia chalconas. El retorno de chalconas a flavilio fue lento. Yue y Xu (2008) reportaron que las antocianinas no eran estables por arriba de 100 °C. La estabilidad térmica de las antocianinas con arabinósido pudo ser más baja que la antocianina con glucósido o galactósido. La información de este estudio pudo ser útil para la utilización de extractos naturales de antocianinas

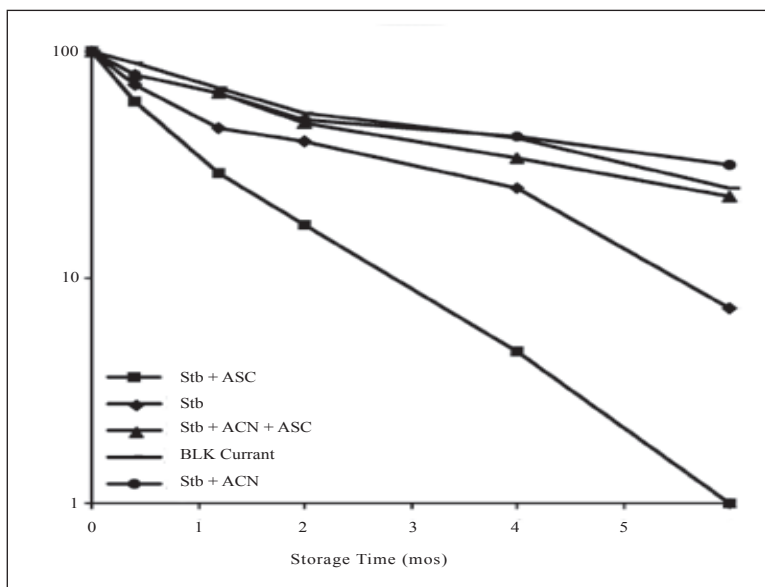
como suplementos alimenticios o colorantes para alimentos extruidos a altas temperaturas o horneados manteniendo las antocianinas y actividad antioxidante durante el procesamiento.

En investigaciones más recientes, Garzón y Wrolstad (2002), confirmaron la aceleración de la destrucción de antocianinas de fresa cuando el ácido ascórbico estaba presente en sistemas naturales y en sistemas modelo. El efecto del ácido ascórbico sobre la estabilidad de las antocianinas ha sido explicado por Jurd (1972) y Poei-Langston y Wrolstad (1981) como una posible reacción de condensación entre el ácido y los pigmentos. Mientras las diferencias en la estructura de las antocianinas pudieron afectar la estabilidad del pigmento, la concentración del pigmento y la matriz alimenticia pudieron también tener un efecto dramático sobre la estabilidad del pigmento. Skrede y colaboradores (1992) compararon la estabilidad de los jarabes de grosella negra y fresa, y los jarabes de fresa fueron fortificados con ácido ascórbico y antocianinas de fresa purificadas al mismo nivel que estuvieron presentes en la grosella negra. Los jarabes de fresa fortificados con antocianinas tuvieron la misma estabilidad que con los de grosella negra (figura 3). Los jarabes de fresa fortificados con ácido ascórbico rápidamente aceleraron la degradación del pigmento.

- d) Otros factores. La hidrólisis de sustituyentes glucosídicos con ácido o enzimas glucosidasas resultaron en la destrucción del pigmento (Wrolstad y colaboradores, 1994). Las antocianinas han incrementado su estabilidad a actividad de agua reducida (Garzón y Wrolstad, 2001), las cuales hicieron que éstas fueran deseables para alimentos deshidratados y de humedad intermedia. La concentración del pigmento y la actividad de agua de la matriz afectaron la estabilidad del color. Garzón y Wrolstad (2002), compararon la estabilidad de la antocianina de fresa (*pelargonidina 3-glucósido*) con la antocianina de la cáscara de rábano (*pelargonidina 3-soforósido 5-glucósido* acilada con ácidos aromáticos y alifáticos) y encontraron que dicha estabilidad era independiente de la estructura, a una misma concentración de pigmento. Trost y colaboradores (2008), concluyeron que determinando las antocianinas más y menos estables, fue crucial para la producción de colorantes naturales alimenticios para mantener la destrucción mínima del color. Entre las antocianinas probadas, la cianidina glucósido fue la más estable. Por otro lado, la malvidina arabinósido y la delphinidina arabinósido fueron las menos estables. De igual manera, Tiwari y colaboradores (2009), propusieron revisar los mecanismos de degradación para las antocianinas y el ácido ascórbico debido a la sonicación y almacenamiento. Los resultados en este estudio

indicaron niveles altos de retención de *pelargonidina-3-glucósido* y ácido ascórbico durante la sonicación. También, durante el almacenamiento una estabilidad más alta de *pelargonidina-3-glucósido* y ácido ascórbico fue observada durante almacenamiento refrigerado a 4°C comparado a 20°C. Un modelo polinomial adecuadamente describió la influencia del tiempo de almacenamiento sobre la estabilidad de la *pelargonidina-3-glucósido* y el ácido ascórbico.

Figura 3. Efecto del ácido ascórbico y fortificación con pigmento de antocianinas sobre la estabilidad de pigmentos de antocianinas en jarabes de fresa y grosella negra



Fuente: Skrede y colaboradores (1992).

Hoshino y colaboradores (1982), demostraron que cuando la concentración de antocianinas alcanzó valores altos, se presentaron fenómenos de autoasociación entre dos cationes flavilio, dos formas hemiketales, dos bases quinoidales e inclusive, entre una base quinoidal y un catión flavilio y protegiendo la molécula de antocianina. Incrementos en la actividad de agua del medio causaron degradación de las antocianinas probablemente debido a una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio para formar las pseudobase inestable (Garzón y Wrolstad, 2001; Olaya y colaboradores, 2008).

Actividad biológica de las antocianinas

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Astrid, 2008). Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecieron intactas (Miyazawa y colaboradores, 1999) y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas estaban relacionados con su actividad antioxidante. En-Qin y colaboradores (2010), demostraron que las antocianinas, los flavonoides y el resveratrol fueron los componentes funcionales principales que eran responsables de la mayoría de las actividades biológicas de la uva. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas fueron efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Ghiselli y colaboradores, 1998). Estos resultados sugirieron que las antocianinas fueran la explicación de la conocida “Paradoja Francesa”. Aunque varias hipótesis existían, se propuso que el bajo riesgo de la enfermedad coronaria en Francia se asociaba con el alto consumo de vino tinto (St. Leger y colaboradores, 1979; Xia y colaboradores, 1998). De igual manera, Wang y Jiao (2000) y Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidenciaban una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido ($ROO\cdot$), superóxido ($O_2\cdot^-$), hidroxilo ($\cdot OH$) y oxígeno singulete (1O_2). Como ejemplo se tenía al fruto de la omija (*Schizandra chinensis*), donde el pigmento consistente mayoritariamente de *Cya-3-O-xylrut* explicado como 86% (DPPH) y 98% (ABTS) demostró actividad antioxidante total de extracto acuoso del fruto (Kim y colaboradores, 2009). A las antocianinas también se les ha atribuido actividad antitumoral y anticancerígena. Hagiwara y colaboradores (2002), demostraron que el suministro de papas púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causaron supresión de tumores. De igual manera Koide y colaboradores (1997), reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa. En cuanto a la actividad anticancerígena, Kamei y colaboradores (1998), reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de Células Cancerígenas Gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto. También Tristan y colaboradores (2005), realizaron bioensayos que demostraron que los arándanos inhibían las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis. Referente a la

actividad antiinflamatoria, Wang y Mazza (2002) encontraron en extractos concentrados de antocianinas efecto inhibitorio de la producción de óxido nítrico en macrófagos activados. Vuorela y colaboradores (2005), encontraron efecto supresor de prostaglandina *EG₂*, sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa. De acuerdo con Tristán y colaboradores (2008), antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres: *Amelanchier alnifolia*, *Viburnum trilobum*, *Prunus virginian* y *Shepherdia argentea*, mostraron propiedades hipoglicémicas. Tales frutos, con alto contenido de sustancias fitoquímicas, han sido consumidos tradicionalmente por tribus norteamericanas para la protección de enfermedades crónicas como diabetes. Otro ejemplo de actividad antidiabética de las antocianinas fue reportado por Perossini y colaboradores (1987). Estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79% de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética. Finalmente, el mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas fue reportado por Ohgami y colaboradores (2005), quienes suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, lo que resultó en un efecto antiinflamatorio y de aumento de la agudeza visual. Joseph y colaboradores, 1999; Shukitt-Hale y colaboradores 2005, demostraron que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio pudo ser mejorado a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas. Otro ejemplo de frutas con estas propiedades, fue la uva y sus principales componentes como las antocianinas, flavonoides y el resveratrol que tienen una variedad de bioactividades como antioxidante, cardioprotectivo, anticancerígeno, antiinflamatorio, antienviejimiento y antimicrobiano, que están estrechamente ligadas en contra de la prevención de enfermedades y promoción de la salud, haciendo más grande el potencial de la uva en el campo de los alimentos y aplicación farmacéutica (En-Qin y colaboradores, 2010). Hoy en día se ha acumulado gran cantidad de información concerniente a la actividad biológica de las antocianinas, debemos profundizar sobre esta funcionalidad. Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta (2008) concluyeron que la literatura existente sobre actividades biológicas proveía suficiente evidencia para pensar que los productos ricos en antocianinas, como bayas o vino tinto, pueden tener un efecto protector sobre la salud humana, especialmente para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Sin embargo, más estudios serán necesarios para establecer las implicaciones reales de antocianinas en estas propiedades promotoras de la salud, en las que muchos estudios han sido hechos usando extractos de frutas o vino y así, otras sustancias pudieron ser total o parcialmente responsables de las actividades biológicas mencionadas.

Las antocianinas como colorantes

La creciente preocupación por la toxicidad de los colorantes sintéticos usados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos ha sido investigada por Hallagan y Lauro (1991) que reportaron que los colorantes rojo núm. 2 y núm. 40 se han prohibido en Austria, Japón, Noruega y Suecia, pero el rojo núm. 40 aún se encontraba en escrutinio en Estados Unidos. Al mismo tiempo, dichos hallazgos se relacionaron con modificaciones en la hiperactividad de niños de edad escolar lo que pudo considerarse un mal neuronal agudo (Breakey y colaboradores, 2002; McCann y colaboradores, 2007). Los antecedentes fueron indicios suficientes para disminuir la demanda de colorantes artificiales en favor del consumo generalizado de colorantes naturales como las antocianinas (Huck y Wilkes, 1996; Birks, 1999; Ersus y Yurdagel, 2007; Olaya y colaboradores, 2008; Wallace y Giusti, 2008). Las políticas regulatorias en cuanto al uso de colorantes derivados de las antocianinas han variado de país a país (Ottersäter, 1999). Estados Unidos ha sido el país más restrictivo en cuanto al uso de las antocianinas como colorantes naturales. Allí, cuatro de los 26 colorantes exentos de certificación y aprobados para el uso en alimentos se derivan de la cáscara de la uva, del extracto de la uva, del jugo de vegetales y del jugo de frutas. Las fuentes más comunes de jugo de vegetales son el repollo morado, los rábanos y diferentes variedades de bayas (Wrolstad, 2004). En contraste, en la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas fueron reconocidos como naturales (Ottersäter, 1999). Recientemente, se han hecho esfuerzos por buscar fuentes de colorantes naturales. Wallace y Giusti (2008) propusieron la adición de bayas de *B. boliviana* enteras, deshidratadas, libres de semillas, ricas en antocianinas para mantener las características similares a los yogur de arándano coloreados sintéticamente con estabilidad mejorada para aplicaciones comerciales en la industria de los alimentos comparado a las betalaínas. Debido a la concentración alta inusual de antocianinas monoméricas en las bayas deshidratadas de *B. boliviana*, no fue necesaria la extracción industrial del pigmento para producir un brillo, estabilidad y color aceptable en sistemas de yogur. El color, el pigmento y la estabilidad fenólica obtenida en este estudio sugirieron que estos colores de fuentes naturales pueden ser usados en todas las matrices del yogur. Fue posible producir productos lácteos atractivos, más nutricionales y saludables fortificados con compuestos fenólicos con antioxidantes de *B. boliviana*. También Menéndez (2008) propuso a la flor de jamaica y de mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) que se pueden utilizar para extraer el colorante antociánico y poder utilizarlo con fines alimenticios (yogur).

Rebolledo (2007) determinó el potencial de coloración en alimentos de un concentrado de jugo de *cranberry* (*Vaccinium macrocarpon*) obtenido por nanofiltración, donde concluyó que el jugo nanofiltrado de *cranberry* concentrado por nanofiltración se pudo utilizar como colorante en alimentos, teniendo en cuenta no someterlo a temperaturas mayores de 90°C para prevenir la formación de sedimentos y la pérdida de antocianos. De igual manera, Amr y Al-Tamimi (2007) investigaron la estabilidad de los extractos crudos de antocianinas de *Ranunculus asiaticus* y su uso como colorantes alimenticios, estos autores concluyeron que, el extracto fue exitosamente usado en la coloración de yogur batido, bebida carbonatada fría y gelatina. Estos resultados indicaron que el extracto pudo ser usado como colorante alimenticio especialmente en sistemas alimenticios desarrollados para almacenamiento a corto tiempo bajo condiciones ácidas y en aquellos en los que tuvieron baja actividad de agua y no recibieron tratamientos térmicos rigurosos. Actualmente, los rápidos avances en la tecnología de alimentos y análisis, han permitido la extracción eficiente, procesamiento e identificación de compuestos de antocianinas de varias frutas, vegetales y granos para ser incorporados rápidamente a la industria de alimentos y bebidas como colorantes naturales, alimentos funcionales y suplementos alimenticios (Shipp y Abdel-Aal, 2010).

Conclusiones

Las antocianinas son pigmentos naturales que imparten colores a las plantas para diversas funciones. La funcionalidad de los colorantes derivados de antocianinas puede ser mejorada si más colorantes de antocianinas altamente purificados fueran a recibir una aprobación regulatoria. Las ventajas podrían ser: mayor poder de tinte, reducción de malos olores, mayor uniformidad e incrementar la estabilidad. Estos pigmentos representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos y para la obtención de productos con valor agregado dirigidos al consumo humano. Incrementando el uso de colorantes de antocianinas aumentaría el consumo en la dieta con la posibilidad de proveer beneficios a la salud. Los colorantes alimenticios reciben un escrutinio regulatorio particular en los Estados Unidos con seguridad y aprobaciones largamente basadas en no causar algún peligro. Algo de consideración debería también ser dada a los beneficios a la salud que estos compuestos pueden proveer. Mucho hay por aprender en cuanto a su estabilidad en matrices específicas y a la relación entre su estructura, la actividad biológica de los metabolitos bioactivos, los efectos sinérgicos y las dosis efectivas.

Referencias

- Amr, A. and E. Al-Tamimi (2007), “Stability of the extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants”, *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 42, pp. 985-991.
- Astrid, G. G. (2008), “Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión”, *Acta biológica Colombiana*, vol. 13(3), pp. 27-36.
- Birks, S. (1999), “The potential of carrots”, *Food-Manufactured*, vol. 47 (4), pp. 22-23.
- Breakey, J., C. Reilly and H. Connell (2002), “The role of food additives and chemicals in behavioral, learning, activity and sleep problems in children”, In A. L. Branen, P. M. Davison, S. Salminen, III. J. H. Thorngate, *Food additives*, New York, Marcel Dekker, pp. 87-88.
- Chengaiyah, B., R. K. Mallikarjuna, K. K. Mahesh, M. Alagusundaram and C. C. Madhusudhana (2010), “Medicinal importance of natural dyes-a review”, *International Journal of Pharm Tech Research*, vol. 2 (1), pp. 144-154.
- Chetan, A. N. and K. N. Rastogi (2010), “Effect of selected additives on microencapsulation of anthocyanin by spray drying”, *Drying Technology*, vol. 28, pp. 1396-1404.
- Delgado-Vargas, F. and O. Paredes-López (2002), *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. Boca Raton, Fla., CRC.
- Durst, R. and R. E. Wrolstad (2001), *Separation and characterization of anthocyanins by HPLC. Handbook of Food Analytical Chemistry*, New Jersey, John Wiley & Sons, p. 33-45.
- Eder, R. (1996), “Pigments: anthocyanins” In *Handbook of Food Analysis*, vol. I (LM Nollet, ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, p. 970.
- En-Qin, X., D. Gui-Fang, G. Ya-Jun, and L. Hua-Bin (2010), “Biological activities of polyphenols from grapes”, *International Journal Molecular Science*, vol. 11, pp. 622-646.
- Ersus, S. and U. Yurdagel (2007), “Microencapsulation of anthocyanins pigments of black carrot (*Daucuscarota L.*) by spray drier”, *Journal Food Engineering*, vol. 80, pp. 805-812.
- Francis, F. J. (1999), *Colorants*, St. Paul, Minn., Eagen Press.
- Garzón, G. A. and R. E. Wrolstad (2001), “The stability of pelargonidin-based anthocyanins at varying water activity”, *Food Chemistry*, vol. 75, pp. 185-96.
- Garzón, G. A. and R. E. Wrolstad (2002), “Comparison of the stability pf pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate”, *Journal of Food Science*, vol. 67(4), pp. 1288-1299.

- Ghiselli, A., M. Nardini, A. Baldi and C. Scaccini (1998), "Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46(2), pp. 361-367.
- Giusti, M. M. and R. E. Wrolstad (1996), "Characterization of red radish anthocyanins", *Journal of Food Science*, vol. 61(2), pp. 322.
- Gong, Z., M. Zhang, S. A. Mujumdar and J. Sun (2008), "Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder", *Drying Technology*, vol. 26, pp. 116-121.
- Hagiwara, A., H. Yoshino, T. Ichiharam, M. Kawabe, S. Tamanos and H. Aoki (2002), "Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-B]pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats", *Journal Toxicology Science*, vol. 27, pp. 57-68.
- Hallagan, J. B. (1991), "The use of certified food color additives in the United States", *Cereal Food World*, vol. 36, pp. 945-948.
- Hoshino, T., U. Matsumoto, T. Goto and N. Harada (1982), "Evidence for the self-association of anthocyanins in neutral aqueous solution", *Tetrahedron Letter*, vol. 23, p. 433.
- Huck, P. and M. C. Wilkes (1996), "Beverage natural colors: chemistry and application", In *International Congress and Symposium on Natural Colorants*, Puerto de Acapulco. Abstracts. México, Asociación Mexicana de Especialistas en Colorantes y Pigmentos Naturales, A. C. p. 11.
- Jackman, L. R. and L. J. Smith, (1992), "Anthocyanins and betalains", In *Natural Food Colorants* (GA Hendry and JD Houghton, eds.), Blackie and Son Ltd., Glasgow, p. 192.
- Joseph, J. A., B. Shukitt-Hale, N. A. Denisova, D. B. Bielinski, A. Martin, and J. J. Mcewen (1999), "Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation", *Journal Neuroscience*, vol. 19, pp. 8114-21.
- Jurd, L. (1972), *Some advances in the chemistry of anthocyanin-type pigments*. In: *Chichester CO, The Chemistry of Plant Pigments*, New York, Academic Press. pp. 123-142.
- Kamei H., Y. Hashimoto, T. Koide, T. Kojima and M. Hasegawa (1998), "Antitumor effect of methanol extracts from red and white wines", *Cancer Biother Radiopharmacology*, vol. 13(6), pp. 447-52.
- Kim, H. S., H. M. Joo and H. S. Yoo (2009), "Structural identification and antioxidant properties of major anthocyanins extracted from omija (*Schizandra chinensis*) fruit", *Journal of Food Science*, vol. 74 (2), pp. 134-140.

- Koide, T., H. Kamei, Y. Hashimoto, T. Kojima and M. Hasegawa (1997), "Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro and in vivo", *Cancer Biother Radiopharmacology*, vol. 12(4), pp. 277-280.
- Lauro, G. J. (1991), "A primer on natural colors", *Journal of American Association Cereal Chemistry*, vol. 36 (11), pp. 949-953.
- Markakis, P., G. E. Livinstong and R. C. Fellers (1957), "Quantitative aspects of strawberry pigment degradation", *Food Research*, vol. 22, pp. 117-130.
- Mazza, G. and E. Miniati (1993), *Anthocyanins en fruits, vegetables and grains*. Boca Raton, Fla., CRC.
- McCann, D., A. Barret, A. Cooper, D. Crumpler, L. Dalen and K. Grimshaw (2007), "Food additives and hyperactive behavior in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial", *Lancet*, vol. 370 (9598), pp. 1560-1567.
- Menéndez, G. W. V. (2008), "Obtención de colorante para su uso en yogur a partir de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y del mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.)", tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica del Litoral, p. 61.
- Miyazawa, T., K. Nakagawa, M. Kudo, K. Muraishi and K. Someya (1999), "Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyaniding-3-glucoside and cyaniding-3,5-diglucoside, into rats and humans", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, pp. 1083-1091.
- Ohgami, K., I. Ilieva, K. Shiratori, Y. Koyama, X. H. Jin and K. Yoshida (2005), "Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis", *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 46, pp. 275-281.
- Olaya, C. M., M. P. Castaño and G. A. Garzón (2008), *Effect of temperature and water activity on the stability of microencapsulated anthocyanins extracted from andes berry (*Rubus glaucus*) and tamarillo (*Solanum betaceum*)*. Observations not published.
- Ottersäater, G. (1999), *Coloring of food, drugs and cosmetics*, New York, Marcel Dekker, Inc.
- Pascual-Teresa, S. and T. Sánchez-Ballesta (2008), "Anthocyanins: from plant to health", *Phytochemistry Reviews*, vol. 7, pp. 281-299.
- Perossini, M., G. Guidi, S. Chiellini and D. Siravo (1987), "Studio clinic sull'impeigo degli antocianisidi del mirtillo (Tegens) nel trattamento delle microangiopathi retiniche di tipo diabético ed ipertensivo", *Ottal clinical ocular*, vol. 113, pp. 1173-90.
- Pitalua, E., M. Jimenez, E. J. Vernon-Carter and C. I. Beristain (2010), "Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum arabic as wall material", *Food and Bioproducts Processing*, vol. 88, pp. 253-258.

- Poei-Langston, M. S. and R. E. Wrolstad (1981), "Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flavanol model system", *Journal of Food Science*, vol. 46 (4), pp. 1218-1222; 1236.
- Rebolledo, O. F. P. (2007), "Determinación del potencial de coloración en alimentos de un concentrado de jugo de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) obtenido por nanofiltración", tesis de Licenciatura, Universidad Austral de Chile, p. 57.
- Shipp, J. and M. E. Abdel-Aal, (2010), "Food applications and physiological effects of anthocyanins as Functional Food Ingredients", *The Open Food Science Journal*, vol. 4, pp. 7-22.
- Shukitt-Hale, B., R. L. Galli, V. Meterko, A. Carey, D. F. Bielinski and T. McGhie (2005), "Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and stress", *Age the Journal of American Aging Association*, vol. 27(1), pp. 49-57.
- Skrede, G., R. E. Wrolstad and G. Enersen (1992), "Color stability of strawberry and black-currant syrups", *Journal of Food Science*, vol. 57, pp. 172-7.
- Sondheimer, E. and Z. I. Kertesz (1953), "Participation of ascorbic acid in the destruction of anthocyanin in strawberry juice and model systems", *Food Research*, vol. 18, p. 475.
- Stintzing, F. C., A. S. Stintzing, R. Carle, B. Frei and R. E. Wrolstad (2002), "Color and antioxidant properties of cyaniding-based anthocyanin pigments", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp. 6172-81.
- ST. Leger, A. S., A. L. Cochrane and F. Moore (1979), "Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wines", *Lancet*, vol. 1, pp. 1017-1020.
- Timberlake, C. F. (1980), "Anthocyanins-ocurrence, extraction and chemistry", *Food Chemistry*, vol. 5 (1), pp. 69-80.
- Tiwari, B. K., C. P. O'Donell, A. Patras, N. Brunton and P. J. Cullen (2009), "Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage", *European Food Research Technology*, vol. 228, pp. 717-724.
- Tristan, F., B. Kraft, B. M. Schmidt, G. G. Yousef, C. T. G. Knigh and M. Cuendet (2005), "Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis", *Journal of Food Science*, vol. 70 (3), pp. S159-S166.
- Tristan, F., D. Mould, R. B. D. Rogers, D. M. Ribnicky, W. T. Gipp and P. Cefaluo, (2008), "Phytochemical composition and metabolic performance-enhancing activity of dietary berries", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56 (3), pp. 654-660.

- Trost, K., A. Golc-Wondra, M. Prosek and L. Milivojevic (2008), "Anthocyanin degradation of blueberry-Aronia nectar in glass compared with carton during storage", *Journal of Food Science*, vol. 73 (8), pp. 405-411.
- Vankar, S. P. and D. Bajpai (2010), "Rose anthocyanins as acid base indicators", *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, vol. 9 (5), pp. 875-884.
- Vourela, S., K. Kreander, M., Karonen, R. Nieminen, M. Hamalainen and A. Galkin (2005), "Preclinical evaluation of rapessed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53 (15), pp. 5922-5931.
- Wallace, T. C. and M. M. Giusti (2008), "Determination of color, pigment and phenolic stability in yogur systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as compared to other natural/synthetic colorants", *Journal of Food Science*, vol. 73, pp. 241-248.
- Wang, S. Y. and H. Jiao (2000), "Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 5677-5684.
- Wang, S. Y. and H. S. Lin (2000), "Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry and strawberry is affected by cultivar and maturity", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 140-146.
- Wang, J. and G. Mazza (2002), "Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN gamma-activated RAW 264.7 macrophages", *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp. 850-857.
- Wrolstad, R. E. (2000), "Anthocyanins. Ch. 11", in Lauro G.J., F. J. Francis (eds.), *Natural food colorants*, New York, Marcel Dekker, Inc.
- Wrolstad, R. E. (2004), "Anthocyanin pigments-bioactivity and coloring properties", *Journal of Food Science*, vol. 69(5), pp. 419-421.
- Wrolstad, R. E., J. D. Wightman and R. W. Durst (1994), "Glycosidic activity of enzyme preparations used in fruit juice processing", *Food Technology*, vol. 48, 90, pp. 4-92; 96; 98.
- Xia, J., B. Allenbrand and G. Y. Sun (1998), "Dietary supplementation of grape polyphenols and chronic ethanol administration on LDL oxidation and platelet function", *Life Science*, vol. 63, pp. 383-390.
- Yue, X. and Z. Xu (2008), "Changes of anthocyanins, anthocyanidins and antioxidant activity in bilberry extract during dry heating", *Journal of Food Science*, vol. 73(6), pp. 494-499.

Actividad biológica de hidrolizados enzimáticos de especies marinas

*Josafat Marina Ezquerra-Brauer, Dulce Alondra Cuevas Acuña,
Enrique Márquez Ríos, Maribel Robles Sánchez,
Wilfrido Torres Arreola*

Resumen

En la presente revisión se describen brevemente las investigaciones llevadas a cabo en los últimos años acerca de la potencial actividad biológica que presentan hidrolizados enzimáticos de origen marino como los teleósteos, moluscos y cefalópodos, haciendo especial énfasis en los hidrolizados del colágeno de calamar gigante. La industria pesquera a nivel mundial ha generado desechos ricos en compuestos con actividad biológica, entre ellos se encuentran subproductos como los hidrolizados enzimáticos. Estudios recientes demuestran que los hidrolizados podían tener actividad biológica (antiproliferativa, antihipertensiva, antimicrobiana, citoprotectora) y propiedades funcionales (espumante, emulsificante), y generan compuestos que pueden ser aprovechados en industrias como la alimentaria, farmacéutica y cosmética.

Palabras clave: hidrolizados enzimáticos, péptidos, antioxidantes, enzimas.

Introducción

Los océanos y mares son una región natural de enorme riqueza vegetal y animal. En ellos hay gran cantidad de recursos que el hombre utiliza como alimento o materia prima. La pesca no sólo se realiza en el mar, también se aprovechan especies de los

ríos y lagos. Adentrándose en la definición de pesca, esta es una actividad desarrollada por el hombre y está encaminada a aprovechar para su beneficio los recursos naturales renovables existentes en el océano (Gulland, 1970).

En cuanto a la pesca en México, esta se remonta, como en todos los lugares del mundo, a los primeros habitantes como medio de sustento, junto con la caza, ejerciendo una influencia decisiva en todos los órdenes de las comunidades y de los individuos pues no sólo era proveedora de medios de alimentación, sino también impulsaba vías de comunicación, la actividad artesanal y artística (Vilches, 1980). En la actualidad, dicha actividad pesquera en México, sigue siendo importante, atribuido a su privilegiada ubicación geográfica, ya que cuenta con cerca de 10 mil kilómetros de costas.

La actividad pesquera en México, al igual que en otros países, se enfrenta a varios problemas relacionados con la pesca, entre éstos destaca que durante el manejo de los productos capturados, ya sea desde el desembarque o durante su procesamiento, sólo se aprovecha entre el 40 y 60% del organismo. Esto ocasiona que se generen altos volúmenes de desechos pesqueros, a pesar de que pueden proporcionar sustancias útiles.

Por lo anterior es que en diversos foros se ha establecido la necesidad de valorizar los subproductos pesqueros y establecer sus aplicaciones industriales. Aunado al hecho de que existe una fuerte tendencia hacia la obtención de productos, que además de poseer cierto valor nutricional, contienen compuestos con actividad fisiológica. Por lo que, la recuperación de los desechos de la pesca favorece por un lado, la no acumulación de basura en los depósitos, que a la larga resultan muy caros tanto desde el punto de vista económico como ambiental y, por otro, permiten la obtención de sustancias con actividades funcionales y/o biológicas.

El tema de la identificación de compuestos con actividades funcionales y/o biológicas a partir de las regiones anatómicas de los organismos marinos que son poco aprovechadas, es un tópico que se ha manejando desde hace ya varios años por diversos grupos de investigación, siendo los hidrolizados proteicos uno de los compuestos útiles obtenidos a partir de los denominados erróneamente desechos pesqueros.

Los hidrolizados pueden obtenerse a partir de diversas proteínas presentes en la cabeza, piel u otras regiones anatómicas de los organismos marinos, dentro de las que destaca el colágeno (Gómez-Guillén y colaboradores, 2002).

El colágeno es el constituyente mayoritario del tejido conectivo de los animales, aves y peces. Mediante una serie de procesos enzimáticos la proteína se hidroliza, generándose péptidos que han presentado diversas actividades biológicas y/ funcionales. En cuanto a la búsqueda de péptidos con actividad biológica y/o funcionales a partir de los hidrolizados colágeno de organismos marinos destacan los descubrimientos de

actividades antioxidantes, antitrombóticas o antihipertensivas (Theodore y colaboradores, 2008; Aleman y colaboradores, 2011).

El colágeno sin hidrolizar, también puede ser aprovechado, ya que posee la capacidad para atrapar agua y grasa por lo que se utilizan como ingredientes en una gran variedad de productos cárnicos (Wolf y colaboradores, 2006), y debido a esta propiedad, se pronostica que pueden ser aprovechadas para la elaboración de biopelículas. Esto surge ante la demanda de obtener películas que sean amigables con el medio ambiente, que se elaboren a partir de material que se bio-degrade fácilmente y que provenga de fuentes naturales y renovables (Ötles y Ötles, 2004). Las películas de colágeno presentan alta higroscopicidad y permeabilidad al oxígeno, atribuidas a las características estructurales de su molécula que tiende a formar superficies muy desordenadas, pero esto puede mejorarse al mezclarse con otros polímeros que aporten sus propiedades mecánicas y físicas. Dichas mejoras dependerán del tipo de interacción química que se presente entre el colágeno y el polímero.

En estudios de biocompatibilidad del colágeno con quitosano (éste se obtiene de la desacetilación de la quitina presente en el exoesqueleto de crustáceos), se vio que había una interacción entre los grupos funcionales cargados positivamente del quitosano con un alto potencial de producir composites con aplicaciones novedosas (Urirarte-Montoya y colaboradores, 2010; Arias-Moscoso y colaboradores, 2011).

En este capítulo se dará una breve descripción sobre las investigaciones que se han desarrollado sobre la identificación y aislamiento de materiales bioactivos a partir hidrolizados enzimáticos de origen y de organismos marinos, en donde se podrá apreciar que a pesar de que se han desarrollado diversos métodos de producción de compuestos bioactivos, aún faltan más investigaciones por realizar.

Generalidades del colágeno

El colágeno es el constituyente mayoritario del tejido conectivo de los animales, aves y peces. En si el nombre de colágeno es un término genérico para distinguir una familia de moléculas que poseen como común denominador una estructura básica: que consiste de una triple hélice de tres cadenas polipeptídicas, cada una con alrededor de mil residuos de longitud. Aproximadamente 19 tipos de moléculas de colágeno han sido aisladas y estas variaron en cuanto al tipo de enlaces moleculares que se presentaron entre las tres cadenas polipeptídicas, su tamaño, función, y distribución en el tejido. Las tres cadenas polipeptídicas en general están unidas entre sí por puentes de hidrógeno que se establecen entre los grupos amino y carboxilo de las unidades de glicina, que constituyen un tercio de la composición. La prolina (x) y la

hidroxiprolina (Y) son otros aminoácidos fundamentales de la molécula, dando lugar a la secuencia característica tipo *Gly-X-Y*. El resultado de la asociación intermolecular es una triple hélice que posteriormente se agrupa para formar fibrillas. Solamente las regiones muy cortas de N y C terminales, denominadas telopéptidos, no forman la estructura triple hélice. El colágeno presenta entrecruzamientos tanto intra como inter moleculares, donde se involucran principalmente residuos de lisina e hidroxilisina y derivados de aldehídos, que se localizan principalmente en la región telopeptídica (Bateman y colaboradores, 1996). El grado de entrecruzamiento es altamente variable y depende, de entre otros factores, principalmente del tipo de colágeno, del tipo de tejido, de la especie del animal y de la edad.

Colágeno de origen marino

El contenido de colágeno en organismos marinos es menor que en mamíferos. Varía del 1 al 12% de la proteína y entre el 0.2 y 2.2% del peso del músculo (Haard, 1995). Se ha demostrado que su papel más importante es el mantener la estructura del músculo y está estrechamente relacionado con la capacidad natatoria de los peces (Sato y colaboradores, 1989) quizás debido a que es el mayor contribuyente de la fuerza tensil del músculo (Espe y colaboradores, 2003).

Los organismos acuáticos son heterogéneos en composición, y el tipo de colágeno presente en éstos y sus características varían entre especies. El colágeno tipo I y el tipo V son los más identificados como constituyentes del tejido conectivo de los organismos marinos, y no se ha encontrado en cantidades detectables el tipo III, fracción mayoritaria en perimio de mamíferos (Sato y colaboradores, 1989).

La información a nivel de secuencia en el colágeno se ha obtenido mediante métodos de química de proteínas y proteómica. Se ha determinado la existencia de un polipéptido denominado *FAmIa*, que fue dividido en dos dominios: un dominio típico del colágeno helicoidal de 415 aminoácidos, correspondientes a la secuencia repetida de 138 *Gly-Xaa-Yaa*, con un aminoácido adicional y un dominio de la cadena no-helicoidal *N-terminal* de 269 aminoácidos incluyendo seis residuos de cisteínas. Observándose en el dominio no helicoidal una substitución de glicina por alanina (Exposito y colaboradores, 2010).

Importancia industrial del colágeno

Las mayores aplicaciones del colágeno han incluido productos para la piel como cosméticos, debido a sus propiedades humectantes, en productos biomédicos como implantes y en la producción de gelatina para la industria alimentaria (Nam y colaboradores, 2008).

La gelatina ha tenido un amplio rango de aplicaciones y se ha obtenido principalmente de organismos terrestres. Sin embargo, al existir un creciente interés en la búsqueda de fuentes alternas para su obtención, los desechos de especies de origen marino han resultado una buena opción (Karim y Bhat, 2009). Las gelatinas de origen marino presentan propiedades visco-elásticas muy bajas, comparadas con las de mamíferos terrestres, lo que ha llevado a la búsqueda de otras aplicaciones como la obtención de películas e hidrolizados enzimáticos (Gómez-Guillen y colaboradores, 2009). Otra aplicación del colágeno es en la obtención de películas. Éstas tienden a ser altamente higroscópicas y presentan superficies rugosas e irregulares (Uriarte-Montoya y colaboradores, 2010; Arias-MoscOSO y colaboradores, 2011).

A partir de los hidrolizados proteicos se pueden obtener péptidos de tamaños variantes, generándose péptidos de muy bajo peso molecular o incluso aminoácidos libres (Vioque y colaboradores, 2001). Estos hidrolizados se pueden utilizar como suplementos nutricios, ingredientes funcionales, potenciadores de sabor en alimentos, en cosméticos y productos de cuidado personal. Incluso, se han detectado péptidos biológicamente activos que pueden tener un efecto benéfico para la salud humana (Moller y colaboradores, 2008). De entre las actividades biológicas reportadas se encuentran la antiproliferativa, antihipertensiva, antimicrobiana, citoprotectora, antioxidante, quimopreventiva (Lee y colaboradores, 2004).

Hidrolizados Proteicos

La hidrólisis proteica consiste en la rotura del enlace peptídico y en consecuencia la generación de péptidos de menor tamaño o incluso de aminoácidos libres si no hay control adecuado de la hidrólisis (Vioque y colaboradores, 2001), observándose que una vez que se lleva a cabo la hidrólisis de las proteínas estas presentaron diferentes actividades biológicas, siendo la más detectada hasta la fecha, la actividad antioxidante (cuadro 1).

En cuanto a la actividad antioxidante, el mecanismo exacto de cómo los péptidos actúan como antioxidantes no ha sido completamente elucidado. Se sabe que algunos aminoácidos tienen propiedades antioxidantes; entre éstos estaban la histidina, triptófano, lisina, metionina y prolina, que se han estudiado en diversos sistemas experimentales (Mendis y colaboradores, 2005a; Shahidi y Amarowicz, 1996). En cuanto a la capacidad de aumentar la actividad secuestrante de radicales libres de los péptidos obtenidos de hidrolizados de la piel de pescado, se atribuyó a residuos aromáticos (Bougatef y colaboradores, 2009). Mientras que la falta de actividad quelante de iones de los hidrolizados de la gelatina del calamar fue relacionada con la falta

de histidina (Mendis y colaboradores, 2005a). En cuanto a las propiedades antioxidantes detectadas en los hidrolizados de gelatina de calamar, se atribuyó al alto grado de hidroxilación de prolina y lisina en comparación con la secuencia de los hidrolizados de otras fuentes (Gimenez y colaboradores, 2009a).

Otras propiedades evaluadas de los hidrolizados de colágeno obtenidos de calamar (*Todarode pacificus*), fue la capacidad de éstos hidrolizados de actuar como agentes espesantes y estabilizadores en alimentos, que se atribuyó a la formación de una red de hidratación en las cadenas polipeptídicas de triple hélice del colágeno mediante puentes de hidrógeno intra e intermoleculares (Nam y colaboradores, 2008).

Una actividad muy interesante detectada en los péptidos de origen marino es la antiproliferativa. Esta actividad antiproliferativa de los péptidos se atribuyó a un péptido con propiedades hidrofóbicas, que fue obtenido de anchoveta (Lee y colaboradores, 2004). Recientemente, se reportó que los hidrolizados de la gelatina obtenida de la piel del calamar gigante poseían la capacidad de actuar como inhibidores de la *angiotensina-I*, lo que se relacionó con la presencia de residuos de leucina presente en los péptidos obtenidos, además de péptidos glucosilados, que a su vez pudieron contribuir a la alta actividad antioxidante detectada (Aleman y colaboradores, 2011).

Cuadro 1. Ejemplos de péptidos de origen animal con actividad biológica

<i>Fuente</i>	<i>Secuencia</i>	<i>Propiedad</i>	<i>Autores</i>
Abadejo	GEHxGPHxGPHxGPHxG	Antioxidante	(Kim y colaboradores, 2001)
Elastina porcina	DAQEKLE	Antioxidante	(Saiga y colaboradores, 2003)
Calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	FDSGPAGVL	Antioxidante	(Mendis y colaboradores, 2005a)
Hoki (<i>Johnius belengerii</i>)	HGPL	Antioxidante	(Mendis y colaboradores, 2005b)
Ostra (<i>Crassostrea gigas</i>)	LKQELEDLLEKQE	Antioxidante	(Qian y colaboradores, 2008)
Caseína de leche de cabra	LKKISQ	Antihipertensivo	(López-Exposito y colaboradores, 2007)
Caseína de leche de cabra	PYVRYL	Antihipertensivo Antioxidante Antibacterial	(López-Exposito y colaboradores, 2007)
Hidrolizados de la gelatina de la piel del calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	GPLGLLGFLGPLGLS	Antioxidante Antihipertensivo	(Aleman y colaboradores, 2011)

Fuente: elaboración propia.

También es posible obtener péptidos específicos o precursores de los mismos mediante técnicas de ADN recombinante en microorganismos. Tal es el caso de la caseína expresada como caseína *asI*- recombinante en *E. coli*, cuyo hidrolizado con tripsina presentó actividad antihipertensiva (Korhonen y Pihlanto, 2006).

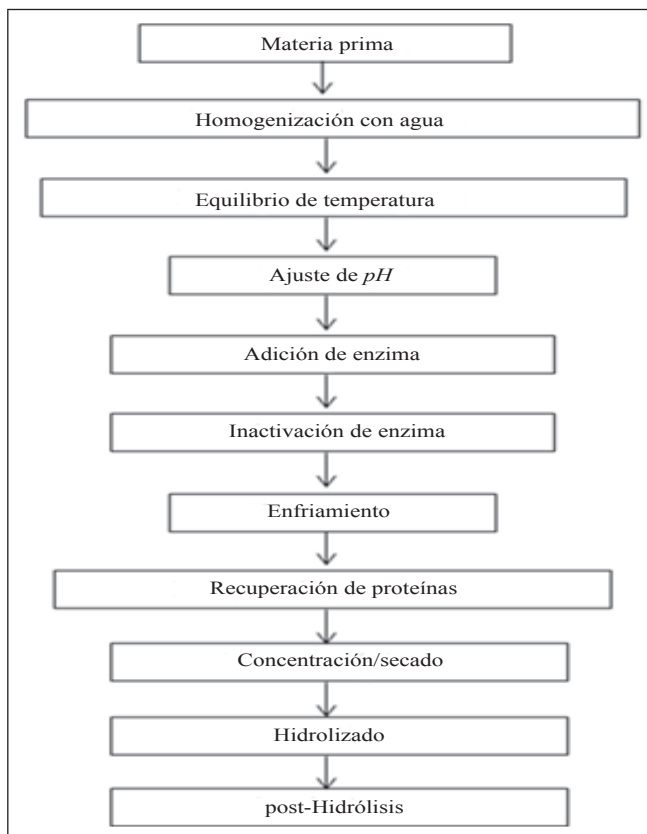
Factores que influyen en las propiedades antioxidantes de hidrolizados

Para la obtención de hidrolizados se pueden seguir varios pasos. Los más comunes abarcan desde la obtención de la materia prima, la materia extraída de la naturaleza y que se transforman para obtener los hidrolizados, hasta el tratamiento que debió proporcionárseles a estos hidrolizados para poder ser convertidos en bienes de consumo (figura 3). Las propiedades antioxidantes de los hidrolizados proteicos dependen de factores como el tipo de enzimas utilizadas, el grado de hidrólisis de las mismas, la fuente de los hidrolizados proteicos y el desarrollo de procesos post-hidrólisis (Raghavan y Kristinsson, 2008; Xue y colaboradores, 2009; Klompong y colaboradores, 2007; Thiansilakul y colaboradores, 2007; Klompong y colaboradores, 2009; Gimenez y colaboradores, 2009a; Nam y colaboradores, 2008; Song y colaboradores, 2008). A continuación se mencionan algunos casos.

En un estudio de hidrolizados proteicos obtenidos de jurel (*Selaroides leptolepis*), se observó el efecto que tuvieron el tipo de enzima y el grado de hidrólisis sobre la actividad antioxidante y propiedades funcionales de los mismos. Las enzimas utilizadas fueron Alcalasa (enzima bacteriana) y Flavorzyme (enzima fúngica). Se observó que la propiedad quelante de los hidrolizados fue mejor en el hidrolizado de la enzima fúngica que la bacteriana. Pero al evaluar la capacidad para atrapar radicales libres, se obtuvo que con péptidos con bajo grado de hidrólisis se tenían mayor actividad secuestrante (Klompong y colaboradores, 2007).

Kim y colaboradores (2001), al trabajar con hidrolizados de gelatina de piel de abadejo (*Theragra chalcogramma*), detectaron que los hidrolizados obtenidos con la enzima Pronasa E presentaron una mayor capacidad para inhibir la oxidación del ácido linoléico que aquellos obtenidos con Alcalasa o Colágenasa. Estos hidrolizados posteriormente fueron purificados y se estableció que poseían una secuencia de aminoácidos muy similar. La diferencia radicaba en que el hidrolizado de pronasa contenía tres residuos de aminoácidos extras (Gly-Glu-Hyp) en la parte *N-terminal* del péptido.

Figura 3. Principales pasos en la producción de hidrolizados



Fuente: elaboración propia.

Continuando con los trabajos realizados en hidrolizados de origen marino, se trabajó con la tilapia (*Oreochromis niloticus*), donde se encontró que los hidrolizados obtenidos con la mezcla enzimática comercial Criotina (tripsina, quimotripsina y elastasa) fueron más efectivos para inhibir el desarrollo de sustancias reaccionantes al ácido tiobarbitúrico (TBARs) y formación de hidroperóxidos (PV) que los hidrolizados obtenidos por acción de proteasas bacterianas, siendo éstos últimos más efectivos para atrapar radicales (evaluado mediante la técnica de DPPH) y como agente quelante de iones (Raghavan y colaboradores, 2008).

Otro actor a considerar como ya se mencionó durante la obtención de hidrolizados es el grado de hidrólisis (Klompong y colaboradores, 2007). Por ejemplo, a mayor grado de hidrólisis en los hidrolizados de bagre, se aumentó la capacidad de absorción de radicales oxígeno y la capacidad quelante de metales; mientras que, a menor grado de hidrólisis se incremento la capacidad de captar radicales libres medido por el método DPPH y el poder antioxidante de reducir al hierro (FRAP). En los hidrolizados de tilapia, la capacidad antioxidante equivalente de Trolox aumentó conforme se incrementó el grado de hidrólisis (Raghavan y colaboradores, 2008; Theodore y colaboradores, 2008). Los hidrolizados con menor peso molecular (<200 KDa) de gelatina de piel de calamar (*Dosidicus eschrichtii* Steenstrup) presentaron mayor rendimiento como secuestrante de radicales (Lin y Li, 2006).

Aplicación de hidrolizados enzimáticos en la industria alimentaria

La aplicación más reportada para los hidrolizados enzimáticos es la propiedad antioxidante. Los antioxidantes son compuestos comúnmente utilizados para retardar la oxidación lipídica. Los antioxidantes para ser utilizados como aditivos en alimentos deben satisfacer varios requerimientos como: ser efectivos a bajas concentraciones, seguridad, no poseer color, olor o sabor extraño; deben ser aplicables para alimentos procesados y para materia prima, fáciles de analizar en alimentos y de bajos costos. Debido a que la mayoría de los antioxidantes sintéticos no cumplen con todos los requerimientos, y además algunos pueden dañar la salud, en los últimos años, ha habido un creciente interés por identificar propiedades antioxidantes en varias fuentes naturales, entre las que se incluyen las proteínas (Hattori y colaboradores, 1998; Park y colaboradores, 2008).

Se ha contado con una vasta evidencia científica de la existencia de péptidos biológicamente activos y proteínas derivadas de alimentos que pudieran tener un efecto benéfico para la salud humana (Moller y colaboradores, 2008). Entre las actividades biológicas reportadas se encontraron la actividad antiproliferativa, antihipertensiva, antimicrobiano, citoprotector, antioxidante, quimopreventiva, etc. (Lee y colaboradores, 2004). Estos compuestos pudieran ser aprovechados en industrias como la alimentaria, farmacéutica y cosmética (cuadro 2). Las fracciones proteicas con propiedad antioxidante presentan como común denominador aminoácidos hidrofóbicos. Estos péptidos incluso pueden llegar a tener la capacidad de inhibir enzimas oxidativas (Shurink y colaboradores, 2006).

Una posible aplicación de los péptidos, en especial aquéllos con propiedades antioxidantes es la incorporación de éstos en las películas utilizadas para el empaque de alimentos. La información en esta área de aplicación de los péptidos antioxidantes en películas ha sido sumamente escasa, de ahí la importancia de desarrollar más investigaciones en este tema. A la fecha, la incorporación de hidrolizados de gelatina de calamar a películas de gelatina de calamar favoreció las propiedades antioxidantes de las películas (Gimenez y colaboradores, 2009b).

Cuadro 2. Actividad biológica y funcional de hidrolizados de origen marino

<i>Especie</i>	<i>Enzima</i>	<i>Propiedad</i>	<i>Autores</i>
Calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	Pepsina, Tripsina y Quimiotripsina	Antioxidante	(Mendis y colaboradores, 2005a)
Hoki (<i>Johnius belengerii</i>)	Pepsina, Tripsina y Quimiotripsina	Antioxidante	(Mendis y colaboradores, 2005b)
Calamar gigante volador (<i>Dosidicus eschrichtii</i> Steenstrup)	Properasa E, Pepsina y Papaína	Antioxidante	(Lin y Li, 2006)
Salmón atlántico (<i>Salmo salar</i>)	Alcalasa	Antiproliferativa	(Picot y colaboradores, 2006)
Pepino de mar (<i>Paracaudina chinensis</i> var)	Bromielaina	Antioxidante	(Zeng y colaboradores, 2007)
Jurel de franjas amarillas (<i>Selaroides leptolepis</i>)	Alcalasa y Flavourzyme	Antioxidante Espumante Emulsificante	(Klompong y colaboradores, 2007; Klompong y colaboradores, 2009)
Macarela japonesa (<i>Decapterus maruadsi</i>)	Alcalasa y Flavourzyme	Antioxidante	(Thiansilakul y colaboradores, 2007)
Pescado de bajo valor económico	Papaína y Flavorasa	Antioxidante y Antibacteriana	(Deng y colaboradores, 2008)
Ostra (<i>Crassostrea gigas</i>)	Pepsina, Tripsina y Quimiotripsina	Antioxidante	(Qian y colaboradores, 2008)
Concha (<i>Arca Subrenata</i>)	Alcalasa, Neutrasa y Papaína	Antioxidante	(Song y colaboradores, 2008)

Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Criotina, Amano N, Amano A2, Flavourzyme, Neutrasa	Antioxidante	(Raghavan y colaboradores, 2008)
Calamar (<i>Todarodes pacificus</i>)	Tratamiento HCl 6N	Inhibidor de tirosinasa y elastasa, Antioxidante y Estabilizador en alimentos	(Nam y colaboradores, 2008)
Alga marina café (<i>Ishige okamurae</i>)	Alcalasa, Flavourzyme, Neutrasa y Protomex	Antioxidante y Citoprotector	(Heo y Jeon, 2008)
Medusa (<i>Rhopilema esculentum</i>)	Tripsina	Antioxidante	(Zhuang y colaboradores, 2009)
Lenguado	Alcalasa	Antioxindante Espumante Emulsificante	(Gimenez y colaboradores, 2009a)
Esturión pérsico (<i>Acipenser persicus</i>)	Alcalasa	Aditivo en dietas	(Ovissipour y colaboradores, 2009)
Cazón (<i>Mustelus mustelus</i>)	Tripsina, Pepsina	Antioxidante	(Bougatef y colaboradores, 2009)
Jurel de franjas amarillas (<i>Selaroides leptolepis</i>)	Alcalasa, Flavourzyme	Antioxidante Antimutagenico	(Klompong y colaboradores, 2009)
Salmón atlántico (<i>Salmo salar</i>)	Pepsina, Pancreatina, Termolisina	Antihipertensivo Antioxidante	(Nakajima y colaboradores, 2009)
Sable negro (<i>Aphanopus carbo</i>)	Protomax	Antioxidante	(Batista y colaboradores, 2010)
Calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	Alcalasa	Antihipertensivo	(Alemán y colaboradores, 2011)

Fuente: elaboración propia.

Perspectivas de hidrolizados enzimáticos de origen marino

Desde hace algunas décadas se han conformado grupos de investigación, cuyo interés central es una mejor utilización de los recursos acuáticos. Donde, la producción de hidrolizados a partir de la proteína de los organismos marinos y específicamente de los desechos de la pesca es un tema en el que más se ha trabajado en los

últimos años. Las aplicaciones de los hidrolizados actualmente se ha centrado en la obtención de ingredientes funcionales, debido a que existen evidencias de que éstos hidrolizados proteicos poseen propiedades únicas como la actividad antioxidante, antiproliferativas, antihipertensivas y otras.

Aprovechando la actividad antioxidante que los hidrolizados presentan, una aplicación sería como ingredientes naturales en varios sistemas alimentarios, ya que pueden favorecer la disminución de la pérdida de calidad de los alimentos y así prolongar su vida de anaquel. Pero habría que valorar que efecto tendría la adición de esos hidrolizados sobre las propiedades organolépticas de los alimentos.

Otro uso que pudieran tener los hidrolizados de productos marinos, por sus propiedades antiproliferativas y antihipertensivas es en la industria farmacéutica y médica. Sin embargo, aun faltaría esclarecer cómo es el mecanismo exacto de su acción.

A pesar de los avances que se han tenido sobre los procesos de obtención de los hidrolizados proteicos y debido a la creciente demanda que hay sobre el aprovechamiento integral de los productos pesqueros, deben continuarse las investigaciones con el fin de darles un mayor valor en el mercado a los mal llamados desechos pesqueros. Por último, hay que recordar que nuestro mañana dependerá de lo que desechemos y aprovechemos hoy.

Referencias

- Adler-Nissen, J. (1986), *Enzymic hydrolysis of food proteins*. Elsevier Applied Science Publishers, New York, pp. 427.
- Alemán, A., B. Giménez, E. Pérez-Santin, M. C. Gómez-Guillen, P. Montero (2011), “Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate”, *Food Chemistry*, vol. 128, pp. 334-341.
- Arias-Moscoso, J. L., H. Soto-Valdez, M. Plascencia-Jatomea, R. L. Vidal-Quintanar, O. Rouzaud-Sández and J. M. Ezquerro-Brauer (2011), “Composites of chitosan with acid-soluble collagen from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by-products”, *Polymer International* DOI 10.1002/pi.3048.
- Bateman, J. F., S. R. Lamandé and J. A. M. Ramshaw (1996), “Collagen superfamily” in W. D. Comper (ed.), *Extracellular matrix. Molecular components and interactions*, vol. 2, pp. 22–27, UK, Harwood Academic Publishers.
- Batista, I., C. Ramos, J. Coutinho, N. M. Bandarra and M. L. Nunes (2010), “Characterization of protein hydrolysate and lipids obtained from black scabbardfish

- (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative of the hydrolysates produced”, *Process Biochemistry*, vol. 45, pp. 18-24.
- Bougatef, A., M. Hajji, R. Balti, I. Lassoued, Y. Triki-Ellouz and M. Nasri (2009), “Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases”, *Food Chemistry*, vol. 114 (4), pp. 1198-1205.
- Deng, S. G., J. C. Huo and C. Xie (2008), “Preparation by enzymolysis and bioactivity of iron complex of fish protein hydrolysate (Fe-FPH) from low value fish”, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, vol. 26 (3), pp. 300-306.
- Espe, M., T. Hagenes and K. E. Gulbrandsen (2003), “Age of farmed Atlantic salmon at seawater transfer affects muscle collagen content and solubility harvest”, *Journal of Food Science*, vol. 68 (5), pp. 1814-1817.
- Exposito, J. Y., U. Valcourt, C. Cluzel and C. Lethais (2010), “The fibrillar collagen family”, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 11, pp. 407-426.
- Gimenez, B., A. Aleman, P. Montero and M. C. Gomez-Guillen (2009a), “Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid”, *Food Chemistry*, vol. 114 (3), pp. 976-983.
- Gimenez, B., J. Gomez-Estaca, A. Aleman, M. C. Gomez-Guillen and P. Montero (2009b), “Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin”, *Food Hydrocolloids*, vol. 23 (5), pp. 1322-1327.
- Gómez-Guillén, M. C., J. Turnay, M. D. Fernández-Díaz, N. Ulmo, M. A. Lizarbe and P. Montero (2002), “Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study”, *Food Hydrocolloids*, vol. 16(1), pp. 25-34.
- Gómez-Guillén M. C., M. Pérez-Mateos, J. Gómez-Estaca, E. López-Caballero, B. Gimenez and P. Montero (2009), “Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films”, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 20, pp. 3-16.
- Hattori, M., K. Yamaji-Tsukamoto, H. Kumagai, Y. W. Feng and K. Takahashi (1998), “Antioxidative activity of soluble elastin peptides”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46 (6), pp. 2167-2170.
- Haard, N. F. (1995), “Composition and nutritive value of fish proteins and other nitrogen compounds” in A. Ruiter (ed.), *Fish and Fishery Products Composition, Nutritive Properties and Stability*, Wallingford, CAB International pp. 77-115.
- Heo, S. J. and Y. J. Jeon (2008), “Radical scavenging capacity and cytoprotective effect of enzymatic digests of *Ishige okamurae*”, *J Appl Phycol*, vol. 20, pp. 1087-1095.

- Karim, A. A. and R. Bhat (2009), "Fish gelatin: properties, challenges, and prospect as an alternative to mammalian gelatins", *Food Hydrocolloids*, vol. 23, pp. 563-576.
- Kim, S. K., Y. T. Kim, H. G. Byun, K. S. Nam, D. S. Joo and F. Shahidi (2001), "Isolation and Characterization of Antioxidative Peptides from Gelatin Hydrolysate of Alaska Pollack Skin", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49 (4), 1984-1989.
- Klompong, V., S. Benjakul, D. Kantachote and F. Shahidi (2007), "Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type", *Food Chemistry*, vol. 102 (4), pp. 1317-1327.
- Klompong, V., S. Benjakul, M. Yachai, W. Visessanguan, F. Shahidi and K. D. Hayes (2009), "Amino Acid Composition and Antioxidative Peptides from Protein Hydrolysates of Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*)", *Journal of Food Science*, vol. 74 (2), pp. C126-C133.
- Korhonen, H. and A. Pihlanto (2006), "Bioactive peptides: Production and functionality", *International Dairy Journal*, vol. 16, pp. 945-960.
- Lee, Y., K. Lee, J. Kim, K. Kim and H. Lee (2004), "Induction of apoptosis in a human lymphoma cell line by hydrophobic peptide fraction separated from anchovy sauce", *Biofactors*, vol. 21 (1-4), pp. 63-67.
- Lin, L. and B. F. Li (2006), "Radical scavenging properties of protein hydrolysates from jumbo flying squid (*Dosidicus eschrichtii* Steenstrup) skin gelatin", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, pp. 2290-2295.
- López-Exposito, I., A. Quirós, L. Amigo and I. Recio (2007), "Casein hydrolysates as a source of antimicrobial, antioxidant and antihypertensive peptides", *LeLait Journal*, vol. 87, pp. 241-249.
- Mendis, E., N. Rajapakse, H. G. Byun and S. K. Kim (2005a), "Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects", *Life Sciences*, 77 (17), pp. 2166-2178.
- Mendis, E., N. Rajapakse and S. K. Kim (2005b), "Antioxidant Properties of a Radical-Scavenging Peptide Purified from Enzymatically Prepared Fish Skin Gelatin Hydrolysate", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53 (3), pp. 581-587.
- Moller, N. P., K. E. Scholz-Ahrens, N. Roos and J. Schrezenmeir (2008), "Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects", *European Journal of Nutrition*, vol. 47 (4), pp. 171-182.
- Nakajima, K., Y. Yoshie-Stark and M. Ogushi (2009), "Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates", *Food Chemistry*, vol. 114 (3), pp. 844-851.

- Nam, K. A., S. G. You and S. M. Kim (2008), “**Molecular and Physical Characteristics of Squid (*Todarodes pacificus*) Skin Collagens and Biological Properties of Their Enzymatic Hydrolysates**”, *Journal of Food Science*, vol. 73 (4), pp. C249-C255.
- Neklyudov, A. D., A. N. Ivankin and A. V. Berdutina (2000), “**Production and Purification of Protein Hydrolysates**”, *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 36 (4), pp. 317-324.
- Ötles, S. and S. Ötles (2004), “**Biobased packaging materials for the food industry- Types of Biobased Packaging Materials Természetes alapú élelmiszeripari csomagoló anyagok-Természetes csomagolóanyagok típusai**”, *Évofylam*, vol. 53, pp. 116-119.
- Ovissipour, M., A. Abedian, A. Motamedzadegan, B. Rasco, R. Safari and H. Shahiri (2009), “**The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera**”, *Food Chemistry*, vol. 115 (1), pp. 238-242.
- Park, E. Y., M. Morimae, Y. Matsumura, Y. Nakamura and K. Sato (2008), “**Antioxidant Activity of Some Protein Hydrolysates and Their Fractions with Different Isoelectric Points**”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56 (19), pp. 9246-9251.
- Picot, L., S. Bordenave, S. Didelot, I. Fruitier-Arnaudin, F. Sannier, G. Thorkelsson, J. P. Berge, F. Guerard, A. Chabeaud and J. M. Piot (2006), “**Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines**”, *Process Biochemistry*, vol. 41 (5), pp. 1217-1222.
- Qian, Z. J., W. K. Jung, H. G. Byun and S. K. Kim (2008), “**Protective effect of an antioxidative peptide purified from gastrointestinal digests of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage**”, *Bioresource Technology*, vol. 99 (9), pp. 3365-3371.
- Raghavan, S. and H. G. Kristinsson (2008), “**Antioxidative Efficacy of Alkali-Treated Tilapia Protein Hydrolysates: A Comparative Study of Five Enzymes**”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (4), pp. 1434-1441.
- Raghavan, S., H. G. Kristinsson and C. Leeuwenburgh (2008), “**Radical Scavenging and Reducing Ability of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Protein Hydrolysates**”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56 (21), pp. 10359-10367.
- Saiga, A., S. Tanabe and T. Nishimura (2003), “**Antioxidant Activity of Peptides Obtained from Porcine Myofibrillar Proteins by Protease Treatment**”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51 (12), pp. 3661-3667.
- Sato, K., R. Yoshinaka, Y. Itoh and M. Sato (1989), “**Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissue of fish**”, *Comparative Biochemistry Physiology*, vol. 92B, pp. 87-91.

- Shahidi, F. and R. Amarowicz (1996), "Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates from Aquatic Species", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 73 (9), p. 1197.
- Shurink, M., W. J. H. van Berkel, H. J. Wichers and C. G. Boeriu (2006), "Identification of Antioxidant Peptides using SPOT Synthesis" in *Understanding Biology Using Peptides*, New York, Springer, pp. 740-741.
- Song, L., T. Li, R. Yu, C. Yan, S. Ren and Y. Zhao (2008), "Antioxidant Activities of Hydrolysates of Arca Subcrenata Prepared with Three Proteases", *Marine Drugs*, vol. 6, pp. 607-619.
- Theodore, A. E., S. Raghavan and H. G. Kristisson (2008), "Antioxidative Activity of Protein Hydrolysates Prepared from Alkaline-Aided Channel Catfish Protein Isolates", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp. 7459-7466.
- Thiansilakul, Y., S. Benjakul and F. Shahidi (2007), "Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme", *Journal of Food Biochemistry*, vol. 31 (2), pp. 266-287.
- Torres-Arreola, W., R. Pacheco-Aguilar, R. R. Sotelo-Mundo, O. Rouzaud-Sández, and J. M. Ezquerra-Brauer (2008), "Partial characterization of collagen from mantle, fin, and arms of jumbo squid (*Dosidicus gigas*)", *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 64, pp. 101-108.
- Uriarte-Montoya M. H., J. L. Arias-Moscoso, M. Plascencia-Jatomea, H. Santacruz-Ortega, O. Rouzaud-Sández, J. L. Cárdenas-López, E. Márquez-Ríos and J. M. Ezquerra-Brauer (2010), "Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle collagen: Extraction, characterization, and potential application in the preparation of chitosan-collagen biofilms", *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. 4212-4219.
- Vioque, J., A. Clemente, J. Pedroche, M. D. M. Yust and F. Millan (2001), "Obtención y aplicaciones de hidrolizados protéicos", *Grasas y Aceites*, vol. 52 (2), pp. 132-136.
- Walker, J. M. and P. J. Sweeney (2002), "Production of Protein Hydrolysates Using Enzymes", in J. M. Walker (ed.), *The Protein Protocols Handbook*, Hatfield UK, Humana, pp. 563-566.
- Wolf, K. L., P. J. A. Sobral and V. R. N. Telis (2006), "Characterizations of Collagen Fibers for Biodegradable Films Production", *Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos*, São José do Rio Preto, UNESP, Brazil.
- Xue, Z., W. Yu, Z. Liu, M. Wu and X. Kou (2009), "Preparation and Antioxidative Properties of a Rapeseed (*Brassica napus*) Protein Hydrolysate and Three Peptide Fractions", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57 (12), pp. 5287-5293

- Zeng, M., F. Xiao, Y. Zhao, Z. Liu, B. Li and S. Dong (2007), “Study on the Free Radical Scavenging Activity of Sea Cucumber (*Paracaudina chinens* var.) Gelatin Hydrolysates”, *Journal of Ocean University of China*. vol. 6 (3), pp. 255-258.
- Zhuang, Y. L., X. Zhao, and B. F. Li (2009), “Optimization of antioxidant activity by response surface methodology on hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) umbrella collagen”, *Journal of Zhejiang University*, vol. 10 (2), pp. 572-579.

Beneficios del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) contra cáncer de colon

Jorge Alberto Acosta Gallegos, Rocío Campos Vega, Rakel Cruz Bravo, Ana Angélica Feregrino Pérez, Ramón Gerardo Guevara González, Guadalupe Loarca Piña, Minerva Ramos Gómez, Rosalía Reynoso Camacho, Haydé A. Vergara Castañeda

Resumen

Estudios epidemiológicos han relacionado a la dieta con la prevención de enfermedades crónico-degenerativas: obesidad, diabetes, cáncer y cardiovasculares. El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una fuente importante de proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales para México y algunos otros países de Latinoamérica. Además, esta leguminosa presenta compuestos bioactivos como: compuestos fenólicos, inhibidores de tripsina, lectinas, ácido fítico y fibra dietaria (soluble e insoluble). Todos éstos implicados en prevención de este tipo de enfermedades. Estudios *in vitro* e *in vivo* mostraron que el frijol común inhibió el crecimiento de células transformadas (adenocarcinoma de colon humano) y el desarrollo del estadio temprano de cáncer de colon (modelo animal), sugiriendo el consumo de frijol común como una estrategia preventiva contra esta patología.

Palabras clave: Frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), enfermedades crónico degenerativas, nutraceuticos, cáncer de colon.

Introducción

En México se ha incrementado la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas como obesidad, diabetes, cardiovasculares y cáncer. Estas patologías han compartido

factores de riesgo en común entre los que se encuentran los malos hábitos alimenticios, destacando para la población mexicana la disminución en el consumo de leguminosas como el frijol.

El frijol fue domesticado y cultivado en México antes de la época precolombina y fue llevado a Europa por los españoles. Actualmente, se ha convertido uno de los cultivos de mayor importancia económica y social, y se le ha considerado producto estratégico dentro del desarrollo rural. Sin embargo, el consumo *per cápita* de frijol en México ha mantenido una tendencia negativa ya que, se le ha considerado un alimento para gente de bajos recursos y, por otro lado, al fácil acceso que se tiene a proteínas de origen animal, lo que conllevó a incrementar riesgos a los efectos adversos a la salud de la población. Por lo tanto se debe trabajar para que nuestra dieta tradicional, específicamente el frijol, retome su lugar dentro de todos los estratos sociales, que ayude a coadyuvar a la salud.

Composición química, fibra insoluble, soluble, de frijol crudo y cocido

El frijol, crudo y cocido, ha sido una buena fuente de fibra soluble e insoluble, así como de proteína y lípidos. La composición química de las variedades: Negro 8025, Pinto Durango, Bayo Madero y Azufrado Higuera cultivadas en 2005, se muestra en el cuadro 1 (Campos-Vega y colaboradores, 2005). Estos autores reportaron un contenido de proteína dentro del intervalo de 15 a 19.7% en el frijol crudo y cocido; el porcentaje de lípidos en el frijol cocido fluctuó entre 0.4 y 2.0% y el de cenizas de 3.7 a 4.7% (cuadro 1). Otros investigadores han reportado valores menores de proteína en semillas de frijol cocido (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993), contenido de lípidos dentro de este intervalo, en frijol negro (Vargas-Torres y colaboradores, 2004) y valores similares de cenizas en leguminosas de la India (Bravo y colaboradores, 1998).

Cuadro 1. Composición química de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) crudo y cocido, variedades Negro 8025, Mayo Madero, Pinto Durango y Azufrado Higuera cultivares, cosecha 2005

Muestra	Estado	Proteína ¹ (N x 5.85)	Lípidos ¹	Humedad ¹	Cenizas ¹
Negro 8025 (2005)	Crudo	15.0 ± 0.30 ^w	2.0 ± 0.03 ^w	8.0 ± 0.12 ^w	4.7 ± 0.25 ^w
	Cocido	19.4 ± 0.20 ^a	1.2 ± 0.01 ^a	1.0 ± 0.22 ^b	4.7 ± 0.25 ^b
Bayo Madero (2005)	Crudo	14.2 ± 1.50 ^w	0.8 ± 0.03 ^x	11.0 ± 0.04 ^x	3.7 ± 0.15 ^x
	Cocido	16.2 ± 0.10 ^a	0.9 ± 0.17 ^b	1.1 ± 0.02 ^b	3.7 ± 0.10 ^a

BENEFICIOS DEL FRIJOL COMÚN

Pinto Durango (2005)	Crudo	16.7 ± 0.80 ^x	1.3 ± 0.07 ^y	10.1 ± 0.22 ^y	4.2 ± 0.25 ^x
	Cocido	16.8 ± 0.80 ^a	0.8 ± 0.10 ^c	1.1 ± 0.00 ^b	4.2 ± 0.10 ^b
Azufrado Higuera (2005)	Crudo	19.0 ± 0.10 ^x	1.1 ± 0.00 ^z	7.1 ± 0.05 ^z	4.2 ± 1.15 ^x
	Cocido	19.7 ± 1.30 ^a	0.4 ± 0.06 ^d	1.0 ± 0.02 ^b	4.2 ± 0.00 ^b

Fuente: Campos-Vega y colaboradores (2009). ^{w, x, y, z} Letras mayúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre variedades. ^{a, b, c} Letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± Error estándar (EE). ⁽¹⁾ porcentaje por gramo de muestra liofilizada.

Las variaciones entre lo reportado por estos autores puede ser atribuible a las diferencias entre variedades, cultivares y condiciones ambientales, como puede confirmarse al comparar la composición química de dos de estas variedades que fueron analizadas por Cruz-Bravo y colaboradores (2011), y cosechadas en el 2007 (cuadro 2).

Cuadro 2. Composición química de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) crudo y cocido, variedades Negro 8025 y Bayo Madero, cosecha 2007

Muestra	Muestra	Proteína ¹ (N x 5.85)	Lípidos ¹	Humedad ¹	Cenizas ¹
Negro 8025 (2007)	Crudo	20.26 ± 0.11 ^b	2.45 ± 0.35 ^a	10.57 ± 0.02 ^b	4.3 ± 0.05 ^a
	Cocido	21.24 ± 0.11 ^a	1.75 ± 0.06 ^a	63.64 ± 0.26 ^a	3.6 ± 0.10 ^b
Bayo Madero (2007)	Crudo	18.67 ± 0.11 ^c	1.92 ± 0.56 ^a	10.17 ± 0.03 ^b	4.42 ± 0.02 ^a
	Cocido	19.74 ± 0.05 ^b	1.06 ± 0.06 ^a	62.91 ± 0.16 ^a	4.15 ± 0.04 ^a

Fuente: Vergara-Castañeda y colaboradores (2010); Cruz-Bavo y colaboradores (2011). Letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± EE. ⁽¹⁾ porcentaje por gramo de muestra liofilizada.

Fracción no digerible, fibra insoluble, fibra soluble, rafinosa, estaquiosa y verbascosa de frijol común crudo y cocido

La fracción no digerible de los alimentos se ha relacionado con un estado saludable en los individuos que la han ingerido, estado atribuible en parte a los metabolitos que se generaron durante la fermentación colónica (Taberner y colaboradores, 2011). El contenido de fracción no digerible, fibra insoluble, fibra soluble, rafinosa, estaquiosa y verbascosa de frijol común crudo y cocido también se ha reportado (cuadro 3) (Campos-Vega y colaboradores, 2010). El rendimiento de fracción no digerible a partir de 1 g de frijol con tratamiento térmico en base seca se encontró en el intervalo de 30.5 a 40.7%, que fue superior al reportado por Granito y colaboradores, (2001). El contenido de fibra insoluble

en el frijol con tratamiento térmico se reportó en el intervalo de 31 a 41%, que fue superior al contenido de fibra soluble, siendo *cv.* Bayo Madero el que presentó el mayor rendimiento de fibra insoluble y soluble. Lintas y Cappelloni (1998), sugirieron que el tratamiento térmico indujo interacciones que podían incrementar el contenido de polisacáridos no amiláceos y/o modificar la formación de almidón, resistiendo la acción enzimática e incrementando la fibra dietaria total y sus fracciones, explicando lo reportado por estos autores. Una dieta rica en fibra soluble e insoluble ayudó a controlar el índice glicémico y redujo la hiperlipidemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (McIntosh y Miller, 2001). Estaquiosa fue el principal oligosacáridos, seguido de rafinosa y verbascosa en las semillas crudas y cocidas de todos los cultivares evaluados (cuadro 3). Un incremento en el contenido de estaquiosa fue observado en todas las muestras después del tratamiento térmico, lo que sugirió que éste pudiese desdoblarse o degradar la verbascosa y con ello la liberación de un azúcar (galactosa). Jambunathan y colaboradores (1994), sugirieron que los enlaces entre oligosacáridos pueden llegar a romperse mediante hidrólisis no enzimáticas liberándose oligosacáridos que se encuentran unidos a macromoléculas. El contenido de verbascosa para Negro 8025 y Azufrado Higuera incrementó con el tratamiento térmico, disminuyó para Bayo Madero, mientras que la variedad Pinto Durango no presentó diferencia. Se destacó que los valores reportados en ambas cosechas fueron similares a los informados por Díaz-Batalla y colaboradores (2006) en diferentes variedades de frijol común.

Cuadro 3. Contenido de fracción no digerible, fibra insoluble, fibra soluble, almidón resistente, rafinosa, estaquiosa y verbascosa en frijol crudo y cocido de las variedades Negro 8025, Bayo Madero, Pinto Durango y Azufrado Higuera, cosechadas en 2005

Muestra	Estado	Fracción no digerible ⁽¹⁾	Fibra insoluble ⁽¹⁾	Fibra soluble ⁽¹⁾	Rafinosa ⁽²⁾	Estaquiosa ⁽²⁾	Verbascosa ⁽²⁾
Negro 8025 (2005)	Crudo	65.3 ± 3.5 ^A	36.0 ± 1.9 ^A	1.6 ± 0.66 ^A	0.3 ± 0.0 ^A	2.7 ± 0.1 ^A	0.1 ± 0.0 ^A
	Cocido	36.5 ± 2.5 ^a	37.0 ± 2.5 ^a	11.0 ± 0.0 ^a	2.5 ± 0.1 ^a	8.0 ± 0.8 ^a	0.9 ± 0.1 ^a
Bayo Madero (2005)	Crudo	46.0 ± 3.5 ^B	25.0 ± 2.7 ^B	0.66 ± 0.3 ^A	0.7 ± 0.2 ^A	4.9 ± 0.2 ^B	0.8 ± 0.1 ^B
	Cocido	40.7 ± 2.0 ^b	41.0 ± 0.0 ^b	14.0 ± 0.5 ^a	0.5 ± 0.1 ^b	5.4 ± 0.8 ^{ab}	0.2 ± 0.0 ^b
Pinto Durango (2005)	Crudo	50.0 ± 1.5 ^B	28.0 ± 0.8 ^B	0.33 ± 0.0 ^A	1.7 ± 0.0 ^B	4.5 ± 0.5 ^B	0.2 ± 0.0 ^A
	Cocido	31.0 ± 0.5 ^c	31.0 ± 0.5 ^c	5.5 ± 0.0 ^b	1.1 ± 0.0 ^c	4.7 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.0 ^b
Azufrado Higuera (2005)	Crudo	52.3 ± 1.5 ^B	29.0 ± 0.8 ^B	1.0 ± 0.0 ^A	1.5 ± 0.2 ^B	4.3 ± 0.5 ^B	0.2 ± 0.1 ^A
	Cocido	30.5 ± 1.5 ^c	31.0 ± 1.5 ^c	11.0 ± 0.0 ^a	1.4 ± 0.1 ^b	6.8 ± 0.7 ^b	0.5 ± 0.0 ^a

Fuente: Campos-Vega y colaboradores (2010). Letras mayúsculas diferentes por columna indican diferencia entre muestras crudas ($p < 0.05$). Letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa entre muestras cocidas ($p < 0.05$). Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± EE. ⁽¹⁾ Porcentaje por gramo de muestra liofilizada, ⁽²⁾ mg. por gramo de muestra liofilizada.

Cuadro 4. Contenido de fracción no digerible, fibra insoluble, fibra soluble, almidón resistente, rafinosa, estaquiosa y verbascosa en frijol crudo y cocido de las variedades Negro 8025 y Bayo Madero, cosechadas en 2007

Muestra	Estado	Fracción no digerible ⁽¹⁾	Fibra insoluble ⁽¹⁾	Fibra soluble ⁽¹⁾	Rafinosa ⁽²⁾	Estaquiosa ⁽²⁾	Verbascosa ⁽²⁾
Negro 8025 (2007)	Crudo	ND	49.11 ± 0.9 ^b	0.67 ± 0.2 ^a	0.05 ± 0.0 ^c	0.89 ± 0.5 ^c	0.09 ± 0.1 ^c
	Cocido	58.57 ± 0.5 ^a	57.84 ± 0.5 ^a	0.73 ± 0.0 ^a	0.14 ± 0.0 ^c	2.74 ± 0.1 ^b	1.51 ± 0.0 ^b
Bayo Madero (2007)	Crudo	ND	37.75 ± 0.8 ^c	0.55 ± 0.0 ^a	12.30 ± 0.0 ^a	42.88 ± 0.1 ^a	4.39 ± 0.3 ^a
	Cocido	43.79 ± 0.6 ^b	40.57 ± 1.7 ^c	0.65 ± 0.0 ^a	10.44 ± 0.2 ^b	43.28 ± 0.1 ^a	2.05 ± 0.0 ^b

Fuente: Cruz-Bavo y colaboradores (2011); Vergara-Castañeda y colaboradores (2010). Letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa entre muestras ($p < 0.05$). Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± EE. ⁽¹⁾ Porcentaje por gramo de muestra liofilizada, ⁽²⁾ mg. por gramo de muestra liofilizada. ND, No determinado.

Presencia de rafinosa, estaquiosa, verbascosa y almidón resistente en la Fracción No Digerible (FND) de frijol común cocido

En la FND de frijol (cosecha 2005 y 2007), el azúcar mayoritario fue estaquiosa seguido de rafinosa y verbascosa (cuadro 3 y 4, respectivamente).

Las leguminosas contenían cantidades importantes de almidón resistente en comparación con otros productos como los cereales, tubérculos y frutas no maduras. Esto pudo explicar el lento índice de digestión del almidón y la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo después de la ingestión de leguminosas, resultando en una reducción de la respuesta postprandial glicémica e insulémica en comparación con los granos de cereales o los tubérculos (Jenkins y colaboradores, 1982). El contenido de almidón resistente en las muestras analizadas por Campos-Vega y colaboradores (2010) fue superior al reportado por Osorio-Díaz y colaboradores (2003) en cultivares de frijol negro y Flor de Mayo (cuadro 5).

La presencia de coloración en la FND pareció ser indicador de la presencia de taninos condensados, compuestos que pudieron ser fermentados en el colon y producir AGCC, relacionados con beneficios a la salud (Veerian y colaboradores, 2007). En el cuadro 6 se mostró que la concentración más alta de taninos condensados en la FND con tratamiento térmico del cultivo de 2005, se encontró en el frijol Negro 8025. Estos valores fueron inferiores a los reportados en semillas crudas por Oomah y colaboradores, (2005) en seis variedades de frijol provenientes de Canadá, mientras que en la variedad Azufrado Higuera, la concentración de fenoles estuvo por debajo del límite de detección, sugiriéndose un posible efecto por el tratamiento térmico, coloración de la semilla y año de cosecha. Los valores de oligosacáridos, azúcares totales, almidón resistente y taninos condensados de la cosecha 2007 para Negro 8025 y Bayo Madero resultaron diferentes a los de la cosecha de 2005 (cuadro 6).

Cuadro 5. Contenido de fracción no digerible, fibra insoluble, fibra soluble, almidón resistente, rafinosa, estaquiosa y verbascosa en frijol crudo y cocido de las variedades Negro 8025, Bayo Madero, Pinto Durango y Azufrado Higuera, cosechadas en 2005

Muestra	Rafinosa ⁽¹⁾	Estaquiosa ⁽¹⁾	Verbascosa ⁽¹⁾	Azúcares Totales ⁽²⁾	Almidón resistente ⁽³⁾	Taninos condensados ⁽⁴⁾
Negro 8025 (2005)	9.85 ± 0.15 ^a	0.90 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.01 ^a	10.85 ± 0.1 ^a	32.0 ± 2.2 ^a	2.19 ± 0.09 ^a
Bayo Madero (2005)	9.65 ± 0.00 ^a	0.10 ± 0.02 ^b	0.00 ± 0.0 ^b	9.75 ± 0.23 ^b	37.0 ± 3.5 ^a	0.81 ± 0.03 ^b
Pinto Durango (2005)	15.60 ± 0.00 ^b	0.60 ± 0.00 ^c	0.20 ± 0.01 ^c	16.40 ± 0.5 ^c	28.0 ± 0 ^b	1.31 ± 0.03 ^c
Azufrado Higuera (2005)	1.30 ± 0.89 ^c	0.20 ± 0.00 ^d	0.20 ± 0.00 ^d	1.76 ± 0.15 ^d	34.0 ± 1.5 ^a	<LD

Fuente: Campos-Vega y colaboradores (2010). Letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± EE. ⁽¹⁾ mg por gramo de polisacáridos liofilizados. ⁽²⁾ Expresados como mg equivalentes de rafinosa/g de muestra liofilizada en base seca. ⁽³⁾ Porcentaje por gramo de fracción no digerible liofilizada. ⁽⁴⁾ mg equivalentes de (+)-catequina/g de muestra liofilizada en base seca. <LD, por debajo del límite de detección.

Cuadro 6. Contenido de rafinosa, estaquiosa, verbascosa, azúcares totales, almidón resistente y taninos condensados en la fracción no digerible de frijol común de las variedades Negro 8525 y Bayo Madero, cosechas en 2007

Muestra	Rafinosa ⁽¹⁾	Estaquiosa ⁽¹⁾	Verbascosa ⁽¹⁾	Azúcares Totales ⁽²⁾	Almidón resistente ⁽³⁾	Taninos condensados ⁽⁴⁾
Negro 8025 (2007)	0.23 ± 0.01 ^b	<LD ^b	0.09 ± 0.00 ^b	0.32 ± 0.01 ^b	26.76 ± 0.48 ^a	20.71 ± 0.44 ^a
Bayo Madero (2007)	1.51 ± 0.01 ^a	13.8 ± 0.03 ^a	0.46 ± 0.00 ^a	15.8 ± 0.03 ^a	26.36 ± 0.48 ^a	13.98 ± 0.13 ^b

Fuente: Vergara-Castañeda y colaboradores (2010); Cruz-Bravo y colaboradores (2011). Letras diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Cada valor representa la media de dos experimentos independientes con tres repeticiones ± EE. ⁽¹⁾ mg por gramo de polisacáridos liofilizados. ⁽²⁾ Expresados como mg equivalentes de rafinosa/g de muestra liofilizada en base seca. ⁽³⁾ Porcentaje por gramo de fracción no digerible liofilizada. ⁽⁴⁾ mg equivalentes de (+)-catequina/g de muestra liofilizada en base seca. <LD, por debajo del límite de detección.

Estudios *in vitro*

Producción de AGCC a partir de la FND de frijol

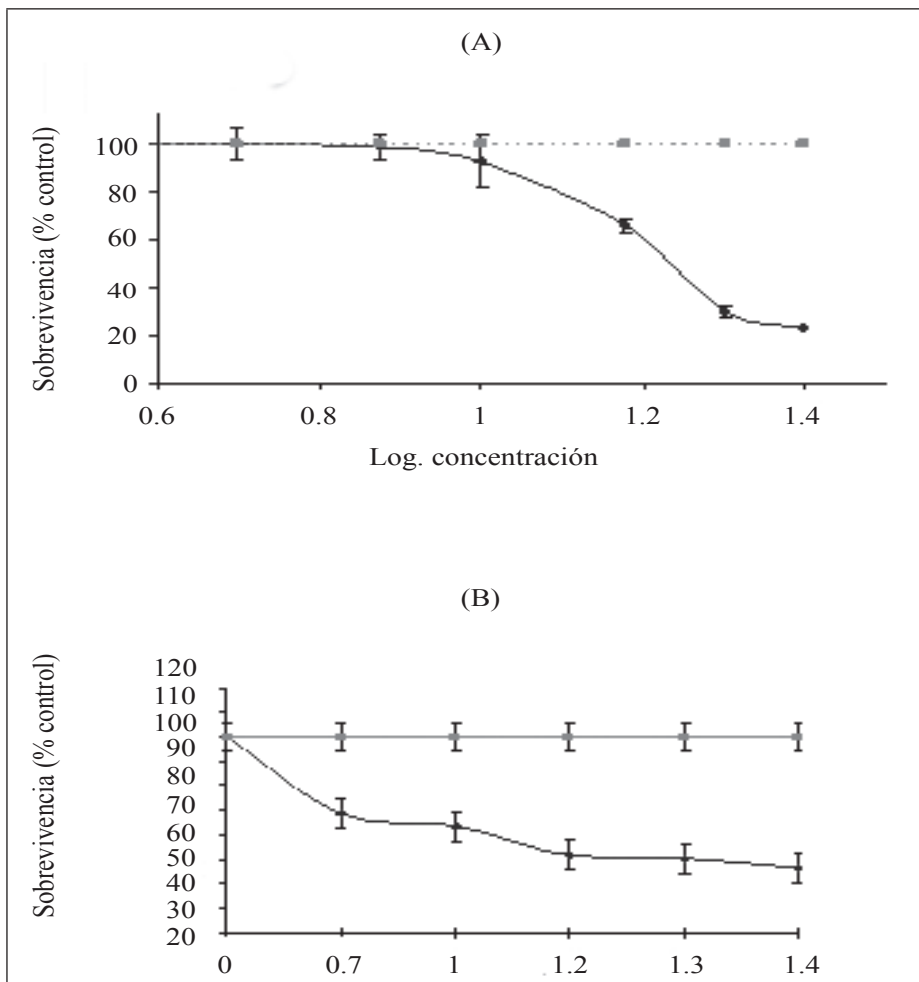
En el cuadro 7 se presentó la cinética de producción de AGCC durante la fermentación de la fracción no digerible (mM eq. AGCC por mL de muestra) (Campos-Vega y colaboradores, 2009). El ácido graso de mayor producción fue el acético, seguido del propiónico y del butírico hasta las 24 horas de fermentación. La producción de AGCC fue cultivar-dependiente. La mayor producción de ácido propiónico se obtuvo a partir de Azufrado Higuera, mientras que Bayo Madero y Negro 8025 generaron la mayor concentración de ácido butírico. Investigaciones *in vitro* e *in vivo* sugirieron que el ácido butírico es el principal protector contra el cáncer de colon (Roberfroid 2001).

Cuadro 7. Producción de ácidos grasos de cadena corta (C2, C3 o C4) durante la fermentación de la fracción no digerible de frijol común (*P. vulgaris L.*) de las variedades Azufrado Higuera, Bayo Madero, Negro 8025 y Pinto Durango, cosechadas en 2005

Muestra	6 h			12 h			24 h		
	C2	C3	C4	C2	C3	C4	C2	C3	C4
Azufrado	33.0 ±	8.0 ±	6.0 ±	37.0±	11.0±	9.0±	39.0±	14.0±	14.0 ±
Higuera	0.64 ^{aA}	0.0 ^{aB}	0.25 ^{aC}	0.25 ^{aA}	0.28 ^{aB}	0.25 ^{aC}	0.3 ^{aA}	0.3 ^{aB}	0.3 ^{aB}
Bayo	36.0 ±	6.0 ±	7.0 ±	44.0 ±	9.0 ±	10.0 ±	48.0 ±	12.0 ±	15.0 ±
Madero	0.33 ^{bA}	0.6 ^{bB}	0.33 ^{aB}	0.33 ^{bA}	0.66 ^{aB}	0.57 ^{bB}	1.0 ^{bA}	0.3 ^{bB}	0.3 ^{bC}
Negro	39.0 ±	8.0 ±	8.0 ±	42.0 ±	9.0 ±	10.0 ±	51.0 ±	12.0 ±	15.0 ±
8025	0.28 ^{bA}	0.0 ^{aB}	0.25 ^{bB}	1.0 ^{bA}	0.57 ^{aB}	0.57 ^{bB}	0.7 ^{bA}	0.7 ^{bB}	0.7 ^{bC}
Pinto	32.0 ±	7.0 ±	6.0 ±	36.0 ±	9.0 ±	8.0 ±	48.0 ±	9.0 ±	13.0 ±
Durango	0.66 ^{aA}	0.3 ^{bB}	0.0 ^{aB}	0.33 ^{aA}	0.57 ^{aB}	0.0 ^{aB}	0.6 ^{bA}	0.0 ^{bB}	0.3 ^{aC}

Fuente: Campos-Vega y colaboradores (2009). Valor promedio de tres análisis y desviación estándar. Letras minúsculas diferentes por columna expresan diferencia significativa con $\alpha = 0.05$ prueba de Tukey. Letras mayúsculas diferentes por renglón expresan diferencia significativa con $p < 0.05$ prueba de Tukey. C2 = Ácido acético, C3 = Ácido propiónico y C4 = Ácido butírico.

Figura 1. Curva dosis-respuesta del efecto de los productos de la fermentación de la fracción no digerible de frijol común (*P. vulgaris* L.) variedad Bayo Madero cosecha 2005 (A) y Negro 8025 cosecha 2007 (B) sobre la supervivencia de células HT-29 para obtener la CL_{50}



Fuente: Cruz-Bavo y colaboradores (2011). El efecto del EF (○) fue normalizado respecto al blanco (EF sin células), y respecto a las células control (0%/mL, 100%) (■). La CL_{50} fue calculada a partir del antilogaritmo del valor en el eje de las x en el punto de inflexión de la curva sigmoidea generada como efecto del tratamiento (JMP V. 5.0). Cada valor representa la media de dos experimentos \pm desviación estándar.

Efecto de los productos de la fermentación de la fracción no digerible de frijol común variedad Negro 8025 y Bayo Madero, sobre células HT-29

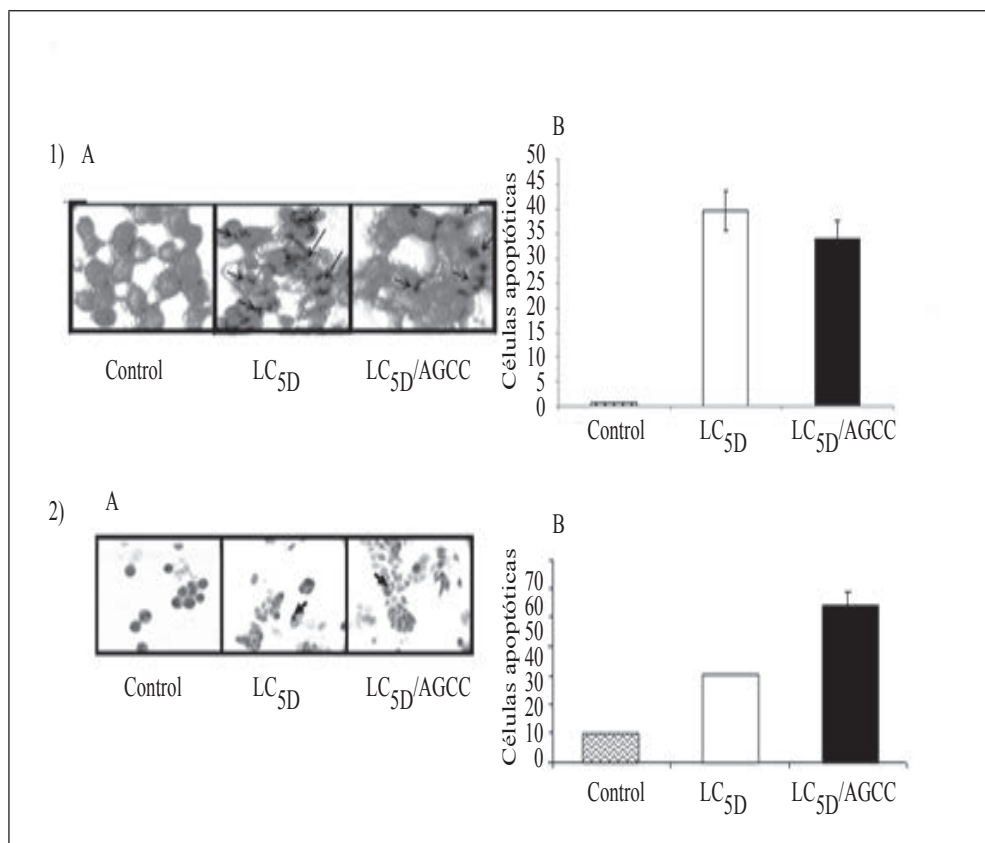
La FND es sustrato para ser fermentado por las bacterias colónicas produciendo AGCC, entre otros compuestos, que pudieran ser responsables en parte de la inhibición en la sobrevivencia de células de cáncer de colon humano (HT-29). En la figura 1 se mostró que los productos de la fermentación (EF) de Bayo Madero (A) cosecha 2005 y Negro 8025 (B) cosecha 2007 sobre la sobrevivencia de las células HT-29 fue dosis dependiente: siendo la concentración inhibitoria 50 (CL_{50}) para la variedad Bayo Madero de 16.9% que correspondió a 7.63, 0.33 y 3.31 mmol/mL de ácidos: acético, propiónico y butírico, respectivamente. La CL_{50} para la variedad Negro 8025 fue de 13.63% que corresponde a 5.1, 0.68 y 1.19 mmol/mL de ácidos: acético, propiónico y butírico, respectivamente. Efectos similares de ácido butírico, alfa y gamma tocoferol, así como de algunos extractos de la aceituna, han sido reportados sobre la sobrevivencia de esta línea celular en otros trabajos (Beyer-Sehlmeyer y colaboradores, 2003; Campbell y colaboradores, 2006; Juan y colaboradores, 2006). Veeriah y colaboradores, (2007) reportaron que los productos de la fermentación *in vitro* de una mezcla de polifenoles procedentes de extractos de manzana inhiben el crecimiento de las células HT-29 (carcinoma de colon humano) y de LT-97 (adenoma de colon humano) *in vitro* en tiempo y concentración dependiente, lo que podría estar sugiriendo que la presencia de taninos condensados en la FND tenían alguna participación en la inhibición observada.

Efecto de los productos de la fermentación (EF) de la FND de frijol común variedad Negro 8025 y Bayo Madero sobre la fragmentación del ADN

La figura 2 mostró que el EF indujo un efecto apoptótico, atribuyendo una participación importante a los AGCC en este proceso (Campos-Vega y colaboradores, 2010 y Cruz-Bavo y colaboradores, 2011). Después del tratamiento con el EF a la CL_{50} y la mezcla sintética de AGCC: acético, propiónico y butírico en la CL_{50} ($CL_{50}/AGCC$), un porcentaje considerable de células se identificaron como TUNEL-positivas, siendo variedad dependiente. Por ejemplo, la CL_{50} del EF de la variedad Negro 8025 fue 40% y para la variedad Bayo Madero de 30 por ciento. En contraste, un porcentaje mínimo de células TUNEL-positivo se observó en el grupo control (sin tratamiento): De

3% para Negro 8025 (figura 2-1) y 10% para Bayo Madero (figura 2-2). Ruemmele y colaboradores,(2003), reportaron que el ácido butírico indujo apoptosis en las células *CaCo-2* (cáncer colon), resultados que respaldaron nuestra hipótesis.

Figura 2. Efecto de los productos de la fermentación de la FND de frijol común (*P. vulgaris L.*) variedad Negro 8025-cosecha 2007 (1) y Bayo Madero-cosecha 2005 (2) sobre la fragmentación del ADN



Fuente: Campos-Vega y colaboradores (2010); Cruz-Bavo y colaboradores (2011). Las flechas indicaron células con ADN fragmentado (magnificación original X400). A: Análisis cualitativo de células HT-29 en proceso de apoptosis después de 24 horas de tratamiento con la CL50 del EF y AGCC. B: Análisis cuantitativo de células HT-29 en proceso de apoptosis después de 24 horas de tratamiento con la CL50 del EF y AGCC. El porcentaje de células TUNEL-positivas es presentado como la media \pm el EE, basado en 10 campos microscópicos seleccionados al azar para cada grupo en tres experimentos independientes. *Comparación de los resultados de las células tratadas y control ($p < 0.05$).

Estudios *in vivo*

Evaluación anticarcinogénica del frijol Negro 8025 (cosecha 2005)

Para evaluar el efecto del frijol y de su FND sobre las FCA inducidas químicamente con Azoximetano (AOM) en la región colónica, Feregrino-Pérez y colaboradores, (2008) utilizaron técnicas histológicas con las muestras obtenidas del diseño sobre un modelo animal que se presentó en el cuadro 8.

Cuadro 8. Grupos de tratamiento para evaluación anticarcinogénica de frijol y sus polisacáridos

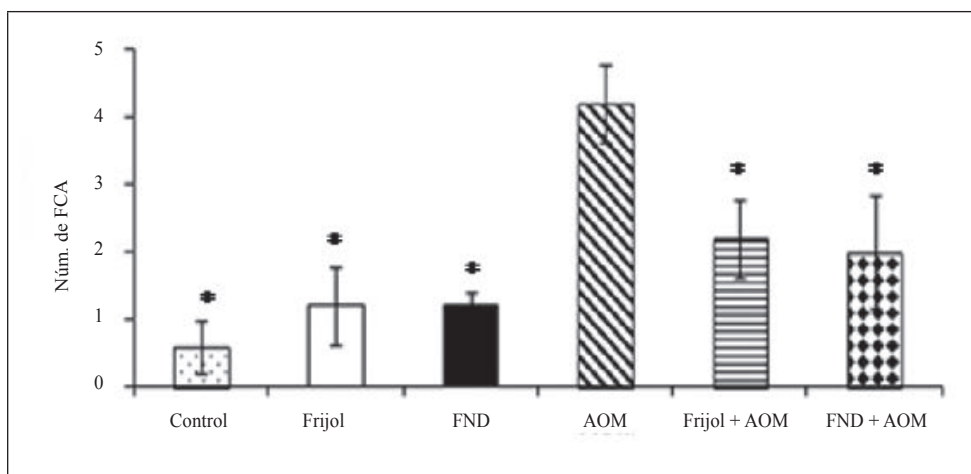
<i>Grupo</i>	<i>Tratamiento</i>
1	Vehículo del carcinógeno vía subcutánea (Control negativo)
2	Carcinógeno vía subcutánea (AOM), control positivo, una vez por semana, 2 dosis en total. Dosis 15 mg/kg peso corporal
3	Frijol cocido (FC) vía sonda esofágica diariamente durante el período experimental (9 semanas)
4	Fracción no digerible (FND) de frijol cocido vía sonda esofágica diariamente durante el período experimental (9 semanas)
5	FC + AOM
6	FND + AOM

Fuente: elaboración propia. FC = Frijol común; FND = Fracción no digerible; AOM = Azoximetano.

En la región distal (figura 3), se observa que el control positivo mostró un número significativamente mayor de FCA (4.2 FCA totales) respecto al control negativo (0.6 FCA totales), FND (1.2 FCA totales), frijol (1.2 FCA totales), sugiriendo que tanto el frijol como la FND disminuyeron el número de FCA inducidas con AOM en esta zona colónica. Hangen y Bennink (2002) demostraron que el frijol negro disminuyó hasta en 54% el número total de tumores en colon distal de ratas inducidas químicamente con AOM. Los datos de esta investigación sugieren que el efecto protector del frijol Negro 8025 pudo darse desde etapas tempranas del cáncer de colon medidas como FCA, presentando un porcentaje de reducción de FCA del 70 por ciento. Buecher y colaboradores (2003) demostraron que dieta adicionada con oligosacáridos disminuye el número de FCA hasta en 20%, mientras que Nakanishi y colaboradores (2003) informaron una disminución en el número de FCA al adicionar almidón resistente de maíz a la dieta. Considerando estos reportes se pudo sugerir que los resultados obtenidos por Feregrino-Pérez y colaboradores, (2008) para la FCA concordaron con la literatura, ya

que como se mencionó anteriormente, los oligosacáridos, la fibra y el almidón resistente conformaron a la fracción no digerible evaluada en este trabajo.

Figura 3. Efecto del frijol común (*P vulgaris L.*) variedad Negro 8025 (cosecha 2005) cocido y FND sobre el número de FCA inducidas químicamente con AOM en la zona distal de colon



Fuente: Feregrino-Pérez, y colaboradores (2008). AOM = Azoximetano, FND = Fracción no digerible. Cada valor representa la media de 5 muestras de colon independientes con 20 cortes cada uno \pm Desviación estándar. *Diferencia significativa con respecto al grupo AOM, prueba de Dunnett $p < 0.05$.

Concentración de AGCC en animales tratados con frijol Negro 8025 (cosecha 2005) y su FND

En esta misma investigación se mostró que los AGCC en el modelo empleado pudieron producirse a partir de una dieta de frijol y su FND (fibra, AR, oligosacáridos, compuestos fenólicos) (cuadro 9), ya que, los diferentes tratamientos influyeron sobre la producción de AGCC en las diferentes zonas evaluadas. La concentración de los AGCC fue mayor en el contenido cecal. Le-Leu y colaboradores (2005) reportaron diferente concentración de AGCC dependiente de la dieta administrada (AR y enriquecida con *Bifidobacterium lactis*): Mientras que Nakanishi y colaboradores,(2003) administraron AR y esporas de *Clostridium butyricum* sugiriendo que los diferentes tratamientos influyeron en la producción de AGCC en las diversas zonas del colon.

Cuadro 9. Contenido de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (mM/ g de Muestra) después del tratamiento con frijol Negro 8025 cosecha 2005 y su FND

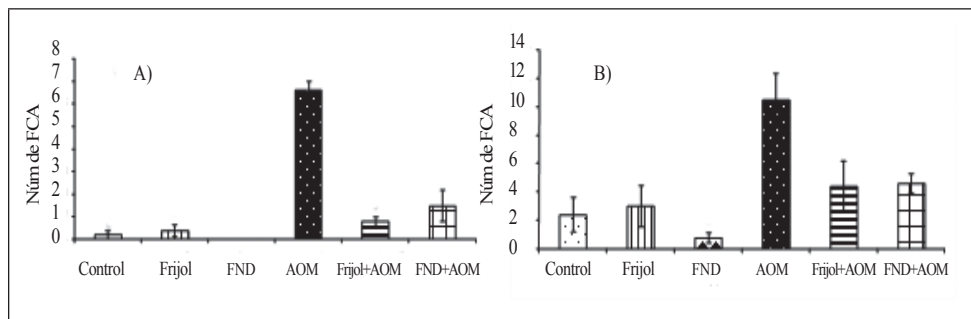
Grupo	Cecal			Colónico			Heces		
	Acético	Propiónico	Butírico	Acético	Propiónico	Butírico	Acético	Propiónico	Butírico
Control	29.5 ± 1.1 ^d	6.3 ± 0.1 ^{ab}	6.5 ± 0.1 ^a	32.3 ± 1.3 ^a	6.3 ± 0.09 ^{bc}	5.4 ± 0.03 ^a	35.2 ± 0.4 ^{ab}	3.07 ± 0.01 ^e	3.6 ± 0.01 ^g
AOM	36.0 ± 1.2 ^{abc}	6.7 ± 0.1 ^{ab}	6.1 ± 0.1 ^{ab}	33.8 ± 1.8 ^a	6.1 ± 0.02 ^{cd}	4.9 ± 0.03 ^{bc}	32.9 ± 0.7 ^{bc}	5.0 ± 0.03 ^c	3.7 ± 0.04 ^{fg}
	35.2 ± 0.1 ^{bc}	6.9 ± 0.08 ^a	6.7 ± 0.06 ^a	31.1 ± 0.4 ^a	4.9 ± 0.11 ^e	5.3 ± 0.09 ^{ab}	32.8 ± 0.3 ^{bc}	3.9 ± 0.18 ^d	4.0 ± 0.05 ^{de}
FND +	32.1 ± 1.8 ^{cd}	6.7 ± 0.4 ^{ab}	5.3 ± 0.24 ^c	36.5 ± 0.9 ^a	4.9 ± 0.10 ^e	4.7 ± 0.03 ^c	38.0 ± 0.2 ^a	7.0 ± 0.14 ^a	5.5 ± 0.07 ^a
Frijol	37.1 ± 0.7 ^{ab}	6.7 ± 0.3 ^{ab}	6.2 ± 0.05 ^{ab}	31.7 ± 1.6 ^a	5.8 ± 0.14 ^d	4.7 ± 0.05 ^c	33.1 ± 0.4 ^{bc}	4.9 ± 0.03 ^c	3.8 ± 0.01 ^{ef}
	40.4 ± 1.8 ^a	5.6 ± 0.1 ^a	5.4 ± 0.21 ^c	34.2 ± 1.1 ^a	7.9 ± 0.03 ^a	4.6 ± 0.03 ^c	30.8 ± 1.8 ^c	5.1 ± 0.14 ^c	4.0 ± 0.02 ^d

Fuente: Feregrino-Pérez y colaboradores (2008). Valores expresados como mM de ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico, respectivamente-g de muestra. Fracción no digerible (FND), Azoximetano (AOM). Cada valor representa la media de tres réplicas con tres repeticiones ± EE. Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa con p<0.05 prueba de Tukey.

Evaluación anticarcinogénica del frijol Bayo Madero (cosecha 2007)

Como era de esperarse el consumo de frijol cocido Bayo Madero y su FND no contribuyeron a la generación de lesiones tempranas en colon, mientras que se demostró que el tratamiento con AOM indujo la formación de FCA en la zona distal del colon en rata. Además, se observó un efecto quimioprotector de frijol cocido Bayo Madero su FND en ratas inducidas con AOM reflejado en la disminución significativa del desarrollo de FCA en la zona distal del colon comparado contra el grupo AOM por medio de ambas tinciones, presentando un porcentaje de reducción de FCA de 77.3 y 56.2% con azul de metileno y Hematoxilina y Eosina (H&E), respectivamente (figura 4). Lo anterior fue similar a 70% de reducción obtenido en el estudio *in vivo* con frijol Negro 8025.

Figura 4. Fosas crípticas aberrantes (región distal) por grupo con el tratamiento con la variedad Bayo Madero cosecha 2007. Tinción con (A) azul de metileno y (B) Hematoxilina & Eosina (H&E)



Fuente: Vergara-Castañeda, y colaboradores (2010). FND=Fracción no digerible; AOM=Azoximetano. Cada valor representa la media de FCA por zona colónica (distal) \pm EE. Diferencia significativa con respecto al grupo AOM, prueba de Dunnett ($p < 0.05$).

Al igual que la variedad Negro 8025, la variedad de variedad de frijol Bayo Madero y su FND actuaron como un tratamiento preventivo del cáncer de colon. Las concentraciones producidas de AGCC fueron menores en este cultivar, contrario a lo encontrado para el frijol Negro 8025 lo que puede atribuirse al tipo de frijol empleado ya que Negro 8025 mostró mayor concentración de oligosacáridos, en frijol completo, y en la fracción indigerible, comparada con Bayo Madero (Campos-Vega y colaboradores, 2009). Resultados que sugirieron que ambos frijoles ofrecían quimioprotección, pero la disminución en la incidencia de FND del grupo tratado con Bayo Madero se podría deber a la presencia de otros compuestos en la FND y el resto de la semilla como los péptidos bioactivos, que se ha demostrado que ejercieron un efecto anticarcinogénico en etapas tempranas del cáncer, a través de disminución inflamación, inducción apoptosis y arresto al ciclo celular, como ha sido reportado por otros autores (Kennedy, 1998; Kennedy y colaboradores, 2002; Gonzalez de Mejia y colaboradores, 2003; Hernández-Ledesma y colaboradores, 2009). Otros compuestos presentes en el frijol con efectos preventivos para el cáncer de colon fueron los fenoles, que pueden ser también fermentados en el colon dando como producto derivados de los ácidos fenólicos (Veeriah y colaboradores, 2007). Finalmente, tanto el frijol cocido como la FND de Bayo Madero contenían considerable cantidad de galactooligosacáridos no digeribles que también contribuyeron a la prevención del cáncer de colon a través del incrementando las espe-

cies bacterianas benéficas en colon y evitando con ello que los patógenos se unieran a las superficies celulares (Dai y colaboradores, 2000; Kunz y colaboradores, 2000; Kuntz y colaboradores, 2009).

Conclusiones

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido uno de los alimentos tradicionales de la dieta del mexicano y una fuente importante de compuestos nutrimentales y compuestos bioactivos (fibra, compuestos fenólicos, oligosacáridos, almidón resistente) con propiedades biológicas importantes como: inhibición del crecimiento de células transformadas y estadios tempranos de cáncer, relacionadas con la prevención y control de enfermedades crónico-degenerativas. Cabe destacar que, aún cuando el contenido de compuestos bioactivos en frijol común fue dependiente de la variedad y cosecha, el efecto quimioprotector se ha conservado.

Referencias

- Aparicio-Fernández, X. B. L. Manzano, P. G. Loarca (200), “Compararision of Antimutagenic activity of phenolic compounds in newly harvested and storage common beans phaseolus vulgaris against aflatoxina B1”, *Journal of Food Science*, vol. 70, pp. 1-7.
- Association of Oficial Analytical Chemists (2002), *Official Methods of Analysis*, 17 th edición. AOAC, Arlington, VA. Methods: 920.105, 925.23, 945.46, 985.29 y 991.43. 70, pp 807-811.
- Beyer-Sehlmeyer G., M. Glei, E. Hartmann, R. Hughes Persin, V. C. Böhme, I. Rowland, R. Schubert, G. Jahreis, B. Pool-Zobel (2003), “Butyrate is only one of several growth inhibitors produced during gut flora-mediated fermentation of dietary fibre sources”, *Brit J Nutr*, vol. 90, pp. 1057-70.
- Bird, R. P. and C. K. Good (1987), *The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. Toxicology Letters*, pp. 112-113; 395-402.
- Bravo, A., J. Alfonso, V. Medina, J. Pérez, N. Lorenzo, M. V. Fernández, F. González (1998), “Butirato y carcinogénesis colorectal”, *Cirugía Española*, vol. 68, pp. 57-64.
- Buecher, B., C. Thouminot, J. Menanteau, C. Bonnet, A. Jarry, M. F. Heymann, C. Cherbut, J. P. Galmiche, H. M. Blottière (2003), “Fructooligosaccharide associated with celecoxib reduces the number of aberrant crypt foci in the colon of rats”, *Reproduction Nutrition Development*, vol. 43, pp. 347-356.

- Campbell S. E., S. Stone Lee, S. Whaley, Yang Hongsong, M. Qui, P. Goforth, D. Sherman, D. McHaffie, Krishnan Koyamangalath (2006), “Comparative effects of RRR-alpha-and RRR-gamma-tocopherol on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines”, *BMC Cancer*, vol. 6, pp. 13-26.
- Campos Vega R. (2009), “Caracterización de los productos de la fermentación in vitro de los polisacáridos de frijol común cocido (*Phaseolus vulgaris*L.) y su efecto sobre la sobrevivencia de células de cáncer de colon”, tesis de Doctorado.
- Campos-Vega R., R. Reynoso-Camacho, G. Pedraza-Aboytes, J. A. Acosta-Gallegos H. Guzman-Maldonado, O. Paredes-Lopez, G. Loarca-Piña (2009), “Chemical Composition and In Vitro Polysaccharide Fermentation of Different Beans (*Phaseolus vulgaris* L.)”, *Journal of Food Science*, vol. 74 (7), pp. T59-T65.
- Cruz-Bravo R. K., R. Guevara-Gonzalez, M. Ramos Gomez, T. Garcia-Gasca, Campos-Vega, B. D. Oomah and G. Loarca-Piña (2011), “Fermented non-digestible fraction from common R bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Negro 8025 modulates HT-29 cell behavior”, *Journal of Food Science*, vol. 76 (2), pp. 41-47.
- Dai, D., N. N. Nanthkumar, D. S. Newburg, and W. A. Walker (2000), “Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense”, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, vol. 30, pp. S23-S33.
- Del Razo L. M., G. G. Garcia-Vargas, J. Garcia-Salcedo, M. F. Sanmiguel, M. Rivera, M. C. Hernandez, M. E. Cebrian (2002), “Arsenic levels in cooked food and assessment of adult dietary intake of arsenic in the Region Lagunera”, *Food Chemical Toxicology, Mexico*, vol. 40, pp. 423-1431.
- Deshpande, S. S. and M. Cheryan (1987), “Determination of Phenolic Compounds of Dry Beans Using Vanillin, Redox and Precipitation Assays”, *Journal of Food Science*, vol. 52, pp. 332-334.
- Díaz-Batalla, L., J. M. Widholm, C. G. Fahey, E. Castaño-Tostado, O. Paredes-López (2006), “Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, pp. 2045-2052.
- Dubois M., J. K. Gilles, P. A. Hamilton, F. Rebers, F. Smith (1956), *A colorimetric method for the determination of sugars. Nature*, vol. 168;167.
- Feregrino-Pérez A. A., L. C. Berumen, G. García-Alcocer, R. G. Guevara-González, M. Ramos-Gomez, R. Reynoso-Camacho, J. A. Acosta-Gallegos, G. Loarca-Piña (2008), “Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer” in *J. Agric, Food Chem*, vol. 56, pp. 8737-8744.
- Gonzalez de Mejia, E., T. Bradford and C. Hasler (2003), “The Anticarcinogenic Potential of Soybean Lectin and Lunasin”, *Nutr Rev.*, vol.61 (7), pp. 239-246.

- Granito, M., M. Champ, A. C. David Bonnet, M. Guerra, (2001), "Identification of gas-producing components in different varieties of *Phaseolus vulgaris* by in vitro fermentation", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 81, pp. 543-550.
- Hangen, L. and M. R. Bennink (2002), "Consumption of black beans and navy beans (*Phaseolus vulgaris*) reduced azoxymethane-induced colon cancer in rats", *Nutrition and Cancer*, vol. 44, pp. 60-5.
- Hernández-Ledesma, B., C. C. Hsieh and B. O. de Lumen (2009), "Lunasin, a novel seed peptide for cancer prevention", *Peptides*, vol. 30, pp. 426-430.
- Jambunathan, R., H. L. Blain, K. S. Dhindsa, L. A. Hussein, K. Kogure, L. Li-Juan, M. M. Youssef (1994), "Diversifying use of cool season food legumes through processing" in F. J. Muehlbauer and W. J. Kaiser, eds, *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*, Kluwer Academic Dordrecht, The Netherlands, pp 98-112.
- Juan ME, U, Wenzel, Ruiz-Gutierrez, H. Daniel, J. M. Planas (2006), "Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells", *J Nutr*, vol. 136, pp. 2553-57.
- Jenkins, D. J. A., M. J. Thorne, K. Camelon, A. Jenkins, A. V. Rao, R. H. Taylor, L. U. Thompson, J. Kalmusky, R. Reichert, T. Francis (1982), "Effect of processing in digestibility and the blood glucose response: study of lentils", *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 36, pp. 1093-1101.
- Kennedy, A. R. (1998), "The Bowman-Birk inhibitor from soybeans as an anticarcinogenic agent", *Am J Clin Nutr*, vol. 68(suppl), pp. 1406S-12S.
- Kennedy, A. R., P. C. Billings, X. S. Wan, and P. M. Newberne (2002), "Effects of Bowman-Birk Inhibitor on Rat Colon Carcinogenesis", *Nutr Cancer*, vol. 43 (2), pp. 174-186.
- Kunz, C., S. Rudloff, W. Baier, N. Klein and S. Strobel (2000), "Oligosaccharides in human milk: Structural, functional and metabolic aspects", *Annu Rev Nutr*, vol. 20, 699-722.
- Kuntz, S., C. Kunz and S. Rudloff (2009), "Oligosaccharides from human milk induce growth arrest via G2/M by influencing growth-related cell cycle genes in intestinal epithelial cells", *Br J Nutr*, vol. 101, pp. 1306-1315.
- Le-Leu R. K., I. L. Brown, Y. Hu, A. R. Bird, M. Jackson, A. Esterman, G. P. Young (2005), *A symbiotic combination of resistant starch and Bifidobacterium lactis facilitates apoptotic deletion of carcinogen-damaged cells in rat colon. American Society for Nutrition Science*, pp. 996-100.
- Lintas, C. and M. Cappeloni (1988), "Content and composition of dietary fiber in raw cooked vegetables", *Food Science and Nutrition*, vol. 42, pp. 117-124.

- McIntosh, M. and C. Miller (2001), "A diet containing food rich in soluble and insoluble fiber improves glycemic control and reduces hyperlipidemia among patients with type 2 diabetes mellitus", *Nutrition Reviews*, vol. 59, pp. 52-5.
- Muzquiz, M., C. Burbano, G. Ayet, M. M. Pedrosa and C. Cuadrado (1999), "The investigation of antinutritional factors in *Phaseolus vulgaris*. Environmental and varietal differences", *Biotechnology Agronomy Society and Environment*, vol. 3, pp. 210-216.
- Nakanishi S., K. Kataoka T. Kuwahara, Y. Ohnishi (2003), "Effects of high amylose maize starch and *Clostridium butyricum* on metabolism in colonic microbiota and formation of azoxymethane induced aberrant crypt foci in the rat colon", *Microbiology Immunology and Infection*, vol. 47, pp. 951-958.
- Olano-Martín E., K. C. Mountzouris, G. R. Gibson, R. A. Rastall (2000), "In vitro fermentability of dextran and maltodextrin by human gut bacteria", *British Journal of Nutrition*, vol. 83, pp. 247-255.
- Oomah, B., D. A. Cardador-Martínez, G. Loarca-Piña (2005), "Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Journal of the Science and Food Agriculture*, vol. 85, pp. 935-942.
- Osorio-Díaz P., L. A. Bello-Perez, S. G. Sayago-Ayerdi, M. D. P. Benitez-Reyes, J. Tovar, O. Paredes-López (2003), "Effect of processing and storage time on in vitro digestibility and resistant starch content of two bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties", *Journal of the Science and Food Agriculture*, vol. 83 (12), pp. 1283-1288.
- Reyes-Moreno C. and O. Paredes-López (1993), "Hard-to-cook phenomenon in common beans", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 33, pp. 227-286.
- Roberfroid, MB. (2001), "Prebiotics: preferential substrates for specific germs?", *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 73, pp. 406.
- Ruemmele, FN., S. Schwartz, E. G. Seidman, S. Dionne, E. Levy, M. J. Lentze (2003), "Butyrate induced Caco-2 cell apoptosis is mediated via the mitochondrial pathway", *Gut*, vol. 52, pp. 94-100.
- Saura-Calixto, F., I. Goñi, L. Bravo, E. Mañas (1993), "Resistant Starch in Foods: Modified Method for Dietary Fiber Residues", *Journal of Food Science*, vol. 58 (3), pp. 642-643.
- Taberero, M., K. Venema, A. Maathuis and F. Saura-Calixto (2011), "Metabolite production during in vitro colonic fermentation of dietary fibre-Analysis and comparison of two European diets", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59 (16), pp. 8968-8975.
- Vargas-Torres, A., P. Osorio-Díaz, J. Tovar, O. Paredes-López, J. Ruales, L. A. Bello-Pérez (2004), "Chemical composition, starch bioavailability and indigestible fraction of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Starch/Stärke*, vol. 56, pp. 74-78.

- Veeriah, S., T. Hofmann, M. Gleib, H. Dietrich, F. Will, F. Schreier, P. Schreier, B. Knaup, B. L. Pool-Zobel (2007), "Apple polyphenols and products formed in the gut differently inhibit survival of human cell lines derived from Colon Adenoma (LT97) and Carcinoma (HT-29)", *Journal of the Science and Food Agriculture*, vol. 55, pp. 2892-900.
- Vergara-Castañeda H. Z., R. G. Guevara-Gonzalez, M. Ramos-Gomez, R. Reynoso-Camacho, H. Guzman-Maldonado, A. A. Feregrino-Perez, B. D. Oomah and G. Loarca-Piña (2010), "Non-digestible fraction of cooked bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Bayo Madero suppresses colonic aberrant crypt foci in azoxymethane-induced rats", *Food & Function*, vol. 1, pp. 294-300.
- Zhao, G. Nyman, M. y Jönson J. (2006), "Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and feces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography", *Biomedical Chromatography*, vol. 20, pp. 674-682.

Sección 2. Inocuidad Alimentaria

Estrategia para medir la cinética de deterioración en alimentos

*Reyna Luz Vidal Quintanar
y Ofelia Rouzaud Sáñez*

Resumen

El desarrollo tecnológico de nuevas fórmulas ha incluido estrategias para establecer la vida útil o vida de anaquel. La empresa de competencia global debe considerar la vida útil del alimento en ambientes específicos para producir, transportar, distribuir y comercializar alimentos estables. El consumidor actual posee información para seleccionar alimentos sanos, logrando aumentar la nutrición de su dieta. Además, considera que la estabilidad y la biodisponibilidad de los nutrientes en los alimentos son las características claves para reducir problemas inmunes y retrasar las deficiencias en su desempeño físico y mental. Los alimentos seguros mejoran la utilización de nutrientes, promueven la salud, la productividad y contribuyen a gozar de la vida en plenitud por mayor tiempo. Objetivamente, aquí revisaremos los métodos para establecer la velocidad de las alteraciones y la terminación de la vida útil de los alimentos. La finalidad de las estrategias de medir la vida útil es mostrar la seguridad que presentan los alimentos para el consumidor.

Palabras clave: estabilidad, vida útil, velocidad de reacción, deterioración, etiquetado de vida útil.

Introducción

La industria alimentaria establece sistemáticamente la vida de anaquel de los alimentos. El consumidor tiene el derecho de conocer tanto la estabilidad como la seguridad. La frescura suele asociarse a la calidad y seguridad. La calidad de los alimentos no sólo depende de su estado de frescura inicial. También, incluye la extensión de los cambios ocurridos en su procesamiento y almacenamiento (Tavakolipour y colaboradores, 2010). La industria ha utilizado diferentes metodologías, como colores asociados al empaque y/o sistemas de etiquetado, para señalar tanto la vida útil como la seguridad de los alimentos (Labuza y Riboh, 1982). A la fecha, no existe una metodología unificada y con alcance global para establecer y etiquetar la vida útil de todos los productos.

Definición y criterios para establecer la vida útil de alimentos

El etiquetado correcto de la vida útil o caducidad de los alimentos lleva a establecer la seguridad en el sistema de producción y distribución. Además, la seguridad alimentaria implícita en el etiquetado, posee a su vez interdependencia con la nutrición, y ambos componentes son de suma importancia individual y global en la salud pública (Rahim y colaboradores, 2011). El concepto abreviado de vida útil es conocido como “el tiempo que tiene un alimento antes de ser declarado no apto para consumo humano” (Tavakolipour y colaboradores, 2010). El consumidor se preocupa en conocer el tiempo óptimo que un alimento puede y debe almacenarse hasta antes de su consumo. Mientras que, el productor está interesado en conocer el tiempo máximo de exposición en el mercado. Ambas partes tienen intereses relacionados con la estabilidad y seguridad del alimento. Para el consumidor, la definición de vida útil es: “el tiempo que transcurre, manteniendo las especificaciones de calidad, bajo condiciones definidas desde su elaboración hasta su deterioro” (Labuza y Riboh, 1982). Esto es, el período donde la calidad nutritiva, sanitaria y sensorial es la típica y aceptable para dicho producto. La vida útil de los alimentos debe declararse en el etiquetado, siguiendo las especificaciones de la norma, que incluye las características nutricionales e información sobre la conservación apropiada (Silva y colaboradores, 2007).

El deterioro se genera por factores químicos, físicos y microbiológicos. Mientras que la seguridad de los alimentos es el tiempo desde la producción hasta su descomposición, o bien, el período donde son aptos para su consumo sin que presenten riesgo a inducir una intoxicación en el consumidor. La seguridad de los alimentos implica compromisos fundamentales y legales de los productores. La legislación

oficial del país protege a los consumidores (Silva y colaboradores, 2007). Ésta prohíbe la exposición y venta de alimentos que:

- a) Contengan sustancias que encierren daños a la salud.
- b) Demuestren defectos físicos al observador.
- c) Se encuentren contaminados sobrepasando los límites permitidos como seguros.
- d) Contengan sustancias no listadas.
- e) No cuenten con calidad satisfactoria de los ingredientes.
- f) Expresen falsedad o engaño en las etiquetas (NOM. Normas Mexicanas 2006, NOM-008-SCFI y NOM-030-SCFI).

Los factores propios de la composición química, en combinación con las modificaciones del medio ambiente, alteran el tiempo de estabilidad del alimento. Los factores físicos comunes son temperatura, presencia de oxígeno y manipulación inadecuada, entre otros. Además, ambos factores determinan el desarrollo microbiológico (Man, 2002). Las agresiones que sufre el alimento, desde la producción hasta la mesa del consumidor, pueden ser controladas mediante técnicas de procesamiento, conservación y empaques.

El deterioro ocurre continuamente, no es espontáneo, depende del tiempo transcurrido bajo condiciones específicas. La industria establece la vida de anaquel ofreciendo la oportunidad de elegir los paquetes individuales en función de las necesidades de consumo. Por reglamentación, las etiquetas deben incluir las condiciones generales de almacenamiento determinantes para mantener la vida de anaquel impresa en el paquete (Silva y colaboradores, 2007). La vida útil marcada en las etiquetas puede presentarse en tres tipos de formatos dependiendo de la estabilidad.

1. En el formato del etiquetado para los alimentos sensibles al deterioro (menos de tres meses) deben leerse leyendas como:
 - a) “Consúmase preferentemente antes de (12/3/2012 o 12/marzo/2012)”.
 - b) “Fecha de caducidad, marcar el día y el mes (02/11 o 02/noviembre)”.
2. En las etiquetas de los alimentos con estabilidad mayor a tres meses deben escribirse como:
 - a) “Consúmase preferentemente antes de (3/2012 o marzo/2012)”.
 - b) “Fecha de caducidad, marcar el mes y el año”.
3. Finalmente, los alimentos que se conservan por más de 18 meses deben etiquetarse de la siguiente manera:

- a) “Consúmase preferentemente antes del final de un año específico”.
- b) “Fecha de caducidad, marcar el mes y el año”.

La normatividad vigente en México obliga a etiquetar e incluir la vida útil de todos los productos alimenticios (NOM; Norma Mexicana, 2006). En caso de que el etiquetado sea incorrecto y/o el distribuidor omita rotar los productos respecto a la vida útil, la empresa será requerida y expuesta al cumplimiento de la ley. Por otro lado, el consumidor debe comprender que la calidad disminuye en proporción al tiempo agotado de la vida útil (E.C.; *European Community*, 2009). La norma mexicana resume las implicaciones legales respecto al etiquetado de la vida de anaquel. Además, existe la norma de inspección aplicable a los diferentes tipos de procesamiento de los alimentos (NOM; Norma Mexicana, 2006).

Factores determinantes en la vida útil

El deterioro de la calidad se origina por alteraciones en los factores intrínsecos y extrínsecos. Los factores intrínsecos se relacionan con la composición química, actividad de agua y modificaciones en pH. Mientras que, los extrínsecos involucran la exposición a la temperatura, al oxígeno y a la luz. Otros factores de importancia son el procesamiento, la contaminación por falta de higiene en la infraestructura, equipos o personal. El empaque protege la calidad, e idealmente la selección la determina el propio alimento, su procesamiento y el método de conservación.

La extensión de la vida útil se establece controlando la acción simultánea de los factores intrínsecos y extrínsecos, ponderada por las velocidades de reacción independientes. Por ejemplo, la velocidad de la actividad enzimática contribuye en menor grado, que la oxidación lipídica, en el deterioro de leche deshidratada expuesta frecuentemente al aire. Para ciertos alimentos, las oscilaciones y el aumento de la temperatura son factores determinantes para la seguridad alimentaria. La proliferación de microorganismos depende de la combinación, temperatura y tiempo de exposición (Carrillo y colaboradores, 2007; Medved'ová y colaboradores, 2008). El desarrollo microbiano reduce tanto la vida útil como la calidad nutricional, además, aumenta el riesgo a inducir toxiinfección alimentaria. El proceso metodológico, para establecer la vida de anaquel, requiere de un seguimiento multifacético entre el productor, el procesador y el consumidor para reunir las características óptimas de protección. La auscultación incluye desde los ingredientes que participan en la fórmula, la calidad de los mismos, el procesamiento, hasta el material de empaque y embalaje seleccionado.

La industria se cuestiona en forma constante respecto a qué tan larga debe ser la vida útil de un alimento. Para establecer la vida útil, deben conocerse primero los mecanismos de deterioración en combinación con su dependencia en temperatura. La Tabla 1 muestra los principales mecanismos y factores de deterioración de alimentos. El vino y los quesos son los únicos productos que mejoran su calidad con el tiempo de maduración o añejamiento. Los demás alimentos, en su recorrido desde los centros de producción hasta el consumidor, presentan diferentes causas, fuentes y velocidades de deterioración (Labuza y Riboh, 1982). Independientemente de la fuente u origen del alimento, es común observar interacciones entre factores intrínsecos y extrínsecos. Por ejemplo, el desarrollo de organismos proteolíticos como *Clostridia*, *Bacillus* y *Pseudomonas* en embutidos, muestra la interacción entre factores de composición, formulación y temperatura del almacenamiento. Por ello, el procesador de alimentos tiene la responsabilidad y vigilancia del cumplimiento de condiciones de proceso, etiquetado, almacenamiento y recomendaciones al consumidor (Man, 2002).

Tipos de experimentos para establecer la vida de anaquel

La vida útil de cualquier alimento pudo establecerse mediante experimentos en condiciones normales y aceleradas. Estudios bajo condiciones normales involucraron alteraciones por mecanismos de: contaminación, madurez, deshidratación, endurecimiento de panes y tortillas. Los alimentos ricos en proteína y energía desplegaron variables respuestas que llevaron al consumo rápido de la vida útil del alimento. Las condiciones aceleradas aplicaron sólo cuando los patrones de cambio de las variables respuestas eran casi idénticos a los expuestos en condiciones normales. Por lo general se aplicó a alimentos que observaron mediana o larga vida útil. La velocidad de la variable, respuesta principal, se aceleró bajo condiciones de temperatura, inyección de oxígeno y exposición de luz. La tabla 2 mostró algunos ejemplos y limitaciones observables en los experimentos de vida acelerada. Cuando el diseño contempló varias temperaturas, facilitó la utilización del modelo de Arrhenius para obtener la velocidad de las variables respuestas representantes de uno o varios mecanismos (Labuza y Riboh, 1982). La tabla 3 mostró los principales mecanismos deteriorativos para experimentos en condiciones normales y aceleradas. El beneficio central de la vida acelerada radicó en la extrapolación de la vida útil en condiciones normales de distribución (López-Duarte y Vidal-Quintanar, 2009).

En general, la vida útil de un alimento la establece la industria. La definición clásica es “el tiempo que tiene un alimento antes de ser declarado no apto para consumo

humano”. La sensibilidad del alimento se refleja en el concepto del formato para etiquetar la estabilidad de los alimentos (percederos, mediana y larga estabilidad) descrito previamente. El cumplimiento de las recomendaciones de conservación, contribuyen a alcanzar la meta marcada en la etiqueta y garantizan la calidad nutricional, sanitaria y sensorial. La susceptibilidad del alimento a alterar sus características de calidad y vida útil depende de factores intrínsecos y extrínsecos. Una combinación selectiva de estos factores acelerará la velocidad de deterioración, permitiendo reducir substancialmente el tiempo de experimentación para establecer la vida útil del alimento.

Tabla 1. Descripción de los mecanismos y factores participantes en la deterioración en los alimentos

<i>Mecanismo: Dependiente de temperatura</i>	<i>Factor de deterioración en el alimento</i>		<i>Otros</i>
	<i>Intrínseco</i>	<i>Extrínseco</i>	
Humedad: Deshidratación/ hidratación	Composición de los ingredientes Composición natural y formulación	Tipo de procesamiento	Manipulación del consumidor
Intercambio de: vapor de agua, oxígeno, olores y sabores		Higiene (BPM) ¹ Empaques	Prácticas de uso del consumidor (respeto y/o abuso a condiciones de almacenamiento en el hogar)
Cambios inducidos por exposición a la luz: luz de día o artificial	Composición química. Área expuesta y su estructura física	Materiales y sistemas de empaque	Consideraciones comerciales (existencias que satisfaga la demanda, unidades apiladas, etc)
Cambios químicos y bioquímicos: enzimáticos, decoloraciones, oxidativos	Actividad de agua (aw). Composición	Almacenamiento, distribución (luz, cambios temperatura y humedad)	Empaque inadecuado
Contaminación: a) microbiana o desarrollo acelerado de la flora natural presente, contaminación cruzada o b)deficiencias de BPM. c)pesticidas y fumigantes. Daños físicos por: insectos, roedores y pájaros principalmente	Potencial redox (Eh). Composición del alimento Naturaleza de la composición y tipo de grano	Humedad y temperatura de almacenamiento Empaques Humedad, aeración y temperatura del almacén Contaminación microbiana, Mezcla con otros granos	Deficiencias de buenas prácticas de manufactura Manipulación del consumidor Deficiencias de BPM

Fuentes: Brody (2011); Man (2002); Labuza y Schmidl (1988); Dunn y Rustad (2008). ¹BPM= Buenas Prácticas de Manufactura.

Tabla 2. Características y limitaciones de los experimentos en condiciones aceleradas

<i>Condiciones y alteraciones típicas de algunos ejemplos</i>	<i>Limitaciones experimentales generales en vida acelerada</i>
Termófilos en latas (4-5 días y 55°C)	Modificaciones en la velocidad de la variable respuesta (ocurridas por cambios en estado físico del alimento en la lata)
Penetración de estaño en alimentos enlatados (7 días y 37-45°C)	Resultados inesperados (relacionados con una inadecuada combinación entre temperatura y humedad relativa)
Presencia de hongos en pasteles (15 días y 27-39°C y 75% humedad)	Irregularidad en la velocidad de reacción por diferencias en el estado físico del alimento (concentración de componentes en fase agua durante el almacenamiento)
Contaminación general en cerveza (3-7 días y 27°C)	Inestabilidad por modificaciones en patrones de contaminación (menor incidencia de contaminación y/o proliferación de microorganismos a alta temperatura)
Autoxidación de aceite para cocinar (60-70°C usado en la prueba de Schaal)	No aplica a alimentos de alta demanda con tiempo mínimo en anaqueles (congelados, cubiertos en hielo)
Autoxidación de botanas de papa, margarina y bisquets (Consumo de oxígeno del alimento completo a 8 bar de presión y 70-80°C)	Resultados inesperados en alimentos complejos (composición multivariada, en ausencia de variable respuesta con una velocidad de reacción alta o principal)
Pérdida de composición (Vitamina C) en jugo de naranja (13 días y 40°C o 5 días y 50°C)	Velocidad variable (rápida) por cambios bioquímicos en vitamina C

Fuente: Man (2002).

Tabla 3. Mecanismos de deterioración y principales características de los programas utilizados en predicción de vida de anaquel

<i>Mecanismos de deterioración</i>	<i>Condiciones normales</i>	<i>Condiciones aceleradas</i>	<i>Controles de los factores</i>	<i>Sistema de muestreo</i>
Microbiológicos	Perecederos proteicos. Contaminación total: Bacteriana, NMP, hongos y levaduras Contaminación toxiinfecciosa		Temperatura/ tiempo Inhibidores Inoculación Eliminar: Oxígeno Atmósferas (N ₂ , CO ₂)	Frecuentes en corto tiempo
Madurez	Perecederos vegetales Físicos: color, turgidez, frescura, humedad		Temperatura/ tiempo Atmósferas controladas (N ₂ , CO ₂ , luz)	Frecuentes en corto tiempo

Continúa..

...continuación

Reacciones químicas	Perecederos Textura (salmón) encafecimiento, enzimático (plátano, aguacate) <i>Mediana estabilidad</i> Acidez por contaminación en leche. Oscurecimiento de carnes. <i>No perecederos:</i> germinación de granos	Enzimáticas Indisponibilidad de componentes Oxidación (enzimática o no) Rx de Maillard Autoxidación: Lípidos Antioxidantes Rx de Maillard Otras Rx o componentes	Adición de: Inhibidores Aceleradores Alta T°C, composición Adición de: Inhibidores Aceleradores Alta T°C, composición	Frecuentes en corto tiempo Inicial frecuente, espaciados medio dependiendo del objetivo
Percepciones sensoriales	Perecederos Mediana estabilidad No perecederos Acidez, color Textura Olor y sabor	Desde modificaciones en fórmula Hasta condiciones específicas de: Acidez, color Textura Olor y sabor	Todos los anteriores dependiendo del producto alimenticio	Frecuentes en corto tiempo dependiendo del procesamiento

Fuentes: Tavakolipous y colaboradores (2010), Lakshmisha y colaboradores (2008), y Baranyi y colaboradores (1993).

Características experimentales para determinar la vida de anaquel

La empresa determina la prioridad de cuantificar, supervisar y asegurar el proceso para establecer la vida útil de los alimentos que procesa y distribuye. Además, tiene la obligación de ejecutar como parte de la distribución, el recambio de los paquetes, respecto a la vida de anaquel marcada en las etiquetas. El origen, la composición y el mecanismo de alteración o descomposición, establecen y limitan la selección de las variables respuestas y el diseño experimental. El diseño experimental seleccionado, depende del alimento y su procesamiento. El beneficio de establecer la vida útil, se obtiene cuando la experimentación incluye a las características de comercialización, como parte de las variables experimentales (Labuza y Riboh, 1982).

La empresa para establecer la vida de anaquel de los productos procesados, invierte sustancialmente recursos económicos, administrativos y experimentales. Donde, cada uno debe establecer compromisos auditables. Los recursos económicos y administrativos señalan la política empresarial para mantener o crecer la marca. Los recursos básicos experimentales necesarios se componen por: el personal (técnico y científico), la herramienta de la metodología oficial (diferentes variables respuestas) y el sistema de administración de la información. El personal con experien-

cia se necesita para planear, ejecutar la experimentación, supervisar el análisis estadístico e interpretar los resultados. La herramienta metodológica oficial involucra a las características pertinentes en la necesidad de almacenamiento y empaque respecto al tipo de producto a evaluar (refrigeración, congelación, cámaras, equipos especiales de procesamiento). Además, contempla la ejecución de variables respuestas microbiológicas, químicas y sensoriales. Mientras que, el sistema de información coordina el proceso, desde la programación del almacenamiento, la determinación de las variables respuestas, la captura de datos, el análisis estadístico, la interpretación de resultados, la elaboración de reportes, hasta la difusión adecuada de los mismos (Man, 2002).

La industria, conociendo la probabilidad en tiempo para activarse los caminos de alteración de cada tipo de alimento, debe establecer el punto final de la vida útil. Para ello, cuenta con la reglamentación oficial y la experiencia de sus cuadros de investigación (NOM, Norma Mexicana, 2006). La meta es conocer el tiempo máximo en que el alimento se vuelve inseguro para su consumo. El tiempo máximo para el consumo seguro se fija con la ayuda de la reglamentación estándar y legislativa del país, donde participan organizaciones internacionales y especialistas en protección y comercialización segura de los alimentos (*Institute of Food Science and Technology*; IFST, 1999, 2011; Labuza y Schmidl, 1988).

El proceso para establecer la vida útil de un alimento consta de cuatro pasos, y cada uno contempla objetivos específicos como se describen a continuación (Labuza y Riboh, 1982; Man, 2002; Parlak y colaboradores, 2011):

1. Un estudio inicial de vida útil para establecer las características del desarrollo del alimento. El experimento se realiza con producto de la fórmula definitiva. Las limitantes radican en el empaque y posiblemente en intercambio de ingredientes. El empaque no es el definitivo para la comercialización. El estudio inicial descubre los mecanismos químicos, bioquímicos y físicos de la alteración. Además, muestra las probables fuentes y tipos de contaminación.
2. Las determinaciones preliminares de vida útil se establecen durante el desarrollo experimental en la planta piloto. La experimentación se ejecuta bajo condiciones específicas de procesamiento y almacenamiento, permitiendo determinar al mismo tiempo las variables químicas y microbiológicas. El análisis de resultados permitirá asignar una vida de anaquel provisional, e incluir el resumen de la formulación, procesamiento, almacenamiento y especificaciones de empaque (Tavakolipour y colaboradores, 2010).
3. Las determinaciones confirmatorias de la vida útil son ejecutadas en el producto que posee la fórmula definitiva. La información obtenida confirma los

resultados preliminares y guía el proceso para establecer las especificaciones decisivas en el lanzamiento (Parlak y colaboradores, 2011).

4. Las determinaciones rutinarias de la vida útil tienen el objetivo de garantizar la producción estandarizada de los componentes en la formulación de un producto base. Además, permiten identificar modificaciones en las variables de la flora natural, rutas extraordinarias de contaminación, problemas de calidad total y tipo de empaques. Los resultados se utilizan en la corrección o ajustes de la vida útil.

La planeación escalonada de las cuatro etapas ha generado la seguridad del alimento, ofreció confianza al procesador y ha proveído de bases sólidas a la publicidad. Además, el análisis rutinario de la estabilidad, ha permitido identificar problemas específicos de las materias primas y documentar cambios de proveedores (Labuza y Schmidl, 1988).

Modelos experimentales para establecer la vida útil

La tecnología informática favoreció el uso sistemático de las matemáticas, estadística y programación, para crear modelos de predicción de la vida de anaquel en alimentos. Existen tres tipos de modelos, los primarios, secundarios y terciarios. La tabla 4 describió las características y ejemplos de los modelos primarios y secundarios. Los modelos primarios describieron en el tiempo, bajo condiciones específicas, cambios en el desarrollo microbiológico (método directo expresado en unidades formadoras de colonias (UFC)/g). Otros permitieron cultivar controladamente a microorganismos y medir la producción o concentración de una toxina (método indirecto, requiere identificación de las toxinas). El modelo Gompertz ha sido de los más conocidos, mostró la respuesta como función del valor D (Baranyi y colaboradores, 1993).

Los modelos experimentales secundarios describen los cambios de un parámetro determinante de la alteración, respecto a modificaciones en las condiciones de temperatura, pH, o actividad de agua. El modelo de Arrhenius ha usado varias temperaturas, permitió calcular la velocidad de reacción de las variables respuestas y la energía necesaria para ejecutarse (Ratkowsky y colaboradores, 1982). Este modelo ha sido uno de los más utilizados (Vidal-Quintanar y colaboradores, 2002; López-Duarte y Vidal-Quintanar, 2009). Otros modelos, como la raíz cuadrada de Ratkowsky (Ratkowsky y colaboradores, 1983) y la respuesta de superficie (Zhao y colaboradores, 2002; Parlak y colaboradores, 2011), también involucraron a varias temperaturas. Mientras que las redes neuronales fueron modelos de tercer nivel, diseñados para predecir la vida útil y monitorear las opiniones del consumidor. Estos modelos permitieron validar los métodos primarios y secundarios (Cheroutre-Vialette y Lebert, 2000).

Tabla 4. Características y ejemplos de modelos primarios y secundarios utilizados en predicción de vida de anaquel de alimentos

Modelo	Características	Alimento	Cita	Conclusión
Primario: Gompertz ¹ $L(t) = A + Ce^{(-\exp[-B(t-M)])}$ $L(t)$ = log No. bacterias a tiempo t (h), A = No. bacterias inicial a $t = 0$ h, C = Máximo log crecimiento M = Tiempo de la máxima velocidad de crecimiento B = log de la máxima velocidad de crecimiento en tiempo M . La variable respuesta en velocidad de crecimiento exponencial (EGR) : $EGR = BC/e$ Donde $\ln(B) = -23.5 + 1.496s + 0.487t + 4.29p - 0.0608s^2 - 0.00563t^2 - 0.293p^2$ C = constante, e = base de logaritmos naturales, s = concentración sal (%), p = pH y t = temperatura (°C)	S. Enteritidis en huevo distribuido en EU y Canada. K depende del material de embalaje. Utilización y crecimiento microbiano en compuestos orgánicos.	(Van Gerwen y colaboradores 2000). Okpokwasili y Nweke 2005.	Apropiado para calcular el riesgo. a) Muestra efectos entre tipos de pasteurización b) Limitado por cuenta microbiana inicial Predice desarrollo de hongos y bacterias dependientes del sustrato. Eficiente en tiempo de uso y resultado final	
Secundario: Arrhenius ² $K = A \exp(-Ea / RT)$ $\log_{10} k = \log A - Ea / 2.303 RT$ $\ln k = \ln A - (Ea / RT)$ A = Factor de frecuencia o factor pre-exponencial Ea = Energía de activación $R = 0.001987 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1} (8.31 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1})$ K = Temperatura en °K (°C + 273) Con 3 temperaturas permite obtener 3 velocidades (k), y calcular la velocidad k a la temperatura problema. $Q_{10} = k(T + 10) / k(T) \text{ °C}$, Q_{10} = vida útil $T \text{ °C}$	Uso de lisosima en el control microbiano de cervezas no pasteurizadas	Silveti y colaboradores, 2010.	Predice la estabilidad y no modifica las propiedades sensoriales. Lisosima en 80-100 ppm promueve la extensión de la vida útil a 12 m	
Secundario: Ratkowsky ³ Describe la relación entre velocidad de crecimiento específico microbiano y temperatura 1. Contempla 4 parámetros, T_{min} , T_{max} , $<T_{min}$, $>T_{max}$ y crecimiento específico μ_m (h^{-1}). $\mu_m(T) = (b(T - T_{min})) \{ 1 - \exp[-c(T - T_{max})] \}$ ² 2. Los parámetros b ($^{\circ}C^{-1} h^{-0.05}$) y c ($^{\circ}C^{-1}$). 3. Obtener la velocidad de crecimiento k .	Leche infantil reconstituida.	Kandhai y colaboradores, 2006	El Modelo predice esporas a 3-10 d antes de reproducirse Las células microbianas presentes a 28 d no muestran fase lag.	
Secundario: Metodología de respuesta de superficie (RSM) ⁴ 1. Diseño experimental multifactorial y multiniveles. 2. Ejemplo número de factores, $k = 4$, número de niveles, $l = 4$. 3. Puede probarse para un producto o para varios al mismo tiempo, c = variedades sorgo = 3. 4. Establecer la participación de los factores individuales y combinados en la variable respuesta. 5. Obtener la contribución (%) de los factores al modelo. 6. Obtener gráficamente la distribución de la respuesta. 7. Obtener la ecuación para el modelo (coeficiente de correlación, R^2).	Uso de enzimas en sorgo no malteado para producir cerveza.	Desobgo y colaboradores, 2010.	Efecto de las enzimas en la estabilidad por reducción de proteína y almidón de la cerveza La RSM fue eficiente y seguro para establecer los efectos de los parámetros principales de la vida útil	

Fuentes: ¹Baranyi y colaboradores (1993); ²Vidal-Quintanar y colaboradores (2003); ³Ratkowsky y colaboradores (1982) (1983); ⁴Parlak y colaboradores (2011).

La tabla 5 mostró las características experimentales relacionadas con el tipo del alimento y su procesamiento, e incluyó a las variables respuestas. El punto final de la vida útil lo estableció la empresa con la ayuda de la reglamentación estándar oficial, las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y el programa de supervisión interna. La empresa pudo imponer sus estándares o vida útil, bajo la experiencia comercial y con el respaldo profesional necesario en cada tipo de proceso. Finalmente, la empresa debía exponer a la venta productos de mayor calidad (composición y procesamiento), ofrecer ventajas de bajo precio por unidad y sobre todo ofertar productos más estables que la competencia (Ratkowsky y colaboradores, 1983; Zhao y colaboradores, 2002).

Los modelos terciarios de predicción de vida útil de alimentos técnicamente se agruparon en microbiológicos y no microbiológicos. Los microbiológicos se limitaron a las condiciones específicas del desarrollo de organismos deteriorativos o tóxicos. Estos experimentos impidieron extrapolar la vida útil. Las limitantes estaban en la presencia de antimicrobianos naturales o agregados, que repercutieron en cambios de los mecanismos de contaminación. Los modelos no microbiológicos, se refirieron a las reacciones (Rx) químicas ocurridas en los diferentes tipos de alimentos. Estos modelos de predicción eran complejos, por ejemplo, las reacciones enzimáticas, la madurez, la oxidación (lipídica, pigmentos, vitaminas), la hidrólisis (aspartame, triglicéridos), el encafecimiento (no enzimático y enzimático), la absorción, la evaporación y la reabsorción de humedad (Lakshmisha y colaboradores, 2008; Brody, 2011). Con frecuencia, las reacciones son específicas del tipo de alimento y varían con el procesamiento y empaque, como mostraron los ejemplos de la tabla 6. La figura 1 descubrió la complejidad de las etapas experimentales necesarias para establecer la vida útil. La oxidación lipídica limitó la vida útil de los alimentos grasos, la reacción ocurrió en etapas y cada una demandó conocer el mecanismo oxidativo y la evolución cinética en el tiempo para la variable respuesta seleccionada (López-Duarte y Vidal-Quintanar, 2009). Los retos experimentales en ambos tipos de modelos (microbiológicos y Rx químicas) involucraron a la ejecución sistemática de los protocolos y procedimientos para limitar errores de manipulación del alimento. La experiencia de los especialistas y técnicos ha sido valiosa para evitar variaciones en la velocidad de las variables respuestas de los mecanismos de deterioración de alimentos complejos (Brody, 2011).

Tabla 5. Principales características del plan experimental para predicción de vida de anaquel

<i>Producto</i>	<i>Procesamiento y problema</i>	<i>Características experimentales</i>	<i>Variables respuestas</i>
Perecedero: consumáse preferentemente antes de “23/03/2011” Papas + salsa de queso crema horneadas y congeladas	Cocinado; desarrollo de los microorganismos toxi-infecciosos. Problemas: a) grosor de la papa, b) temperatura (95 °C en el centro), c) por congelación temprana (<30 min), d) tiempo para llegar a 5 °C	Requiere1: diagrama de proceso, condiciones en cada operación y ejecución bajo BPM Almacenamiento normal: 3 T (-18, -5, 8 °C). Tiempo: 10 días mínimo y muestreo diario	Microbiológicas [Gram (+) y(-)] Químico: Medir pH, ácidos grasos libres, y contenido salino Sensorial: textura, olor a fermentado o putrefacto
Semiperecedero: consumáse antes de “03/2011” Papa-maíz crujientes y saladas	Freído; oxidación lipídica y absorción de humedad Problemas: a) humedad >1% y grasa >31% (180 °C/2.5 min) b) calidad del aceite c) sellado apropiado del empaque (50g)	Requiere1: diagrama de proceso, condiciones en cada operación y ejecución bajo BPM Almacenamiento normal: control, 18 °C, 20 °C con 55% humedad y 25 °C con 75% humedad. Tiempo: 8 semanas y muestreos al menos 2 por semana	Oxidación lipídica: valor de peróxidos, conjugados dienólicos, ácidos grasos libres, p-anisidina. Físico-químico: Absorción de humedad y peso del paquete Sensorial: olor y sabor a rancio
No perecederos: consumáse antes de “05/2011” Arroz integral	Perlado y precocido; ataque de insectos, oxidación lipídica Problemas: a) deficiencia o exceso de eliminación de cascarilla b) tiempo, temperatura, humedad inapropiados	Requiere1: diagrama de proceso, condiciones en cada operación y ejecución bajo BPM Almacenamiento acelerado: control, 55 °C, 65 °C y 75 °C con 55% humedad Tiempo: 16 semanas y muestreos cada 48 h las primeras 8 semanas, 72 h las últimas 8 semanas	Oxidación lipídica: valor de peróxidos, conjugados dienólicos, ácidos grasos libres, p-anisidina Físico-químico: Absorción de humedad y peso del paquete Sensorial: establecer tres niveles oxidativos para medir olor y sabor a rancio

Fuentes: Baranyi y colaboradores (1993); Man (2002); López-Duarte y Vidal-Quintanar (2009). ¹Codex Alimentario para higiene de alimentos (Codex, 1997).

Es posible lograr la extensión de vida útil con un buen procesamiento y almacenamiento (Brody, 2011; Mhurchu y colaboradores, 2010). Aunque, ésta es limitada por el tipo de alimento y la combinación de los mecanismos deteriorativos. La extensión de la vida útil, posee un fin puramente comercial. El objetivo del industrial es optimizar la oferta, variedad, permanencia del producto durante todo el año, ampliar el área de distribución y reducir las pérdidas o devoluciones. Los nuevos procesamientos son herramientas de uso individual o combinado para extender la vida del alimento. Entre ellas están, las microondas, luz ultravioleta, alto vacío, mínimo procesamiento, ultra pasteurización, empaques inteligentes y congelamiento rápido de unidades individuales (Anjum y colaboradores, 2006). En la práctica, la vida útil debe extenderse sin comprometer u obstaculizar la calidad nutricional y la seguridad del alimento. Por ejemplo, se ha tenido éxito en extender la vida útil de embutidos de salmón (utilizando el congelado y empaque modificado); Duun y Rustad, (2008), salsas (mediante vacío y control pH), puré de aguacate (aplicando la ultra pasteurización, alto vacío, antioxidantes o agentes que atrapan oxígeno) y en jugo de naranja (usando alto vacío y ultra pasteurización) (Guerrero-Beltrán y colaboradores, 2011).

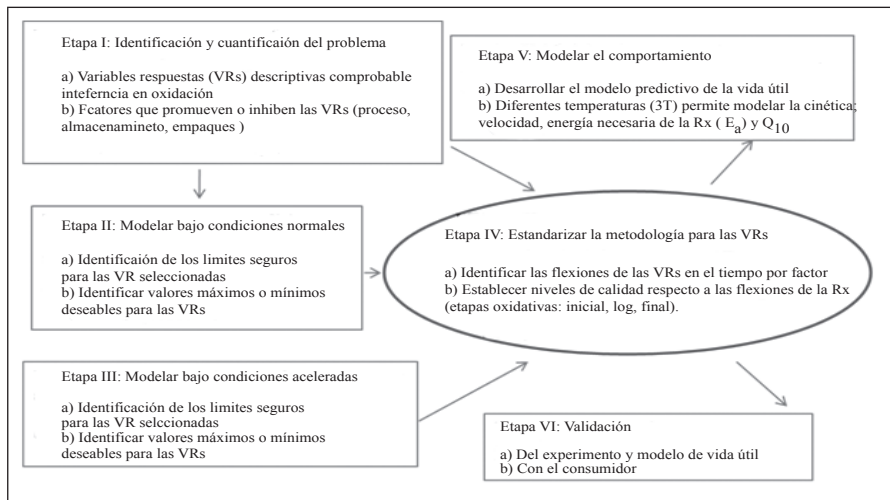
Tabla 6. Características de los paquetes computacionales para ejecutar los modelos terciarios durante el análisis de la vida útil de alimentos

Modelo	Características principales
MicroModel en alimentos (Food MicroModel Ltd)	Inglaterra (proyecto colaborativo 1989-1994) Aplica a varios microorganismos y fuentes de alimentos
Predicción de patógenos (Pathogen Modeling Program)	Estados Unidos (desarrollado por la USDA) Incluye modelos para alimentos irradiados con gama
Predicción de modelos (Forecast CCFRA)	Inglaterra (Campden and Chorleywood Food Research Association) Predice la vida útil respecto a contaminación microbiana de alimentos en general
Predicción de pseudomonas (Pseudomonas Predictor)	Australia (Food Spoilage Predictor) Modela el crecimiento de pseudomonas en alimentos proteicos bajo efectos combinados de pH, actividad de agua y temperatura de refrigeración
Calidad de pasteles (ERH CALC TM)	Inglaterra (Flour Milling and Baking Research Association) Estima la vida de anaquel respecto a cuenta de hongos bajo diferentes humedades relativas

<p>Predicción de contaminación en productos marinos (Seafood spoilage predictor)</p>	<p>Dinamarca (Danish Institute for Fisheries Research) 1. Modela la velocidad relativa de contaminación o deterioración 2. Modela a microorganismos toxigénicos específicos</p>
<p>Ajustes microbianos (MicroFit)</p>	<p>Inglaterra (Institute of Food Research) Predice la deterioración respecto a crecimiento microbiano</p>
<p>Transporte de alimentos (CoolVan)</p>	<p>Inglaterra (Food Refrigeration and Process Engineering Research Center) Modela varias temperaturas y tipos de alimentos, incluyendo tiempo, tipo de enfriamiento y materiales de construcción de la cámara</p>

Fuentes: U.S. Department of Agriculture and Institute of food research (IFR). A combine database for predictive microbiology and food safety centre. (2011; [http:// www .ifr.bbsrc.ac.uk/MicroFit/](http://www.ifr.bbsrc.ac.uk/MicroFit/)). FAO (2003; www.dfu.min.dk/micro/sssp/; <http://sssp.dtuqua.dk/>). U.S. Department of Agriculture ARS (2007; [http://www .arserrc.gov/mfs/pathogen.htm](http://www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm); [http](http://www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm)).

Figura 1. Planteamiento experimental logístico utilizando modelos para predecir la vida de anaquel, respecto a variaciones en la cinética oxidativa de alimentos grasos



Fuente: López-Duarte y Vidal-Quintanar (2009).

La estrategia para establecer la vida de anaquel ha involucrado la selección de condiciones de almacenamiento, un diseño experimental con su plan de muestreo y la ejecución de un grupo de variables respuestas. Los mecanismos de deterioración de los alimentos perecederos permitieron trabajar en condiciones y tiempo de distribución reales de comercialización. Entre ellos estaban, los productos cárnicos, leche, quesos frescos, productos de panificación, deshidratación de frutas y vegetales. Mientras que, los alimentos semiperecederos y estables requirieron de condiciones aceleradas para monitorear las variables responsables del deterioro. En estos grupos se encuentran los productos deshidratados, cereales, galletas, frituras de maíz, harinas, mayonesas, arroz y avena integral.

Conclusiones

1. Establecer y etiquetar la vida útil de los alimentos es responsabilidad primaria del procesador y distribuidor. Mientras que, el consumidor debe seguir las instrucciones del empaque y responsabilizarse de seleccionar el almacenamiento apropiado, para conservar la calidad del alimento dentro de la fecha establecida en la etiqueta.
2. La contaminación microbiológica y las reacciones químicas son los principales mecanismos limitantes de la vida útil de los alimentos.
3. El modelo primario se basa en el recuento de microorganismos y toxinas producidas bajo condiciones específicas de crecimiento. Sin embargo, se utiliza en una amplia variedad de mecanismos de deterioración del alimento.
4. Los modelos secundarios, con diferentes temperaturas y experimentos de vida acelerada, establecen la velocidad de una o varias variables respuestas. El modelo predice la vida útil del alimento en condiciones normales.
5. Los modelos terciarios para validar los métodos primarios y secundarios. Las variables respuestas utilizadas en la vida de anaquel dependen del alimento, procesamiento y empaque seleccionado.

Agradecimientos

Los autores agradecen a María Auxiliadora Teresa Urquijo Durazo, Cutberto López Reyes y María Lourdes Aldana Madrid por su valiosa participación en la edición del manuscrito.

Referencias

- Anjum, F., F. Anwar, A. Jamil and M. Iqbal (2006), “Microwave roasting effects on the physic-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil”, *J. American Oil Chemistry Society*, vol. 83 (9), pp. 777-784.
- Baranyi, J., T. A. Roberts and P. McClure (1993), “A non-autonomous differential equation to model bacterial growth”, *Food Microbiology*, vol. 10 (1), pp. 43-59.
- Brody, A. (2011), “Extending shelf life with micro-oxygen technologies”, *Food Technology*, vol. 65 (1), pp. 79-81.
- Carrillo-Inungaray, M. L., D. Zavala and B. Alvarado (2007), “Modelado del efecto de la temperatura, actividad de agua y pH sobre el crecimiento de *Rhizopus oryzae*, 2007”, *Información Tecnológica*, vol. 18 (4), pp. 57-62.
- Cheroutre-Vialette, M. and A. Lebert (2000), “Growth of *Listeria monocytogenes* as a function of dynamic environment at 10°C and accuracy of growth predictions with available models”, *Food Microbiology*, vol. 17, pp. 83-92
- Desobgo, Z. S. C., E. J. Nso, D. Tenin and G. J. Kayem (2010), “Modelling and optimizing of mashing enzymes-effect on yield of filtrate of unmalted sorghum by use of response surface methodology”, *J. Inst. Brew.*, vol. 116 (1), pp. 62-69.
- Duun, A. S. and T. Rustad (2008), “Quality of superchilled vacuum packed atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at -1.4 and -3.6 °C”, *Food Chemistry*, vol. 106, pp. 122-131.
- European Community. European commission, DG hearth and consumers (2009), “Consumers affairs. The unfair commercial practices”, bulletin núm. 315. ISSN:0212-033X, disponible en <http://ec.europa.ec/consumers>; pp. 112039-112060.
- Food Agriculture Organization (2003), “Corporate document repository. Predictive microbiology. Assessment and management of sea food safety and quality”, disponible en www.dfu.min.dk/micro/ssp; www.sssp.dtuaga.dk, arserrc.gov/mfs/PHATHOGEN.HTM
- Guerrero-Beltran, J. A., G. V. Barbosa-Canovas and J. Welti-Chanes (2011), “High hydrostatic pressure effect on natural microflora, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, and *Listeria Innocua* navel orange juice”, *International J. of food Engineering*, vol. 7 (1), pp. 1-16.
- IFST. (1999), *Development and use of microbiological criteria for foods. Institute of Food Science and Technology (UK)*, London, ISBN 0 905363 162, pp. 1-76.
- IFST. (2011), *Food and Drinks Good Manufacturing Practice. A Guide to its Responsible Management*, (5th edition), ISBN 0 905363200, pp. 1-225.

- Kandhai, M. C., M. W. Reij, C. Grogno, M. Schothorst, L. G. M. Gorris and M. H. Zwietering (2006), "Effects of preculturing conditions on lag time and specific growth rate of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted powdered infant formula", *Appl. and Env. Microbiology*, vol. 72 (4), pp. 2721-2729.
- Labuza, T. P. and D. Riboh (1982), *Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction and nutrient losses in foods. Food Technology*, pp. 10-66. 68. 70, 72, 74.
- Labuza, T. P. and M. K. Schmidl (1988), "Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation", *Cereal Food World*, vol. 33 (2), pp. 193-204.
- Lakshmisha, I. P., G. Ravishankar, G. Ninan, C. O. Mohan, and T. K. S. Gopal (2008), "Effect of freezing time on the quality of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) during frozen storage", *J. of Food Science*, vol. 73 (7), pp. S345-S353.
- López-Duarte, A. L. and R. L. Vidal-Quintanar (2009), "Oxidation of linoleic acid as a marker for shelf life of corn flour", *Food Chemistry*, vol. 114, pp. 478-483. doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.105.
- Man, D. (2002), *Introduction to shelf life of foods frequently asked questions. IN: Shelf life. Food Industry Briefing Series, Shelf life, section 1*, pp. 1-34.
- Medvedová, A., D. Liptáková, A. Hudecová and L. Valík (2008), "Quantification of the growth competition of lactic acid bacteria: a case of co-culture with *Geotrichum candidum* and *Staphylococcus aureus*", *Acta Chimica Slovaca*, vol. 1 (1), pp. 192-207.
- Mhurchu, C. N., T. Blakely, Y. Jiang, H. C. Eyles and A. Rodgers (2010), "Effect of price discounts and tailored nutrition education on supermarket purchases: a randomized controlled trial", *Am. J. Clinical Nutrition*, vol. 91 (3), pp. 736-747.
- NOM. Norma Mexicana (2006), Diario oficial. Secretaría de Economía. Información comercial-cantidades en las etiquetas-especificaciones. NOM-008-SCFI-1993, NOM-030-SCFI-1993, NOM-051-SCFI-1993, NOM-050-SCFI-2004, NMX-F-036-1997 NORMEX, disponible en WWW.profeco.gob.mx o WWW.cofepris.gob.mx
- Okpokwasili, G. C. and C. O. Nweke (2005), "Microbial growth and substrate utilization kinetics", *African J. of Biotechnology*, vol. 5 (4), pp. 305-317.
- Parlak, O., O., Zorba and S. Kurt (2011), "Modelling with response surface methodology of the effects of eggs yolk, egg white, and sodium carbonate on some of the physical-chemical and sensory properties of beef parties", *International J. of Food Engineering*, vol. 7 (2), pp. 1-13.
- Rahim, A., D. Saeed, G. A. Rassool and G. Saeed (2011), "Factors influencing household food security status", *Food and Nutrition Sciences*, vol. 2 (2), pp. 31-31.
- Ratkowsky D. A., J. Olley, T. A. McMeekin and A. Ball (1982), *Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures*, vol. 149 (1), pp. 1-5.

- Ratkowsky, D. A., R. K. Lowry, T. A. McMeekin, A. N. Stokes and R. E. Chandler (1983), "Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range", *Journal of Bacteriology*, vol. 154, pp. 1222-1226.
- Silva-Rodríguez, M. R., J. E. Alvarado-Angulo, M. Cortés-García, S. I. Chávez and T. L. Chávez (2007), *El Poder de las etiquetas diagnóstico sobre el etiquetado en México proyecto ciudadanía ambiental global*, Colectivo Ecologista Jalisco, México, Guadalajara, pp. 1-42.
- Silvetti, T., M. Brasca, R. Lodi, L. Vanoni, F. Chiolerio, M. de Groot and A. Bravi (2010), "Effects of lysozyme on the microbiological stability and organoleptic properties of unpasteurized beer", *J. of the Institute of Brewing*, vol. 116 (1), pp. 33-40.
- Tavakolipour, H., M. Armin and A. Kalbasi-Ashtari (2010), "Storage stability of kerman pistachio nuts (*Pistacia vera* L.)", *International Journal of Food Engineering*, vol. 6 (6), pp. 1-15.
- U.S. Department of Agriculture (2011), "A combine database for predictive microbiology and food safety centre", Institute of food research (IFR), disponible en www.ifr.ac.uk/microFit
- U.S. Department of Agriculture (2007), "Title: Use of US Department of Agriculture -Pathogen modeling program and the predictive microbiology information portal", Juneja, Vijay, disponible en www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm
- Van Gerwen, S. J. C., M. C. te Giffel, K. Van Triet, R. R. Beumer and M. H. Zwietering (2000), "Stepwise quantitative risk assessment as a tool for characterization of microbiological food safety", *J. Appl. Microbiology*, vol. 88, pp. 938-951.
- Vidal-Quintanar, R. L., M. H. Love, J. A. Love, P. J. White and , L. A. Johnson (2003), "Lipid-oxidation-limited shelf-life of nixtamalized instant corn masa", *Journal of Food Lipids*, vol. 10(3), pp. 153-163.
- Zhao, L., T. Montville and D. W. Schaffner (2002), "Time-to-detection, percent-growth-positive and maximum growth rate models for *Clostridium botulinum* 56A at multiple temperatures", *International Journal of food Microbiology*, vo. 77 (3), pp. 187-197.

Potencial alergénico de frutas y hortalizas: un riesgo a la seguridad alimentaria

Rafael Díaz Sobac y Alma Vázquez Luna

Resumen

La alergia alimentaria, es una enfermedad compleja determinada por factores ambientales y genéticos. Generalmente se asocia a un conjunto de reacciones adversas en las que hay una patogenia inmunitaria comprobada y que son provocadas por la ingestión, el contacto o la inhalación de determinadas moléculas presentes en alimentos. La prevalencia de alergenicidad asociada al consumo de alimentos se observa principalmente en leche y huevo (44%), seguida de pescado (14%), sin embargo, el riesgo conjunto de frutas y vegetales podría alcanzar hasta un 30%, debido principalmente a que las costumbres alimentarias están incrementando el consumo de éstos. A nivel inmunológico, las alergias a alimentos corresponden a una respuesta clásica de interacción del alérgeno (alimento) con la *IgE* específica y la consiguiente liberación de mediadores por mastocitos y basófilos con expresión clínica variable. Diferentes alérgenos alimentarios pueden compartir epítomos con o sin consecuencias clínicas, constituyendo las denominadas reacciones cruzadas. La funcionalidad como alérgeno de las fracciones proteicas presentes en frutas, depende básicamente de las características moleculares, del estado conformacional, de la actividad biológica y de las características estructurales. Recientemente, se ha descrito la alergia de algunos individuos al látex que desprenden algunos de los frutos, que se origina principalmente por una exposición prolongada con los mismos. La caracterización de alérgenos desde el punto de vista químico-estructural y biológico funcional, representa una serie de retos para la proteómica y metabolómica, debido

a la influencia del estrés abiótico provocado por el cambio climático y a las nuevas tecnologías de conservación basadas principalmente, en criterios nutrimentales o sensoriales.

Palabras clave: Alergia, alimentos, nutrición, salud.

Alergias Alimentarias: un silencioso riesgo de salud

La incidencia de las enfermedades alérgicas generadas por alimentos, se ha duplicado en los últimos veinte años, y podría ser uno de los mayores retos de la medicina en cuanto al diagnóstico, seguimiento y vigilancia epidemiológica, así como por repercusiones económicas sobre la salud pública. La Organización Mundial de la Salud (OMS) colocó a las enfermedades alérgicas en el cuarto lugar a nivel mundial y como una de las epidemias del siglo XXI. La alergia alimentaria, ha sido una enfermedad compleja determinada por factores genéticos y ambientales, y aun cuando se reconoció su importancia ha sido una de las enfermedades menos estudiada. Se conoce como alergia alimentaria al conjunto de reacciones adversas en las que existe una patogenia inmunitaria comprobada y que fueron provocadas por la ingestión, el contacto o la inhalación de determinados alimentos (Ibañez y colaboradores, 1999). Estas reacciones se produjeron solamente en algunos individuos, no se relacionaron con ningún efecto fisiológico o fisiopatológico propios del alimento y pudieron suscitarse con cantidades variables, incluso mínimas del alimento/alérgeno. Las alergias alimentarias mediadas por *IgE* se manifestaron tras exposición al alérgeno alimentario, habitualmente por ingestión, en un individuo que se encontraba previamente asintomático salvo otra comorbilidad y que continúa estándolo una vez que concluye la etapa. La presentación clínica de la alergia alimentaria ha sido variable y no estuvo vinculada con un órgano determinado, en cuanto a sus manifestaciones agudas, en forma de cuadros limitados en el tiempo y con una gravedad que oscilo desde un leve prurito oral a un cuadro anafiláctico potencialmente mortal. Los síntomas se repitieron de nuevo con cada nueva exposición al alimento aunque la clínica pudo ser diferente, aun para el mismo individuo, en cuanto al órgano afectado, a la gravedad de los síntomas o a la cantidad necesaria para provocarlos (dosis umbral) (Crespo y Rodríguez, 2003).

La alergia a alimentos afectó a un número importante de niños y adultos, con cifras que oscilaron ampliamente entre el 2 y el 10% de la población, y que pudieron sufrir toda la gama de síntomas que caracterizan la clínica alérgica. Existían evidencias de que su prevalencia, al igual que para otras enfermedades alérgicas, estaba aumentando en las últimas décadas. El único tratamiento recomendado indiscutiblemente fue la dieta estricta de eliminación del alimento o alimentos implicados (Fernández y colaboradores, 1995)

Alergias como reacciones adversas ocasionadas por los alimentos

La Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI) y el Comité de Reacciones Adversas a Alimentos de la Sociedad Española de Alergia (CRAA), clasificaron las reacciones adversas a los alimentos según su mecanismo etiopatogénico en *reacciones tóxicas y no tóxicas* (Alergológica, 2005; Johansson y colaboradores, 2001, 2004). Las reacciones *tóxicas* pudieron ocurrir en cualquier individuo que ingiriera un determinado alimento que contenía natural o artificialmente, fuera por contaminación intencional o casual durante el procesamiento, agentes infecciosos y toxinas, capaces de producir alguna patología. Las reacciones *no tóxicas*, se subdividían a su vez en *no mediadas por algún mecanismo inmunológico*, conocidas clásicamente como intolerancia a alimentos; y *mediadas por mecanismo inmunológico* o alergia a alimentos. Las reacciones no mediadas por mecanismo inmunológico se subdividían en enzimáticas (intolerancia a la leche por deficiencia de lactasa), farmacológicas (hipersensibilidad a compuestos químicos naturales o sintéticos presentes en el alimento) y reacciones indefinidas (el agente causal no es identificable) (Bruijnzeel-Koomen y colaboradores, 1995). *En las reacciones inmunológicas o alergia a alimentos* los cuadros mediados por *IgE* fueron los más comunes y mejor conocidas, correspondían a una respuesta clásica de interacción del alérgeno (alimento) con la *IgE* específica, además de la consiguiente liberación de mediadores por mastocitos y basófilos con expresión clínica variable (Amlot y colaboradores, 1987).

Agentes causales de alergias por consumo de frutas

Los alérgenos presentes en las frutas generalmente fueron del tipo glicoproteínas, con un peso molecular alrededor de 10 a 70 kd, resistentes al calor, a la acción de proteasas y ácidos. Fueron conocidos como trofo alérgenos, sin embargo la frecuencia de las alergias a estas proteínas estaba relacionada con los hábitos alimenticios de cada individuo. Dentro de las frutas, las que con mayor frecuencia produjeron reacciones alérgicas eran las rosáceas, que incluyeron frutas de amplio consumo como melocotón, manzana, pera, albaricoque, cereza, ciruela y fresa. En los pacientes alérgicos a frutas y hortalizas fue muy frecuente encontrar sensibilizaciones amplias a otros alimentos vegetales, de la misma familia o taxonómicamente no relacionados, aunque no todas ellas tenían expresión clínica (Fernández-Rivas, 2003). Además, la alergia a estos alimentos se asoció con mucha frecuencia, generalmente en más de

75% de los casos, con alergia a látex y polen, variando el tipo de polen con la aerobiología de la zona. La base de estas asociaciones de alimentos vegetales entre sí y con pólenes residió en que el individuo existan anticuerpos *IgE* con reactividad cruzada. Con la aplicación de técnicas de biología molecular, se han identificado una serie de alérgenos responsables de la reactividad cruzada. Diferentes alérgenos alimentarios pudieran compartir epítopes con o sin consecuencias clínicas, constituyendo las denominadas reacciones cruzadas. Estos alérgenos eran proteínas ampliamente extendidas en el reino vegetal, implicadas en funciones biológicas importantes (generalmente de defensa), por lo que sus secuencias y estructuras estaban altamente conservadas, lo que las convirtió en “pan alérgenos” (Kelso, 2000, Alonso-Lebrero, 2010).

Alergias por consumo de frutas y vegetales: un potencial problema de seguridad alimentaria

Los alimentos que con mayor frecuencia sensibilización alérgica provocaron fueron los que se consumían con frecuencia, en la mayoría de estos influyó el contenido proteico, además de otras características propias del alimento. No obstante fue importante señalar que los alimentos cárnicos, a pesar de su alto contenido de proteínas, muy rara vez provocaron síntomas alérgicos. Algunas frutas frescas muy frecuentemente consumidas indujeron el desarrollo de alergias, debido a que las fracciones proteicas de bajo peso molecular se comportaron como alérgenos poderosos (Fernández-Rivas, 2003; Pererira y colaboradores, 2002,). Aun cuando la prevalencia de alergenidad asociada al consumo de alimentos aún ha sido máxima para leche y huevo (44%), seguida de pescado (14%), los casos asociados al consumo de frutas y vegetales pudieran alcanzar de manera conjunta valores hasta 30%, debido principalmente a que las costumbres alimentarias han variado, dada la tendencia a incrementar en la dieta el consumo de frutas fresca y procesadas, y a la mayor facilidad de acceso a frutas tropicales conservadas por refrigeración, atmósferas controladas y modificadas, así como sistemas de conservación combinados, que pudieron provocar estados de estrés abiótico.

Adicionalmente, el cambio climático que generó estados de estrés por temperatura y exceso o déficit de agua, fue un factor que podría desarrollar un potencial alérgico en frutas y vegetales debido a que el choque térmico, promovió la liberación de proteínas de bajo peso molecular, como un mecanismo natural de defensa.

También, existía la posibilidad de que con el uso de especies vegetales manipuladas genéticamente, en las que se promovió mayor grado de resistencia a parásitos y

la posibilidad de reducir las reacciones de degradación poscosecha, éstas resultarían más alergénicas que las variedades clásicas.

Finalmente, fue claro que el incremento en la alergenicidad de frutas y vegetales, constituyen un potencial riesgo a la salud del consumidor y en consecuencia un problema de seguridad alimentaria.

Características moleculares de proteínas alergénicas

En la estructura molecular de las proteínas alergénicas se presentaron regiones inmunodominantes, denominadas epítopes, que interactuaron con los fragmentos de unión al antígeno (Fab) de los anticuerpos *IgE* específicos. Los complejos inmunes Fab-alérgeno, tenían entre 15 a 22 residuos de aminoácidos. De éstos, sólo de tres a cinco residuos contribuyeron al proceso de unión a través de múltiples enlaces complementarios de tipo no covalente, originados por fuerzas electrostáticas, principalmente de tipo van der Waals. Las investigaciones para determinar si las características intrínsecas de los epítopes se encontraban relacionadas con su capacidad alergénica fueron un reto para la biología y la química molecular dada la variabilidad genética de cultivares de frutas, ya que la complejidad molecular determinada por la secuencia de aminoácidos, estructura secundaria y tipo de plegamiento, así como su solubilidad, la estabilidad, el tamaño y la actividad bioquímica de un alérgeno, promovieron las condiciones inmunológicas necesarias para la sensibilización del sistema inmunológico del huésped, la interacción con anticuerpos *IgE* y la inducción de las reacciones alérgicas (Sánchez-Monje y colaboradores, 2001).

La funcionalidad como alérgeno de las fracciones proteicas presentes en frutas, depende básicamente de las características moleculares, del estado conformacional, de la actividad biológica y de las características estructurales, y pueden agruparse de la siguiente forma:

1) Modificaciones postraduccionales

La mayoría de los alérgenos son proteínas extracelulares que suelen sufrir modificaciones postraduccionales, y la principal es la glicosilación. Las glicoproteínas se forman en el retículo endoplásmico, donde se unen de manera covalente oligosacáridos, especialmente residuos de asparaginas (N-glicanos) de serinas/ treoninas (O-glicanos),

o bien de prolínas y lisinas en las proteínas de origen vegetal. Estas reacciones se llevan a cabo gracias a la acción de glicosiltransferasas y de algunas glicosidasas. Las glicoproteínas presentan cambios en la estabilidad, la solubilidad, la hidrofobicidad y en la carga eléctrica, y ocasionan que los sitios glicosilados sean más visibles al sistema inmune del huésped. Algunos alérgenos, *N-glicosilados* de plantas, son altamente inmunogénicos, poseen azúcares como manosa, fucosa, xilosa y Nacetilglucosamina, en un orden que no se encuentra en los glicanos de mamíferos, lo que podría ser un indicio de que este orden estructural y biológico precisamente es la clave de la alergenicidad.

2) *Termoestabilidad de los alérgenos*

Los alérgenos presentes en frutas y vegetales, comúnmente son proteínas termoestables y mantienen su alergenicidad después de ser sometidos a calentamiento, ya sea como tratamiento de acondicionamiento para el almacenamiento poscosecha, como para el procesamiento. No obstante, pueden ser susceptibles al efecto de pH y a la acción de enzimas proteolíticas. Esta estabilidad térmica es atribuida a los puentes disulfuro intramoleculares, que tienen en consecuencia un papel importante en la conservación de la alergenicidad. Trabajos realizados en *Der f 1*, *Der f 2*, *Lep d 2* (alérgenos de ácaros del polvo casero) muestran que al reducir estos puentes, o bien eliminarlos por mutagénesis dirigida, los alérgenos pierden su capacidad de unión a las moléculas de *IgE* específicas para alérgeno. Este detrimento en la alergenicidad se podría explicar esencialmente por la pérdida de la conformación original del alérgeno y, por lo tanto, de los epítopes conformacionales. O bien, a una menor estabilidad de los mismos, siendo más susceptibles a la digestión enzimática.

3) *Actividad enzimática*

Muchas de las proteínas alergénicas ejercen su función biológica a través de actividad enzimática y en su mayoría ellas son proteasas y nucleasas. Aunque no se ha comprobado que la alergenicidad de una proteína pueda ser atribuida únicamente a sus propiedades enzimáticas, se ha especulado que la actividad bioquímica de los alérgenos puede aumentar su inmunogenicidad. Es poco probable que su alergenicidad sea originada debido únicamente por esta actividad biológica.

4) *Transportadores de Ca²⁺*

Algunos alérgenos originarios de plantas unen y transportan Ca^{2+} . Estos presentan de dos a ocho dominios denominados *EF-hands* o plegamientos tipo calmodulina que interactúan con diferentes ligandos dependientes de calcio. Se ha propuesto que una proteína alergénica puede asumir de manera reversible diferentes conformaciones, exponiendo epítopes variables que ocasionan interacciones diferentes con *IgE* de suero de pacientes, puesto a que el alérgeno unido al Ca^{2+} presenta una conformación abierta, haciendo que los residuos expuestos en la superficie sean accesibles a los anticuerpos. Mientras que cuando el alérgeno está libre de calcio, éste presenta una conformación cerrada que impide la interacción con estas inmunoglobulinas.

5) *Alérgenos transportadores*

En esta categoría no se ubican alérgenos de origen vegetal, y se encuentran las lipocalinas, proteínas altamente solubles que transportan retinol, esteroides, lípidos y ferohormonas. Los principales alérgenos de este grupo provienen de animales domésticos comunes en ciudades industrializadas y en animales de granja; destacándose como aeroalérgenos *Can f 1* y *Can f 2* (perro), *Mus m 1* (ratón), *Rat n 1* (rata), *Equ c 1* y *Equ c 2* (caballo) y *Bos d 2* (vaca), así como *Bla g 4* (cucaracha) y *Bos d 5* (beta-lactoglobulina de leche de vaca). Este último, presenta seis regiones de unión a los anticuerpos *IgE* específicos de suero de pacientes sensibilizados, y se destaca una secuencia altamente conservada en las lipocalinas rica en ácido aspártico.

6) *Profilinas*

Son proteínas de unión a la actina, aunque también interactúan con cadenas de poli *L-prolina* y con algunos fosfolípidos. Se ha encontrado que las áreas superficiales que contienen los epítopes de unión a *IgE* de este tipo de alérgenos, son las mismas que interactúan con actina, lo que indica que las áreas expuestas a la superficie, que muestran afinidad por ligandos naturales, son también reconocidas por las regiones variables de estos anticuerpos.

7) Lectinas

Algunos alérgenos interactúan con carbohidratos. Ejemplos de esto lo encontramos en los alérgenos más importantes del látex del árbol del caucho, *Hevea brasiliensis*, tales como *Hev b 6.01*, *Hev b 6.02* y *Hev b 11* que unen oligosacáridos de *N-acetilglucosamina*, gracias a un dominio de heveína. También se ha descrito este tipo de dominios en otras plantas, destacando *Persa 1* (aguacate), y algunos otros presentes en el plátano, kiwi y castaña, lo que podría explicar el hecho de que personas sensibles a látex lo son también a estas frutas.

Alergia a frutas rosáceas: un caso de interés clínico

La familia Rosaceae incluye frutas de amplio consumo como manzana, pera, melocotón, albaricoque, cereza, ciruela, fresa y almendra, entre otras. La alergia a frutas de esta familia es la alergia a alimentos más frecuente en adultos, y el modelo de reactividad cruzada en alergia alimentaria mejor estudiado. Se han descrito cuatro estructuras responsables de la reactividad cruzada en la alergia a rosáceas: alérgenos homólogos de *Bet v 1*, profilinas, Proteínas Transportadoras de Lípidos (PTL) y determinantes hidrocarbonados de glicoproteínas vegetales (*Crossreactive Carbohydrate Determinants*, CCD). Estos últimos parecieron no tener relevancia clínica, por lo que nos centramos en los tres primeros pan alérgenos. En los pacientes alérgicos a rosáceas que presentaron una polinosis asociada se encontraban implicados los alérgenos homólogos de *Bet v 1* (en las zonas donde hay polinización de abedul) y la profilina (en los que presentan polinosis por abedul y/o gramíneas, aunque en estos últimos la importancia sea mayor). Las PTL se han identificado en alérgicos a rosáceas con o sin polinosis, pero fueron los únicos alérgenos que se han identificado en los alérgicos a estas frutas que no presentaron una alergia al polen asociada. En los países del centro y norte de Europa la alergia al polen de abedul se asoció frecuentemente (hasta en un 70%) con alergia a rosáceas, principalmente manzana y otros alimentos de origen vegetal. La sintomatología apareció de manera inmediata tras la ingestión de las frutas frescas, siendo toleradas cocinadas frecuentemente. Lo más característico (78-100% de los pacientes, según series) fue la afectación oral u orofaríngea, que se manifestó con prurito oral o faríngeo, eritema labial y perioral, y angioedema labial, que fue lo que se conoció como Síndrome de Alergia Oral (SAO). Estos síntomas solían aparecer a los 5-15 minutos de la ingestión de la fruta, eran de carácter leve, y desaparecían rápidamente. Raramente se acompañaron de manifestaciones sistémicas. La sintomatología inducida por las frutas iba, casi siempre,

precedida por la polinosis, lo que ha conducido a postular que la sensibilización a las frutas se produjo como consecuencia de exposición al polen de abedul. Los alérgenos implicados en la alergia a rosáceas en los pacientes alérgicos al polen de abedul fueron los alérgenos homólogos de *Bet v 1* (alérgenos mayores implicados en más del 90% de los pacientes) y la profilina (con carácter de alérgeno menor implicada en menos del 20% de los casos). Los alérgenos homólogos al alérgeno mayor de abedul, *Bet v 1* pertenecían a una familia de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR-10). No se conocía su función exacta, pero se sabía que fueron producidas en respuesta a agentes patógenos y condiciones de estrés. El *Bet v 1* ha sido clonado y secuenciado, y ya se ha dispuesto comercialmente de un alérgeno recombinante de *Bet v 1* (rBet v1) para determinación de *IgE* específica *in vitro*. El *Bet v 1* fue un péptido de 159 aminoácidos y Peso Molecular (PM) de 17,4 kDa. Presentó una alta homología (80-90%) con los alérgenos mayores de avellano, aliso y castaño (árboles del orden Fagales). El alérgeno mayor de la manzana, *Mal d 1*, ha sido clonado y secuenciado: 159 aminoácidos y PM de 17,7 kDa. Presentó una alta homología con *Bet v 1*: 65% de identidad en la secuencia de aminoácidos y 56% de identidad de ácidos nucleicos. Por estudios de inhibición cruzada se ha demostrado que *Bet v 1* y *Mal d 1* comparten epítopes *IgE*. En avellana (*Cor a 1*), pera (*Pir c 1*), melocotón, albaricoque, cereza (*Pru a 1*), ciruela, apio (*Api g 1*), zanahoria (*Dau c 1*), perejil y patata se han identificado alérgenos homólogos a *Bet v 1*. La profilina ha sido una proteína altamente conservada en los organismos eucarióticos, que ha formado complejos con la actina (profilactina) regulando su polimerización, participando de esta manera en la forma y movimiento celulares. Se suponía que la profilina presentaría en los pólenes participación en la germinación. La profilina de abedul *Bet v 2* fue la primera identificada, clonada y secuenciada, y presentó un PM de 14 kDa. En la actualidad ya se ha dispuesto comercialmente de profilina de abedul recombinante (rBet v2) para determinación de *IgE* específica *in vitro*. También se han identificado profilinas de pólenes de gramíneas y de artemisa, y se ha demostrado su presencia en una gran variedad de alimentos de origen vegetal, incluyendo las frutas rosáceas. Las profilinas de abedul, gramíneas y artemisa presentaron una alta homología en sus secuencias (en torno a un 80%), y tenían una antigenicidad y alergenicidad similares. Las profilinas fueron moléculas con PM en el rango de 13-14 kDa.

Aunque con carácter de alérgeno menor, se ha demostrado la implicación de la profilina en la alergia a manzana (*Mal d 2*) y otras rosáceas, avellana, apio y zanahoria, en pacientes alérgicos al polen de abedul. En España se ha documentado que el 3.6% de los pacientes que acudieron a las consultas de alergia presentaron alergia a alimentos, estando las frutas implicadas en el 30% de los casos y siendo la alergia a alimentos más frecuente en población por encima de los cinco años. Esto confirmó

el problema de seguridad alimentaria que representaron las alergias en los alimentos y que aún no se le dio la importancia debida. La alergia a rosáceas apareció con mayor frecuencia en pacientes alérgicos al polen, pero entre 15-21% de los alérgicos a rosáceas no presentaban una polinosis asociada. Los pacientes alérgicos a rosáceas refirieron con frecuencia una diferente tolerancia clínica a la misma fruta según fuera ingerida con piel o pelada. En un estudio realizado con pacientes sensibles a reacciones alérgicas por consumo de rosáceas, se estudió si la piel y la pulpa de una misma fruta presentaban una diferente alergenicidad. Se comprobó que el 44% de los pacientes alérgicos a manzana y el 41% de los alérgicos a pera presentaban síntomas cuando ingerían estas frutas con la piel, pero las toleraban peladas. En una evaluación de pieles y pulpas de melocotón, manzana y pera por separado mediante *prick-prick*, RAST y liberación de histamina, se encontraron respuestas significativamente mayores para las pieles de las frutas. En consecuencia, las pieles de melocotón, manzana y pera presentaron una mayor alergenicidad que sus respectivas pulpas, lo que debía tenerse en cuenta en la evaluación clínica del paciente (historia clínica, pruebas cutáneas, pruebas de provocación) y en la elaboración de extractos de estas frutas para diagnóstico *in vivo* e *in vitro*. Los alérgenos implicados en la alergia a rosáceas asociada a polen de gramíneas son las PTL y profilina. Los únicos alérgenos hasta ahora identificados en los alérgicos a rosáceas sin polinosis fueron las PTL. De acuerdo a Fernández-Rivas (2007) en un grupo de 22 pacientes polínicos (gramíneas) alérgicos a rosáceas ya mencionado, la profilina fue un alérgeno importante, y de resultados positivos a profilina 44% de pruebas cutáneas (PC), 75% de RAST, y 80% de Liberación de Histamina (LH). Solamente el 12% presentó PC, RAST y LH negativas para profilina. En pruebas sobre SDS-PAGE-immunoblotting, el 57% de los sueros presentó en manzana, pera y melocotón dos bandas de PM en torno a 15 kDa identificadas como profilina. En este grupo de pacientes solamente el 6% estaba sensibilizado a alérgenos homólogos de *Bet v 1*, lo que concordó con la excepcional presencia de este polen en nuestra área. En un grupo de 11 pacientes alérgicos a rosáceas sin polinosis no se demostró sensibilización a profilina ni a *Bet v 1*. Pastorello y colaboradores, (2009) encontraron en las inmunodetecciones de pacientes alérgicos a rosáceas (melocotón, albaricoque, cereza, ciruela) sensibilización a alérgenos homólogos de *Bet v 1* y profilina entre los que presentaban alergia asociada a polen de abedul, y sensibilización a profilina entre los alérgicos a gramíneas. Además, en todos los pacientes con alergia a rosáceas, tanto aislada como asociada a pólenes, se identificó un alérgeno de PM en torno a 13 kDa. Estudios recientes del grupo de García Salcedo (2009) y Pastorello (2010) han demostrado que los alérgenos de 13 kDa de melocotón y manzana son PTL. Las PTL de melocotón (*Pru p 1*) y de manzana (*Mal d 3*) han sido clonadas y secuenciadas y existía una elevada homología entre ellas.

Fueron reconocidas por más del 90% de los pacientes alérgicos a estas frutas con o sin polinosis asociada, y fueron los únicos alérgenos hasta ahora identificados en los pacientes alérgicos a manzana y melocotón sin alergia asociada a pólenes. Las PTL han sido una familia de proteínas de 9 *kDa* (90 a 95 aminoácidos) ampliamente distribuidas en el reino vegetal, lo que las convirtió en potenciales pan alérgenos. Las PTL, se pensaba originalmente que servían para el transporte intracelular de lípidos (de ahí su nombre), pero en la actualidad se sabe que han estado implicadas en la formación de la cutícula y en la defensa frente a patógenos. Muchas de las PTL se localizan en las capas externas expuestas de las plantas, lo que concordo con la localización de *Pru p 1* en la piel de melocotón, y explicaría la mayor alergenicidad de las pieles de estas frutas en comparación con sus pulpas. Se han identificado PTL en el polen de artemisa y en castaña, que exhibían cierta reactividad cruzada con las PTL de melocotón y manzana, lo que confirmó el papel de estas proteínas como nuevos panalérgenos en el reino vegetal.

El síndrome látex-frutas: efecto sinérgico

En el año 1991, M'Raihi y colaboradores, describieron un paciente con alergia simultánea a látex y plátano. Poco después, otros autores dieron a conocer varios casos de sensibilización cruzada a látex y distintas frutas. En el año 1994, se propuso la existencia de un síndrome látex-frutas, al observarse que casi el 50% de los pacientes alérgicos a látex mostraron alergia asociada a determinados alimentos. Las frutas implicadas fueron principalmente el plátano (28%), el aguacate (28%), la castaña (24%) y el kiwi (20%). Otros alimentos como la papaya, nuez, higo, patata, tomate, fruta de la pasión, y el mango, también se asociaron significativamente, aunque con menor frecuencia. Aproximadamente, la mitad de las reacciones adversas a provocadas por alergenicidad de frutas fueron de anafilaxia sistémica, lo que demostró la importancia clínica del síndrome, dejando la otra mitad a reacciones de urticaria, angioedema o síndrome de alergia oral.

A pesar de que no existió relación taxonómica entre las distintas especies vegetales implicadas en el síndrome látex-frutas, su existencia ha sido plenamente confirmada Delbourg y colaboradores, (2001) identificaron una proporción de sensibilización a plátano del 50% en un grupo de 16 pacientes alérgicos a látex, y localizaron dos alérgenos mayores de plátano con peso molecular alrededor de 33 y 37 *kd*, que reaccionaron de forma cruzada con el látex. En una serie mayor de pacientes alérgicos al látex, Brehler y colaboradores, (2004) revelaron que el 43% de ellos mostraban una gama variable de alergias a frutas. En otras investigaciones se ha descrito la

existencia de reactividad cruzada entre látex, tomate y patata, atribuida a un alérgeno de látex de 46 kd (*Hev b 7*) que compartió epítomos con una proteína homóloga de patata denominada patatina. Parecía ser que *Hev b 7*, las patatinas y sus homólogos no contribuyeron a la reactividad cruzada en el síndrome látex-frutas.

Alérgenos responsables del síndrome látex-frutas

Por medio de técnicas de inhibición de RAST, se ha demostrado la existencia de reactividad cruzada entre el látex y diversas frutas, y se han identificado varios antígenos comunes por técnicas de inhibición de inmunodetección. Recientemente, se ha logrado aislar y caracterizar algunos de estos alérgenos comunes como las quitinasas de clase I de castaña y aguacate, que se produjeron como un mecanismo natural de defensa en frutas y vegetales, demostrándose la existencia de *IgE* específica contra estas dos proteínas en el suero de un grupo de pacientes alérgicos a látex y frutas. Estas quitinasas de clase I se caracterizaron por incluir en su secuencia un dominio *N-terminal* similar a la heveína, que podría sustentar la reactividad cruzada entre el látex y las frutas. La quitinasa clase I de aguacate ha sido clonada y expresada, y su reactividad cruzada con la heveína ha sido confirmada por técnicas de inhibición de captación de *IgE*. Además, más del 50% de un grupo de 18 pacientes alérgicos a látex y frutas mostró pruebas cutáneas positivas frente a las quitinasas de clase I purificadas de aguacate y castaña, demostrando su actividad alérgica in vivo. Por el contrario, las pruebas cutáneas con quitinasas de clase II purificadas de aguacate y castaña, que carecían del dominio heveína *N-terminal*, fueron negativas en los mismos pacientes. Del mismo modo, se han caracterizado dos alérgenos mayores de plátano, con peso molecular de 32 y 34 Kd, que han resultado ser también quitinasas de clase I. La capacidad antigénica de estas proteínas de plátano se ha podido verificar en más del 50% de un grupo de pacientes alérgicos a látex y plátano, confirmándose también su reactividad cruzada con la heveína. En otro estudio, se ha demostrado la presencia de proteínas (presumiblemente quitinasas de clase I) con PMs entre 30 y 45, que fueron reconocidas por anticuerpos anti-quitinasas y por el suero de pacientes con alergia a látex y frutas, en extractos de chirimoya, fruta de la pasión, kiwi, papaya, mango y tomate. Al realizar inhibición de inmunodetección, tanto la quitinasa de clase I del aguacate como un extracto de látex fueron capaces de inhibir la fijación de *IgE* a estas proteínas. Estas bandas proteicas no fueron reconocidas por los sueros de los pacientes alérgicos a látex, pero sí a frutas. Todos estos datos sugirieron que las quitinasas de clase I fueron nuevos pan alérgenos en el reino vegetal, responsables del síndrome látex-frutas. Este dato fue muy relevante, ya que

si las proteínas de defensa natural de las frutas fueron las que podían actuar como alérgenos potentes, esto apuntó al camino de que en la medida que existiera mayor estrés abiótico, ya fuera por condiciones ambientales o por presencia de nuevas plagas de insectos y fitopatógenos, mayor será la probabilidad de que las frutas desarrollaron potencial alergénico. En el caso de las *taumatinas*⁷, están bien documentadas como alérgenos de manzana (*Mal d 2*), kiwi (*Act c 2*) y cereza (*Pru av 2*), con porcentajes de *IgE* específica de 90 al 30% en sueros de diferentes series de pacientes alérgicos a estos frutos. Cistein- (actinidina, *Act c 1*) y serin-proteasas (cucumisina, *Cuc m 1*) fueron alérgenos mayores de kiwi y melón, respectivamente. Por último, tres grupos entre las proteínas de defensa, fueron, posiblemente, los caracterizados hasta el momento con mayor amplitud en el contexto de la alergia alimentaria:

a) Familia de *Bet v 19*

Proteínas de 18 *kDa* homólogas a *Bet v 1*, el alérgeno mayor de polen de abedul, se han localizado en numerosos alimentos: manzana (*Mal d 1*), cereza (*Pru av 1*), apio (*Api g 1*), zanahoria (*Dau c 1*), soja (*Gly m 4*), cacahuete (*Ara h 8*). Se trató de proteínas lábiles, fácilmente degradadas por enzimas digestivas, y habitualmente asociadas a síntomas locales y leves (síndrome de alergia oral). Algunos miembros de la familia, como *Gly m 4*, parecían involucrados en reacciones sistémicas severas por ingestión en determinados pacientes.

b) Proteínas de transferencia de lípidos (LTPs)

Los alérgenos principales fueron polipéptidos de 9 *kDa* identificados como LTPs en melocotón (*Pru p 3*; sensibilización en un 70-90% de los pacientes), manzana (*Mal d 3*) y otras Rosáceas, mientras que pocos pacientes (<10%) presentaron *IgE* específica frente a *Bet v 1* o sus homólogos de alimentos. LTPs alergénicas también se han caracterizado en otros frutos (*Cit s 3* y *Cit l 3* de cítricos, *Vit v 1* de uva), frutos secos (avellana, castaña), hortalizas (lechuga, espárrago, zanahoria), cereales o productos derivados (maíz, trigo, cerveza), látex (*Hev b 12*) y pólenes (olivo, Artemisia, Parietaria). Las LTPs fueron altamente resistentes a enzimas digestivas (jugo gástrico simulado) y tratamientos térmicos, lo que explicó que mantuvieran su actividad alergénica en bebidas y alimentos procesados (zumos, cerveza, mermeladas). Estaban, además, asociadas a síntomas sistémicos y severos, provocando hipersensibilidad por ingestión en pacientes no polínicos. Todas estas características justificaron

la reciente propuesta de considerarlas como modelo de alérgenos alimentarios vegetales, capaces de sensibilizar por vía digestiva. Datos recientes sugirieron que también podrían actuar como alérgenos primarios por vía inhalatoria. La producción de formas recombinantes de varias LTPs de frutos, semillas y pólenes pudo aportar nuevas herramientas moleculares de diagnóstico, y, eventualmente, de inmunoterapia. La equivalencia bioquímica e inmunológica (similar capacidad de unir *IgE*, de activar basófilos e inducir la liberación de mediadores) de las formas naturales y recombinantes ha sido confirmada en el caso del alérgeno mayor de melocotón, *Pru p 3*.

c) Dominios heveína y alérgenos

La heveína es un polipéptido de 4.7 kDa (43 aminoácidos y cuatro puentes disulfuro), con actividad antifúngica, identificado como uno de los alérgenos principales de látex (*Hev b 6.02*; 80% de prevalencia en pacientes adultos). Dominios *N-terminales* homólogos a la heveína se han localizado en diferentes tipos de proteínas vegetales implicadas en alergia. Los dos más estudiados incluyeron: 1) Proheveínas de 20 kDa, con un dominio *C-terminal* de 14 kDa, descritas en látex (*Hev b 6.01*, precursor de heveína), rábano (*Bra r 2*) y tabaco. 2) Quitinasas de clase I y IV, de 32 kDa, con un dominio catalítico C-terminal de 26 kDa.

La hipersensibilidad a frutas, particularmente aguacate, castaña, plátano y kiwi, se ha descrito en un alto porcentaje (30-50%) de pacientes con alergia a látex, lo que ha permitido definir un síndrome látex-frutas. Los alérgenos principales implicados en dicho síndrome se han identificado como quitinasas de clase I en aguacate (*Prs a 1*), castaña (*Cas s 5*) y plátano (*Mus a 1*), y alérgenos homólogos se han detectado en kiwi y judía verde. Además, quitinasas de clase IV (similares en su estructura de dominios a las de clase I) fueron alérgenos relevantes de uva y polen de cedro japonés. La presencia de dominios heveína en todas las proteínas alergénicas antes citadas, parecía esencial para explicar su capacidad de ligar *IgE*, así como las reacciones cruzadas (co-sensibilización) entre las mismas. Los alérgenos de aguacate y castaña han sido los más estudiados en este contexto. Los datos disponibles indicaron que los epítopes *IgE* secuenciales más relevantes de estas quitinasas, en parte comunes con los de heveína de látex, se localizan en su dominio heveína, aunque también hay epítopes conformacionales en el dominio catalítico. En el caso de *Prs a 1*, que ha sido fácilmente degradado por jugo gástrico simulado, el dominio heveína permanece inmunológicamente activo después de la digestión, siendo reactivo *in vitro*.

Proteínas de reserva como alérgenos

Los grupos mayoritarios de proteínas de reserva en semillas de cereales, legumbres, frutos secos y especias han estado implicados en alergias alimentarias. Estos grupos pudieron clasificarse en dos grandes superfamilias de proteínas, de acuerdo con motivos comunes en su secuencia y/o estructura tridimensional.

a) *La superfamilia de prolaminas.*

Incluye a las proteínas mayoritarias de harinas de trigo, cebada y centeno y a albúminas 2S de leguminosas, frutos secos y especias.

b) *La superfamilia de cupinas.*

Agrupación de proteínas tipo-germina, leguminas y vicilinas. Germinas alergénicas se han caracterizado en naranja (*Cit s 1*), pero la relevancia clínica de la familia y el papel de sus *N-oligosacáridos* (que parecen responsables de la reactividad *in vitro*) está aún por determinar.

Los retos de las “ómicas” en el campo de alergenicidad de frutas

La caracterización de alérgenos, desde el punto de vista químico-estructural, químico-molecular y biológico funcional, representa una serie de retos para la proteómica y la metabolómica, ya que el potencial alergénico de biomoléculas presentes en frutas puede ser muy cambiante en función del cada vez más influyente estrés abiótico provocado tanto por el cambio climático, por los mecanismos de adaptación consecuentes, así como por las nuevas tecnologías de conservación que se desarrollan y prueban su eficiencia sólo en función de parámetros que satisfacen criterios de calidad sensorial o nutricional, pero que no consideran el peligro potencial que se podría inducir al someter a frutas y vegetales a condiciones de estrés que conlleven a respuestas metabólicas y de biosíntesis de alérgenos. El desarrollo y conocimiento del genoma humano, permitirá ampliar la información sobre la especificidad de las reacciones alérgicas por el consumo de alimentos y, en particular, de frutas y hortalizas.

Las herramientas de la biología molecular y la bioinformática contribuirán al conocimiento de la secuencia de aminoácidos o estructura primaria, la estructura tridimensional y la posible existencia de modificaciones postraduccionales (como glicosilaciones) en moléculas potencialmente alergénicas, así como el estudio de su estabilidad térmica y digestiva y el mapeo de epítomos (B o T) secuenciales o conformacionales, permitirá esclarecer las características que determinan la capacidad de una fracción de proteína para provocar la respuesta inmune.

Referencias

- Alergológica (2005), *Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005*, cap. 12, SEAIC Shering-Plough, Luzan SA ISBN 84-7989-428-8.
- Alonso E., L. Fernández y M.L. Somoza (2001), *Alergia a leche y huevo en niños*, Alergol, Inmunol Clin., vol. 6, pp. 96-110.
- Alonso E., L. Zapatero y M. I. Martínez (2003), *Educación del paciente alérgico: prevención de riesgos y tratamiento. Protocolos Diagnósticos y Terapéuticos en Pediatría Anales de Pediatría*, Asociación Española de Pediatría, tomo 7, pp. 83-94.
- Alonso E. (2004), *Pronóstico de la alergia a alimentos en la infancia*, Alergol. Inmunol Clin. vol. 19, pp. 87-91.
- Alonso-Lebrero, (2010), *Alergia Alimentaria: Generalidades*, Nutr. Clin. Med., tomo IV (3), pp. 109-124.
- Amlot P.L., D. M. Kermeny, C. Zachary, P. Parkes y M. H. Lessof (1987), “Oral allergy syndrome (OAS)”, symptoms of IgE-Mediated Hypersensitivity to Food. Clin. Allergy, vol. 17, pp. 33-42.
- Bauer A., S. Ekanayake, Wingger-Alberti y P. Eisner (1999), *Oral rush desensitization to milk Allergy*, vol. 54, pp. 894.
- Bock S. A., y F. M. Atkins (1990), “Patterns of food hypersensitivity during sixteen years of double-blind placebo-controlled food challenges”, *Journal of Pediatrics*, vol. 117 (4), pp. 561-567.
- Bruijnzeel-Koomen C., C. Ortolani, K. Aas, C. Bindslev-Jensen, B. Bjorkstén, D. Moneret-Vautrin y B. Wüthrich (1995), *Adverse reactions to food. Allergy*, vol. 50, pp. 623-635.
- Crespo J. F. y J. Rodríguez (2003), *Food allergy in adulthood. Allergy*, vol. 58, pp. 98-113.
- Enrique E., F. Pineda, T. Malek, J. Bartra, M. Basagaña y R. Tella *Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized hazelnut extract. J. Allergy and Clin. Immunol*, vol. 116, pp. 1073-1079.
- Eggesbo M., G. Botten y H. Stigum (2001), “Restricted diets in children with reactions to milk and egg perceived by their parents”, *Journal of Pediatrics*, vol. 139, 4 (5), pp. 83-87.
- Enrique E., F. Pineda, T. Malek, J. Bartra, M. Basagaña y R. Tella, *Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized hazelnut extract*, J. Allergy and Clin. Immunol, vol. 116, pp. 1073-1079.

- Fernández Crespo J., Pascual C., Caballero M.T., Romualdo L. y Martín Esteban M. (1995), *Espectro clínico de las reacciones alérgicas a alimentos en la infancia. Anales Españoles de Pediatría*, vol. 42 (5), pp. 328-331.
- Fernández-Rivas, (2003), *Reactividad cruzada en frutas y vegetales. Allergol et Immunopathol*, vol. 31 (3), pp. 141-6.
- García Ara M.C., T. Boyano, M. Martín Esteban, F. Martín Muñoz, J. M. Díaz Peña y J. A. Ojeda Casas (1996), *Actitud terapéutica y pronóstico en la alergia a alimentos. Allergol. et Immunopathol*, vol. 24, pp. 31-35.
- Gerard J.W., J. W. A. Mackenzie, N. Goluboff, J. C. Garson y C. S. Maningas, *Cow Milk Allergy. Prevalence and manifestations in a unselected series of newborns*, Acta Paediatr., Scand., pp. 234:1-21.
- Iacono G., A. Carroccio, F. Cavataio, G. Montalto I. Kazmierska y D. Lorello (1996), *Gastroesophageal reflux and cow's milk allergy in infants: A prospective study*, J. Allergy Clin. Immunol, vol. 97, pp. 822-827.
- Ibáñez M. D., E. Alonso, C. Blanco A. M. Cisteró J. Cuesta y M. Fernández-Riva (1999), *Metodología diagnóstica en la alergia a alimentos*, Allergol. Inmunol. Clin. vol. 14 (2), pp. 50-62.
- Ibáñez M. D., M. Martínez, M. Muñoz, M. J. Rosales, E. Alonso y M. T. Laso (1996), *Valoración de las pruebas diagnósticas en alergia a alimentos*, Allergol et Immunopathol, vol. 24, pp. 6-17.
- Johansson S. G. O., J. O. B. Hourricane, J. Bousquet, C. Bruijnzeel-Koomen, S. Dreborg y T. Haahtela (2001), *A revised nomenclature for allergy*, Allergy., vol. 56, pp. 813-824.
- Johansson S. G. O., T. Bieber, R. Dahl, P. S. Friedmann, B. Q. Lanier y R. F. Lockey (2004), *Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization*, J. Allergy Clin. Immunol, vol. 113, pp. 832-836.
- Juchet A., A. Chabbert-Broué, P. Micheau M. Piot y F. Brémont (2003), *“Évolution naturelle de l’allergie alimentaire chez l’enfant”*, *Revue Française d’Allergologie et d’Immunologie Clinique*, vol. 43, pp. 186-191.
- Kelso J. M. (2000), *Pollen-food allergy syndrome*, Clin. Experimental Allergy, vol. 30, pp. 905-907.
- Lee J. M. y D. S. Greenes (2000), *Biphasic anaphylactic reactions in pediatrics*, Pediatrics, vol. 106, pp. 762-766.
- Leser C., A. L. Hartmann, G. Praml y B. Wuthrich (2001), *The “egg-egg” syndrome: occupational respiratory allergy to airborne egg proteins with consecutive ingestive egg allergy in the bakery and confectionery industry*, J. Investig. Allergol. Clin. Immunol, vol. 11, pp. 89-93.

- Longo G., E. Barbi, I. Berti, R. Meneghetti, A. Pittalis, L. Ronfani y A. Ventura (2008), *Specific oral tolerance induction in children with very severe cow's milk-induced reactions*, *Allergy Clin. Immunol*, vol. 121, pp. 343-347.
- MacDougall C. F., A. J. Cant y A. F. Colver (2002), *How dangerous is food allergy in childhood? The incidence of severe and fatal allergic reactions across the UK and Ireland*, *Arch., Dis., Child.*, vol. 86, pp. 236-239.
- Malling H. J. (1993), "Methods of skin testing", in S. Dreborg, A. Frew, *Allergen standardization and skin test*, *Allergy*, vol. 48, pp. 55-56.
- Martorell A., C. García, I. Febrer, M. Rodríguez y J. De la Cuadra (2001), *Implicación de la alergia a alimentos en la dermatitis atópica*, *Alergol. Inmunol. Clin*, vol. 16, pp. 86-94.
- Meglio P., E. Bartone, M. Plantamura, E. Arabito y P. G. Giampietro (2004), *A protocol for oral desensitization in children with IgE mediated cow's milk allergy*, *Allergy*, vol. 59, pp. 980-987.
- Moneret-Vautrin D. A., G. Kanny, M. Morisset, F. Rancé, M. F. Fardeau y E. Beaudoin (2004), *Severe food anaphylaxis: 107 cases registered in 2002 by the Allergy Vigilance Network*, *Allerg. Immunol*, vol. 36, pp. 46-51.
- Nelson H. S., J. Lahr, R. Rule, A. Bock y D. Leung (1997), *Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract*, *J. Allergy Clin. Immunol*, vol. 99 (6), pp. 744-751.
- Noimark L. y H. Cox (2008), *Nutricional problems related to food allergy in childhood*. *Pediatr. Allergy Immunol*, vol. 19, pp. 188-195.
- Osterballe M., T. K. Hansen, C. G. Moritz, A. Host y C. Binslev-Jensen (2005), *The prevalence of food hypersensitivity in a unselected population of children and adults*, *Pediatr. Allergy Immunol*, vol. 16, pp. 567-573.
- Pastorello E. A. (1993), "Skin test for diagnosis of IgE-mediated allergy" in S. Dreborg, A. Frew (eds), *Allergen standardization and skin test*, *Allergy*, vol. 48, pp. 57-62.
- Patriarca G., D. Schiavino, E. Nucera, G. Schinco, A. Milani y G. B. Gasbarrini (1998), *Food Allergy in children: Results of a standardized protocol for oral desensitization*, *Hepato-Gastroenterology*, vol. 45, pp. 52-58.
- Pereira, M. J., M. T. Belver, C. Y. Pascual y N. Martín-Esteban (2002), *La importancia alérgica de las legumbres*, *Allergol et Immunopathol*, vol. 30 (6), pp. 346-53.
- Sampson H. A. y D. B. Ho (1997), *Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents*, *J. Allergy Clin. Immunol*, vol. 100, pp. 444-451.
- Sampson H. A. (1998), *Fatal food-induced anaphylaxis*, *Allergy*, vol. 53, pp. 125-130.

- Sanchez-Monge, R., A. Díaz-Perales, G. García-Casado y G. Salcedo (2001), “Aplicación de la biología molecular en alergia a alimentos”, *Alergol Immunol. Clin.* 16, núm. 2, pp. 14-36.
- Sicherer S. y H. Sampson (1999), *Food hypersensitivity and atopic dermatitis: Pathophysiology, epidemiology, diagnosis, and management*, *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 104 (3), pp. 115-125.
- Steinman H. A. (1996), “*Hidden*” allergens in foods, *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 98, pp. 241-250.
- Venter C., B. Pereira, J. Grundy, C. B. Clayton, S. H. Arshad y T. Dean (2006), *Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: a population-based study*, *Pediatr. Allergy Immunol.*, vol. 17, pp. 356-363.
- Venter C., B. Pereira, K. Voigt, J. Grundy, C. B. Clayton, B. Higgins, S. H. Arshad y T. Dean (2008), *Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 3 years of life*, vol. 63 (3), pp. 354-359.
- Woods R.K., R. M. Stoney, J. Raven, E. H. Walters, M. Abramson y F. C. Thien (2002), *Reported adverse food reactions overestimate true food allergy in the community*, *J. Clin. Nutr.*, vol. 56, pp. 31-36.
- Yocum M. W. y D. A. Khan (1994), *Assesment of patients who have experienced anaphylaxis: a 3-year survey*, *Clin. Proc.* vol. 69, pp. 16-23.
- Zapatero L., E. Alonso, V. Fuentes y M. I. Martínez (2008), *Oral Desensitization in Children With Cow’s Milk Allergy*, *J. Investig. Allergol Clin. Immunol.*, vol. 18, pp. 389-396.

Evaluación y métodos de análisis de los plaguicidas en plantas

Fabiola Gabriela Zuno Floriano, María Isabel Silveira Gramont, Marion Miller y María Lourdes Aldana Madrid

Resumen

En la actualidad se tienen fuertes problemas ocasionados por microorganismos fitopatógenos y plagas en los cultivos, lo que se ve reflejado en los bajos rendimientos durante la cosecha. Una de las medidas emergentes es la aplicación de plaguicidas. La principal forma de acción de los plaguicidas es la eliminación del agente dañino para la planta, pero debido a las repetidas aplicaciones, se tiene un fuerte impacto en el ambiente. Diversos estudios han reportado la presencia de plaguicidas en suelo, agua y organismos benéficos para los cultivos, además se han realizado estudios en los que se ha investigado el efecto de los plaguicidas en la flora microbiana del suelo y la vida acuática. Con base en estos antecedentes, en el presente capítulo se da una breve descripción de cómo algunos plaguicidas penetran a las plantas, los cambios que éstos ocasionan a nivel celular y cómo las plantas a través de su sistema enzimático degradan parte de los plaguicidas absorbidos. Al final del capítulo se da una descripción de la metodología y procedimientos analíticos que se utilizan para la determinación de plaguicidas y sus metabolitos en plantas o tejido vegetal.

Palabras clave: Pesticidas, insecticidas, métodos de detección, residualidad de plaguicidas.

Generalidades de los plaguicidas

Los plaguicidas son compuestos que protegen a la planta y controlan las plagas (Kvesitadze y colaboradores, 2006). Más de 500 compuestos han sido registrados como plaguicidas o metabolitos de plaguicidas. Millones de toneladas de plaguicidas han sido producidos y usados anualmente en todo el mundo en actividades relacionadas con la agricultura. Los plaguicidas pueden ser clasificados de acuerdo con la presencia de grupos funcionales como: compuestos inorgánicos, organonitrógenados, organohalógenados y organosulfurados. Según su actividad biológica, fueron clasificados como: acaricidas, alguicidas, agentes antiadherentes, agentes atrayentes, bactericidas o biocidas, desfoliantes, desinfectantes, fumigantes, fungicidas, herbicidas, nematocidas, ovidas, feromonas, reguladores de crecimiento de las plantas, repelentes y rodenticidas (Bashkin, 2003; Kvesitadze y colaboradores, 2006; Ahmen, 2001). Debido a su uso, las clases más importantes de plaguicidas en la actualidad fueron: carbamatos, tiocarbamatos, dipiridoles, triazinas, fenoxiacetatos, coumarinas, nitrofenoles, pirazoles, piretroides, y compuestos orgánicos conteniendo cloro, fósforo, mercurio, arsénico, cobre y estaño. En México los plaguicidas de mayor uso fueron los herbicidas (paraquat y glifosato), seguidos de insecticidas (como los organofosforados, en especial paratión metílico, metamidofós y malatión) y fungicidas (como mancozeb y clorotalonil) (Albert, 2005). Aunque en estudios más recientes realizados en el estado de Nayarit, los insecticidas fueron los plaguicidas más frecuentemente empleados (45.9%), seguidos de los herbicidas (30.5%), fungicidas (20.1%) (González y colaboradores, 2010).

Absorción de los plaguicidas en las plantas

Básicamente la absorción de los plaguicidas en las plantas se lleva a cabo a través de las hojas, raíces y semillas (Figura 1). La penetración en las hojas se da a través de los estomas, epidermis, tricomas y ectodermas. Los *estomas* son localizados en la parte inferior de las hojas y estos abren o cierran su diámetro de acuerdo a la concentración de iones de potasio y de esta forma permiten la entrada del plaguicida (un ejemplo es el 2,4-D) (Libbert, 1974; Sargent y Blackman, 1972). La mayoría de los plaguicidas se aplican por aspersion en las plantas y penetran la hoja en forma de suspensiones. Algunos de los factores que pueden afectar su penetración son la humedad en la superficie de la hoja, la tensión superficial del líquido, la morfología de los estomas y la iluminación. La *epidermis* se localiza en la parte frontal de la hoja y esta se encuentra recubierta de una cutícula cerosa compuesta de una mezcla de

alcanos de cadena larga, alcoholes, cetonas, ésteres y ácidos carboxílicos. El grosor y la composición de la cutícula dependen de varios factores como la especie, edad, localización en el tallo y factores ambientales (temperatura y humedad). La facilidad con que un compuesto penetró a la cutícula dependió de la lipoficidad de éste (Bukovac y colaboradores, 1990; Novojhilov, 1977). Por ejemplo el plaguicida pirazón presenta mayor facilidad para penetrar las hojas del betabel (*Beta vulgaris*) que el fenmedifam y el benzthiazuron (Merbach y Schilling, 1977). Los *tricomos* (verrugas, protuberancias) y *ectodermas* (tubos huecos en las paredes celulares) fueron otra vía de entrada de los plaguicidas en las hojas. En plantas de tanoak (*Lithocarpus densiflorus*), la penetración del herbicida ^{14}C -*triclopir* se llevó a cabo por los tricomas (King y Radosevich, 1979), y la absorción del herbicida 2,4-D en hojas de trigo (*Triticum vulgare*) se da a través de los ectodermas (Franke, 1975).

La penetración de los plaguicidas a través de las raíces ha sido estudiada por numerosos autores (Briggs y colaboradores, 1982, Briggs y Bromilow, 1983, Behrendt y Brüggemann, 1993, Rigitano y Briggs, 1986). Este proceso fue menos selectivo que el paso a través de las hojas debido a que los plaguicidas entraban por las raíces junto con el agua y algunos nutrientes. La intensidad del proceso dependía de varios factores como la masa molecular del compuesto, el pH del suelo o la solución nutritiva, temperatura, humedad del suelo, materia orgánica del suelo (Weber y colaboradores, 1974, Lavy, 1975). Las plantas fácilmente absorbían sustancias con masas moleculares ≤ 1000 (Söchtig, 1964). Algunas de estas sustancias eran hidrocarburos aromáticos y alifáticos, alcoholes, fenoles y aminas. Algunos de los factores que afectaron la absorción de los plaguicidas y que estaban relacionados con el pH fueron: la absorción por las partículas del suelo, la movilidad en el suelo, el grado de disociación de las moléculas ionogénicas y la permeabilidad de los tejidos de las raíces. Generalmente, las plantas absorbían moléculas no disociadas (sin carga electrostática) (Ugrekhelidze y colaboradores, 1986). Un ejemplo, fue la absorción del insecticida picloram en las raíces de avena (*Avena sativa*) y el frijol de soya (*Glycine max*), la absorción se favoreció cuando se aumentó el pH a valores de 4.5 a 9.5 a los que el grado de ionización del compuesto alcanzó 72% (Isensee, Jones, & Turner, 1971). Un incremento de la temperatura, provocó un ascenso en la velocidad de transpiración y las velocidades de las reacciones enzimáticas, ocasionando un incremento en la absorción (Korte y colaboradores, 2000). El proceso de transpiración y metabolismo, así como la nutrición mineral de la planta, fueron factores que influyeron el proceso de absorción de compuestos por la raíz (Minshall y colaboradores, 1977 y Adil y colaboradores, 1974).

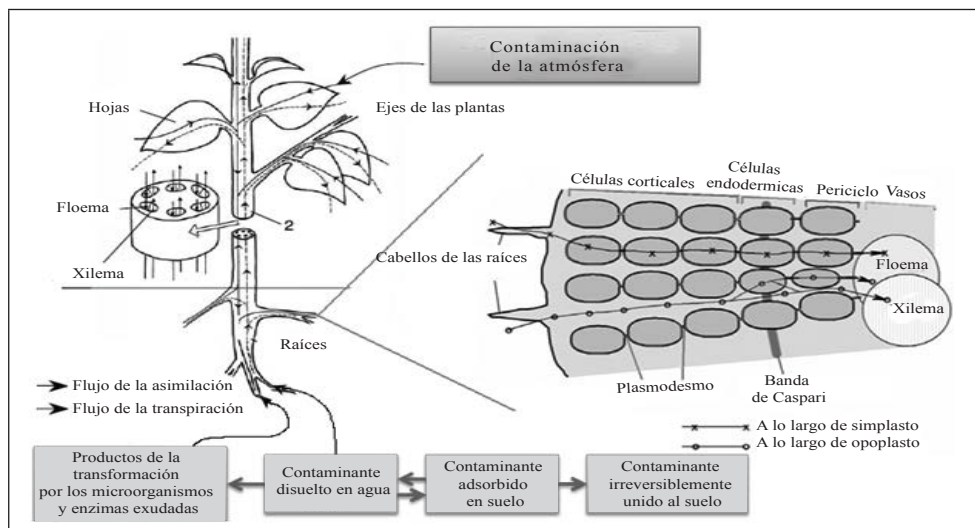
Por último, la penetración de plaguicidas a las semillas fue limitada por una serie de factores entre los que se podía mencionar la permeabilidad de la cubierta, concentración del plaguicida, período de exposición y temperatura (Rubin y Eschel, 1977). La remoción de la cubierta con la finalidad de favorecer la penetración del plaguicida afectó procesos como la transpiración y la germinación (Brewer y Wilson, 1975).

Movimiento de los plaguicidas en el interior de las plantas

Una vez que los plaguicidas penetran a las plantas por las hojas o raíces, estos son transportados por el mismo sistema que transporta los nutrientes a las diferentes partes de las plantas. Cuando los plaguicidas son absorbidos por las raíces, la dirección que siguen es la siguiente: cabellos de las raíces, espacios intracelulares, paredes celulares de células corticales, endodermis, banda de Caspari y xilema (Figura 1). La banda de Caspari se localiza alrededor del canal central de los capilares y algunas de sus funciones es crear resistencia para el transporte de compuestos y proveer protección contra la deficiencia de agua. La dirección y el movimiento de un plaguicida en el interior de la planta pueden depender de la resistencia de la misma al plaguicida.

Los estudios de la penetración de plaguicidas radioactivos dentro de las células vegetales indicaron que estos compuestos en los primeros estados de exposición (5 a 10 min) fueron detectados en pequeñas cantidades en la membrana celular, en el núcleo y en los nucleolos y pocas veces en el citoplasma y en las mitocondrias. Durante la exposición prolongada, su concentración aumenta en el núcleo, en las membranas de los organelos y en el tonoplasto y posteriormente en las vacuolas (Zaalishvili y colaboradores, 2000a). Debido a las características de las estructuras químicas de los plaguicidas éstos se distribuyeron en la mayoría de los organelos, pero al final su tendencia fue acumularse en las vacuolas. La velocidad y el grado de penetración de los plaguicidas dentro de la célula vegetal variaron de una planta a otra. El movimiento de los herbicidas en el floema, dependía del proceso de la biosíntesis de los carbohidratos (predominantemente sacarosa). En las plantas superiores, había dos mecanismos para el movimiento de carbohidratos: el movimiento de la sacarosa a través del apoplasto y el movimiento a través del simplasto. Paralelo al movimiento de la sacarosa se dio el movimiento de los herbicidas en las plantas (Devine y Hall, 1990).

Figura 1. Rutas de la penetración y el movimiento de los contaminantes ambientales (plaguicidas) en las plantas



Fuente: Kvesitadze y colaboradores (2006). En el transporte de plaguicidas a lo largo del apoplasto, la banda de Caspari que es impermeable al agua necesita ser cerrada y las rutas osmóticas o simplásticas son usadas.

El plaguicida ácido ariloxicarboxil fue absorbido por las células parenquimales, alcanzó el floema vía el simplasto y entró a las hojas, tejidos en crecimiento y órganos reproductivos. El herbicida 2,4-D y el desfoliante 2,4,5-T fueron transportados en forma acropétalo y basipétalo al resto de la planta, después de penetrar a la hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Long y Basler, 1974). El herbicida *mecoprop* fluyó de las hojas hacia las raíces con igual intensidad que los biotipos sensitivos y con resistencia de semillas de leguminosas (*Stellaria media*) (Coupand y colaboradores, 1990). Los plaguicidas derivados de la urea (^{14}C -fluometuron, tebutiuron y clorimuron) fueron fácilmente absorbidos de la solución nutritiva a través de las raíces y la mayoría de ellos se movían rápidamente por medio del flujo de la transpiración (Rubin y Eshel, 1977; Steinert y Stnizke, 1977; Wilcut y colaboradores, 1989). En el caso de los plaguicidas a base de carbamatos (carbofuran, fenmedifam y desmedifam) su movimiento fue típicamente acropétalo (Talekar y colaboradores, 1974).

Cambios estructurales en las células vegetales provocados por la presencia de los plaguicidas

La penetración de los plaguicidas en las células vegetales provocaron cambios en la configuración del núcleo. Este efecto fue simultáneo a la inhibición de la síntesis del ADN (Zaalishvili y colaboradores, 2000a). La función de la barrera del plasmalema y su habilidad para acumular calcio fue dañada. La concentración de calcio en el citoplasma fue aumentada (Korte y colaboradores, 2000; Zaalishvili y colaboradores, 2000b) y la actividad de la Ca^{2+} -ATPasa fue inhibida. La alteración de la síntesis de ADN se caracterizó por un aumento del tamaño del núcleo y cromatina. El núcleo adquirió diversas formas debido al desarrollo de protuberancias de la membrana nuclear. En las células de las hojas la forma y consistencia de los cloroplastos comenzaron a dañarse. Aunque las plantas estaban sujetas a metabolizar plaguicidas por periodos relativamente cortos, en la mayoría de los casos fueron capaces de recuperarse de las pequeñas alteraciones en la estructura celular y, a su vez, mantuvieron sus actividades vitales (Chrikishvili y colaboradores, 2006).

Los herbicidas dinitro-*o*-cresol (DNOC) y 2,4-D, pudieron provocar una pérdida de la organización de la superficie de las hojas de plantas de uva (*Vitis vinifera*), ocasionando pérdida de la elasticidad de las hojas (Buadze y Kvesitadze, 1997).

Metabolismo de plaguicidas en las plantas

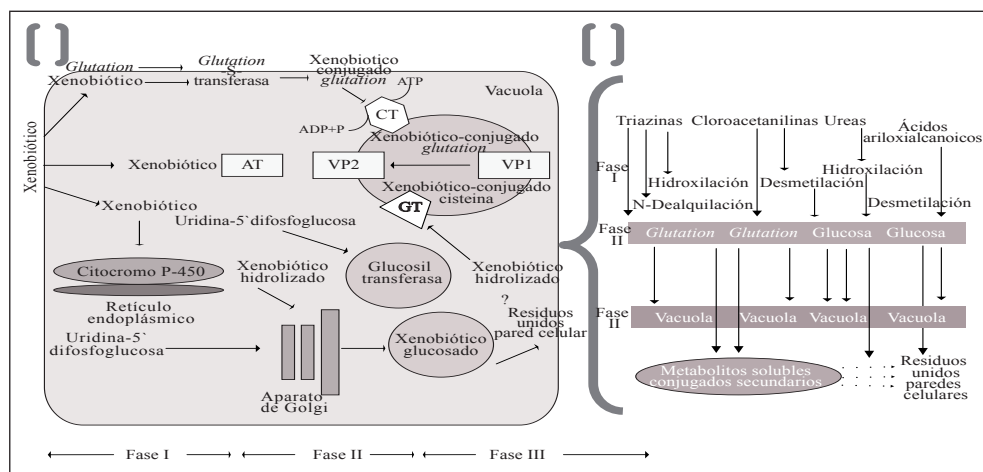
Las hojas y las raíces tenían mecanismos de detoxificación de xenobióticos orgánicos específicamente herbicidas. De acuerdo a Shimabukuro y colaboradores, (1979), el metabolismo de xenobióticos en plantas se dividió en tres fases: (1) Activación del xenobiótico (funcionalización). (2) Detoxificación (conjugación). (3) Excreción (compartimentación). La figura 2 muestra el metabolismo de los herbicidas en plantas, de acuerdo al modelo propuesto por Shimabukuro y colaboradores, (1979) y Coleman y colaboradores, (1997). En la fase I el xenobiótico adquirió sitios activos en los que su polaridad y reactividad fueron incrementadas por la incorporación de grupos funcionales en su estructura (hidroxilo, amino, carboxilo). Esta transformación fue mediada por reacciones enzimáticas (oxidación, reducción, hidrólisis). En esta fase parte de los átomos de carbono de los xenobióticos fueron utilizados para abastecer las necesidades energéticas y biosintéticas de las células. La mineralización total del xenobiótico pudo ser lograda a bajas concentraciones (Kvesitadze y colaboradores, 2006). Los productos de la fase I fueron posteriormente transformados en la fase II,

pero si el xenobiótico en su forma original contiene grupos funcionales es directamente transformado en la fase II (Coleman y colaboradores, 1997).

En la fase II, el xenobiótico es acoplado químicamente a un compuesto endógeno celular (proteínas, péptidos, amino ácidos, ácidos orgánicos, mono, oligo y polisacáridos, lignina) por la formación de enlaces péptidos, éter, éster u otros enlaces de naturaleza covalente. Debido a estas uniones, el xenobiótico incrementó su hidrofobicidad y su movilidad, manteniéndose alejado de los sitios vitales de las plantas (Coleman y colaboradores, 1997). En esta fase alrededor de 70% de la concentración del xenobiótico en la planta se encontraba en forma conjugada (Kvesitadze y colaboradores, 2001).

La fase III fue considerada el paso final del proceso de conjugación. Estaba subdividida en dos fases independientes; acumulación y transformación final (Theodoulou, 2000). En esta fase los conjugados solubles acoplados a péptidos, azúcares y aminoácidos fueron acumulados en las vacuolas (Schmitt y Sandermann, 1982) y los conjugados insolubles unidos a proteínas, ligninas, almidones, pectinas, celulosas, xilanos y otros polisacáridos fueron acumulados en el apoplasto de las paredes celulares (Sandermann y colaboradores, 1994). El proceso de compartimentación consistió en la remoción de los compuestos tóxicos de los tejidos metabólicos y vitales de las células (núcleo, mitocondrias, plástidos, etc.) (Burken, 2003; Theodoulou, 2000; Sandermann, 1992) mediante un sistema de transporte activo que fue controlado por una bomba *glutathion* dependiente de la ATPasa. Este proceso fue denominado “*storage excretion*” (Coleman y colaboradores, 1997; Lamoureux y Rusnes, 1989; Marrs, 1996). El término excreción implicó la liberación parcial de contaminantes absorbidos por las plantas en la forma original por las hojas o las raíces (Zaalishvili y colaboradores, 2000a; Korte y colaboradores, 2000). Los contaminantes ambientales absorbidos por las raíces fueron excretados por las hojas y viceversa. Un ejemplo de este proceso fueron los ácidos fenoxiacéticos (2,4-D, 2,4,5-T), dicamba y picloram que por lo general, fueron absorbidos por las hojas y excretados por las raíces (Hallmen, 1974; Lingle y Suttle, 1985; Schultz y Burnside, 1980). Un ejemplo de los compuestos absorbidos por las raíces y excretados por las hojas, fue el fenol, que fue excretado por las hojas de junco (*Juncus effusus* ‘Spiralis’) 90 minutos posteriores a su absorción por las raíces (Seidel y Kickuth, 1967). Las raíces también excretaron los compuestos que éstas mismas absorbieron. Un ejemplo fue el herbicida bioxón, que fue absorbido y excretado (25 a 30%) por las raíces de plántulas de algodón (*Gossypium herbaceum*) (Jones, 1972).

Figura 2. Proceso de detoxificación de xenobióticos en plantas



Fuente: Schröder (2007); Coleman y colaboradores (1997). (A) Las enzimas responsables de llevar a cabo la catálisis de reacciones para la detoxificación de xenobióticos en plantas, fueron localizadas o asociadas con algunos organelos o compartimentos celulares. Las flechas punteadas representaron una ruta propuesta para la glucosidación de xenobióticos en el aparato de Golgi, seguido por la liberación de metabolitos en el apoplasto vía exocitosis. (B) Modelo del mecanismo de detoxificación de herbicidas en plantas, de acuerdo al modelo de tres fases propuesto por Shimabukuro y colaboradores (1979), con modificaciones hechas por Coleman y colaboradores (1997). Abreviaciones: Transportador *glutathion* conjugado (CT), Transportador anión de xenobióticos dependiente de ATP (taurocolate, AT); Transportados glucósido conjugado dependiente de ATP (GT); Peptidasa vacuolar (VP).

Enzimas que participan en la transformación de xenobióticos en plantas

Las siguientes enzimas participaron directamente en la transformación inicial de contaminantes orgánicos:

Citocromo P450 monooxigenasa

El citocromo P450 monooxigenasa pertenece a uno de los principales grupos de enzimas que fueron responsables de la detoxificación de contaminantes orgánicos en plantas y animales (Robineau y colaboradores, 1998; Kreuz y colaboradores, 1996; Siminszky, 2006). El sistema de P450 monooxigenasas microsomal es una cadena de transferencia

de electrones. Todos los constituyentes de este sistema de multicomponentes fueron catalizados en las membranas del retículo endoplasmático. Había más de 20 procesos fisiológicos importantes y reacciones donde el citocromo P450 jugó un papel clave (Schuler, 1996; Durst, 1991). Algunos de éstos fueron de importancia vital para la célula vegetal, entre éstos se podrían mencionar: la biosíntesis de monómeros de lignina (Whetten y Sederoff, 1995), antocianinas (Holton y Cornish, 1995), furanocoumarinas (Berenbaum y Zangerl, 1996), giberelinas (Jenings y colaboradores, 1993), fitoalexinas isoflavonoides (Kochs y Grisebach, 1986), alcaloides (Kutchan, 1995), hidroxilación de ácidos grasos (Salaün y Helvig, 1995), hidroxilación de geraniol (Hallahan y colaboradores, 1994). El citocromo P450 de las plantas participó en las reacciones de *C*- y *N*- hidroxilación de compuestos aromáticos y alifáticos, *N*²- *O*²- y *S*-dealquilación, sulfoxidación, deaminación, *N*-oxidación, dehalogenación oxidativa y reductiva (Schuler, 1996). El citocromo P450 monooxigenasa fue el responsable de la hidroxilación en el anillo aromático de los herbicidas sulfonilurea (primisulfuron, clorosulfuron y triasulfuron) en trigo (*Triticum aestivum*) y maíz (*Zea mays*) (Schuler, 1996). A la enzima P450 se le ha relacionado en la degradación de los siguientes plaguicidas: clortoluron en trigo (Carnivenc y colaboradores, 1989; Mougín y colaboradores, 1992), maíz y algodón (Cole y Owen, 1987), bentazon en soya (*Glycine max*) (Sterling y Balke, 1990), etil pirazolsulfuron en arroz (*Oryza sativa*) (Yun y colaboradores, 2001), clodinafop en trigo, cebada (*Hordeum vulgare*) y maíz (Kreuz y colaboradores, 1991), fenoxaprop-*p*-etil en cebada (Romano y colaboradores, 1993), clomazone en algodón (Ferhatoglu y colaboradores, 2005) y tiazopir en algunas especies de malezas (Feng y colaboradores, 1995).

Peroxidasas

Las peroxidasas son enzimas ubicuas con una gran versatilidad catalítica y son encontradas en las plantas y en la mayoría de los hongos y bacterias. Las peroxidasas estaban compuestas de una sola cadena de péptidos y contiene un grupo hemo (protoporfirina IX). La actividad de las peroxidasas se incrementó bajo condiciones de estrés y una de sus principales funciones ha sido proteger a la célula del peróxido de hidrógeno. Las peroxidasas de las plantas contenían aproximadamente 25% de carbohidratos que protegieron la enzima de la acción de enzimas proteolíticas y a su vez estabilizaron la conformación de la proteína (Hu y Huystee, 1989). Todos los contaminantes orgánicos en las plantas fueron oxidados por las peroxidasas (Stiborova y Anzenbacher, 1991). Este hecho se basó en: (1) Su presencia en las paredes celulares, plasmalema, tonoplastos, y el sistema de membranas internas del retículo

endoplasmático, plástidos y citoplasma. (2) Alta afinidad a xenobióticos orgánicos de diferentes estructuras químicas. (3) Su baja especificidad al sustrato. Las peroxididasas de las plantas fueron capaces de oxidar N, *N*-dimetilalanina (Shinohara y colaboradores, 1984), 3,4-benzopireno, 4-nitro-o-fenillendiamina (Wilson y colaboradores, 1994), 4-cloroanilina (Laurent, 1994), fenol, aminofluoreno, acetaminofén, dietilelbestrol, hidroxitolueno butilado, hidroxianisoles, bencidina (Sandermann, 1994).

Fenoloxidasas

Las fenoloxidasas son enzimas que contienen cobre y se caracterizaron por su gran distribución en las plantas, microorganismo, insectos y animales (Mayer, 1987; Sugumaran y colaboradores, 1999). La enzima se pudo encontrar en forma activa o latente. El tipo de actividad de las fenoloxidasas en plantas dependió de la masa molecular de las múltiples formas de la enzima. En particular, con baja masa molecular (14, 21, 28, 35, 42, 55 y 70 *KD*) actuaron como difenolasas y monofenolasas. Con incrementos en las masas moleculares (118 y 250 *KD*) solamente la actividad difenolasa fue retenida (Pruidze y colaboradores, 2003). Además de catalizar la oxidación de grupos fenólicos, participó en la oxidación de xenobióticos con estructura aromática. Las fenoloxidasas de las espinacas (*Spinacia oleracea*) oxidaron los xenobióticos aromáticos (benzeno y tolueno).

Esterasas

La funcionalización de xenobióticos orgánicos vía hidrólisis fue catalizada por serina hidrolasas como las carboxilesterasas (Cummins y Edwards, 2004; Cummins y colaboradores, 2001; Krell y Sandermann, 1985; Sandermann, 1994). Estas enzimas se encontraban en los microsomas y tenían una alta especificidad. Aparte de su reacción primaria (hidrólisis del éster carboxílico con formación de alcoholes y ácidos carboxílicos) también catalizaron el rompimiento de otros enlaces, vía aril-transferasa, lisofosfolipasa, acetilesterasa, acilglicerol lipasa, acilcarnitin hidrolasa, palmitoil-CoA hidrolasa, amidasa, aril-acidamidasa. Las estererasas presentes en malezas (avena silvestre) llevaron a cabo la hidrólisis de esterres en plaguicidas (diclofopmetil, bromoxinil octanoato y binapacril) (Cummins y colaboradores, 2001). La familia de las estererasas en las plantas fue importante para el metabolismo endógeno y la bioactivación en cultivos y malezas.

Dehalogenasas

Estas enzimas fueron las responsables de llevar a cabo la remoción de un átomo de halógeno (dehalogenación) de contaminantes halogenados (dioxinas, PCBs, solventes clorinados, plaguicidas organoclorados, entre otros) con la finalidad disminuir su toxicidad y facilitar su degradación (Jassen y Withold, 1992; Mohn y Tiedje, 1992).

Nitroreductasas

Las nitroreductasas son enzimas que catalizaron la reducción de grupos nitro en compuestos aromáticos debido a la transferencia de un par de electrones. Estas enzimas fueron encontradas en los animales, plantas y microorganismos. Existían dos tipos de nitroreductasas, pero solamente las del tipo I fueron localizadas en plantas (Esteve y colaboradores, 2001).

Transferasas

Las enzimas de este grupo son responsables de catalizar las reacciones de conjugación del compuesto tóxico original con constituyentes endógenos de la célula vegetal. El proceso de conjugación se llevó a cabo por *glutathion S-transferasa*, *O-glucosiltransferasa*, *N-glucosiltransferasa*, *N-maloniltransferasa* (Sandermann, 1994). El *glutathion* fue el responsable de la conjugación de triazinas y sulfoureas (Leavitt y Penner, 1979; Ezra y Stephenson, 1985). Las transferasas también participaron en la conjugación de un amplio espectro de herbicidas flufenacet, triflusal, clorimuron-etil, acetoclor, metaloclor, alaclor (Bieseler y colaboradores, 1997).

Métodos de extracción y detección de plaguicidas y sus metabolitos en plantas

En aplicaciones analíticas, una importante consideración en la extracción del analito de interés fue el conocimiento de sus propiedades fisicoquímicas, entre las que se puede mencionar la polaridad, volatilidad, solubilidad en agua y presión de vapor, entre otras (Ahmen, 2001).

El procedimiento que se siguió en el análisis de plaguicidas incluyó los siguientes pasos: modificación de la matriz, extracción, limpieza, concentración y determinación

y cuantificación. En la modificación de la matriz, la muestra sólida (tejido vegetal) se pesó, se cortó y se homogenizó con un solvente en un mortero, molino, o triturador con la finalidad de desintegrar la matriz. En tejido vegetal la muestra usualmente se homogenizó en un homogeneizador mecánico con un solvente orgánico o una mezcla de solventes o agua (ajustado su pH). Los solventes más utilizados en la extracción de herbicidas fueron cetona, acetonitrilo, metanol y acetato de etilo (Ahmen, 2001).

La mayoría de los métodos de extracción y detección que se tenían en la actualidad en el análisis de plaguicidas, estaban enfocados a la determinación del compuesto activo y no a los productos derivados de su degradación (Olsso y colaboradores, 2004). Recientemente se ha incrementado el interés en desarrollar métodos que permitieran determinar un amplio rango de compuestos, estas técnicas representaron un reto en química analítica debido a que las propiedades químicas de los metabolitos solían ser diferentes a las del compuesto original (por ejemplo, la polaridad), lo que complicó la determinación simultánea de ambos tipos de compuestos (Martínez y colaboradores, 2009).

Las técnicas de extracción más comunes en el análisis de plaguicidas y sus metabolitos fueron: Extracción en Fase Sólida (EFS), Extracción Líquido-Líquido (ELL), extracción de intercambio iónico, Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS), Extracción Líquido Presurizada (ELP), Extracción Sólido Líquido (ESL), Micro-Extracción Fase Sólida (MEFS), Extracción en Membrana Líquida (EML), Extracción Asistida por Microondas (EAM) y Polímeros Moleculares Marcados (PMMS), muy raramente se usó Extracción Supercrítica de Fluidos (ESF) (Galeano y colaboradores, 2008; Huang y colaboradores, 2003; Petchuay y colaboradores, 2008; Chang y colaboradores, 2000; Díaz y Barceló, 2006; West y colaboradores, 2000; Sánchez y colaboradores, 2008; Plaza y colaboradores, 2007; Sandahl y colaboradores, 2000). La selección del método de extracción dependía del estado físico de la muestra entre otros aspectos. La técnica EFS ha sido en la actualidad el método más apropiado para el tratamiento de muestras líquidas y fue desarrollada como una alternativa a la técnica ELL para la separación, purificación, concentración y/o intercambio de los solutos en las soluciones. La técnica EFS pudo ser usada directamente para matrices líquidas o como un método de limpieza para los extractos de muestras. Debido a su simpleza y economía en términos de tiempo y cantidad de solventes empleados, este método se ha vuelto muy popular. La selección del material absorbente dependía de la interacción de este con el analito de interés (hidrofobicidad y polaridad). La muestra, al pasar por el material absorbente (cartucho o disco) este retiene los analitos por interacciones de Van der Waals e interacciones electrostáticas, el analito fue eluido con una pequeña cantidad de solvente. Las resinas que se utilizaron pueden ser sílica única a

C_8 y C_{18} , grafito, resinas de intercambio iónico y materiales poliméricos (D'Archivio y colaboradores, 2007). Una de las desventajas de esta técnica fue que los cartuchos de extracción o resinas se descartaron después de su uso. La técnica ELL ha sido la más utilizada para matrices líquidas. Los solventes de naturaleza no polar que se utilizaron son *n-hexano*, benceno y acetato de etilo y los solventes de naturaleza polar fueron diclorometano, metanol, acetonitrilo, acetona y agua. Por lo general esta técnica dio resultados de extracción satisfactorios (Wu y colaboradores, 2010). Una de sus desventajas fue el uso de gran cantidad de solventes, lo que representó un aumento en el costo. En el método de extracción de intercambio iónico las muestras acuosas se pasaron a través de una resina de intercambio iónico, posteriormente se eluyeron con una solución ácida y finalmente el extracto fue derivatizado para su cuantificación. Este método ha sido aplicado para el análisis de plaguicidas organofosforados (Chang y colaboradores, 2000). La extracción líquido presurizada también conocida como Extracción Solvente Acelerada (ESA) ha sido usada desde 1995. Esta técnica ha sido operada con alta presión (5 a 200 atm) y temperatura (mayor de 200°C). Entre sus ventajas se podrían mencionar que requería de tiempos cortos y menor cantidad de solvente (o sus mezclas con diferentes polaridades). La técnica DMFS se basó en la dispersión de la muestra sobre un material absorbente (C_8 , C_{19} , ciano, amino y fenil), por lo que permitió realizar en un sólo paso la homogenización, extracción y limpieza del analito. Esta técnica ha sido aplicada en la extracción de plaguicidas carbamatos y sus metabolitos en aguacate, limón, nuez y naranja (Blasco y colaboradores, 2004). Debido a que la homogenización de la muestra se realizó en forma manual los porcentajes de recuperación fueron bajos en comparación con ESL. La técnica MEFS fue creada en 1990, consiste de un procedimiento rápido y simple, con una gran capacidad de concentración sin la necesidad del empleo de solventes orgánicos. Se podía realizar la extracción y concentración en un sólo paso y consistía de dos etapas: retención del analito en la fase estacionaria y su desorción. Algunos de los factores que afectaron la extracción fueron el tipo de fibra, tiempo de extracción, fuerza iónica, pH de la muestra, temperatura y agitación. Las variables que afectaron el proceso de desorción fueron: temperatura, tiempo de desorción, temperatura del horno, tipo de solvente y volumen del mismo. Una de las desventajas de este método fue el efecto de la matriz que podía ser resuelto con la dilución de la muestra con agua destilada (50 a 100 veces) (Ahmen, 2001). La técnica de EML fue un método exitoso para la separación y limpieza de muestras, conteniendo varios tipos de compuestos orgánicos. La técnica EML fue exitosamente aplicada en la pre-concentración de varios tipos de herbicidas y extracción de plaguicidas organofosforados y algunos de sus metabolitos, así como en la extracción simultánea de glifosato y ácido aminometilfosfórico en naranja, manzana y jugos. Uno de

los beneficios de esta técnica fue que en un sólo paso se llevaba a cabo la extracción de la muestra. El elemento clave de esta técnica fue la membrana líquida que consiste de un polímero poroso impregnado de un solvente orgánico. La membrana separó las dos fases de agua (fase aceptora y donadora). Algunas de las condiciones que se debían de tomar en cuenta para una extracción exitosa del analito fueron: proporción de volúmenes del donador y aceptor, pH de cada fase y la adición de acarreadores (Rak y colaboradores, 2001). La técnica EFS tenía las ventajas de que utilizaba una pequeña cantidad de solventes y proporcionaban una alta selectividad además de que los extractos salían casi limpios, sólo requerían de un método de limpieza sencillo. La técnica utilizó fluidos supercríticos que tenían similar densidad que los líquidos, pero más baja viscosidad y superiores coeficientes de difusión. Estas características de los fluidos ocasionaron que se llevara a cabo una extracción más profunda y rápida. El CO_2 fue frecuentemente utilizado como un fluido supercrítico debido a que tenía una temperatura y presión críticas (31.2°C y 72.8 atm, respectivamente). El CO_2 pudo ser fácilmente removido reduciendo la presión. Una densidad de 0.8 a 0.9 g/mL pareció ser adecuada para la mayoría de los plaguicidas. Para este tipo de extracción, el agua debía ser removida de la muestra con la ayuda de algún agente de secado (Celite 545, alúmina, florisil, $MgSO_4$ y $NaSO_4$).

En la técnica EAM, las muestras fueron resuspendidas en el solvente (*n*-hexano, metanol-agua) y fueron irradiados por 30 segundos en un horno de microondas (frecuencia 2450 Hz) sin permitir que la suspensión alcanzara su punto de ebullición. El paso de extracción se repitió una serie de veces para extraer al máximo el analito de interés. Después de la irradiación, las muestras fueron centrifugadas y el sobrenadante se removió para ser analizado. Este método fue muy conveniente cuando se tenía un número grande de muestras (Ahmen, 2001).

Por otro lado, el procedimiento llamado “*QuEChERS*” (por sus siglas en inglés) que significa rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro se ha transformado en un procedimiento muy popular debido a que permitió el análisis simultáneo del compuesto original y sus metabolitos, dando buenos porcentajes de recuperación (Anastassiades y colaboradores, 2003; Lehotay y colaboradores, 2005).

Una vez que el analito de interés ha sido extraído fue recomendable someter el extracto a un procedimiento de limpieza. Algunos métodos incluyen el fraccionamiento de extractos basados en su polaridad, partición líquido líquido (LLP, por sus siglas en inglés), columnas cromatográficas o absorción cromatográfica (AC, por sus siglas en inglés) empleando florisil, alúmina neutra o una columna de silica gel, destilación o precipitación a baja temperatura. En la actualidad el florisil ha sido el absorbente más utilizado. LLP y AC se han aplicado para este fin, pero actualmente la

cromatografía de absorción y gel han ganado popularidad (Ahmen, 2001). Una vez que el extracto se limpió, este fue concentrado para su futuro análisis.

La metodología analítica tradicional e instrumentación, como Cromatografía de Gases (CG), Infrarroja (IR), Ultravioleta (UV) y espectrometría visible, Cromatografía de Gases Acoplada al Espectro de Masas (CG-MS), Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución Acoplada a Masas (HPLC-MS), y Cromatografía de Capa Fina (TLC), han contribuido significativamente en procesos bioquímicos y enzimológicos de plaguicidas. El mejoramiento en técnicas analíticas ha facilitado la rápida identificación, determinación estructural y asignación estereoquímica de plaguicidas y sus metabolitos. La sensibilidad ha mejorado de niveles de microgramos a picogramos, permitiendo una valoración más completa de los metabolitos intermedios y productos menores. El incremento en la velocidad analítica ha mejorado la detección de los intermediarios transitorios que fueron importantes en el entendimiento de los mecanismos de transformación.

El tipo de columnas utilizadas para la separación dependía de las propiedades fisicoquímicas de los analitos de interés, en CG la típica columna utilizada para el análisis de plaguicidas y sus metabolitos fue una columna no polar, cuya composición era 5% fenil-95% polidimetilsiloxano. Con relación a Cromatografía de Líquidos (HPLC), la columna utilizada por lo general estaba compuesta de C_{18} .

En la detección por CG se utilizaron detectores como el de Ionización de Flama (FID), Detector de Captura de Electrones (ECD), Detector de Nitrógeno y Fósforo (NPD) y el Detector Termiónico de Flama (FTD). Los procedimientos de derivatización en algunos casos son incluidos con la finalidad de obtener productos más volátiles y disminuir el límite de detección del método analítico. Durante el proceso de derivatización algunos reactivos como el yoduro de metilo pudieron ser usados (Petchuay y colaboradores, 2008; Chang y colaboradores, 2000).

En el caso de la HPLC, la detección con Ultravioleta-Visible (UV), arreglo de diodos o Detección Fluorescente (FLD), han sido tradicionalmente utilizados para el análisis de plaguicidas.

Aunque los detectores mencionados anteriormente han sido utilizados para el análisis de plaguicidas, El Espectrómetro de Masas (MS) ha sido una poderosa y versátil herramienta para la identificación y análisis estructural de una molécula basada sobre los fragmentos de masas derivados de la molécula original. El desarrollo de la HPLC MS/MS ha sido muy útil para estudios del metabolismo de plaguicidas, especialmente para el análisis directo de compuestos polares y no volátiles. La detección por masas ofrece una alta sensibilidad y selectividad (con detecciones por debajo del rango de femtomoles, 10^{-15}), no se requirió ningún paso de derivatización de la muestra cuando el espectro de masas fue acoplado a CL y la identificación y confirmación

podieron ser llevados a cabo en un sólo paso. En términos generales el MS ionizó el analito y lo separó en iones basados en su proporción masa y carga (m/z). Básicamente el espectrofotómetro de masas consistía de cinco elementos: 1) Entrada (cromatógrafo de gases, líquidos o un equipo de prueba). 2) Fuente de ionización [ionización de electrón, ionización química, ionización electrospray, ionización química a presión atmosférica, acoplado a plasma de modo inductivo (ICP), rápido bombardeo de átomos (FAB), desorción o ionización de matriz asistida por láser]. 3) Analizador de masas (analizador de masas sector magnético, cuádruplo, triple cuádruplo, trampa de iones, *time of flight* o *fourier transform ion cyclotron resonante*). 4) Detector de iones (multiplicador de electrones o plato multicanales). 5) Sistema de reducción de datos (Nielsen y colaboradores, 2007; Viglino y colaboradores, 2008; Arrebola y colaboradores, 1999; Martínez-Vidal y colaboradores, 2000; Garrido y colaboradores, 2008; Hernández y colaboradores, 2005). La fuente de ionización electrospray fue adecuada para compuestos grandes y no volátiles. La ionización se llevó a cabo directamente de la solución y produjo millones cargados. Cuando fue operado en el modo positivo fue ideal para la ionización de compuestos básicos en donde por lo general se utilizó una fase móvil compuesta de acetonitrilo/metanol/agua (al menos 5% de este último) con adición de ácido fórmico o acético. Cuando fue operado en el modo negativo, fue ideal para compuestos ácidos con la composición de la fase móvil semejante a la usada y para cuando se operó en modo positivo, pero con adición de hidróxido de amonio y trietanolamina. También se podían utilizar solventes halogenados como cloroformo, hexafluoroisopropanol y trifluorometanol. Uno de los problemas de esta fuente de ionización fue la formación de aductos. Los compuestos polares sin la presencia de grupos ácidos o básicos en su estructura podían ionizarse a través de la formación de aductos con otros iones, por ejemplo en el modo positivo fue más frecuente observar este efecto, debido a la unión con iones de sodio o amonio (Na^+ , NH_4^+) presentes en las soluciones amortiguadores o en las matrices. Una de las ventajas del modo electrospray fue que determinó el peso molecular, pero sus desventajas fueron que no se podían llevar a cabo análisis de compuestos no polares o de baja polaridad, se podían observar efectos de supresión y no ofrecía mucha información estructural. La ionización química presión atmosférica en comparación con electrospray fue adecuada para ionizar compuestos de mediana y baja polaridad, la ionización ocurrió en la fase gaseosa, toleró velocidades de flujo de hasta 1 mL/min, fue tolerante a la presencia de soluciones amortiguadoras, no se vio afectada por la composición de la fase móvil y únicamente los iones cargados fueron formados. Algunas de sus desventajas es que no proporciona información de la estructura del analito y no funcionó adecuadamente a velocidades de flujo muy bajas.

La técnica de ionización MALDI-TOF, se denominó de esta manera por sus siglas en inglés *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (matriz asistida por láser desorción/ionización) y TOF por el detector de iones que se acopla al MALDI y cuyo nombre procede también de sus siglas en inglés *Time-of-Flight*, ha sido una técnica de ionización suave (ocasionó poca o ninguna ionización) ideal para compuestos de alto peso molecular (300,000 *Da*), la ionización se llevó a cabo con un rayo láser sobre una matriz sólida (ácido sinapínico, ácido trifluoacético), generalmente esta fuente de ionización fue acoplada a masas (MS). Alguna de las ventajas de MALDI fue que es tolerante a las sales y fue adecuada para mezclas complejas. Sus desventajas eran que podían tener efectos de la matriz y no era capaz de distinguir entre iones de diferente proporción *m/z*.

Cuando MALDI fue acoplada a TOF-MS se tenían algunas ventajas para el análisis de los metabolitos, entre ellas se pudo mencionar alta resolución, masa exacta, y un registro completo del espectro de adquisición. Por medio de la obtención de un registro completo fue posible determinar compuestos desconocidos después de que el análisis ha sido realizado. Algunas de las desventajas de esta técnica fue la falta de estándares de referencia comercialmente disponibles, no fue posible aislar un ión precursor para la obtención de un espectro MS/MS limpio y la fragmentación sólo puede ser alcanzada si se utilizó un alto voltaje (Soler y colaboradores, 2007). Una de las consideraciones que se debían tomar en cuenta, fue que este tipo de analizadores no daba información sobre la estructura del fragmento, estos instrumentos han sido aplicados para elucidar los productos de transformación de los plaguicidas (Picó y colaboradores, 2008; Ibáñez y colaboradores, 2004; Sancho y colaboradores, 2006).

La técnica de ionización mediante el bombardeo con átomos rápidos (Fast Atom Bombardment: FAB) o técnica FAB, ha sido una técnica de ionización suave ideal para compuestos con masas moleculares de hasta 7000 *Da* y termolábiles. La ionización se llevó a cabo con átomos de *Xe* o iones de Cs^+ , pudo trabajar a bajas velocidades de flujo. Parte de las desventajas de FAB es que se tenían problemas asociados con la matriz y problemas de sensibilidad.

Como ya se mencionó anteriormente algunos de los problemas que se pudieron tener en el análisis por espectrometría de masas fue el efecto de la matriz, este efecto fue identificado cuando se dio un cambio en la ionización del analito de interés debido a la co-elución de un compuesto presente en la matriz, lo que ocasionó un aumento o represión del proceso de ionización y, a su vez, afectó la precisión, sensibilidad y exactitud. Una forma de compensar los efectos de la matriz fue el uso de isótopos estables como estándares internos que funcionaron eficientemente pero fueron costosos y no se tenía una gran variedad de éstos comercialmente disponibles. Algunas alternativas eran la preparación de la curva de calibración en la matriz

estudiada, un eficiente proceso de limpieza para el tratamiento de la muestra, el uso de un ión negativo (genera pocos aductos) en vez de un ión positivo y el ajuste de las condiciones cromatográficas para cambiar el tiempo de retención y evitar que las sales coeluyeran con el analito. (Müller y colaboradores, 2002; Shou y Naidong, 2003; Schuhmancher y colaboradores, 2003; Souverain y colaboradores, 2004; Taylor, 2005). A pesar de las múltiples ventajas que tiene el MS, algunas de sus desventajas fueron que tanto el equipo como su operación fueron costosas (consumibles, gas, reactivos), y requirió de entrenamiento para ser operado.

Cuando se trató de la identificación de un compuesto desconocido, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) fue el instrumento ideal. RMN era una técnica espectroscópica de la resonancia magnética del protón que permitía interpretar la estructura e identidad de los compuestos orgánicos. Dio información sobre el tipo y número de grupos funcionales presentes, a su vez ayudó a la identificación de la molécula. Los espectrómetros de Infrarrojo y Ultravioleta Visible (IR y UV) midieron los patrones de absorbanza de las moléculas expuestas a diferentes longitudes de onda de energía, de esta forma los patrones de absorbanza de un compuesto desconocido pudieron ser comparados con los de un compuesto conocido para facilitar su identificación. Sin embargo, el IR proveía información acerca de los grupos funcionales de una molécula.

Otros métodos para la determinación de plaguicidas en plantas incluyeron a los inmunoensayos. Estos métodos fueron sensibles, baratos y de fácil manejo y no requerían de equipos sofisticados. Por lo general, los inmunoensayos fueron de ayuda cuando se requiere una revisión de un gran número de muestras que han sido analizadas en paralelo para un sólo analito dentro de un periodo de tiempo corto. Los inmunoensayos comúnmente usados para la detección de plaguicidas fueron los inmunosensores y ELISA, este último fue muy específico y pudo reducir el efecto de la matriz. Una de las desventajas de la técnica de ELISA fue que no proporcionaron información sobre las características estructurales de los compuesto de interés, por lo tanto no había forma de llevar a cabo su confirmación y además ese tipo de técnicas fueron vulnerables a las interferencias de algunos reactivos (por ejemplo el anticuerpo fue intolerante a los solventes orgánicos) (Ahmen, 2001).

Referencias

- Adil, A. I., E. R. White, M. M. McChesney and W. W. Kilgore (1974), "Translocation of pesticides as affected by plant nutrition", *J Agric Food Chem*, vol. 22 (2), pp. 242-249.

- Ahmen, F. E. (2001), "Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks", *Trends Anal Chem*, vol. 20 (11), pp. 649-661.
- Albert, L. (2005), "Panorama de los plaguicidas en México", séptimo congreso de Actualización en Toxicología Clínica, Tepic, Nayarit 1 y 2 de septiembre, disponible en <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>; p. 17.
- Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Stajnbaher and F. J. Schenk (2003), "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce", *J AOAC Int*, vol. 86 (2), pp. 412-431.
- Arrebola, F. J., J. L. Martínez-Vidal, A. Fernández-Gutiérrez and M. H. Akhtar (1999), "Monitoring of pyrethroid metabolites in human urine using solid-phase extraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry", *Anal Chim Acta*, vol. 401 (1-2), pp. 45-54.
- Bashkin, N. V. (2003), *Environmental Chemistry: Asian Lessons. Chapter 14. Organic Xenobiotics*, Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Mpscow, part III, pp. 361-384, doi: 10.1007/0-306-48020-4_14.
- Behrendt, H. and R. Brüggemann (1993), "Modeling the fate of organic—chemicals in the soil-plant environment: model study of root uptake of pesticides", *Chemosphere*, vol. 27 (12), pp. 2325-2332.
- Berenbaum, M. R. and A. R. Zangerl (1996), "Physical-chemical diversity: adaptation or random variation?", *Rec Adv Phytochem*, vol. 30, pp. 1-12.
- Bieseler, B., C. Fedtke, T. Neufeind, W. Etzel, L. Prade and P. Reinemer (1997), "Maize selectivity of FOE 5043: Degradation of active ingredient by glutathione-S-transferases", *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, vol. 50 (2), pp. 117-140.
- Blasco, C., G. Font and Y. Picó (2004), "Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography–mass spectrometry", *J Chromatogr A*, vol. 1028 (2), pp. 267-276.
- Brewer, P. E., and R. E. Wilson (1975), "Dichloromethane: variability in penetration and resulting effects on seed germination and CO₂ evolution", *Bot Gaz (Chicago)*, vol. 136 (2), pp. 216–218.
- Briggs, G. G., and R. H. Bromilow (1983), "Relationship between lipophilicity and the distribution of non-ionized chemicals in barely shoots following uptake by the roots", *Pestic Sci*, vol. 14, pp. 492-500.
- Briggs, G. G., R. H. Bromilow and A. A. Evans (1982), "Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley", *Pestic Sci*, vol. 13 (5), pp. 495-504.
- Buadze, O., and G. Kvesitadze (1997), "Effect of low-molecular-weight alkanes on the cell photosynthetic apparatus", *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 38 (1), pp. 36-44.

- Bukovac, M. T., P. D. Petracek, R. G. Fader and R. D. Morse (1990), "Sorptions of organic compounds by plant cuticles", *Weed Sci*, vol. 38 (3), pp. 289-298.
- Burken, J. G. (2003), "Uptake and metabolism of organic compounds: green liver model" in S. C. McCutcheon, J. L. Schnoor (eds.), *Phytoremediation. Transformation and control of contaminants*, Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey, pp. 59-84.
- Carnivenc, M. C., B. Cagnac, F. Cabanne and R. Scalla (1989), "Induced changes of chlorotoluron metabolism in wheat cell-suspension cultures", *Plant Physiol Bioch*, vol. 27 (2), pp. 193-201.
- Chang, H. Y., H. C. Wu, W. C. Lin, P. L. Wu and C. H. Kuei (2000), "Determination of organophosphorus pesticide metabolites in surface water by use of a strong anion-exchange disk and in-vial derivatization", *Chromatographia*, vol. 51 (9-10), pp. 630-633.
- Chrikishvili, D., T. Sadunishvili and G. Zaalishvili (2006), "Benzoic acid transformation via conjugation with peptides and final fate of conjugates in higher plants", *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 64 (3), pp. 390-399.
- Cole, D. J., and W. J. Owen (1987), *Metabolism of metalaxyl in cell suspension cultures of Lactuca sativa L. and Vitis vinifera L. Pestic Biochem Physiol*, vol. 28 (3), pp. 354-361.
- Coleman, J. O. D., M. A. Mechteld, B. Kalff and T. G. E. Davies (1997), "Detoxification of xenobiotics in plants: chemical modification and vacuolar compartmentation", *Trends Plant Sci*, vol. 2 (4), pp. 144-151.
- Coupland, D., P. J. W. Lutman and C. Heath (1990), "Uptake, translocation, and metabolism of mecoprop in a sensitive and a resistant biotype of *Stellaria media*", *Pestic Biochem Physiol*, vol. 36 (1), pp. 61-67.
- Cummins, I., and R. Edwards (2004), "Purification and cloning of an esterase from the weed black-grass (*Alopecurus myosuroides*), which bioactivates aryloxyphenoxypropionate herbicides", *Plant J*, vol. 39 (6), pp. 894-904.
- Cummins, I., N. Burnet and R. Edwards (2001), "Biochemical characterisation of esterases active in hydrolysing xenobiotics in wheat and competing weeds", *Physiol Plant*, vol. 113 (4), pp. 477-485.
- D'Archivio, A. A., M. Fanelli, P. Mazzeo and F. Ruggieri (2007), "Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography", *Talanta*, vol. 71 (1), pp. 25-30.
- Devine, M. D., and L. M. Hall (1990), "Implication of sucrose transport mechanism for the translocation of herbicides", *Weed Sci*, vol. 38 (3), pp. 299-304.

- Díaz-Cruz, M. S., and D. Barceló (2006), “Highly selective sample preparation and gas chromatographic–mass spectrometric analysis of chlorpyrifos, diazinon and their major metabolites in sludge and sludge-fertilized agricultural soils”, *J. Chromatogr A*, vol. 1132 (1-2), pp. 21-27.
- Durst, F. (1991), “Biochemistry and physiology of plant cytochrome P-450” in K. Ruckpaul (ed.), *Frontiers in biotransformation*, Academic-Verlag, Berlin, vol 4, pp. 191-232.
- Esteve-Núñez, A., A. Caballero and J. L. Ramos (2001), “Biological degradation of 2,4,6-trinitrotoluene”, *Microbiol Mol Biol Rev*, vol. 65 (3), pp. 335-352.
- Ezra, G., and G. R. Stephenson (1985), “Comparative metabolism of atrazine and EPTC in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and corn”, *Pestic Biochem Physiol*, vol. 24 (2), pp. 207-212.
- Feng, P. C. C., S. R. Rao and D. E. Schafer (1995), “Inhibition of thiazopyr metabolism in plant seedlings by inhibitors of monooxygenases”, *Pest Sci*, vol. 45, pp. 203-207.
- Ferhatoglu, Y., S. Avdiushko and M. Barret (2005), “The basis for the safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s”, *Pestic Biochem Physiol*, vol. 81 (1), pp. 59-70.
- Franke, W. (1975), “Stoffaufnahme durch das Blatt unter besonderer Berücksichtigung der Ektodermen”, *Bodenkultur*, vol. 26, pp. 331-340.
- Galeano-Díaz, T., A. Guiberteau-Cabanillas, M. D. López-Soto and J. M. Ortiz, (2008), “Determination of fenthion and fenthion-sulfoxide, in olive oil and in river water, by square-wave adsorptive-stripping voltammetry”, *Talanta*, vol. 76 (I4), pp. 809-814.
- Garrido-Frenich, A., P. Plaza-Bolaños and J. L. Martínez-Vidal (2008), “Comparison of tandem-in-space and tandem-in-time mass spectrometry in gas chromatography determination of pesticides: Application to simple and complex food samples”, *J Chromatogr A*, vol. 1203 (2), pp. 229-238.
- González-Arias, C. A., M. L. Robledo-Marengo, I. M. Medina-Díaz, J. B. Velázquez-Fernández, M. I. Girón-Pérez, B. Quintanilla-Vega, P. Ostrosky-Wegman, N. E. Pérez-Herrera y A. E. Rojas-García (2010), “Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México”, *Rev Int Contam Ambient*, vol. 26 (3), pp. 221-228.
- Hallahan, D. L., S. M. Lau, P. A. Harder, D. W. Smiley, G. W. Dawson, J. A. Pickett, R. F. Christoffersen and D. P. O’Keefe (1994), “Cytochrome P-450-catalysed monoterpenoid oxidation in catmint (*Nepeta racemosa*) and avocado (*Persea americana*) evidence for related enzymes with different activities”, *Biochim Biophys Acta*, vol. 1201 (1), pp. 94-100.

- Hallmen, U. (1974), "Translocation and complex formation of picloram and 2,4-D in rape and sunflower", *Physiol Plant*, vol. 32, pp. 78-83.
- Hendrick, L. W., W. F. Meggitt and D. Penner (1974), "Basis for selectivity of phenmedipham and desmodipham on wild mustard, redroot pigweed, and sugar beet", *Weed Sci*, vol. 22, pp. 179-186.
- Hernández, F., J. V. Sancho and O. J. Pozo (2005), "Critical review of the application of liquid chromatography/mass spectrometry to the determination of pesticide residues in biological samples", *Anal Bioanal Chem*, vol. 382 (4), pp. 934-946. doi: 10.1007/s00216-005-3185-5.
- Holton, T. A., and E. C. Cornish (1995), "Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis", *Plant Cell*, vol. 7 (7), pp. 1071-1083.
- Hu, C., and R. B. Huystee (1989), "Role of carbohydrate moieties in peanut peroxidases", *Biochem J*, vol. 263 (1), pp. 129-135.
- Huang, S. B., J. S. Stanton, Y. Lin and R. A. Yokley (2003), "Analytical method for the determination of atrazine and its dealkylated chlorotiazine metabolites in water using SPE sample preparation and GC/MSD analysis", *J Agric Food Chem*, vol. 51 (25), pp. 7252-7258.
- Ibáñez, M., J. V. Sancho, O. J. Pozo and F. Hernández (2004), "Use of quadrupole time-of-flight mass spectrometry in environmental analysis: elucidation of transformation products of triazine herbicides in water after UV exposure", *Anal Chem*, vol. 76 (5), pp. 1328-1335.
- Isensee, A. R., G. E. Jones and B. C. Turner (1971), "Root absorption and translocation of picloram by oats and soybeans", *Weed Sci*, vol. 19 (6), pp. 727-736.
- Jassen, D. B., and B. Withold (1992), "Aerobic and anaerobic degradation of halogenated aliphatics" in H. Sigel (ed.), *Metal ions in biological systems*, Decker, New York. pp. 229-327.
- Jenings, J. C., R. C. Coolbaugh, D. A. Nakata and C. A. West (1993), "Characterization and solubilization of kaurenoic acid hydroxylase from *Gibberella fujikuroi*", *Plant Physiol*, vol. 101 (3), pp. 925-930.
- Jones, D. W. and C. L. Foy (1972), *Absorption and translocation of bioxone in cotton*, *Weed Sci*, vol. 20 (1), pp. 116-124.
- King, M. G., and R. Radosevich (1979), *Tanoak (Lithocarpus densiflorus) leaf surface characteristics and absorption of triclopyr*, *Weed Sci*, vol. 27 (6), pp. 599-604.
- Kochs, G., and H. Grisebach (1986), *Enzymatic synthesis of isoflavonoids*, *Eur J Biochem*, vol. 155 (2), pp. 311-318.
- Korte, F., G. Kvesitadze, D. Ugrehelidze, M. Gordeziani, G. Khatisashvili, O. Bua-dze, G. Zaalishvili and F. Coulston (2000), "Review: Organic toxicants and plants", *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 47 (1), pp. 1-26.

- Krell, H. W., and H. Sandermann (1985), *Plant biochemistry of xenobiotics. Purification and properties of a wheat esterase hydrolyzing the plasticizers chemical, bis(2-ethylhexyl)phthalate*, Eur J Biochem, vol. 143 (1), pp. 57-62.
- Kreuz, K., J. Gaudin, J. Stingelin and Z. Ebert (1991), "Metabolims of arytoxyphenoxypoproanoate herbicide, CGA 184927, in wheat, barley and maize:differential effects of the safener CGA 185072. Z", *Naturforsch*, vol. 46c, pp. 901-905.
- Kreuz, K., R. Tommasini and , E. Martinoia (1996), "Old enzymes for a new job: herbicides detoxification in plants", *Plant Physiol*, vol. 107 (4), pp. 1257-1268.
- Kutchan, T. M. (1995), "Alkaloid biosynthesis—the basis for metabolic engineering of medicinal plants", *Plant Cell*, 7, pp. 1059-1061.
- Kvesitadze, G., M. Gordeziani, G. Khatishashvili, T. Sadunishvili and J. J. Ramsden (2001), "Some aspects of the enzymatic basis of phytoremediation", *J Biol Phys Chem*, vol. 1, pp. 49-57.
- Kvesitadze, G., G. Khatishashvili, T. Sadunishvili and J. Ramsden (2006), *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: basis of phytoremediation. Chapter 1. Contaminants in the environmental*, Springer Berlin Heidelberg New York, ISBN 103-540-28996-8, pp. 1-25.
- Lamoureux, G. L., and D. G. Rusnes (1989), *Propachlor metabolism in soybean plants, excised soybean tissues, and soil*, Pestic Biochem Physiol, vol. 34, pp. 187-204.
- Laurent, F. M. G. (1994), "Chloroaniline peroxidation by soybean peroxidases", *Pestic Sci*, vol. 40, pp. 25-30.
- Lavy, T. L. (1975), "Effects of soil pH and moisture on the direct radioassay of herbicides in soil", *Weed Sci*, vol. 23 (1), pp. 49-58.
- Leavitt, J. R., and D. Penner (1979), "In vitro conjugation of glutathione and other thiols with acetanilide herbicides and EPTC sulfoxide and the action of the herbicide antidote R-25788", *J Agric Food Chem*, vol. 27 (3), pp. 533-536.
- Lehotay, S. J., K. Mastovska and A. R. Lightfield (2005), "Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residueanalysis of fruits and vegetables", *J AOAC Int*, vol. 88 (2), pp. 615-629.
- Libbert, E. (1974), *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Lingle, S. E., and J. C. Suttle (1985), "A model system for the study of 2,4-D translocation in leaf of spurge", *Can J Plant Sci*, vol. 65, pp. 369-377.
- Long, J. W., and E. Basler (1974), "Patterns of phenoxy herbicide translocation in bean seedlings", *Weed Sci*, vol. 22 (1), pp. 18-24.
- Marrs, K. A. (1996), "The function and regulation of glutathione S-transferases in plants" in *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, vol. 47, pp. 127-158.

- Martínez Vidal, J. L., P. Plaza-Bolaños, R. Romero-González and A. Garrido Frenich (2009), "Determination of pesticides transformation products: a review of extraction and detection methods", *J Chromatogr A*, vol. 1216 (40), pp. 6767-6788.
- Martínez-Vidal, J. L., M. Moreno-Frías, A. Garrido-Frenich, F. Olea-Serrano and N. Olea (2000), "Trace determination of α - and β -endosulfan and three metabolites in human serum by gas chromatography electron capture detection and gas chromatography tandem mass spectrometry", *Rapid Commun Mass Spectrom*, vol. 14 (11), pp. 939-946.
- Mayer, A. (1987), "Polyphenoloxidases in plants-recent progress", *Phytochemistry*, vol. 26 (1), pp. 11-20.
- Merbach, W., and G. Schilling (1977), "Ursachen der Unempfindlichkeit von *Beta vulgaris* L. gegenüber Pyrazon, Phenmedipham und Benzthiazuron", *Biochem Physiol Pflanz*, vol. 171, pp. 187-190.
- Minshall, W. H., K. Sample and J. R. Robinson (1977), "The effect of urea on atrazine uptake from soil", *Weed Sci*, vol. 25 (5), pp. 460-469.
- Mohn, W., and J. M. Tiedje (1992), "Microbial reductive dehalogenation", *Microbiol Rev*, vol. 56 (3), pp. 482-507.
- Mougin, C., F. Cabanne, M-C. Canivenc and R. Scalla (1990), "Hydroxylation and N-demethylation of chlortoluron by wheat microsomal enzymes", *Plant Sci*, vol. 66 (2), pp. 195-203.
- Müller, C., P. Schäfer, M. Störtzel, S. Vogt and W. Weinmann (2002), "Ion suppression effects in liquid chromatography–electrospray–ionisation transport-region collision induced dissociation mass spectrometry with different serum extraction methods for systematic toxicological analysis with mass spectral libraries", *J Chromatogr*, vol. 773 (1), pp. 47-52.
- Nielsen, M. K. K., M. S. Holtze, B. Svensmark and R. K. Juhler (2007), "Demonstrating formation of potentially persistent transformation products from the herbicides bromoxynil and ioxynil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)", *Pest Manage Sci*, vol. 63 (2), pp. 141-149.
- Novojhilov, K. V. (1977), *Problems of dynamics and metabolism of insecticides in plants connected with their rational application (in Russian)*. Trudy Vsesoyuznogo Instituta Zernovykh Rastenii. Leningrad, pp. 5-16.
- Olsson, A. O., S. E. Baker, J. V. Nguyen, L. C. Romanoff, S. O. Udunka, R. D. Walker, K. L. Flemmen and D. B. Barr (2004), "A liquid chromatography--tandem mass spectrometry multiresidue method for quantification of specific metabolites of organophosphorus pesticides, synthetic pyrethroids, selected herbicides, and deet in human urine", *Anal Chem*, vol. 76 (9), pp. 2453-2461.

- Petchuay, C., S. Thoumsang, P. Visuthismajarn, B. Vitayavirasak, B. Buckley, P. Hore, M. Borjan and M. Robson (2008), "Analytical method developed for measurement of dialkylphosphate metabolites in urine collected from children non-occupationally exposed to organophosphate pesticides in an agricultural community in Thailand", *Bull Environ Contam Toxicol*, vol. 81 (4), pp. 401-405. doi: 10.1007/s00128-008-9515-5.
- Picó, Y., M. Farré, N. Tokman and D. Barceló (2008), "Rapid and sensitive ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the quantification of amitraz and identification of its degradation products in fruits", *J Chromatogr A*, vol. 1203 (1), pp. 36-46.
- Plaza-Bolaños, P., A. Garrido-Frenich and J. L. Martínez-Vidal (2007), "Application of gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry in the quantification-confirmation of pesticides and polychlorinated biphenyls in eggs at trace levels", *J Chromatogr A*, vol. 1167(1), pp. 9-17.
- Pruidze, G. K., N. I. Mchedlishvili, N. T. Omiadze, L. K. Gulua and N. G. Pruidze (2003), "Multiple forms of phenol oxidase from Kolkhida tea leaves (*Camellia sinensis* L.) and *Mycelia sterilia* IBR 35219/2 and their role in tea production", *Food Res Int*, vol. 36 (6), pp. 587-595.
- Rak, M., P. Dpzygiel and P. Wieczorek (2001), "Supported liquid membrane extraction of aromatic aminophosphonates", *Analytica Chimica Acta*, vol. 433 (2), pp. 227-236.
- Rigitano, R. L. O., and G. G. Briggs (1986), "Pholem translocation of xenobiotics in plants- a physicochemical approach", *Pestic Sci*, vol. 17, pp. 62-63.
- Robineau, T., Y. Batard, S. Nedelkina, F. Cabello-Hurtado, M. LeRet, O. Sorokine, L. Didierjean and D. Werck-Reichhart (1998), "The chemically inducible plant cytochrome P450 CYP76B1 actively metabolizes phenylureas and other xenobiotics", *Plant Physiol*, vol. 118, pp. 1049-1056.
- Romano, M. L., G. R. Stephenson, A. Tal and J. C. Hall (1993), "The effect of monooxygenase and glutathione S-transferase inhibitors on the metabolism of diclofop-methyl and fenoxaprop-ethyl in barley and wheat", *Pestic Biochem Physiol*, vol. 46 (3), pp. 181-189.
- Rubin, B., and Y. Eshel (1977), "Absorption and translocation of terbutryn and fluometuron in cotton (*Gossypium hirsutum*) and snapbean (*Phaseolus vulgaris*)", *Weed Sci*, vol. 25 (6), pp. 499-505.
- Salaün, J. P., and C. Helvig (1995), "Cytochrome P450-dependent oxidation of fatty acids" in F. Durts, D. P. O'Keef (eds), *Drug metabolism and drug interactions*. Freund Publishing House, England, pp. 12-49.

- Sánchez, A., S. Millán, M. C. Sampedro, N. Unceta, E. Rodríguez, M. A. Goicolea, and R. J. Barrio (2008), “Quantification of fenitrothion and its main metabolites in poplar leaves by isotope dilution gas chromatography–mass spectrometry coupled with solid-phase microextraction”, *J. Chromatogr. A*, vol. 1177 (1), pp. 170-174.
- Sancho, J. V., O. J. Pozo, M. Ibáñez and F. Hernández (2006), “Potential of liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry for the determination of pesticides and transformation products in water”, *Anal Bioanal Chem*, vol. 386 (4), pp. 987-997. doi: 10.1007/s00216-006-0532-0.
- Sandahl, M., L. Mathiasson and J. A. Jönsson (2000), “Determination of thiophanate-methyl and its metabolites at trace level in spiked natural water using the supported liquid membrane extraction and the microporous membrane liquid–liquid extraction techniques combined on-line with high-performance liquid chromatography”, *J Chromatogr A*, vol. 893 (1), pp. 123-131.
- Sandermann, H. (1992), “Plant metabolism of xenobiotics”, *Elsevier Science publisher*, vol. 17 (2), pp. 82-84.
- Sandermann, H. (1994), “Higher plant metabolism of xenobiotics: the ‘green liver’ concept”, *Pharmacogenetics*, vol. 4(5), pp. 225-241.
- Sandermann, H., D. Scheel and T. Trenck (1983), “Metabolism of environmental chemicals by plants. Copolymerization into lignin”, *J Appl Polymer Sci*, num. 37, pp. 407-420.
- Sargent, J. A., and G. E. Blackman (1972), “Studies on foliar penetration. 9. Patterns of penetration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid into the leaves of different species”, *J Exp Bot*, vol. 23 (76), pp. 830–841.
- Schmitt, R., and H. Sandermann (1982), “Specific localization of β -D-glucoside conjugates of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soybean vacuoles”, *Z. Naturforsch*, vol. 37c, pp. 772-777.
- Schröder, P. (2007), “Extrapolating plant metabolism for the phytoremediation of organic xenobiotics. Methods in Biotechnology” in N. Willey, *Phytoremediation: methods and reviews*, vol. 23, Humana Press Inc. Totowa, N. J.
- Schuhmacher, J., D. Zimmer, F. Tesche and V. Pickard (2003), “Matrix effects during analysis of plasma samples by electrospray and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry: practical approaches to their elimination”, *Rapid Commun Mass Spectrom*, vol. 17 (17), pp. 1950-1957.
- Schuler, M. A. (1996), “Plant cytochrome P450 monooxygenases”, *Crit Rev Plant Sci*, vol. 15 (3), pp. 235-284.
- Schultz, M. E., and O. C. Burnside (1980), “Absorption, translocation and metabolism of 2,4-D and glyphosate in hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*)”, *Weed Sci*, vol. 28 (1), pp. 13-20.

- Seidel, K., and R. Kickuth (1967), "Excretion von phenol in der phylosphäre von *Scirpus lacustris* L", *Naturwissenschaften*, vol. 52, pp. 517-525.
- Shimabukuro, R. H., W. C. Walsh and R. A. Hoerauf (1979), "Metabolism and selectivity of Diclofop-methyl in wild oat and wheat", *J Agric Food Chem*, vol. 27 (3), pp. 615-623.
- Shinohara, A., T. Kamataki, Y. Ichimura, H. Opochi, K. Okuda and R. Kato (1984), "Drug oxidation activities of horse-redish peroxidase, myoglobin and cytochrome P-450cam reconstituted with synthetic hemes", *Jap J Pharmacol*, vol. 45, pp. 107-114.
- Shou, W. Z., and W. Naidong (2003), "Post-column infusion study of the 'dosing vehicle effect' in the liquid chromatography/tandem mass spectrometric analysis of discovery pharmacokinetic samples", *Rapid Commun Mass Spectrom*, vol. 17 (6), pp. 589-597.
- Siminszky, Balazs (2006), "Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism", *Phytochem Rev*, vol. 5, pp. 445-458.
- Söchtig, H. (1964), "Beeinflussung des Stoffwechsels der Pflanzen durch Humus und seine Bestandteile und die Auswirkung auf Wachstum und Ertrag", *Landbauforsch Völkenrode*, vol. 14, pp. 9-15.
- Soler, C., B. Hamilton, A. Furey, K. J. James, J. Mañes and Y. Picó (2007), "Liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry analysis of carbosulfan, carbofuran, 3-hydroxycarbofuran, and other metabolites in food", *Anal Chem*, vol. 79 (4), pp. 1492-1501.
- Souverain, S., S. Rudaz and J. L. Veuthey (2004), "Matrix effects in LC-ESI and LC-APCIMS with off-line and on-line extraction procedures", *J Chromatogr A*, vol. 1058 (1-2), pp. 61-66.
- Steinert, W. G., and J. F. Stnizke (1977), "Uptake and phytotoxicity of tebuthiuron", *Weed Sci*, vol. 25 (5), pp. 390-396.
- Sterling, T. M., and N. E. Blake (1990), "Bentazon uptake and metabolism by cultured plant cells in the presence of monooxygenase inhibitors and cinnamic acid", *Pestic Biochem Physiol*, vol. 38 (1), pp. 66-75.
- Stiborova, M., and P. Anzenbacher (1991), "What are the principal enzymes oxidizing the xenobiotics in plants: cytochrome P-450 or peroxidase?", *Gen Physiol*, vol. 10 (2), pp. 209-216.
- Sugumaran, M., R. Duggaraju, F. Generozova and S. Ito (1999), "Insect melanogenesis. II. Inability of *Manduca* phenoloxidase to act on 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid", *Pigm Cell Res*, vol. 12 (2), pp. 118-125.

- Talekar, N. S., E. M. Lee and L. T. Sun (1977), "Absorption and translocation of soil and foliar applied ^{14}C -carbofuran and ^{14}C -phorate in soybean and mung bean seeds", *J Econ Entomol*, vol. 70 (6), pp. 685-688.
- Taylor, P. J. (2005), "Matrix effects: the Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry", *Clin Biochem*, vol. 38 (4), pp. 328-334.
- Theodoulou, F. L. (2000), "Plant ABC transporters", *Biochim Biophys Acta*, vol. 1465 (1-2), pp. 79-103.
- Ugrekheldze, D., V. Phiriashvili and T. Mithaishvili (1986), "Uptake of salicylic acid and aniline by pea roots (in Russian)", *Fiziol Rast (Moscow)*, vol. 33, pp. 165-170.
- Vigliano, L., K. Aboulfadl, A. D. Mahvelat, M. Prévost and S. Sauvé (2008), "On-line solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry to quantify pharmaceuticals, pesticides and some metabolites in wastewaters, drinking, and surface waters", *J Environ Monit*, vol. 10 (4), pp. 482-489.
- Weber, J. B., S. B. Weed and T. W. Waldrep (1974), "Effect of soil constituents on herbicide activity in modified soil field plots", *Weed Sci*, vol. 22 (5), pp. 454-463.
- West, S. D., L. T. Yeh, L. G. Turner, D. A. Schwedler, A. D. Thomas and D. O. Duebelbeis (2000), "Determination of spinosad and its metabolites in food and environmental matrices. 1. High-performance liquid chromatography with ultraviolet detection", *J Agric Food Chem*, vol. 48 (11), pp. 5131-5137.
- Whetten, R., and R. Sederoff (1995), "Lignin biosynthesis", *Plant Cell*, vol. 7, 1001-1013.
- Wilcut, J. M., G. R. Wehtje, M. G. Patterson, T. A. Cole and T. V. Hicks (1989), "Absorption, transformation and metabolism of foliar-applied chlorimuron in soybean (*Glycine max*), peanut (*Arachis hypogaea*) and selected weeds", *Weed Sci*, vol. 37, pp. 175-180.
- Wilson, L., T. Williamson, J. Gronowski, G. I. Gentile and J. M. Gentile (1994), "Characterization of 4-nitro-*o*-phenylenediamine activities by plant systems", *Mutation Res*, vol. 307 (1), pp. 185-193.
- Wu, J., J. Lu, C. Wilson, Y. Lin and H. Lu (2010), "Effective liquid-liquid extraction method for analysis of pyrethroid and phenylpyrazole pesticides in emulsion-prone surface water samples", *J Chromatogr A*, vol. 1217 (41), pp. 6327-6333.
- Yun, M. S., I. S. Shim and K. Usui (2001), "Involvement of cytochrome P-450 enzyme activity in the selectivity and safening action of pyrazosulfuron-ethyl", *Pest Manag Sci*, vol. 57 (3), pp. 283-288.
- Zaalishvili, G., G. Khatisashvili, D. Ugrekheldze, M. Gordeziani and G. Kvesitadze (2000a), "Plant potential for detoxification (review)", *Appl Biochem Microbiol*, vol. 36 (5), pp. 443-451.

Zaalishvili, G., E. Lomidze, O. Buadze, T. Sadunishvili, P. Tkheldze and G. Kvesitadze (2000b), "Electron microscopic investigation of benzidine effect on maize root tip cell ultrastructure, DNA synthesis and calcium homeostasis", *Int Biodeterior Biodegrad*, vol. 46 (2), pp. 133-140.

Niveles de plaguicidas organoclorados en niños de la comunidad de Pótam, Sonora y evaluación de posibles rutas de exposición

Raymundo Orduño Valenzuela, María Mercedes Meza Montenegro, Ana Isabel Valenzuela Quintanar, José de Jesús Balderas Cortés, Anacleto Félix Fuentes, Iram Mondaca Fernández, Patricia Grajeda Cota, Roberto Rodríguez Ramírez

Resumen

Debido a que la principal actividad económica de la región del sur de Sonora ha sido la agricultura, durante muchos años se han utilizado grandes cantidades de plaguicidas de manera irracional en los Valles del Yaqui y Mayo, por lo tanto ha existido una exposición ambiental, ocupacional y no ocupacional a estas sustancias, incrementando el riesgo a la salud de la población. En este escenario, fue necesaria la evaluación de la exposición de estas sustancias en poblaciones vulnerables y en el ambiente en que éstos han vivido. Varios reportes coincidieron en que, entre las principales rutas de exposición se encontraban la ingestión de alimentos contaminados, el suelo (en el caso específico de los niños), polvos suspendidos y la leche materna, esta última, donde se bioacumularon. La información sobre la exposición humana a diferentes sustancias químicas ha sido muy limitada y con relación a niños fue aún mas escasa. En la actualidad no se ha realizado ningún estudio sobre exposición a plaguicidas organoclorados en las comunidades de la etnia Yaqui. Es por esto que el objetivo del presente trabajo fue determinar los niveles de Plaguicidas Organoclorados (POCS), entre ellos: *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD,

α , β -endosulfán y lindano en suero sanguíneo de niños y muestras de suelo de la comunidad rural Yaqui de Pótam, evaluando también las rutas de exposición humana, además comparar los niveles de éstos compuestos con una población urbana de menor exposición (Cd. Obregón). Los resultados mostraron diferencia significativa entre ambas comunidades de exposición a lindano ($p=0.01$), p , p' -DDD ($p=0.02$) y α -endosulfán ($p=0.03$). La exposición a pp' -DDE y pp' -DDT fue similar ($p>0.05$). Las concentraciones encontradas en suelo estuvieron en el rango de N. D. (no detectado) hasta 36.60 $\mu\text{g}/\text{Kg}$., correspondiendo al DDT total ($\sum pp\text{-DDT}$, $pp\text{-DDE}$, $pp\text{-DDD}$) 93. 52% de esta concentración. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de pp' -DDE en sangre y el consumo de alimentos marinos. La contaminación con plaguicidas organoclorados en comunidades de la región evidenció la alta residualidad de los POCS en el ambiente y su biodisponibilidad a través de las diferentes rutas de exposición para la población.

Palabras clave: POCS, suero, niños, suelo, Pótam, Sonora,

Plaguicidas Organoclorados: situación en el Sur de Sonora

Los plaguicidas son sustancias o mezcla de sustancias, destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal (Badii y Landeros, 2007). La agricultura moderna dependió del uso de plaguicidas para producir frutas y vegetales inocuos a un costo razonable para los agricultores. Aproximadamente el 85% de los plaguicidas utilizados en el mundo se han destinado a la actividad agrícola (Villa y colaboradores, 2006). Con el descubrimiento de los plaguicidas organoclorados (POCS) en 1942, se incrementó exponencialmente la producción y uso de compuestos orgánicos sintéticos, y con el paso del tiempo se incrementaron los diferentes grupos químicos de plaguicidas, incluyendo organofosforados, carbamatos y piretroides (Raven y Berg, 2004). El incremento de los plaguicidas se acompañó del uso irracional. Produciendo diversos efectos adversos al medio ambiente y a la salud (Hernández y colaboradores, 2007).

En la actualidad se dispuso de múltiples reportes internacionales sobre los efectos de los plaguicidas en la salud, entre los que destacaron: daño neurotóxico (Roberts y colaboradores, 2007; Sagiv y colaboradores, 2008) daño genotóxico (Torres y López, 2007; Martínez y Gómez, 2007), efectos carcinogénicos (Xu y colaboradores, 2010; Ward y colaboradores, 2009), daños reproductivos (Bellingahm y colaboradores, 2009; Wang y colaboradores, 2009), además en los últimos años se ha establecido una relación positiva entre contaminantes organopersistentes, con diabetes (Codru y colaboradores, 2007; Rantakokko y colaboradores, 2009) y artritis reumatoide (Lee y

colaboradores, 2007). En México las investigaciones sobre los efectos a la salud en la población producidos por la exposición a plaguicidas no han sido suficientes, y con relación a niños ha sido muy escasa (Trejo-Acevedo y colaboradores, 2009).

El uso de plaguicidas en México inició en 1945, con la introducción del DDT para combatir vectores de paludismo, y en el cultivo de algodón principalmente, lo que generó su utilización extensiva en el país a partir de 1956. Si bien su utilización fue suspendida en el año 2000 por el Sector Salud, sustituyendo su empleo por piretroides, el DDT fue ampliamente utilizado por más de 40 años en campañas de salud y en la actividad agrícola (Herrera-Portugal y colaboradores, 2008). Según los datos disponibles, las regiones con mayor uso de plaguicidas han sido: Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco-Nayarit-Colima, Sonora-Baja-California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México y Puebla-Oaxaca. Se calcula que en éstas se aplica 80% de total de plaguicidas usados en el país, lo que comprobó que el uso de plaguicidas ha tenido una fuerte aplicación en algunas regiones y algunos cultivos en México (Albert, 2005).

El estado de Sonora se encuentra ubicado en el Noroeste de México y ocupa el segundo lugar en extensión entre todas las entidades federativas de la República con 184 mil Km² de extensión territorial. La principal actividad económica predominante de la región es la agricultura, y las principales zonas agrícolas más representativas son los Valles del Yaqui y Mayo, con 398 mil 437 Has., destinadas a los cultivos de trigo, maíz, cártamo, garbanzo y hortalizas principalmente (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2009). Durante muchos años se utilizaron grandes cantidades de plaguicidas de manera irracional, y debido a esto, existía una exposición ambiental ocupacional y no ocupacional a plaguicidas usados en el pasado como los POCS y, en el presente, a compuestos organofosforados, piretroides y carbamatos principalmente, incrementando con esto el riesgo a la salud de la población. De acuerdo con Rodríguez-Valle (2009), los ingredientes activos más utilizados de uso agrícola en los valles del Yaqui y Mayo, durante el periodo 2007-2008 fueron: paratión (122,000 Kg), dimetoato (42,000 Kg), Amina 6 (2,4-D) (34,600 Kg), metamidofós (21,200 Kg), metsulfurón (11,850 Kg) y endosulfán (8,790 Kg), evidenciando el predominio del uso de plaguicidas organofosforados y sólo endosulfán como plaguicida organoclorado, a pesar de ser de uso restringido. De acuerdo con datos del Instituto Tecnológico de Sonora con relación al Valle del Yaqui, en la región se ha estudiado la exposición a plaguicidas desde 1979 a la fecha, encontrando niveles en diferentes matrices: leche materna y pasteurizada, suero sanguíneo, agua, suelo y hortalizas. En este escenario, fue necesaria la evaluación constante de la exposición a plaguicidas en la población y en el ambiente en que viven. Diversas investigaciones indicaron que las potenciales rutas de exposición para sustancias organopersistentes fueron la ingestión e inhalación de suelo y

polvo, la ingestión de alimentos ricos en grasa, incluyendo la leche materna donde estas sustancias se bioacumulaban (Ward, y colaboradores, 2009; Pérez-Maldonado y colaboradores, 2010). El monitoreo biológico y ambiental en poblaciones susceptibles mediante el uso de biomarcadores ha sido un método muy valioso para la identificación de contaminantes críticos, como ha sido mostrado en los Estados Unidos con la Encuesta Nacional de Salud y Examen Nutricional (Trejo-Acevedo y colaboradores, 2009).

Debido a la necesidad de monitorear de forma constante la exposición a contaminantes, en la actualidad ha existido una creciente demanda de métodos analíticos óptimos para la preparación de muestras que permitieron determinar las concentraciones de microcontaminantes organopersistentes. Uno de los métodos más prometedores ha sido el de extracción por dispersión de matriz en fase sólida, que consistió en la homogeneización mecánica de la muestra con diferentes adsorbentes y que pudo ser aplicada a diferentes tipos de matrices como: alimentos, tejido animal, leche materna, agua y suelo (Valenzuela-Quintanar y colaboradores, 2006; Sjaak, y colaboradores, 2009).

La información existente sobre la exposición humana a diferentes sustancias químicas en nuestra región ha sido limitada, en la actualidad no ha existido ningún estudio sobre exposición a plaguicidas organoclorados en poblaciones vulnerables de la etnia Yaqui, ni se han evaluado las principales rutas de exposición a estos contaminantes, por lo que se realizó un biomonitoreo de los niveles de plaguicidas organoclorados en el suelo y en los niños de la comunidad de Pótam, como a continuación se describe.

Estudio de campo

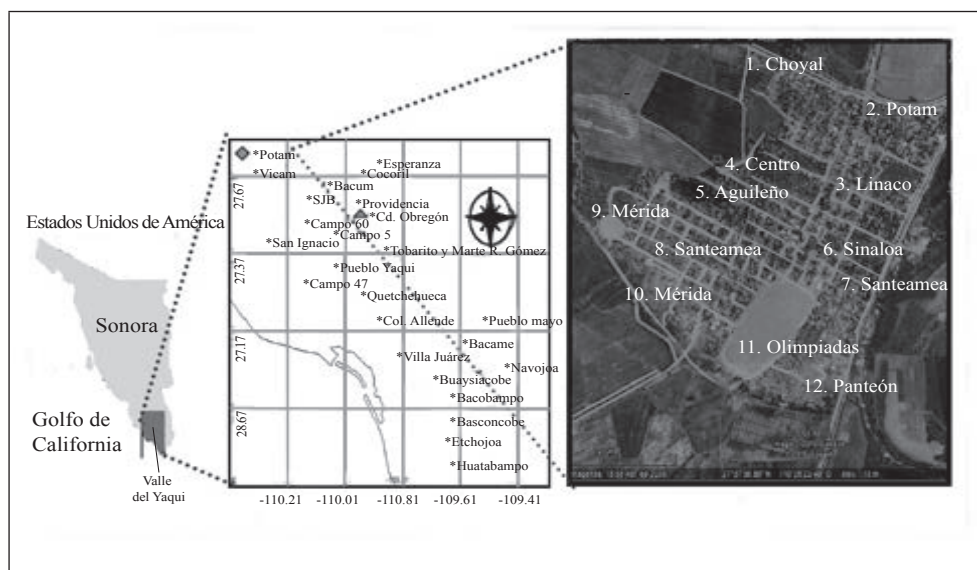
La comunidad rural de Pótam, que pertenece a la etnia Yaqui, se considera como una Comunidad de Alta Exposición (CAE) por tener como una de sus principales ocupaciones la actividad agrícola, además de los antecedentes históricos de aplicación de plaguicidas. Por otra parte, Ciudad Obregón es una Comunidad de Baja Exposición (CBE) debido a la ubicación geográfica en el Valle del Yaqui, relativamente alejada de las tierras de cultivo.

La participación de los sujetos de estudio fue voluntaria y el estudio fue aprobado por el comité de ética de la Instituto Tecnológico de Sonora. Se reclutaron 30 niños: 15 de Pótam y 15 de Cd. Obregón. En las escuelas públicas donde se tuvieron pláticas informativas para evaluar la elegibilidad de los participantes, de acuerdo a dos criterios de inclusión: edad entre 6 y 12 años y que tuvieran al menos cinco años de residencia en la comunidad, además de obtener de cada menor y de su padre o tutor

una forma de consentimiento informado aceptando participar en el estudio. Posteriormente, se aplicaron cuestionarios, para recabar información sociodemográfica de los participantes. Por último se obtuvieron muestras de sangre de los participantes, mismas que fueron tomadas por personal de la Secretaría de Salud, mediante punción venosa cubital, colectándose en tubos BD *Vacutainer* de 7 mL sin anticoagulante y fueron transportadas en hielo, aproximadamente 4 °C, al laboratorio para su análisis de POCS.

Debido a que el suelo y los polvos residenciales fueron una ruta importante de exposición a plaguicidas, se seleccionaron 12 sitios de muestreo en la comunidad de Pótam utilizando el programa *Google Earth* 2010, para después ser ubicados presencialmente en la comunidad utilizando un Sistema de Posición Global (GPS, modelo *Garmin Etrex*). La ubicación geográfica de los sitios de muestreo se presentaron en la figura 1. El muestreo se realizó de acuerdo a la NMX-AA-132-SC-FI-2006, colocando las muestras de suelo en bolsas de papel para su transporte al laboratorio de Toxicología Ambiental del Instituto Tecnológico de Sonora, siendo almacenadas a -20°C para su análisis de POCS.

Figura 1. Localización de las comunidades estudiadas y distribución de los sitios de muestreo de suelo en la comunidad de Pótam, Sonora



Fuente: elaboración propia.

La implementación de nuevos métodos de análisis de POCs a concentraciones traza incluyeron pasos como extracción y limpieza a partir de muestras complejas (aguas, fluidos biológicos, suelos, hortalizas, entre otros) y su posterior análisis por métodos cromatográficos. Generalmente, los plaguicidas a analizar se encontraban en concentraciones bajas y matrices muy complejas haciendo que el éxito dependiera del tratamiento que se dio a la muestra. La purificación no fue igual para los distintos plaguicidas, éstos pueden llevarse a cabo por partición con solventes y/o cromatografía en columna empacada con florisil, sílica gel alúmina o carbón activado. Entre los métodos de extracción más empleados se encontraban la Extracción Líquido-Líquido (ELL), Fluidos Supercríticos (FSC), en Fase Sólida (EFS) y la Dispersión de matriz en Fase Sólida (DMFS). El método de extracción del POCs dependió de la polaridad del plaguicida, así como a la naturaleza de la matriz.

La DMFS incluyó varias etapas en un sólo proceso, como la homogeneización, ruptura celular, extracción de la muestra, fraccionamiento y purificación del plaguicida. Entre las fases sólidas de extracción más empleadas en este método se encontraron; alúmina, octadecil (C_{18}), florisil y sílice. Las ventajas que proporcionó este método fueron la rapidez en la extracción, disminución del volumen de disolventes y de muestra, eliminación de otras etapas de extracción y problemas asociados con la formación de emulsiones, además de proporcionar resultados adecuados de exactitud y precisión (Valenzuela y colaboradores, 2006).

En este estudio las muestras de suelo se homogeneizaron y se tamizaron con una malla de acero inoxidable de 2 mm, para obtener una mezcla homogénea de acuerdo con lo descrito por Wang y colaboradores, (2009). La extracción de los POCs fue realizada utilizando la DMFS descrita por Valenzuela y colaboradores, 2006, con las siguientes modificaciones. Se pesaron 500 μg de suelo superficial mezclándose con óxido de aluminio inactivado a 900 °C por 12 hrs., y ajustado a 9% de humedad acorde a lo establecido en la NOM-021-ZOO-1995.

La extracción de POCs en sangre se llevó a cabo mediante extracción líquido-líquido descrito por Soliman y colaboradores (2003), realizado algunas modificaciones. Se utilizaron 300 μL de suero mezclándose con 4 mL de hexano, la mezcla se homogeneizó en vórtex y el sobrenadante se transfirió a un tubo limpio de 15 mL, éste paso se realizó por cuadruplicado.

La cromatografía de gases fue la técnica analítica más utilizada para realizar el análisis cualitativo y cuantitativo de POCs en todo tipo de muestras, y básicamente consistió en la separación de los compuestos de una mezcla entre dos fases. Una fase estacionaria y una fase móvil (gas de arrastre). Para este estudio la cuantificación de las muestras fueron analizados mediante un Cromatógrafo de Gases (CG) Agilent Technologies 7890A (*Network GC system*) equipado con un automuestreador 7683B

y un detector de microcaptura de electrones (μ ECD). Se utilizó una columna capilar DB-5 de 30 m x 0.25 m.m diámetro interno y 0.25 μ m de película (J&W Científico, Bellefonte, PA, USA) con un volumen de inyección de 1 μ L. La temperatura del inyector fue de 270 °C y la del detector fue de 340 °C, con una rampa de temperatura para el horno de 110 °C como temperatura inicial durante un minuto, seguido con un calentamiento de 15°C/min hasta llegar a 280 °C, y un flujo de helio de 2.3 ml/min.

Para tener la seguridad de reportar datos confiables fue muy importante realizar un control de calidad durante el muestreo, procesamiento y análisis de las muestras. Utilizando muestras blanco, análisis de muestras por duplicado, muestras fortificadas, estándares de referencia, para cumplir con los parámetros de precisión, y exactitud de los análisis químicos (Acuña, 2008). En el presente trabajo, la exactitud de nuestro método de análisis evaluado como porcentaje de recobro (% R), obtenido para las muestras utilizando el método de DMFS, estuvo en el rango de 91.2 a 105 por ciento. Una precisión con coeficientes de variación (% CV) de 2 a 9.6 %, y una linealidad adecuada para las curvas de calibración de cada uno de POCS utilizados en el estudio ($R^2 > 0.998$), parámetros que cumplieron con estándares internacionales (USDA, 1991).

En el cuadro 1 se describieron las características físicas, periodo de lactancia y consumo de alimentos de origen marino de los participantes. Aquí las comunidades estudiadas fueron comparables respecto al sexo, Índice de Masa Corporal (IMC) y Consumo de Alimentos Marinos (CAM). Sin embargo, la edad, el peso y talla presentaron diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), posiblemente debido al rango de edad de los niños incluidos en el estudio.

Cuadro 1. Comparación de las características de la población de estudio de las comunidades de Cd. Obregón (comunidad de menor exposición) y Pótam (comunidad de mayor exposición)

<i>Variable</i>	<i>Obregón</i>	<i>Pótam</i>	<i>p-value</i>
Edad (años)	8.60 \pm 1.72	10.80 \pm 0.41	0.0000
Peso (Kg)	31.13 \pm 5.82	40.44 \pm 7.20	0.0006
Talla (m)	1.32 \pm 0.10	1.45 \pm 0.04	0.0001
IMC (Kg/m ²)	17.88 \pm 2.99	19.10 \pm 2.90	0.2666
Lactancia (meses)	9.73 \pm 10.89	15.60 \pm 12.17	0.0982
Hombres	53.04%	60.00%	
Mujeres	46.66%	40.00%	
Consumo de alimentos marinos (días/semana)	0.86 \pm 0.681	1.15 \pm 1.06	0.3936

Fuente: elaboración propia. Valor promedio de 15 individuos y desviación estándar.

En el cuadro 2 se presentó el rango de concentraciones de los POCS (suma de los seis plaguicidas) encontradas en el suelo. Fueron desde ND (no detectado) a 96.62 µg/ Kg. Las concentraciones medias de cada uno de los plaguicidas organoclorados en el suelo de la comunidad de Pótam, Sonora, fueron de 0.45±0.12 µg/Kg para el lindano, 4.05±5.61 µg/Kg para el *p, p'*-DDT, detectándose ambos metabolitos en 91.70% de las muestras. La concentración del *p, p'*-DDE fue 23.14±3.77 µg/Kg y el *p, p'*-DDD de 7.03±4.36 µg/Kg, detectados en 100% de las muestras analizadas. Y, finalmente, las concentraciones del *α*-Endosulfán y *β*-Endosulfán fueron de 1.42 ±0.61 µg/Kg y 0.50±0.37 µg/Kg respectivamente, encontrados en 75 y 50% de las muestras analizadas. El total del contenido de lindano representó 1.23% de la suma de POCS, el contenido de endosulfán (equivale a la suma de *α* y *β* endosulfán) fue de 1.92 µg/Kg que representó 5.24% de la suma de POCS, mientras que el DDT total (suma de *p, p'*-DDE, *p, p'*-DDD y *p, p'*-DDT) fue de 34.22 µg/Kg que correspondía a 93.52 por ciento.

Cuadro 2. Niveles de plaguicidas organoclorados en suelo de la comunidad de Pótam, Sonora, comparadas con las especificaciones del MHSPE de Holanda

Nombre del compuesto	Concentración (µg/Kg de suelo)	Frecuencia (%)	Rango	CMP* (µg/Kg)	VI* (mg/Kg)
Lindano	0.45 ± 0.12	91.70 (11/12)	ND-0.57	230	1.2
<i>α</i> -Endosulfán	1.42 ± 0.61	75 (9/12)	ND-2.65	1.0	4.0
<i>β</i> -Endosulfán	0.50 ± 0.37	50 (6/12)	ND-0.85	14 (EPA)	NR
<i>γ</i> -Endosulfán	1.92 ± 0.98	5.24	ND-3.5	NE	NE
<i>p, p'</i> -DDD	7.03 ± 4.36	100 (12/12)	0.006-24.8	2.0	34.0
<i>p, p'</i> -DDE	23.14 ± 3.77	100 (12/12)	0.72-54.22	1.0	2.3
<i>p, p'</i> -DDT	4.05 ± 5.61	91.70 (11/12)	0.2-17.6	9.0	1.7
∑DDTs	34.22 ± 13.74	93.52	0.926-96.62	NE	NE

Fuente: elaboración propia. *Valores promedio y desviación estándar obtenidos de 12 muestras en los dos muestreos. CMP: Concentración Máxima Permisible; VI: Valor de Intervención (Ministry of Housing, Physical Planning and the Environment. Holanda, 2009).

Se encontró que el *α*-endosulfán excedió 0.4 veces, el *p,p'*-DDD 3.5 veces y el *p, p'*-DDE 22 veces respectivamente, la concentración máxima establecida para suelo especificada por el *Ministry of Housing, Physical Planning and the Environment de Holanda* (MHPPE, 2009). Fue importante mencionar que ninguno de los seis plaguicidas

investigados alcanzó las concentraciones establecidas como Valores de Intervención (IV) por la misma agencia ambiental, este valor representó la concentración a la que se debió de aplicar una tecnología de remediación al sitio contaminado. Cuando la concentración ambiental de una sustancia excede la Concentración Máxima Permitida (CMP), fue considerada un peligro de contaminación, derivado del riesgo ambiental (Linares, 2007; MHPPE, 2009).

Los niveles de endosulfán encontrados en las muestras de suelo, confirmaron lo reportado en el inventario de los plaguicidas más utilizados en el sur de Sonora en el periodo 2007-2008 por Rodríguez-Valle y colaboradores, (2009), en el que este compuesto se encontró entre los principales plaguicidas utilizados para fines agrícolas en la región y el único POC permitido actualmente para los cultivos agrícolas en el Valle del Yaqui. Estudios ambientales realizados en el año 2008 en localidades urbanas y rurales de los valles del Yaqui y Mayo en muestras de suelo, establecieron la presencia de aldrín (ND-938.5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), endosulfán (ND-124 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), *p*, *p'*-DDE (0.20-621.3 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), endrín (ND-377.4 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), *p*, *p'*-DDD (ND-197.3 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), *p*, *p'*-DDT (N-679.7 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), BHC (ND-938.5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), lindano (ND-13.9 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) y metoxicloro (ND-71.1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) (Acuña-García, 2008; Osorio-Rosas, 2008), comparando los valores reportados con los del presente estudio, los niveles encontrados en los suelos de la comunidad de Pótam, fueron mucho menores a las concentraciones medias reportadas para los valles del Yaqui y Mayo.

En otras regiones de México como Chiapas y Oaxaca se han encontrado valores de DDTs en suelos mucho más elevadas, con niveles de 26,690 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y 570 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ respectivamente. Aunque fue importante destacar que estas comunidades tienen un historial diferente sobre el uso de POCs, ya que son áreas endémicas de paludismo, donde se aplicaron grandes cantidades de DDT tanto en el interior como el exterior de las casas, desde 1946 hasta el año 2000 cuando fue prohibido su empleo para combatir vectores causantes de esta enfermedad (Herrera-Portugal y colaboradores, 2005). En otros países se han encontrado niveles de DDTs mayores a los encontrados en nuestro estudio, como los reportados en investigaciones realizadas en el sur de Estados Unidos (211 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), Beijing, China (109.89 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) y Uganda, África (95.45 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) (Bidleman y colaboradores, 2004).

Al considerar la presencia del DDT y sus metabolitos (DDD y DDE) la proporción de (*p*, *p'*-DDE + *p*, *p'*-DDD) / *p*, *p'*-DDT se ha utilizado como indicador de tiempo de residencia del *p*, *p'*-DDT en el ambiente (compuesto padre), porque los niveles de este compuesto podrían disminuir con el tiempo, metabolizándose principalmente a *p*, *p'*-DDE y *p*, *p'*-DDD, se ha considerado que un valor >1.0 indicó que la aplicación se realizó en el pasado y un valor < a 1.0 indicó una exposición relativamente reciente. En esta investigación al aplicar la relación explicada anteriormente (23.14

+7.03)/4.05 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ fue de 7.44 valor mayor a 1.0, que mostró que las concentraciones encontradas provienen de aplicaciones realizadas en el pasado en ésta comunidad. Cheng y colaboradores, (2008) obtuvo un valor de residualidad similar al determinar concentraciones de plaguicidas organoclorados en suelo urbano de la comunidad de Linfen, China, sin embargo, en este estudio la concentración reportada para la suma de DDTs (5.52 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) se encontró 6.2 veces por debajo a la encontrada en la comunidad de Pótam con un valor de 34.2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (cuadro 2).

En el cuadro 3 se mostraron los niveles en suero sanguíneo de POCs entre los niños de Pótam y los de Cd. Obregón. En ésta se observó diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de lindano en el suero sanguíneo de los niños de ambas comunidades ($p=0.01$). El 33.33% de los niños de la comunidad de Pótam presentaron un promedio de lindano en suero de $0.66 \pm 0.23\mu\text{g}/\text{L}$, mientras que en los niños de Cd. Obregón no se detectó la presencia de lindano. También se encontró diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de *p, p'*-DDD ($p=0.025$) de los niños de Pótam que estaban 2.3 veces más expuestos ($1.58 \pm 1 \mu\text{g}/\text{L}$) que los niños de Cd. Obregón ($0.67 \pm 0.00 \mu\text{g}/\text{L}$).

Cuadro 3. Niveles de Plaguicidas Organoclorados en suero sanguíneo de niños residentes de Pótam (Comunidad de alto riesgo) y de Cd. Obregón (Comunidad de bajo riesgo)

Nombre del compuesto	Pótam		Obregón	
	($\mu\text{g}/\text{L}$)	Rango	($\mu\text{g}/\text{L}$)	Rango
Lindano	$0.70 \pm 0.23^*$	ND-1.00	ND	ND
<i>p, p'</i> -DDD	$1.58 \pm 1.00^*$	ND-3.00	0.67 ± 0.00	ND-0.70
<i>p, p'</i> -DDE	1.10 ± 0.98	0.30-4.30	0.80 ± 0.60	ND-1.70
<i>p, p'</i> -DDT	0.80 ± 0.30	ND-1.30	0.70 ± 0.30	ND-1.00
Σ -DDTs	3.50 ± 2.30	ND-8.70	2.16 ± 0.82	ND-3.30
α -Endosulfán	$1.00 \pm 0.95^*$	ND-1.40	0.40 ± 0.22	ND-0.60
β -Endosulfán	0.50 ± 0.30	ND-1.30	0.50 ± 0.18	ND-0.70
γ -Endosulfán	1.50 ± 1.30	ND-2.80	0.90 ± 0.40	ND-1.30

Fuente: elaboración propia. (*) $p < 0.05$. ND: No detectado.

La exposición a α -endosulfán fue 2.4 veces mayor en los niños de la comunidad de Pótam ($0.99 \pm 0.94 \mu\text{g L}^{-1}$) que en los niños de Cd. Obregón ($0.40 \pm 0.22 \mu\text{g L}^{-1}$). En contraste con lo anterior, la exposición a *p,p'*-DDE fue estadísticamente similar

en ambas comunidades. Pótam ($1.13 \pm 0.98 \mu\text{g/L}$) y Cd. Obregón ($0.83 \pm 0.55 \mu\text{g/L}$), plaguicida encontrado en 100% de las muestras de Pótam y en 93.3 % de las muestras de Cd. Obregón; los niveles de *p, p'*-DDT en Pótam y Cd. Obregón fueron de $0.82 \pm 0.28 \mu\text{g/L}$ y $0.66 \pm 0.27 \mu\text{g/L}$ respectivamente, observando que los valores fueron similares. No se encontró diferencia significativa en los niveles de endosulfán ($p > 0.05$) los niños de Pótam reportaron niveles de $0.46 \pm 0.32 \mu\text{g/L}$ y en los de Cd. Obregón de $0.50 \pm 0.18 \mu\text{g/L}$.

Cantú-Soto y colaboradores, 2009, realizaron un estudio en niños de 6 a 12 años del Valle del Yaqui y Mayo, detectando *p, p'*-DDE en 100% de las muestras ($n=153$) en un rango de concentraciones de 0.5 a 10.3 $\mu\text{g/L}$ de suero, un rango de concentración de lindano de 0.25 a 1.0 $\mu\text{g/L}$ en 39.2% de las muestras y finalmente endosulfán en una concentración de 0.25 $\mu\text{g/L}$ en 3.9% de las muestras. Los niveles de exposición a POCS en la comunidad de Pótam son similares, excepto la exposición a endosulfán, cuyo nivel de concentración fue seis veces mayor a la concentración media para las comunidades del sur de Sonora.

Comparando los resultados obtenidos con lo reportado por Trejo-Acevedo y colaboradores (2009), en una investigación realizada en ocho comunidades del centro y sur de México, los niveles de *p, p'*-DDE estuvieron en el rango de (547.2-22,284 $\mu\text{g/L}$) valores que iban de cientos a miles de veces mayores a los niveles encontrados en la comunidad de Pótam y Cd. Obregón. Las concentraciones de DDT estuvieron en el rango de (58.0-613.3 $\mu\text{g/L}$), niveles que estaban de decenas a cientos de veces encima a los valores obtenidos en nuestro estudio y, finalmente, las concentraciones de lindano reportadas por estos investigadores estuvieron en el rango de (15.3-180.5 $\mu\text{g/L}$), encontrándose desde 23 hasta 273 veces por arriba de las concentraciones encontradas en nuestra zona de estudio.

Un estudio realizado en niños de 3 a 6 años de edad residentes de Estados Unidos reportó concentraciones de DDTS (suma de *p, p'*-DDE y DDT) en suero de $0.7 \pm 0.98 \mu\text{g/L}$ y de 0.044 $\mu\text{g/L}$ de lindano respectivamente (Sexton y colaboradores, 2006). Las concentraciones de lindano fueron de 5 y 15 veces menores a las encontradas en los niños de Pótam. No se encontró asociación entre las concentraciones en sangre del DDT, lindano y endosulfán, con las variables edad, tiempo de lactancia, frecuencia de consumo de alimentos marinos y niveles en suelo. Solamente se presentó asociación estadísticamente significativa entre los niveles de *p, p'*-DDE con el consumo de alimentos marinos, esto se confirmó con el modelo de regresión múltiple ajustado con las variables de tiempo de lactancia, Índice de Masa Corporal (IMC) y la edad presentado en la cuadro 4. Este modelo sólo logró explicar 21.93% la variación de los niveles de DDE en la sangre.

Cuadro 4. Asociación de los niveles de *p,p'*-DDE (µg/L) en suero sanguíneo con la frecuencia del consumo de alimentos marinos

<i>Variable</i>	$\beta \pm ES$	<i>P</i>
Consumo de alimentos marinos (día/semana)	0.29±0.17	0.09
Lactancia (meses)	0.01±0.01	0.34
IMC (Kg/m ²)	0.05±0.04	0.27
Edad	0.11±0.09	0.24

Fuente: elaboración propia. R²=0.2193; N= 29; ES: Error estándar.

Algunas investigaciones han establecido una relación positiva entre las concentraciones de DDT y DDE con la frecuencia de consumo de pescado. Herrera-Portugal y colaboradores (2005), logró asociar en un 70 y 67% la variación de los niveles de DDE y DDT en sangre respectivamente, en niños de 6 a 12 años de una comunidad altamente expuesta a plaguicidas de Chiapas y una comunidad de menos exposición de Oaxaca. En otra investigación realizada por el mismo autor en el año 2008 en niños de la misma edad en comunidades endémicas de paludismo encontró una relación del 67% para el DDE y 46% para el DDT, con el consumo de pescado y el incremento en los niveles en sangre de estos plaguicidas utilizando como covariables el tiempo de lactancia y la edad (Herrera-Portugal y colaboradores, 2008).

Los niveles de plaguicidas organoclorados detectados en ambas comunidades de nuestra investigación (Pótam y Cd. Obregón), pusieron de manifiesto su biodisponibilidad, persistencia y bioacumulación, así como el riesgo a la salud que pudieran producir en los niños de las dos comunidades ya que fueron más vulnerables que los adultos por su menor talla y peso, relativamente mayor ingestión de alimentos y agua e inhalación de aire, mayor contacto con el suelo y objetos, inmadurez metabólica y el proceso de rápido crecimiento y desarrollo. La capacidad infantil para metabolizar, excretar, activar o desactivar moléculas de plaguicidas es diferente a la del adulto (Faustman y colaboradores, 2000; Perry, 2003).

Conclusiones

Los seis plaguicidas organoclorados incluidos en este estudio fueron encontrados, tanto en la matriz de suelo, como en el suero de los niños, destacando la presencia del *p, p'*-DDT y sus metabolitos como los encontrados con más frecuencia, evidenciando la residualidad en el ambiente y su biodisponibilidad. En este escenario existe un mayor riesgo a la salud de la población debido a los diversos daños a los que

han sido asociados estas sustancias. La presencia de DDTs en el suelo superficial de las viviendas de comunidades rurales y urbanas se debió a su uso en el pasado, representando una importante fuente de exposición a POCS, ya que estos compuestos pudieron contaminar fuentes de agua superficial y subterránea, alimentos y pudieron ingresar a los organismos vivos a través de diferentes vías de exposición como la ingestión de alimentos ricos en grasas e inhalación de polvos, representando una importante ruta de exposición humana. Por lo anterior, es necesario continuar con el monitoreo biológico y ambiental de contaminantes en la región del sur de Sonora, con el objetivo de identificar las poblaciones con mayor riesgo, además de desarrollar estudios epidemiológicos en los que se busquen asociaciones de los contaminantes con diversas enfermedades, y se evalúe la exposición a través de los alimentos y los polvos respirables.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por SEP-PROMEP (2008) mediante la red: *Red Temática de Investigadores y Cuerpos Académicos para el Estudio de Contaminantes Emergentes y su Ecotoxicología*. A las autoridades y participantes de las comunidades bajo estudio que hicieron posible la realización de esta investigación.

Referencias

- Acuña-García, G. (2008), “Determinación de plaguicidas organoclorados en suelo de comunidades urbanas en el sur de Sonora”, tesis de Ingeniero Biotecnólogo, Dpto. de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México.
- Albert, L. (2005), “Panorama de los plaguicidas en México. 7o. Congreso de Actualización en Toxicología Clínica”, *Revista de Toxicología*, núm. 8, pp. 1-17, disponible en <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>.
- Badii, H. y J. Landeros (2007), “Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad”, *Rev. CULCyT/ Toxicología de plaguicidas*, vol. 4(19), 21-34.
- Bellingham M., P. Fowler M. Amezaga S. Rhind, C. Cotinot, B. Mandon-Penin, R. Sharpe y N. Evans (2009), “Exposure to complex Cocktail of Environmental Endocrine-Disrupting Compounds Disturbs the Kisspeptin/GPR54 System in Ovine Hypothalamus and Pituitary Gland”, *Environmental Health Perspective*, vol. 117 (10), pp. 1556-1552.

- Bidleman T. y A. Leone (2004), "Soil-air exchange of organochlorine pesticides in the Southern United States", *Environmental Pollution*, vol. 128, pp. 49-57.
- Cantú-Soto E., A. Valenzuela-Quintanar, R. Orduño-Valenzuela, C. Osorio-Rosas y M. Meza-Montenegro (2009), "Niveles de Plaguicidas Organoclorados en niños residentes de comunidades rurales y urbanas del Valle del Yaqui", simposio; la Situación de los Plaguicidas en México: impactos y perspectivas, Sonora. México, Universidad Autónoma del estado de Morelos.
- Cheng H., S. Fu, Y. Liu, D. Li, J. Zhou and X. Xia (2008), "Organochlorine pesticides in the soil in Linfen, China", *Bulletin Environmental contamination and Toxicology*, vol. 81, 599-603.
- Codru N., M. Schymura, S. Negoita, R. Rej and D. Carpenter (2007), "Diabetes in Relation to Serum Levels of Polychlorinated Biphenyls and Chlorinated Pesticides in Adult Native Americans", *Environmental Health Perspectives*, vol. 115 (10), pp. 1747-1752.
- Faustam E. (2000), "Mechanisms underlying Children's susceptibility to environmental toxicants", *Environmental Health Perspectives*, vol. 108 (S1), pp. 13-21
- Herrera-Portugal C., H. Ochoa, G. Franco, L. Yáñez and F. Díaz (2005), "Environmental pathways of exposure to DDT for children living in a malarious area of Chiapas, Mexico", *Journal Environmental Research*, vol. 99, pp. 158-163.
- Hernández M., C. Garcés, F. Jiménez y M. Arceo (2007), "Caracterización de las intoxicaciones agudas por plaguicidas: Perfil ocupacional y conductas de usos de agroquímicos en una zona agrícola del estado de México", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, México, vol. 23 (4), pp. 159-167.
- Herrera-Portugal C., G. Franco, V. Zelada, Y. Schlottfeldt, M. Rodríguez y H. Barrientos (2008), "Niveles de plaguicidas organoclorados (DDT y DDE) en niños de comunidades endémicas de paludismo en Chiapas", México, *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, vol. 4 (3), pp. 349-356.
- Lee D.H., M. Steffes D. Jacobs (2007), "Positive Associations of Serum Concentrations of Polychlorinated Biphenyls or Organochlorine Pesticides with Self-Reported Arthritis, Especially Rheumatoid Type in Woman", *Environmental Health Perspective*, 115 (6), pp. 883-888.
- Linares R. (2007), "Evaluación ambiental de pesticidas organoclorados en sedimentos de la laguna de Chantuto (Chiapas, México) y de la Bahía de Santander (Cantabria, España)", Departamento de Ingeniería Química y Química Orgánica, Universidad de Cantabria, España, memoria de tesis de Doctorado, disponible en <http://www.tesisenred.net/TDR-0215108-093751>.

- Martínez C. y S. Gómez (2007), “Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 23 (4), pp. 185-200.
- Ministry of Housing, Physical, Planning and the Environment (MHPPH) (2009), “Soil Remediation Circular”, Holanda, disponible en <http://www.vrom.nl/37765>.
- Osorio-Rosas C. (2008), “Determinación de plaguicidas organoclorados en suelo de comunidades rurales del Valle del Yaqui y Mayo Sonora”, México, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, Tesis licenciado en tecnología de alimentos.
- Pérez-Maldonado I., A. Trejo, C. Ruepert, R. Jovel, M. Méndez, M. Ferrari, E. Saballos-Sobalvarro, C. Alexander, L. Yañez-Estrada, D. López, S. Henao, E. Pinto y F. Díaz-Barriga (2010), “Assesment of DDT levels in selected environmental media and biological samples from Mexico and Central America”, *Chemosphere*, vol. 78, pp. 1224-1249.
- Perry M. (2003), “Children’s agricultural health: traumatic injuries and hazardous inorganic exposures”, *Rural Health Summer*, vol. 19 (3), pp. 269-78
- Raven P.H., y L. R. Berg (2004), *Environment*, E.U., John Willey & Sons, Inc.
- Rantakokko P., H. Kiviranta, R. Rylander, A. Hydbom y T. Vartiainen (2009), “A simple fast liquid-liquid extraction method for determination of 2,2',4, 4',5, 5'-hexachlorobiphenil (CB-153) and 1,1'.dichloro-2,2'-bis (o-chlorophenyl)-ethylene (p, p'-DDE) from human serum for epidemiological studies of type 2 diabetes”, *Journal of Cromatography A*, vol. 12 (16), pp. 807-901.
- Roberts E., P. English, J. Grether, G. Windham, L. Somberg and C. Wolff (2007), “Maternal Residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in California Central Valley”, *Environmental Health Perspectives*, vol. 15 (10), p. 1482.
- Rodríguez-Valle S. (2009), “Plaguicidas de uso agrícola más comercializados en e los Valles del Yaqui y Mayo, en el ciclo 2007-2008”, Instituto Tecnológico de Sonora, tesis de Ingeniero Biotecnólogo, pp. 47-54.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) (2009), *Agenda de Innovación Tecnológica*.
- Sjaak K., J. Hans-Gerd A. Udo Th. Brinkman (2009), “Modern Methods of Sample preparation for GC Analysis”, *Chromatographia*, vol. 69, pp. S33-S78.
- Sagiv S. J. Nugent, T. Brazelton, A. Choi, P. Tolbert, L. Altshul, y S. Korrick (2008), “Prenatal Organochlorine Exposure and Measures of Behavior in Infancy Using the Neonatal Behavioral Assesment Scale (NBAS)”, *Environmental Health Perspectives*, vol. 116 (5), pp. 666-673.

- Sexton K., J. L. Adgate, A. L. Fredrickson, A. Ryan, L. Needham y D. Ashley (2006), “Usin Biologic Markers in Blood to Asses Exposure Multiple Environmental Chemicals for Inner-City Children 3-6 Years Of Age”, *Environmental Health Perspectives*, vol. 114 (3), pp. 453-459.
- Soliman A., X. Wang, J. DiGiovanni, S. Eissa, M. Morad, S. Vulimiry, K. Mahgoub, D. Johnston, K. Do, I. Seifeldin, P. Bofetta y M. Bondy (2003), “Serum Organochlorine levels and history of location in Egypt”, *Envvironmental Research*, vol. 92, pp. 110-117.
- Torres L. y L. López (2007), “Efectos a la salud y exposición a p, p'-DDE y p, p'-DDT el caso México”, *Ciencia e Saúde Colectiva*, vol. 12(001), pp. 51-60.
- Trejo-Acevedo A., F. Díaz-Barriga, L. Carrizales, G. Domínguez, R. Costilla, I. Ize-Lema, M. Yarto-Ramírez, A. Gavilán-García, J. Mejía-Saavedra y I. Pérez-Maldonado (2009), “Exposure assessment of persistent organic pollutants and metals in Mexican children”, *Chremosphrere*, vol. 74, pp. 974-980.
- United States Department of Agriculture (USDA) (1991), *Analytical Chemistry Laboratory Guidebook. Residue Chemistry*, Science and Technology, FSIS.Washington, D.C.
- Valenzuela-Quintanar A., A. Armenta-Corral, E. Moreno-Villa, L. Gutiérrez-Coronado, P. Grajeda-Cota, C. Orantes-Arenas (2006), “Optimización y validación de un método de dispersión de matriz en fase sólida para la extracción de plaguicidas organofosforados en hortalizas”, *Revista de la Facultad de Agronomía, (LUZ)* vol. 23, pp. 464-474.
- Villa M., E. Flores, M. Badii, O. Brito, R. González, H. Herrera (2006), *Apuntes sobre los plaguicidas: un análisis de sus características, usos, impactos y situación en el Valle del Yaqui*, ITESCA, Sonora, México, pp. 11-15.
- Wang X., D. Wang, X. Quin y X. Xu (2008), “Residues of organochlorine pesticides in surface soils from college school yards in Beijing, China”, *Journal Of Environmental Sciences*, vol. 20, pp. 1090-1096.
- Wang R., R. Jain, A. Wolkin, C. Rubin y L. Needham (2009), “**Serum Concentrations of Selected Persistent Organic Pollutants on a Sample of Pregnant Femlaes and Their Concentrations during Gestation**”, *Environmental Research Perspectives*, vol. 117 (7), pp. 1244-1249.
- Ward M., J. Colt, C. Metayer, R. Gunier, J. Lubin, V. Crouse, M. Nishioka, P. Reynolds y P. Buffler (2009), “Residential Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides and Risk of Childhood Leukemia”, *Environmental Health Perspectives*, vol. 117 (6), pp. 1007-10013.

Xu X., A. Dailey, E. Talbott, V. Ilacqua, G. Kearney y N. Asal (2010), "Associations of Serum Concentrations of Organochlorine Pesticides with Breast Cancer and Prostate Cancer in U. S. Adults", *Environmental Health Perspectives*, vol. 118 (1), pp. 60-66.

El análisis de colinesterasa y paraoxonasa séricas para evaluar la exposición crónica a plaguicidas organofosforados

María de Lourdes Gutiérrez Coronado, Ana Isabel Valenzuela Quintanar, María Lourdes Aldana Madrid, Patricia Grajeda Cota, Rosa María Cabrera Pacheco, Martha Nydia Ballesteros Vázquez, María del Socorro Saucedo Tamayo, María Isabel Ortega Velez y Daniel Fierros Mendiola

Resumen

Los plaguicidas organofosforados (POFS) son ampliamente utilizados en la actualidad y su principal mecanismo de toxicidad está asociado a la inhibición de la actividad de la Colinesterasa (CS). La exposición a POFS se ha asociado con efectos adversos en diferentes órganos y sistemas. Para ejercer tales efectos, la mayoría de los POFS necesitan ser bioactivados, generando metabolitos conocidos como oxones y que son más tóxicos que los compuestos padre. Los oxones son los responsables de los efectos neurotóxicos al inhibir a la Colinesterasa. La Paraoxonasa (PON1) hidroliza los oxones contribuyendo a la destoxicación de los POFS y puede alterar la susceptibilidad de un individuo a la toxicidad de los mismos, por lo que la medición de la actividad de CS y PON1 en sangre son considerados como biomarcadores en individuos expuestos a POFS. La mayoría de las personas tiene un historial de exposición a los POFS, pero probablemente son los trabajadores agrícolas el grupo más altamente expuesto con alto riesgo de toxicidad aguda y crónica. La exposición a plaguicidas supone siempre un riesgo para la salud humana, por la posibilidad de que produzcan efectos negativos agudos, subagudos y crónicos. La determinación

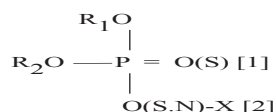
de la actividad de la colinesterasa y paraoxonasa séricas como biomarcadores de exposición es una prioridad desde el punto de vista de salud, así como de la competitividad de los productos hortofrutícolas sonorenses en los mercados internacionales, ya que éstos requieren de estándares de calidad e inocuidad alimentaria, incluyendo normas de protección humana y ambiental en la producción de alimentos.

Palabras clave: colinesterasa, paraoxonasa, plaguicidas organofosforados, jornaleros agrícolas.

Plaguicidas organofosforados

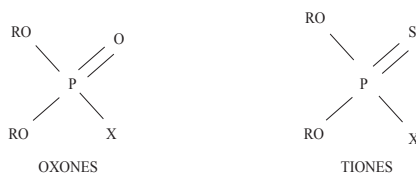
Los plaguicidas organofosforados (POFS), que han venido a sustituir a los plaguicidas organoclorados, han sido ampliamente utilizados alrededor del mundo, para incrementar la producción agrícola y para mejorar la salud pública. Los POFS constituyeron un grupo muy amplio de compuestos de síntesis, con un precedente en los gases de guerra, a menudo conocidos bajo el apelativo de ‘gases nerviosos’, entre los que se encontraban el sarín, tabún y somán, y que se desarrollaron de manera especial a partir de la Segunda Guerra Mundial (Alavanja y colaboradores, 2004).

Los POFS son ésteres, amidas o tioderivados del ácido fosfórico, fosfónico, fosfortioico o fosfonotioico. La fórmula estructural general de estos compuestos, que se caracterizan por la presencia de las tres funciones éster, es la siguiente:



En la que R_1 y R_2 son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo X es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un radical arilo, y suele contribuir de forma importante a sus propiedades físicas, químicas y biológicas. En función de los elementos concretos que ocupen determinadas posiciones en la molécula, los organofosforados se pueden dividir en 14 grupos. Los más importantes son: fosfatos, con un O en las posiciones [1] y [2]; *O*-fosfortioatos (o tionatos), con un S en [1] y un O en [2], *S*-fosfortioatos (o tiolatos), con un S en [2] y un O en [1]; fosforoditioatos (o tiolotionatos), con un S en [1] y en [2]; fosfonatos, con R_1 (en lugar de R_1O), o bien S en [1] y O en [2], y fosforoamidatos, con un O en [1] y un N en [2]. Cuando el átomo que se une al fósforo con el doble enlace es el oxígeno, el compuesto se denomina oxón y es un potente inhibidor de la Colinesterasa. Con el

oxígeno en esta posición, se favorece la hidrólisis del compuesto, especialmente bajo condiciones alcalinas. Para hacerlos más resistentes a la hidrólisis, se ha sustituido al oxígeno por un átomo de azufre. Estos compuestos son llamados tiones, y son pobres inhibidores de la colinesterasa. Pero tienen la característica de atravesar la membrana celular más rápidamente que los oxones. En el ambiente los tiones son convertidos en oxones por acción de la luz solar y el oxígeno. En el organismo son convertidos por acción de las enzimas microsomales del hígado.



Se trata de compuestos, en general, marcadamente apolares, lo que significa que desde el punto de vista químico la mayoría son escasamente solubles en agua, aunque con grandes diferencias de un compuesto a otro, y desde el punto de vista biológico tienden a disolverse en grasas. Por tal motivo, la piel, donde se encuentra una importante capa de tejido con elevado contenido en lípidos, puede constituirse en una importante vía de entrada. La estabilidad de los organofosforados depende del pH del medio; a pH fuertemente alcalino se descomponen, lo que puede ser utilizado para destruirlos.

Usos, propiedades y clasificación

Los POFS se utilizan como insecticidas, nematocidas, herbicidas, fungicidas, plastificantes y en la industria como fluidos hidráulicos e incluso son utilizados como armas químicas. Su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, son características que los posicionan en ventaja a los organoclorados, que son de baja degradabilidad y gran acumulación. Los POFS son liposolubles, propiedad que facilita su absorción al atravesar fácilmente las barreras biológicas como la piel y mucosas, también pueden penetrar al sistema nervioso central. Algunos productos pueden almacenarse en tejido graso lo que puede provocar toxicidad retardada debido a la liberación tardía. Presentan una mediana presión de vapor lo que hace que sean volátiles, facilitando la absorción inhalatoria y se hidrolizan en medio alcalino en tierra y en líquidos biológicos, no siendo persistentes en el ambiente.

Los POFS se clasifican en compuestos organofosforados no sistémicos o de contacto, estas sustancias deben ser lo suficientemente estables a las condiciones del medio ambiente y al mismo tiempo tener condiciones físicas adecuadas para ser absorbidas por los tejidos de los insectos que rodean la cutícula, recubrir el canal alimenticio o el sistema traqueal adyacente, y luego ser transportadas intactas hacia el sitio de acción de los tejidos susceptibles. Entre los compuestos de este tipo tenemos al clorpirifos. Y en compuestos organofosforados sistémicos, compuestos que frecuentemente son transformados en cantidades considerables dentro del organismo, ya sea en productos de descomposición menos tóxicos o productos metabólicos que también tienen propiedades insecticidas y acaricidas. Entre los principales compuestos de este tipo tenemos al metamidofos y al dimetoato (Levi y Hodgson, 1992).

Toxicocinética

Los POFS pueden ingresar al organismo por las tres vías clásicas: cutánea, respiratoria o digestiva.

Dérmica o cutánea

La absorción cutánea constituye la ruta común de penetración, así como la forma más frecuente de intoxicaciones laborales. Las propiedades liposolubles de estas sustancias y el tipo de disolvente que se emplea con el ingrediente activo, unidos a las frecuentes erupciones o lesiones cutáneas que suele presentar el individuo que las manipula, facilitan su penetración por esta vía.

La temperatura ambiental elevada es otro factor importante que contribuye a favorecer la absorción cutánea. La excreción de p-nitrofenol urinario en voluntarios, tras aplicación de la misma cantidad de paratión a la piel, ha demostrado que la absorción por vía dérmica aumenta con la temperatura, probablemente a consecuencia de un aumento de la circulación periférica en estas condiciones: La humedad relativa alta, que también la favorece, actúa de manera similar. Ambas condiciones se presentan en el estado de Sonora. La toxicidad real por vía dérmica depende de la rapidez con que el ingrediente activo sea capaz de alcanzar la circulación general y de la toxicidad inherente al propio producto. Algunos ingredientes activos se absorben escasamente por esta vía (menos del 1%), mientras otros atraviesan fácilmente la barrera dérmica y la absorción es prácticamente total. La absorción de la contaminación no eliminada de la piel (que implica un contacto prolongado y, por tanto, una

mayor facilidad del proceso), especialmente cuando el ingrediente activo está diez, cien o mil veces más concentrado que en la dilución final empleada en la aplicación (procesos de formulación, o manipulación del formulado concentrado), puede ser cuantitativamente muy elevada, frecuentemente conducente a intoxicaciones agudas.

La penetración de los plaguicidas a través de los trajes de protección (alcanzando la piel) es función del tipo de prenda utilizado, tiempo de contacto, ingrediente activo, tipo de formulado, tipo de fibra y tratamiento repelente que se le ha aplicado. Se ha demostrado que la exposición dérmica es muy superior a la exposición respiratoria durante la aplicación de los plaguicidas, dependiendo del sistema empleado y forma de realizarla, así como la exposición a los sólidos en comparación a los líquidos.

Inhalatoria o respiratoria

La absorción por vía inhalatoria se presenta cuando se trabaja durante su formulación, mezcla, aplicación o almacenamiento, o cuando se presentan incendios o derrames. Debe ser tomada especialmente en consideración cuando se trata de plaguicidas que se emplean en forma de aerosoles o cuyo ingrediente activo pasa fácilmente al estado de vapor o se trata de un gas. En general, la absorción por esta vía es muy elevada.

Oral o digestiva

El ingreso por vía oral ocurre mediante ingestión voluntaria o accidental, o por alimentos que hayan sido excesivamente expuestos a estos plaguicidas. La vía digestiva directa se suele considerar como accidental, por ingestión de una solución por error o con fines suicidas, o de alimentos directa o indirectamente contaminados. Deberá, por tanto, evitarse en todo momento el contacto de alimentos (y su almacenamiento) con tales productos, así como comer, beber o fumar durante su manipulación o sin lavarse previamente las manos y la cara. La vía digestiva debe considerarse como una vía “atípica” de entrada en el organismo, pero que puede implicar un riesgo importante cuando se utilizan frascos no adecuadamente etiquetados para contener los formulados o sus diluciones, o se consume tabaco, alimentos o bebidas en el puesto de trabajo.

La exposición ocupacional es más común por vía dérmica y pulmonar, y la ingestión es más común en casos de envenenamiento accidental o por suicidio. Se sabe que las vías inhalatoria y dérmica están muy estrechamente relacionadas con la ex-

posición en las distintas operaciones en que se pueden manipular los plaguicidas por parte de operarios con distintas actividades o de personas que accidentalmente pueden entrar en contacto con ellos sin manipularlos (Ponce y colaboradores, 2006).

Distribución

Una vez absorbidos, los organofosforados y sus metabolitos se distribuyen rápidamente por todo los órganos y tejidos, aunque las concentraciones más elevadas se alcanzan en el hígado y los riñones, antes de ser eliminados de manera prácticamente total por la orina y las heces. No obstante, los compuestos más lipofílicos pueden almacenarse en pequeña proporción en los tejidos grasos y el tejido nervioso, dada su riqueza en lípidos, de donde pueden ser posteriormente liberados.

Vías de Eliminación

La eliminación de los POFS es rápida y tiene lugar por la orina y, en menor cantidad, por heces y aire expirado. Su máxima excreción se alcanza a los dos días, luego disminuye rápidamente. En términos generales, entre el 75 y el 100 % de los organofosforados administrados por vía oral se transforma en compuestos solubles, entre los que se encuentran los alquilfosfatos. Todos estos compuestos resultantes al ser solubles en agua se eliminan por la orina y las heces, prolongándose su eliminación urinaria por un periodo que oscila entre las 24 y 48 horas tras la administración. Debe tenerse en cuenta, no obstante, que la absorción por vía dérmica puede ser más lenta, extenderse durante un periodo más largo y, en consecuencia, la eliminación prolongarse más allá del referido plazo, puesto que representa el resultado de la integración de todo el proceso de absorción.

Mecanismo de Acción

Los compuestos organofosforados inactivan a la enzima acetilcolinesterasa, mediante inhibición enzimática competitiva e irreversible, su mecanismo de acción se basa en la fosforilación de la enzima Colinesterasa en las terminaciones nerviosas, provocando inhibición de la misma. El átomo central de fósforo de estos compuestos organofosforados tiene una deficiencia de electrones y esta configuración favorece la

atracción hacia el sitio esteárico de la Colinesterasa que posee un excedente de electrones. El fósforo forma un enlace covalente con el grupo nucleofílico de la enzima.

Metabolismo o biotransformación

La transformación de los organofosforados se lleva a cabo a nivel hepático por procesos de hidrólisis, o por conjugación con glutatión y oxidasas. En algunos casos pueden producirse metabolitos más tóxicos.

El catabolismo de los organofosforados sigue las dos fases habituales de detoxificación de los xenobióticos en el organismo en general, las denominadas fase I y fase II. Paradójicamente, en ocasiones, el organofosforado requiere que se metabolice antes de convertirse en un compuesto biológicamente activo y, por tanto nocivo en el organismo. El metabolismo de estos compuestos transcurre principalmente en el hígado, y como resultado final de la transformación de la molécula se originan los “grupos salientes” que son característicos de cada organofosforado en particular (por acción de citocromos P-450), y un total de hasta ocho alquilfosfatos diferentes (por acción de las esterasas A), que son comunes para el conjunto de los organofosforados. De estos últimos, los seis más frecuentes son: el dimetilfosfato, dietilfosfato, dimetiltiofosfato, dietiltiofosfato, dimetilditiofosfato, dietilditiofosfato; el dimetilfosforotiolato, y el dietilfosforotiolato son menos frecuentes (Badii y Varela, 2008).

Patrón de exposición laboral a contaminantes

El patrón de exposición de un trabajador a un contaminante viene determinado por la concentración, el número de horas y la periodicidad de la misma. Se distinguen cuatro tipos de relaciones entre exposición y efecto, con base al número de exposiciones y al tiempo necesario para que los síntomas se vuelvan aparentes en el organismo: Toxicidad aguda, en la que el organismo se expone al tóxico en una sola ocasión y los síntomas aparecen de una forma inmediata o pocas horas después de la exposición. Toxicidad subaguda, en la que el organismo se expone en algunas ocasiones y los síntomas aparecen al cabo de la primera semana. Toxicidad crónica, en la que existe exposición al compuesto químico varias veces y los síntomas aparecen al cabo de un año. Y Toxicidad retardada, en la que el organismo se expone una sola vez o varias veces pero los síntomas tóxicos aparecen al cabo de años.

Si se considera el tiempo de residencia así como los antecedentes de la exposición laboral, la exposición puede clasificarse como exposición aguda, la que se refiere a

la exposición a una sustancia durante un período breve, pero a grandes concentraciones con aparición rápida de signos y síntomas. Es la exposición que ocurre durante un día o menos y tiene lugar en un sólo evento. Y como exposición crónica, subaguda y subcrónica: cuando la exposición se repite diariamente durante un periodo de tres o más meses (sin límite máximo) se dice que la exposición es crónica. Situaciones intermedias son la subaguda (hasta un mes) y subcrónica (menos de tres meses). Las concentraciones habitualmente son más bajas que en la exposición aguda.

Desde el punto de vista de toxicología ambiental la exposición crónica es la exposición que dura entre 10 y el 100% del período de la vida. Para el caso del ser humano entre 7 y 10 años y la exposición subcrónica es la exposición que dura durante el 10% del periodo vital.

La exposición a organofosforados (y plaguicidas en general), se caracteriza porque los patrones son relativamente fáciles de discernir para los trabajadores agrícolas, ya que tiende a ser continua y prolongada, de nivel muy constante, a uno o a una mezcla de compuestos, y, por tanto, fácil de reducir a límites aceptables, siempre que se adopten y apliquen de manera estricta las medidas de seguridad e higiene adecuadas. De no ser así, el riesgo de enfermedad de los trabajadores por exposición crónica a compuestos organofosforados puede ser muy elevada, ya que en las labores del campo se utilizan ingredientes activos con un grado de pureza próximo (o superior) a 95% y/o pueden entrar en contacto con importantes cantidades del producto ya formulado.

Por el contrario, la exposición de los trabajadores que utilizan estos productos, como manipuladores, formuladores y aplicadores, es de duración variable, intermitente, muy variable en cuanto al nivel, a numerosos compuestos diferentes (de manera sucesiva en el tiempo o simultáneamente por el uso de mezclas). Esto es que los usuarios están sometidos a una exposición intermitente, de intensidad variable y múltiple, por lo que el término de exposición crónica no se puede aplicar en su sentido habitual.

El personal no usuario de los plaguicidas, al que se considera como población con riesgo potencial, puede estar sometido a exposiciones agudas repetidas cada vez que se realiza un tratamiento, sobre todo en los “tratamientos programados”, de carácter “preventivo”, sin diagnóstico de la existencia de una plaga, de no seguir un protocolo escrupuloso, o no respetando estrictamente el plazo de seguridad. Según la permanencia del ingrediente activo en la zona tratada, que dependerá de su estabilidad, frecuencia de los tratamientos y grado de contacto con esos productos, la exposición de este personal puede ser subaguda, subcrónica o crónica (Gomes y colaboradores, 1999; Nava y colaboradores, 2009; Soares y colaboradores, 2003).

Efectos de los plaguicidas a la salud

La exposición a plaguicidas supone siempre un riesgo para la salud de las personas, por la posibilidad de que produzcan efectos o acciones perjudiciales. Los efectos negativos que producen pueden ser agudos, subagudos y crónicos (Alavanja y colaboradores, 2004).

Efectos agudos o daños que pueden producir a corto plazo

Lesiones en las “puertas de entrada”, son las producidas por algunos plaguicidas en las partes del organismo humano por las que penetran. Si el contacto es a través de la piel: irritaciones de la piel y quemaduras. Si el contacto es a través de las mucosas: en ojos puede provocar conjuntivitis, en nariz rinitis, en vías respiratorias laringitis y bronquitis, en vías digestivas esofagitis y gastritis.

Una vez que han penetrado, los plaguicidas llegan a la sangre y se distribuyen por todo el organismo afectando especialmente al sistema nervioso. Después algunos plaguicidas (carbamatos, organofosforados) son eliminados con bastante rapidez, mientras que otros (organoclorados) pueden quedarse durante años, acumulados en la grasa.

Intoxicaciones agudas

El caso del trabajador que durante la aplicación se moja con el producto, continúa trabajando y al poco tiempo se encuentra mal, ha sufrido una intoxicación aguda.

Efectos subagudos o daños que pueden producir a medio plazo

Intoxicaciones subagudas

Al riesgo de sufrir estos dos tipos de intoxicaciones, se encuentran sometidos en primer lugar los manipuladores profesionales de plaguicidas y los trabajadores agrícolas que utilizan con frecuencia estos productos, y en menor medida los consumidores de productos tratados en los que queden residuos.

Efectos crónicos o daños que pueden producir a largo plazo

Intoxicaciones crónicas

La toxicidad crónica y, en general, los efectos a largo plazo pueden convertirse en problemas importantes para la salud de los trabajadores agrícolas, al ser cada vez más frecuentes los contactos con plaguicidas y productos químicos en general. El tiempo que se está expuesto a ellos también va en aumento, y sus efectos pueden ir acumulándose.

Cáncer y otros

Los cánceres y otros graves efectos nerulógicos, endócrinos e inmunológicos, están relacionados en ciertas investigaciones con la exposición laboral a algunas de estos plaguicidas en especial a los organoclorados.

Factores que afectan a la toxicidad

La magnitud de la respuesta tóxica en un organismo determinado depende de la exposición (dosis, tiempo, ruta y vía de exposición) y de factores relacionados con las características del organismo expuesto, del medio ambiente y de la sustancia misma. Entre los factores relacionados con el organismo receptor que tienen influencia sobre la toxicidad de una sustancia se encuentran los genéticos (especie, cepa, sexo, individuo) y fisiológicos (embarazo, edad, estado nutricio, estado hormonal, estado de salud) (Jaga y Dharmani, 2003; Richter y colaboradores, 1992).

Biomarcadores

La utilización de plaguicidas conlleva inevitablemente a la exposición a pequeñas cantidades de los mismos que pueden oscilar desde niveles indetectables hasta otros fácilmente medibles utilizando determinaciones analíticas sensibles de fácil disponibilidad. El que este tipo de exposiciones sea de mayor o menor importancia biológica depende de la duración de la exposición, dosis y reactividad biológica. En este sentido, diferentes estudios han establecido la necesidad de practicar y desarrollar técnicas de monitorización biológica para evaluar la exposición y predecir los riesgos sanitarios de los trabajadores ocupacionalmente expuestos a plaguicidas (Krieger y colaboradores, 1992).

Definición

El indicador biológico de exposición humana comprende cualquier sustancia o subproducto de biotransformación, así como cualquier alteración bioquímica precoz, cuya determinación en los fluidos biológicos, los tejidos o el aire exhalado evalúe la intensidad de la exposición al agente químico contaminante ambiental u ocupacional. También se definen como cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos que se producen en un sistema biológico. Ese hecho se interpreta después como reflejo o marcador de la exposición a un tóxico (Anwar, 1997).

Características

Los biomarcadores más útiles son los que se pueden obtener de la forma menos invasiva, por eso se prefieren los que se encuentran en la sangre. Entre las principales características de un biomarcador se encuentran: **Especificidad para un xenobiótico determinado**, métodos sensibles para su análisis, detectable en muestras disponibles con facilidad, ej: orina, sangre, pelo, aire expirado y bajo costo de la técnica de determinación.

Clasificación

Los marcadores biológicos se clasifican, por lo general, en tres tipos: biomarcadores de la exposición, del efecto y de la susceptibilidad.

Marcadores de la exposición

Puede ser un compuesto exógeno (o un metabolito) que se introduce en el cuerpo, un producto interactivo entre el compuesto (o metabolito) y un componente endógeno, o cualquier otro hecho relacionado con la exposición. Comprende:

Marcadores del efecto

Pueden ser componentes endógenos o medidas de la capacidad funcional, o cualquier otro indicador del estado del cuerpo o de un sistema orgánico afectado por la exposición.

Marcadores de susceptibilidad

Se usan para identificar a los individuos más susceptibles a daños en una población. Ej: la actividad *N-Acetiltransferasa* (NAT). Los individuos con una alta actividad NAT tienen mayor riesgo si son expuestos a xenobióticos que son bioactivados por NAT (como el *2-aminofluoreno*) (Gomez Vidal, 2000).

Exposición laboral y biomarcadores

La exposición laboral crónica a POFS conlleva a la evaluación de la toxicidad por medio de biomarcadores. Según los protocolos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la monitorización biológica debe de incluir, entre otros, la determinación de la actividad de acetilcolinesterasa y de paraoxonasa séricas (Akgur y colaboradores, 1999).

Colinesterasas

La acetilcolina es un mediador del impulso nervioso y las enzimas que producen su hidrólisis y la de otros ésteres de la colina se llaman colinesterasas. La colinesterasa eritrocitaria (CE), también conocida como verdadera, específica o de tipo *e*, se encuentra exclusivamente en las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos. La Colinesterasa plasmática (CS), también conocida como sérica, pseudocolinesterasa, colinesterasa inespecífica, butirilcolinesterasa, o de tipo *s*, está presente en casi todos los tejidos (principalmente en hígado) y en el plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico. Y la Colinesterasa en sangre total, que es el resultado de la actividad combinada de ambas enzimas (Li y colaboradores, 2005). El nivel de Colinesterasa en sangre varía por la exposición a plaguicidas. Un nivel anormalmente bajo de colinesterasa es un biomarcador de la exposición a plaguicidas organofosforados. Para los plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, es difícil contar con un indicador biológico de exposición basado en su determinación en sangre, pues tales indicadores se hidrolizan rápidamente. La medición de sus productos de biotransformación en orina tiene limitaciones, y su análisis aislado no evalúa la magnitud de la exposición. La medición de la Colinesterasa en eritrocitos o en sangre total y la butirilcolinesterasa en plasma o suero son los biomarcadores desarrollados para evaluar la exposición a POFS y también a carbamatos, ya que representan el blanco molecular

de la toxicidad de estos plaguicidas. Cuando la enzima es bloqueada no participa en la hidrólisis de la acetilcolina, con la consecuente acumulación del neurotransmisor, produciendo efectos tóxicos que involucran los sistemas parasimpático, simpático, motor y nervioso central (Anwar, 1997). Aunque frecuentemente los POFS ejercen su efecto inhibitorio sobre la acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas, clínicamente se monitorea la Colinesterasa plasmática o sérica debido a que su concentración es mucho mayor y los cambios en sus niveles son fácilmente detectables por las técnicas de laboratorio. En la práctica, se realiza una monitorización indirecta del efecto de la exposición a través de la determinación de la actividad de la colinesterasa plasmática o sérica (Pineda, 2007). Conviene resaltar que, si bien los distintos organofosforados inhiben las colinesterasas neural, eritrocitaria y plasmática en diferente medida y según diferentes patrones temporales, estas determinaciones proporcionan una valiosa información de su absorción por parte de las personas expuestas. Esta es la razón por la que la OMS y organismos de distintos países, como la *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) de Estados Unidos o la *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (DFG) de la República Federal de Alemania han establecido valores límite biológicos, la mayoría para la inhibición de la colinesterasa eritrocitaria en relación al valor basal de cada individuo, por dos motivos principales: 1º) La CE es bioquímicamente idéntica a la neural y, por tanto, tiende a ser más representativa de la acción que puedan ejercer los organofosforados en el sistema nervioso, aunque su ubicación histológica es totalmente distinta. 2º) La CS se inhibe por muchas otras causas, además de la exposición a los organofosforados, y algunos individuos tienen niveles bajos determinados genéticamente. Específicamente, para los plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, que continúan siendo responsables de un alto número de intoxicaciones, la determinación de esta enzima se emplea como uno de los mejores indicadores biológicos de efecto en la exposición aguda o crónica. Para la exposición prolongada en bajas dosis se recomienda medir la enzima eritrocitaria, mientras que para la exposición aguda se prefiere la medición de la enzima plasmática.

Límites biológicos

La ACGIH estableció como índice de exposición biológica el 30 % de inhibición de la actividad colinesterásica eritrocitaria, respecto del valor basal individual. La justificación de esta cifra hay que buscarla en el hecho de que cuando este descenso de la actividad colinesterásica eritrocitaria tiene lugar de manera no súbita, sino con cierta lentitud, no se presentan manifestaciones clínicas. La OMS tiene establecido, como

nivel de acción, el 70 % de la actividad colinesterásica eritrocitaria basal, para los trabajadores expuestos a organofosforados. Cifra que, por complementariedad, equivale al 30 % de inhibición.

Cuando el organismo responde a la exposición a un organofosforado con un descenso rápido de la actividad, dicho valor (30 % de inhibición) puede no tener suficiente eficacia preventiva en la exposición crónica, puesto que normalmente no se sabe con qué velocidad se produce tal descenso, ni en qué grado se ha producido en un momento determinado, a menos que se lleve a cabo un seguimiento exhaustivo de los trabajadores expuestos.

La recuperación de la actividad colinesterásica eritrocitaria tiene lugar a un ritmo del 1% /día, a medida que los eritrocitos pasan a la sangre periférica. La de la Colinesterasa plasmática es algo más rápida (1.52 % /día) por síntesis hepática de nueva enzima. Por tal motivo, tras una exposición intensa con una inhibición de las colinesterasas cercana al 80%, la recuperación de la actividad puede requerir varios meses. La colinesterasa plasmática, en ese sentido, se ha mostrado de gran utilidad en las exposiciones agudas, ya que responde con mayor rapidez que la eritrocitaria, aparte de que hay organofosforados que sólo actúan sobre aquella y no sobre ésta.

Por todas estas razones, el *California Department of Health Services*, en sus *Guidelines for Physicians* tiene establecidas unas líneas de acción relacionadas con los trabajadores agrícolas que se basan en los resultados de la colinesterasa plasmática y de la eritrocitaria a la vez: 1º Cuando la actividad colinesterásica plasmática o eritrocitaria desciende a 80 % de la línea de base: se le envía un informe especial al empresario. 2º El nivel de la actividad plasmática desciende por debajo del 60% de la línea de base, o la eritrocitaria cae por debajo del 70 % de la línea de base: separar al trabajador de la exposición. 3º El trabajador debe permanecer apartado de su actividad hasta que la colinesterasa plasmática y la eritrocitaria retornen a 80% del valor de la línea de base.

Un aspecto crítico del control biológico de los trabajadores expuestos a organofosforados mediante la determinación de la inhibición de la colinesterasa (bien sea eritrocitaria, plasmática o total), es disponer del valor medio de la línea de base sin exposición, el valor basal individual de la colinesterasa, la actividad colinesterásica promedio del sujeto sometido a control cuando no está expuesto, para ser utilizado como valor de comparación de su propia colinesterasa en cualquier momento durante el periodo de exposición. La forma concreta de establecer esta línea de base depende de la colinesterasa a determinar, eritrocitaria, plasmática o total (Nava, 2003).

Para establecer los valores de actividad de la Colinesterasa basal de cada individuo, la ACGIH recomienda tomar dos o tres muestras, a intervalos de tres días como mínimo antes de que la exposición se inicie o tras un periodo mínimo de 30 días sin

exposición. Las dos primeras muestras deberían discrepar entre sí menos del 20%, de lo contrario se requiere la tercera. En este sentido, en trabajadores no expuestos, se estima que entre dos muestras sucesivas puede haber diferencias de 13 a 25% en la actividad eritrocitaria y del 20 a 23% en la plasmática. El *Health and Safety Executive* del Reino Unido, por su parte, en su guía establece que el periodo mínimo sin exposición con el fin de determinar el valor basal es de 60 días.

Exposición aguda y crónica

La confirmación analítica de la intoxicación aguda por organofosforados o carbamatos se realiza determinando las actividades colinesterasa sérica y eritrocitaria, que están controladas por diferentes mecanismos fisiológicos. Por tanto, un descenso de ambas constituye un buen indicador de exposición a organofosforados, mucho más plausible que cualquier otra causa, incluida la variación fisiológica. En una intoxicación aguda por estos compuestos, la secuencia característica sería primero un descenso de la CS, después un descenso de CS y de CE y, finalmente, una CS normal y CE aún descendida (Gallo & Lawryk, 1991). Ello encuentra su justificación en base a su diferente sensibilidad a los organofosforados, así como en su diferente velocidad de regeneración. Los síntomas clínicos aparecen cuando se inhiben más de un 50%. En las intoxicaciones moderadas la actividad baja hasta un 10-20% de los valores basales, mientras que en las intoxicaciones graves la actividad siempre es inferior al 10% de los mismos. El descenso de la CS tras la exposición a organofosforados persiste de 1 a 3 semanas, mientras que el de la CE puede durar hasta 12 semanas. El momento en el que el individuo puede regresar a su trabajo es cuando se alcanza una meseta en la recuperación de la actividad enzimática (Goldfrank y colaboradores, 1990).

La situación es completamente distinta en el caso de la exposición crónica, en el que la interpretación de los resultados no es nada fácil. Una CS normal no excluye la intoxicación por organofosforados o carbamatos, pues existe una gran variabilidad individual. Las personas no expuestas a inhibidores de la colinesterasa presentan normalmente variaciones individuales de la actividad Colinesterasa, debido a factores genéticos, ambientales y fisiopatológicos. Esta fluctuación es del orden del 15%, aunque algunos autores la estiman más alta y diferente para la CS y CE. Igualmente existen importantes variaciones de la actividad enzimática en distintas personas de una misma comunidad, es decir, variaciones interindividuales. La Colinesterasa de elección es la CE ya que refleja mejor el estado de las sinapsis colinérgicas (es decir, es más específica), aunque técnicamente es algo más complicado de hacer debido a la dificultad para su automatización (Hernández y colaboradores, 2006). En la exposición

crónica casi tan importante como el grado de inhibición de la colinesterasa es la rapidez a la que ocurre. Así, pequeñas exposiciones, pero continuas pueden disminuir gradualmente las actividades colinesterasa hasta niveles muy bajos y con escasa sintomatología. Por el contrario, también se han observado signos clínicos de toxicidad en individuos expuestos a plaguicidas anticolinesterásicos con niveles “no adversos” de CE o de CS. Por tanto, la actividad colinesterasa no se correlaciona del todo bien con las manifestaciones clínicas por lo que en cada caso hay que valorar la historia de la exposición y los síntomas y signos clínicos de toxicidad independientemente del valor de la actividad colinesterasa (Hernández y colaboradores, 2006).

Paraoxonasa (PON1) y susceptibilidad a organofosforados

La paraoxonasa es una enzima polimórfica que protege contra la exposición a POFS, ya que cataliza la hidrólisis de los ésteres de los POFS a compuestos excretables menos dañinos, tal como el paraoxón, (un metabolito de degradación del paratión) y del que se deriva su nombre. La PON1 es una enzima sintetizada en el hígado y posteriormente secretada al plasma donde se asocia a las partículas HDL. Inicialmente su interés se centró en su capacidad de hidrolizar los compuestos organofosforados y posteriormente, en la década de los noventa se descubrió su implicación en el metabolismo lipídico, pues era capaz de destruir lípidos oxidados, por lo que pudo desempeñar un papel importante en las primeras fases de la patogenia de la aterosclerosis, por lo que alcanzó un gran protagonismo como factor de riesgo/protector en la enfermedad cardiovascular (Mackness y colaboradores, 1991).

La PON1 jugó un rol principal en la susceptibilidad a la toxicidad a POFS y los individuos con actividad baja de paraoxonasa estaban más predispuestos a desarrollar los síntomas de la intoxicación (Patel y colaboradores, 2007).

Los primeros estudios poblacionales revelaron una distribución trimodal de la actividad utilizando paraoxón como sustrato, lo que permitía dividir a la población en tres fenotipos en función de la mayor o menor tasa de hidrólisis de paraoxón: los de actividad baja, intermedia y alta (Geldmacher-von Mallinckrodt y Diepgen, 1988).

Polimorfismo PON1 y exposición crónica a plaguicidas

Lee y colaboradores (2003), observaron que agricultores portadores del alelo Q de PON1 (genotipos QQ o QR) tenían casi tres veces más probabilidad de presentar sintomatología relacionada con la exposición crónica a plaguicidas con respecto a los

agricultores con genotipo RR. El polimorfismo PON1 parece ser también un importante determinante de la susceptibilidad de los agricultores a la intoxicación crónica por plaguicidas. Browne y colaboradores (2006), estudiaron trabajadores con exposición subliminal a organofosforados y encontraron un descenso significativo de la CE y un aumento compensatorio de la paraoxonasa como consecuencia de dicha exposición. Según estos autores, los niveles séricos de estas enzimas fueron el resultado de una compleja interacción entre factores genéticos (genotipos) y ambientales (exposición a agentes químicos) y que el locus CE/PON1 fue determinante de la susceptibilidad innata a los organofosforados. En estudios bioquímicos realizados en agricultores de invernadero del sureste de España, se ha observado que la utilización de organofosforados determinó una menor actividad paraoxonasa en aplicadores de plaguicidas y ello independientemente de los polimorfismos genéticos de PON1 y de otros posibles factores de confusión (Hernández y colaboradores, 2006). Ello indicó que la PON1 no fue sólo un biomarcador de susceptibilidad a organofosforados, sino también un biomarcador de exposición, pues los agricultores de invernadero que usaron plaguicidas de forma regular tenían una actividad enzimática significativamente más baja. Este hallazgo fue consistente con lo observado en intoxicaciones agudas por organofosforados, en las que se produjo un descenso de hasta un 30% en la actividad paraoxonasa que posteriormente se recuperó a lo largo de varias semanas. Un hallazgo muy interesante fue que los individuos portadores del alelo PON1 192 R (metabolizadores rápidos) tenían aproximadamente cinco veces más riesgo de inhibir la CS más de un 25% con respecto a los que presentaron el genotipo QQ, lo que sugirió que el polimorfismo PON1 se asoció a una mayor susceptibilidad a plaguicidas *anticolinesterásicos*19. También se ha observado que los portadores del alelo PON1 192 R (esto es, los genotipos RR y QR) tenían aproximadamente cuatro veces menos riesgo de haber presentado una intoxicación aguda por plaguicidas. Esto concordo con el hecho de que la mayoría de casos de intoxicaciones agudas por organofosforados descritas por Sözmen y colaboradores (2002), se producían en individuos con el genotipo PON1 192 QQ. Surgió la hipótesis de que la actividad PON1 pudo afectarse por otros grupos de plaguicidas, además de los organofosforados, probablemente porque muchos de ellos (carbamatos, piretroides y organoclorados) generaron estrés oxidativo que pudo atacar al grupo tiólico libre de la PON1, imprescindible para su actividad catalítica. Estos resultados apoyaron la utilidad de estudiar la PON1 e inferir su genotipo funcional en individuos con exposición ocupacional a plaguicidas. Por tanto, debería incluirse en el protocolo de vigilancia de la salud de trabajadores expuestos a estos agentes. Son necesarios más estudios para determinar si la PON1 puede ser también un biomarcador útil no sólo para los trabajadores, sino también para la población general con exposición basal (ambiental o a través de la dieta) a

plaguicidas, así como a otros agentes químicos, como por ejemplo metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos.

La exposición a POFS también pudo ser monitoreada por la presencia de metabolitos en orina, los alquilfosfatos, ya que esta molécula fue siempre de origen exógeno. El costo de la determinación y la demora en la obtención del resultado no presentó ventajas comparativas sobre la determinación clásica de Colinesterasa en plasma o suero.

Jornaleros agrícolas y competitividad de productos hortofrutícolas

La actividad agrícola de Sonora, ha sido de las más desarrolladas en México, destinando una superficie de 710 mil hectáreas al cultivo de diversos productos. Esta actividad se caracterizó por sus elevados índices de calidad y productividad, sistemas modernos de riego, tecnología adecuada y una eficiente sanidad vegetal, que la ha llevado a posicionar algunos de sus productos en los mercados internacionales, de EE.UU, Europa y Asia (Quintero-Soto y Reyes-Martínez, 2009). Aunque es necesario conocer la exposición que tiene la comunidad en general por la aplicación no controlada o la eliminación inadecuada de los plaguicidas, el principal problema lo constituyen los jornaleros agrícolas. Los jornaleros que trabajan en los campos del estado de Sonora, son en su gran mayoría migrantes, y se considera un grupo nutricional, cultural, social, política y económicamente desprotegido. Su alta y constante exposición a plaguicidas químicos lo convierte en un grupo vulnerable. La determinación de la actividad de la Colinesterasa y paraoxonasa séricas como biomarcadores de exposición es una prioridad desde el punto de vista de salud, así como de la competitividad de los productos hortofrutícolas sonorenses en los mercados internacionales, ya que éstos requieren de estándares de calidad e inocuidad alimentaria, incluyendo normas de protección humana y ambiental en la producción de alimentos.

Referencias

Akgur, S., P. Ozturk, E. Sozmen, Y. Delen, T. Tanyalcin and B. Ege (1999), "Paraoxonase and acetylcholinesterase activities in humans exposed to organophosphorous compounds". *Journal of Toxicology and Environmental Health part A*, vol. 58 (8), pp. 469-474.

- Alavanja, M. C. R., J. A. Hoppin and F. Kamel (2004), "Health Effects of Chronic Pesticide Exposure: Cancer and Neurotoxicity*3", *Annual Review of Public Health*, vol. 25, pp. 155-197.
- Anwar, W. A. (1997), "Biomarkers of human exposure to pesticides", *Environmental Health Perspectives*, vol. 105 (Suppl 4), p. 801.
- Badii, M. H., and S. Varela (2008), "Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente", *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica*, vol. (28), pp. 5-17.
- Gallo, M. A., and N. J. O. p. p. E. e. Lawryk (1991), *Organic phosphorus pesticides*, (vol. 2), London, Academic Press.
- Geldmacher-von Mallinckrodt, M., and T. L. Diepgen (1988), "The human serum paraoxonase—polymorphism and specificity", *Toxicological & Environmental Chemistry*, vol. 18 (2-3), pp. 79-196.
- Goldfrank, L. R., N. E. Flomenbaum, N. A. Lewin, R. S. Weisman and M. A. Howland (1990), *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*.
- Gomes, J., O. Lloyd and D. Revitt (1999), "The influence of personal protection, environmental hygiene and exposure to pesticides on the health of immigrant farm workers in a desert country", *International archives of occupational and environmental health*, vol. 72 (1), pp. 40-45.
- Gomez Vidal, M. A. (2000), *Riesgos sobre la salud derivados de la exposición crónica a plaguicidas: Importancia de los marcadores bioquímicos*. Universidad de Granada, Granada.
- Hernández, A. F., M. Amparo Gómez, V. Pérez, J. V. García-Lario, G. Pena, F. Gil, (2006), "Influence of exposure to pesticides on serum components and enzyme activities of cytotoxicity among intensive agriculture farmers", *Environmental research*, vol. 102 (1), pp. 70-76.
- Jaga, K., and C. Dharmani (2003), "Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides", *Revista panamericana de salud pública*, 14 (3), pp. 171-185.
- Krieger, R., J. Ross and T. Thongsinthusak (1992), "Assessing human exposures to pesticides", *Reviews of environmental contamination and toxicology*, vol. 128, pp. 1-15.
- Levi, P. E., and E. Hodgson (1992), *Organophosphates, Chemistry, Fate and Effects*, San Diego: Academic Press.
- Li, B., M. Sedlacek, I. Manoharan, R. Boopathy, E. G. Duysen, P. Masson (2005), "Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma", *Biochemical pharmacology*, vol. 70 (11), pp. 1673-1684.

- Mackness, M. I., S. Arrol and P. N. Durrington (1991), "Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein", *FEBS letters*, vol. 286 (1-2), pp. 152-154.
- Nava, M. E. P. (2003), "Aplicación de un instrumento para evaluar exposición a plaguicidas organofosforados, efectos agudos y subagudos en la salud de trabajadores agrícolas", *Revista Facultad de Medicina UNAM*, vol. 46(1), pp. 22-27.
- Nava, M. E. P., G. S. G. De la Torre and M. P. P. Román (2009), "Determinación de niveles basales de colinesterasa en jornaleros agrícolas", *Revista Facultad Medicina UNAM*, vol. 52 (2), pp. 63-68.
- Patel, A. B., R. Pal and A. Dewan (2007), "Distribution profile of paraoxonase phenotypes among the Gujaratis", *Indian Journal of Human Genetics*, vol. 13 (2), pp. 65-68.
- Pineda, J. (2007), "Plaguicidas: monitoreo efectivo de la exposición a carbamatos y organofosforados", *Ciencia & Trabajo*, vol. 9 (26), pp. 178-181.
- Ponce, G., P. C. Cantú, A. Flores, M. Badii, R. Zapata, B. López (2006), "Modo de acción de los insecticidas", *Revista Salud Pública y Nutrición*, vol. 4, pp. 1-6.
- Quintero-Soto, M. L., and A. Reyes-Martínez (2009), "Problemática del agua en los distritos de riego por bombeo del estado de Sonora", *Revista Digital Universitaria*, vol. 10 (8).
- Richter, E. D., P. Chuwers, Y. Levy, M. Gordon, F. Grauer y J. Marzouk (1992), "Health effects from exposure to organophosphate pesticides in workers and residents in Israel", *Israel journal of medical sciences*, vol. 28 (28), pp. 584-598.
- Soares, W., R. M. V. R. Almeida and S. Moro (2003), "Rural work and risk factors associated with pesticide use in Minas Gerais, Brazil", *Cad. Saúde Pública*, vol. 19(4), pp. 1117-1127.

Sección 3. Avances en el procesamiento de alimentos

Obtención, valoración y utilización de albúmina porcina en productos de panadería

Gabriela Ramos-Clamont Montfort, Silvia Guadalupe Fernández Michel, María Cristina Cueto Wong y Luz Vázquez Moreno

Resumen

Sonora es productor y exportador de carne de cerdo de alta calidad. El sistema de producción es tecnificado y con estrictos controles que van de la granja a la mesa. Del sacrificio animal se producen 30,000 L de sangre al día que se desechan sin tratamiento previo, contaminando aguas y suelo. Para valorar las proteínas del suero sanguíneo se implementaron buenas prácticas de manejo en la obtención de sangre y suero porcino, comprobando su efectividad por análisis microbiológicos. Posteriormente, se sintetizaron y caracterizaron tres matrices cromatográficas a partir de diferentes agarosas altamente acetiladas (Sefarosa HA, Novarosa EDA-HA y Novarosa PEI-HA), para fraccionar el suero por cromatografía de interacción hidrofóbica. Se obtuvieron dos fracciones en un sólo paso y se demostró que estas fracciones contenían, albúmina e inmunoglobulinas, respectivamente. Sefarosa HA fue la matriz más efectiva, por lo tanto, se escaló el proceso a nivel laboratorio usando esta matriz y se obtuvieron inmunoglobulinas (Igs) y Albúmina Porcina (AP) en cantidad suficiente para el estudio de su uso en aplicaciones farmacológicas y alimentarias, respectivamente. Los estudios con AP mostraron que contiene 95% de proteína, 0% de lípidos, 3% de humedad, 1% de cenizas, menos de 1% de sodio y 0.01 mg/Kg de hierro. Metionina, isoleucina y triptofano fueron los aminoácidos limitantes. No se detectó la presencia de mesofílicos, coliformes, *Salmonella* spp, ni *S. aureus*. La solubilidad fue mayor a 92% a PH 7. El índice de actividad emulsificante fue de 165

m²/g, en emulsiones preparadas con 0.5 % de AP, mostrando excelente estabilidad. No hubo diferencias ($p < 0.05$) entre la capacidad espumante de la albúmina y la de la clara de huevo, por lo que se decidió usar la AP en productos de panadería. Se obtuvieron dos tipos de panqués de chocolate. En el panqué tipo 1 (PC1) se sustituyó de 2 a 8 % de la harina de trigo con AP. El color y la textura de los panqués sustituidos fue el mismo que los controles teniendo excelente calidad microbiológica y el doble de proteína. Además, mayor esponjamiento, mejor consistencia de miga y la aprobación sensorial de los 69 jueces que los degustaron. En los panqués tipo 2 (PC2), se sustituyó el 50 y 100 % de la clara de huevo con AP. No hubo diferencias en color y textura con respecto a los controles, la calidad microbiológica fue excelente y el volumen dependió del porcentaje de sustitución de clara de huevo. El análisis sensorial fue favorable para los panqués sustituidos con 50 %. Los resultados obtenidos indicaron que la AP podía utilizarse en panadería para mejorar el valor nutricional de los panqués y para sustituir parte de la clara de huevo, sin afectar a las propiedades organolépticas y la calidad microbiológica del producto.

Palabras clave: valoración de subproductos, albúmina porcina, propiedades funcionales, panadería.

La industria porcícola sonorensis: importancia y problemática ambiental

La industria porcícola en Sonora es una actividad económica importante caracterizada por su elevada eficiencia en la producción, industrialización y comercialización de sus productos (Cardoso-Jiménez y colaboradores, 2008). Sonora cuenta con los estándares más elevados de calidad y productividad a nivel nacional, razón por la que, pudo exportar el 90% de la producción de carne de cerdo a Japón, Corea y Canadá (Gallardo y colaboradores, 2006).

El éxito de esta industria se debió principalmente a que más del 70 % de las unidades de producción emplearon un sistema de cría tecnificado, con asesoría especializada en nutrición, genética y sanidad. Las naves de producción sonorenses, cuentan con áreas específicas (maternidad, pre-destete, destete, engorda), cerradas y techadas, muchas de ellas equipadas con muros térmicos para controlar la temperatura (SAGARPA, 2010).

La calidad sanitaria se ha conseguido implementado estrictos controles desde la crianza hasta el consumidor. El sacrificio se llevó a cabo en plantas Tipo Inspección Federal (TIF), algunas han implementado sistemas HACCP, Análisis de Riesgos,

Identificación y Control de Puntos Críticos (Gallardo y colaboradores, 2006). La industria porcícola enfrentó la responsabilidad de ser una industria sustentable, que mostrara compatibilidad entre la obtención de beneficios económicos y la protección a los ecosistemas. En este aspecto fue indispensable atender los problemas ambientales relacionados con aguas y suelos. La demanda de consumo de agua dulce por las unidades industriales para la producción y el sacrificio de animales y para mantener la producción de carne en condiciones higiénicas, fue considerable. Un sólo cerdo sacrificado genera 500 L de agua residual (Castillo y colaboradores, 2002). Dado que la mayoría de los mataderos han quedado cerca de los núcleos urbanos, esta demanda entró en competencia directa con las necesidades de la población, disminuyendo la disponibilidad y aumentando las posibilidades de contaminación del recurso (Castillo y colaboradores, 2002).

Del sacrificio del cerdo en Sonora, se generaron 30 mil L/día de sangre, que contribuyeron con el 40% de la capacidad contaminante de las aguas residuales de las plantas de sacrificio, mismas que no se trataron y que contaminaron los suelos y las fuentes acuíferas de la región (comunicación personal). Las alternativas para reducir la contaminación fueron tratar las aguas y utilizar la sangre aprovechando su potencial clínico y alimentario. Tal fue el caso de la Unión Europea donde existían 11 plantas que procesan tres millones de toneladas de sangre animal por año (BREF, 2005). Buscando nuevas opciones de aprovechar la sangre de sacrificio animal se desarrollaron las investigaciones que se exponen a continuación.

El origen del estudio

En 1993 en el Laboratorio de Bioquímica de Proteínas y Glicanos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) se inició una línea de investigación para la separación de proteínas de la sangre porcina, enfocada principalmente a la obtención de inmunoglobulinas (Igs). Estas moléculas, conocidas generalmente como anticuerpos, eran glicoproteínas de defensa que ayudaron al desarrollo de las células intestinales del lechón y que además, han probado ser efectivas para la prevención de diarreas en estos animales (Pierce y colaboradores, 2005).

Inicialmente, se probó la cromatografía de afinidad por metales inmovilizados (IMAC, por sus siglas en inglés), para separar a las inmunoglobulinas del resto de las proteínas del suero. IMAC, aprovechó la capacidad de algunos metales de transición, como níquel (Ni), cobre (Cu), zinc (Zn) y cobalto (Co), para: 1) Unirse a las proteínas. 2) Formar complejos estables con diferentes moléculas denominadas ligandos.

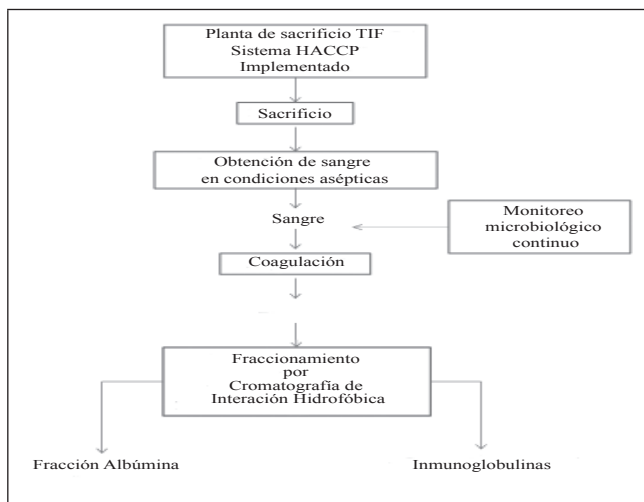
Éstos fueron el Ácido Imidoacético (IDA), el ác. etilendiaminotetracético (EDTA) y el ác. Salicílico (Winzerling y colaboradores, 1992). Los ligandos se inmovilizaron en una matriz para cromatografía, por ejemplo agarosa, para poder captar o quelar al metal. De esta manera, una agarosa modificada con IDA a la que se le añadió una solución que contenía un metal de transición, actuaría como una fase cromatográfica estacionaria a la que se absorbían las proteínas dependiendo de la afinidad con que se unieran al metal adicionado a la matriz (Porath, 1986).

Se sintetizó una matriz cromatográfica acoplado ácido imidoacético a Sefarosa 6B (Sefarosa-IDA) y se saturó con Ni, lográndose separar inmunoglobulinas porcinas en un sólo paso (Vázquez-Moreno y Candia-Plata, 1995). A pesar de los excelentes resultados sin que disminuyera la capacidad de la columna en 27 corridas cromatográficas, se detectó contaminación con níquel en las Igs, indicando lixiviación del metal de la matriz. Debido a que el Ni fue tóxico para los animales, se realizaron experimentos saturando a la Sefarosa-IDA con Cu, sin embargo, la afinidad de las Igs por el Cu fue significativamente menor a la del Ni (datos no publicados).

Buscando otras alternativas se decidió probar con la cromatografía de interacción hidrofóbica. Primeramente se siguió el esquema de trabajo de la figura 1, obteniendo la sangre bajo condiciones asépticas. Se estableció contacto con una planta de sacrificio de cerdos tipo Inspección Federal (TIF) con el sistema HACCP implementado. Se realizaron diferentes pruebas para la toma de sangre, monitoreando la cuenta total de mesofílicos aerobios, número más probable de coliformes totales (NMP), estudio para la detección de *Salmonella* spp y *Staphylococcus aureus*.

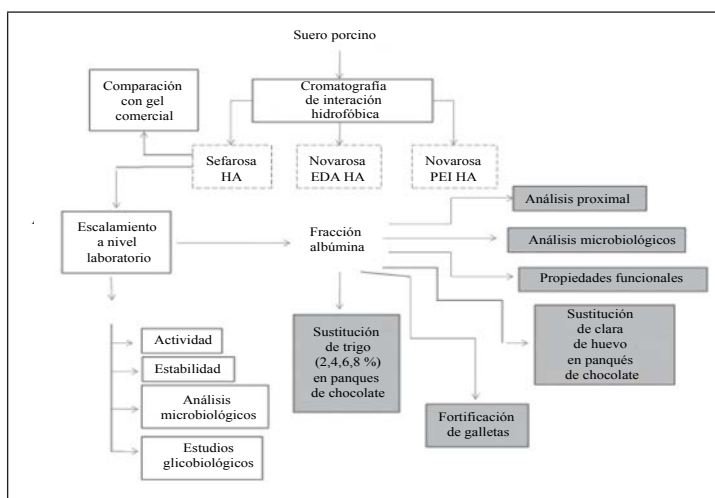
Una vez establecida la mejor técnica de colección de sangre, se desarrolló el esquema de trabajo presentado en la figura 2. Paso 1: Se sintetizaron y evaluaron varias matrices cromatográficas, la mejor de éstas se escogió para continuar el estudio y escalar el proceso de purificación a nivel laboratorio. Las inmunoglobulinas se pudieron separar en un sólo paso cromatográfico. La fracción restante se denominó Fracción Albúmina (FA) por ser esta la proteína mayoritaria. Paso 2: Para valorar la FA como posible ingrediente alimentario se determinó el análisis proximal, perfil de aminoácidos y análisis microbiológico. Además se evaluaron las siguientes propiedades funcionales: solubilidad, capacidad espumante y emulsificante. Paso 3: Debido a los buenos resultados obtenidos, se decidió utilizar a la FA en diferentes productos de panadería. A continuación se describe la metodología, los resultados y discusiones de cada paso.

Figura 1. Esquema general de trabajo para el fraccionamiento de suero porcino



Fuente: elaboración propia.

Figura 2. Esquema detallado del estudio para el fraccionamiento de suero porcino y la utilización de albúmina en productos de panadería



Fuente: elaboración propia.

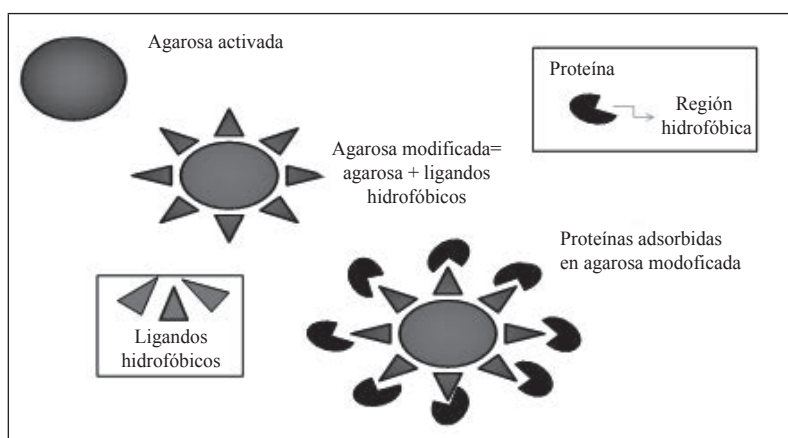
Paso 1: Fraccionamiento de suero porcino por cromatografía de interacción hidrofóbica

La Cromatografía de Interacción Hidrofóbica (HIC) promovió la separación de proteínas mediante las interacciones que se establecieron entre ligandos hidrofóbicos inmovilizados en una matriz cromatográfica y las superficies no polares de la proteína de interés (Queiroz y colaboradores, 2001). Tiselius observó que las proteínas que precipitaron a altas concentraciones de sales neutras (*salting out*), pueden adsorberse fuertemente a matrices cromatográficas a concentraciones de sal menores a las que precipitan (Porath, 1986).

Para explicar el fenómeno, Porath propuso que la presencia de sal en las soluciones de purificación modifica la estructura de las proteínas, aumentando la exposición de sus zonas de hidrofobicidad. Esto permitió la adsorción a la matriz cromatográfica.

Lógicamente, cada proteína difirió en su composición de regiones hidrofóbicas y este hecho se aprovechó para su purificación (Porath, 1986). El principio de la HIC se resumió en las figuras 3 y 4. Primero (figura 3), se modificó la matriz cromatográfica acoplándole ligandos hidrofóbicos, por ejemplo, grupos acetilo, propilo, butilo, fenilo. Las proteínas interaccionarían con estos grupos a través de sus regiones hidrofóbicas. Las interacciones fueron no-covalentes, del tipo fuerzas de van del Waals por lo tanto, fueron reversibles; la intensidad de la interacción dependerá de la cantidad de regiones hidrofóbicas de la proteína que se adsorbieron (Queiroz y colaboradores, 2001).

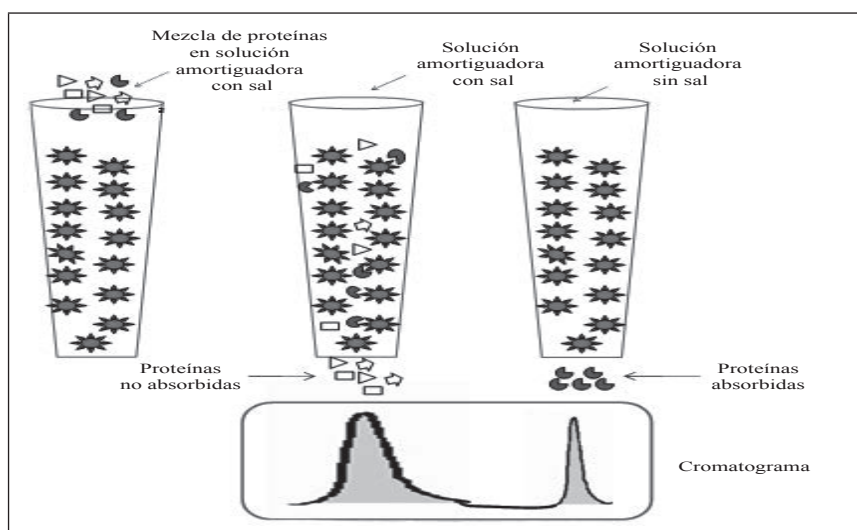
Figura 3. Principio de la cromatografía de interacción hidrofóbica



Fuente: Ramos-Clamont (2003).

En la figura 4 se resumió la metodología de un proceso cromatográfico con HIC. La matriz modificada se empacó en una columna y se le aplicó una muestra que contenía la proteína que se quiere aislar o purificar. Antes debería ajustarse la molaridad de la sal que se va a utilizar. Se incluyeron soluciones amortiguadoras para evitar cambios en el pH que pudieran afectar a la actividad de las proteínas (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Las proteínas de interés interaccionaron con la matriz modificada por sus regiones hidrofóbicas y se quedaron unidas a la matriz gracias a la presencia de sal en la fase móvil (Porath, 1986). Para eliminar a las proteínas que no se unieron a la matriz debimos continuar “lavando” nuestra matriz con la solución amortiguadora (conteniendo sal). La fase móvil que vio saliendo de la columna se dosificó automáticamente en tubitos y se midió su absorbancia a 280 nm, aprovechando que las proteínas absorbieron energía en esta región del ultravioleta. Si aún había proteína no unida dentro de la columna, obtendríamos valores altos a 280 nm. Al momento en que bajó la absorbancia a valores ≤ 0.020 pudimos considerar que todas las proteínas libres salieron de la columna. El siguiente paso fue liberar las proteínas que sí se unieron a la matriz. Para ello la fase móvil se cambió por una solución amortiguadora sin sal. En estas condiciones las interacciones entre la proteína y el ligando hidrofóbico se interrumpirían y las proteínas de interés se podrían eluir y recuperar fácilmente. Si acopláramos el proceso a un graficador se obtuvo el cromatograma de la purificación, como se representó en la figura 4.

Figura 4. Esquematización de un proceso cromatográfico de HIC



Fuente: elaboración propia.

Conociendo el principio de la cromatografía de hidrofobicidad nos dimos a la tarea de sintetizar matrices ligeramente hidrofóbicas para poder adsorber en ellas a las Igs de la sangre porcina, separándolas de la albúmina. El proceso se llevó a cabo de acuerdo con Ramos-Clamont y colaboradores (2006). Obtuvimos suero a partir de sangre colectada en la línea de sacrificio de un rastro Tipo Inspección Federal (TIF) de la ciudad de Hermosillo, que además contaba con el sistema HACCP implementado. Se realizaron 20 muestreos a partir de otoño de 2000 y hasta el verano de 2003. En cada muestreo se colectaron 10 L de sangre provenientes de cinco animales. La sangre se transportó en hieleras al Laboratorio de Bioquímica de Proteínas del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD). Una vez allí se dejó coagular a 20 °C para obtener el suero por decantación. Posteriormente, se enfrió a 4 °C, se centrifugó a 6000 x g durante 20 min a 4 °C, para remover material graso y se congeló a -40 °C hasta su uso.

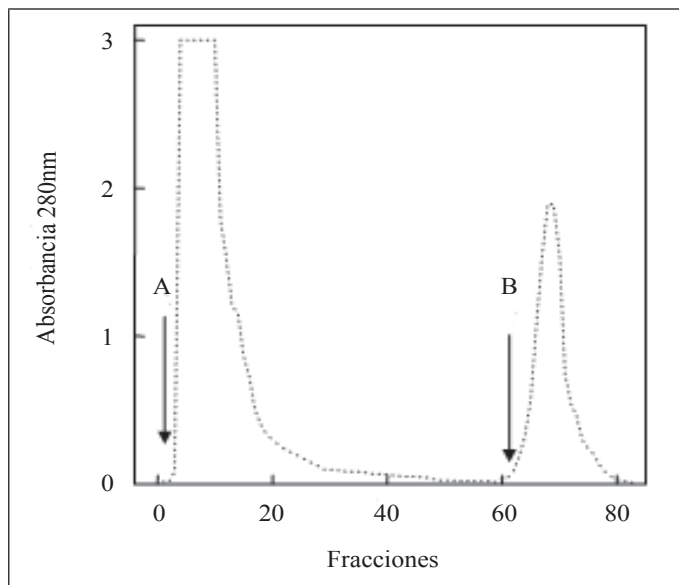
En las matrices de HIC se acoplaron principalmente grupos altamente hidrofóbicos que contenían generalmente cadenas largas de carbono o algunos grupos con anillos aromáticos. Debido a que nos interesaba adsorber una proteína menos hidrofóbica (Igs), nos dimos a la tarea de sintetizar tres matrices cromatográficas acoplando grupos acetilo (ligeramente hidrofóbicos), a las agarosas comerciales Sefarosa y Novarosa. La Sefarosa fue la agarosa activada más usada en este tipo de estudios, mientras que la Novarosa es una nueva agarosa activada que era importante probar. Se obtuvieron: *a*) Sefarosa altamente acetilada (Sefarosa_{HA}). *b*) Novarosa-etilendiamina altamente acetilada (Novarosa_{EDA HA}). *c*) Novarosa-polietilendiamina altamente acetilada (Novarosa_{PEI HA}). Sefarosa_{HA} fue sintetizada en CIAD, de acuerdo a Vázquez-Moreno y colaboradores, (1992) en presencia de piridina y de ácido acético por 18, 24 y 36 horas con agitación moderada. Posteriormente se lavó con etanol a 95%, ácido acético a 10% y suficiente agua bidestilada para alcanzar un pH cercano a la neutralidad. (Vázquez-Moreno y colaboradores, 1992).

Novarosa_{EDA HA} se sintetizó a partir de Novarosa 100/40 Act^{High} (Inovata, Suecia) acoplando primero etilendiamina (EDA) y posteriormente acetilando. La Novarosa_{PEI HA} para este estudio fue sintetizada por el Dr. Roberto Guzmán de la Universidad de Arizona.

Se probó la capacidad de cada matriz para separar el suero y para ésto fue necesario desarrollar un esquema cromatográfico que separara a las inmunoglobulinas del resto de las proteínas, en un sólo paso. Se empacaron las matrices en columnas abiertas y cerradas, se les aplicó el suero usando como fase móvil Na₂ SO₄, 0.5 M, MOPS, 10 mM, pH 7.6 (solución A). La adsorción de Igs se promovió en presencia de sal (solución A), lavando las proteínas no adsorbidas con la misma solución (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Para desprender las proteínas absorbidas se

eliminó la sal de la fase móvil, dejando únicamente la solución amortiguadora compuesta por MOPS 10 mM, pH 7.2. Se colectaron por separado las proteínas que no se unieron y las que se unieron a la matriz, para poderlas identificar y luego se procedió a regenerar a las columnas. La regeneración es el proceso de preparación de la matriz cromatográfica para una nueva separación. En nuestro caso se consiguió limpiando la matriz con Guanidina-HCl 4 M, pH 7.6, y luego lavando con agua bidestilada para finalmente re-equilibrar nuevamente con la solución A. Todo el proceso se monitoreó a 280 nm para asegurarnos de separar convenientemente a las inmunoglobulinas y no contaminarlas con otras proteínas. La concentración de proteína de cada fracción se estimó por el método de Bradford (1976) a 595 nm, usando una curva de albúmina sérica bovina (BSA) (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Con el cromatograma presentado en la figura cinco demostramos que el proceso de separación fue eficiente ya que se observaron dos picos independientes.

Figura 5. Cromatograma del fraccionamiento de suero porcino en matrices de agarosa altamente acetilada



Fuente: Ramos Clamont y colaboradores (2006). El suero se aplicó a las matrices HIC (A), se promovió la adsorción en presencia de Na_2SO_4 0.5M, MOPS 10 mM, pH 7.6. Las proteínas no adsorbidas se lavaron con esta misma solución. Las adsorbidas se eluyeron con MOPS 10 mM, pH 7.2 (B).

Para saber que tanta proteína podían absorber las diferentes matrices, se aplicaron soluciones de proteínas séricas de 8 mg/mL hasta saturar todos los sitios posibles de unión. Este punto de saturación se determinó con la fórmula citada más abajo y en el cromatograma se localizó como el punto de inflexión en las curvas de adsorción. Los experimentos se hicieron por triplicado inmediatamente después de la síntesis de las matrices adsorbentes y después de haber realizado 20 corridas cromatográficas, para obtener resultados representativos y saber si las matrices no estaban perdiendo efectividad debido al uso continuo. El punto de rompimiento o saturación se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$Q_{B^5\%} = \frac{[V_A(C_O - C_A) - V_B C_B]}{V_C}$$

Donde:

QB5%: Capacidad de adsorción (mg/mL de matriz)

C_O: Concentración inicial de proteína (mg/mL)

C_A: 5% de CO (mg/mL)

V_A: Volumen colectado al aplicar CA (mL)

C_B: Concentración de la proteína no adsorbida (mg/mL)

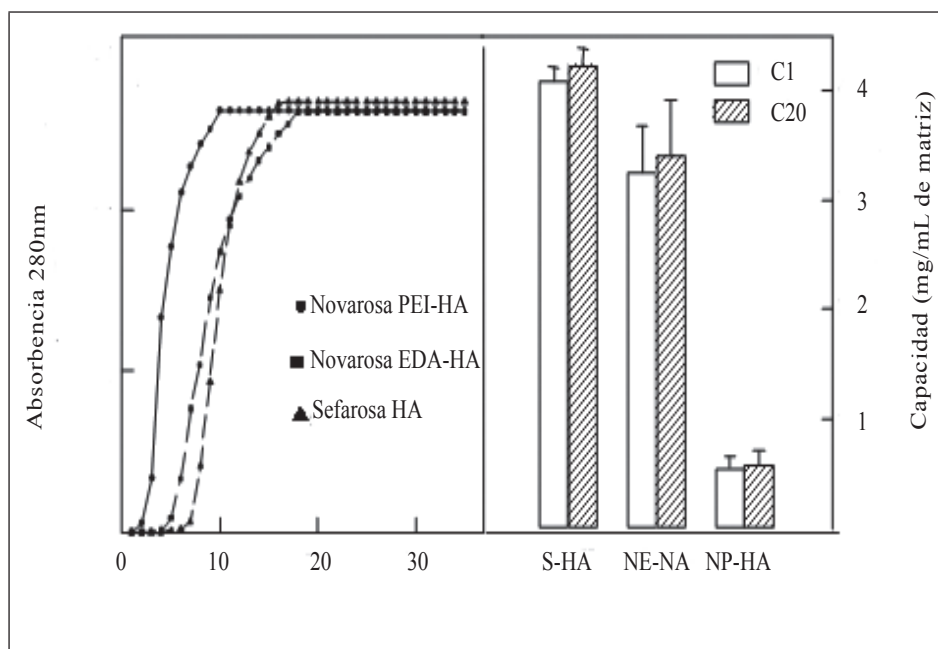
V_B: Volumen colectado de la proteína no adsorbida (mL)

V_C: Volumen de cama de la matriz (mL)

En la figura 6 se observaron las capacidades dinámicas de las tres matrices. En promedio, la capacidad de Sefarosa HA fue de 4.1 mg/mL de matriz, la de Novarosa EDA HA de 3.3 mg/mL de matriz y la de Novarosa PEI HA de 0.56 mg/mL de matriz. Estos datos permanecieron sin variación después de 20 corridas cromatográficas, indicando la estabilidad de las matrices. Debido a que Sefarosa-HA presentó la mayor capacidad para retener proteínas, el escalamiento y posteriores estudios se realizaron con este adsorbente.

Una vez que se separó el suero en fracciones había que probar por otro método independiente que la separación fue exitosa. Para ello se usó la electroforesis que permitió conocer las masas de las proteínas que se separaron en cada corrida y compararlas con estándares de masa molecular. Las fracciones cromatográficas obtenidas con las tres matrices, se caracterizaron por electroforesis en condiciones desnaturizantes y reductoras (SDS-PAGE), según Laemmli (1970). Se prepararon geles de poliacrilamida al 10 %, aplicando a cada pozo 20 µg de proteína. Las masas moleculares se compararon con estándares de proteína Dalton VII (Sigma-Aldrich, ST Louis MO, USA). Los geles se tiñeron con una solución de azul de Coomassie.

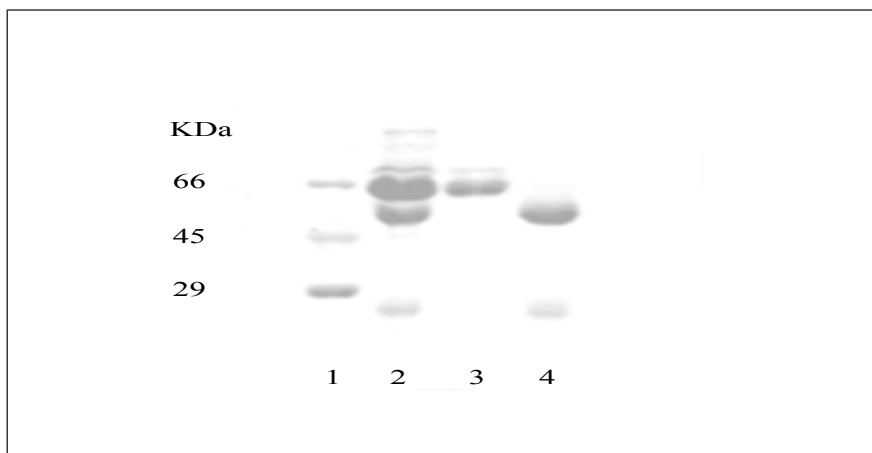
Figura 6. Capacidad frontal de las matrices estudiadas



Fuente: Ramos-Clamont (2003). A. Curvas frontales para suero porcino: (●) Novarosa PEI HA, (■) Novarosa EDA HA, (▲) Sefarosa HA. B. Capacidad frontal en mg/ mL de matriz, para Sefarosa-HA (S-HA), Novarosa EDA HA (NE-HA) y Novarosa PEI-HA (NP-HA). Se aplicaron 120 mg de proteínas de suero: □ corrida 1; ▨ corrida 20.

La figura 7 mostró la migración electroforética de las fracciones cromatográficas de Sefarosa HA. En la fracción de elución (carril 4) se observaron 2 bandas proteicas. Según el patrón de migración de los estándares, a estas bandas les correspondían masas moleculares de 52-60 y 25 *kDa* respectivamente. Las bandas de 52 a 60 *kDa* correspondían a la masa de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, mientras que la de 25 *kDa* a la de las cadenas ligeras de esta misma molécula (Butler y colaboradores, 2009). En la electroforesis de las fracciones de Novarosa EDA HA se observó un patrón similar, excepto por el hecho de que en la fracción de elución se detectó una ligera banda de 66 *kDa* que indicó la posible presencia de albúmina (datos no mostrados) y por tanto un menor eficiencia de separación, con respecto Sefarosa HA.

Figura 7. Electroforesis SDS PAGE de las fracciones proteicas obtenidas de Sefarosa HA



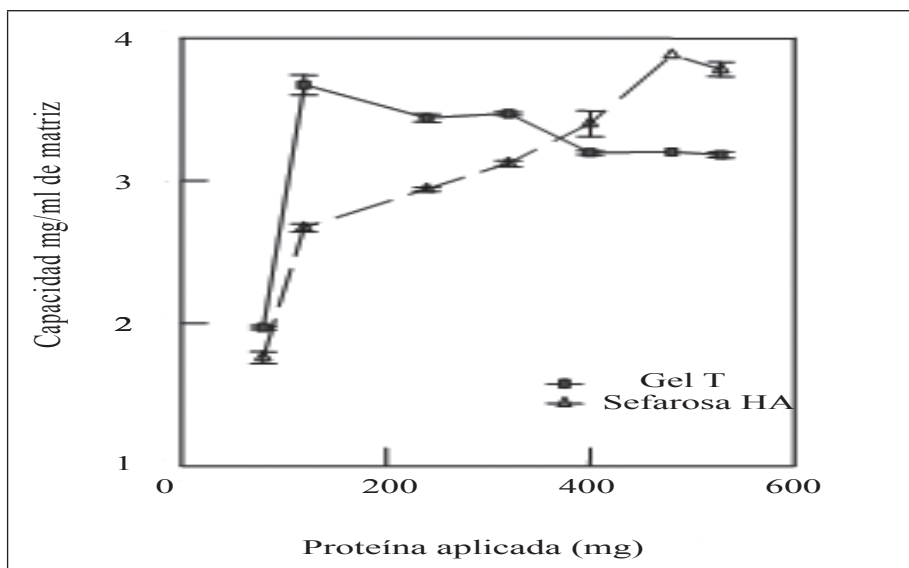
Fuente: Ramos-Clamont y colaboradores (2006). Las fracciones obtenidas al fraccionar suero porcino en Sefarosa HA, fueron aplicadas en un gel de poliacrilamida al 10%. Carril 1, estándares de peso molecular, carril 2 suero porcino, carril 3 fracción de lavado, carril 4 fracción de elución.

El siguiente paso fue conocer la eficiencia de separación de cada matriz. Para ello, se estimaron las cantidades de albúmina, e inmunoglobulinas (*IgA*, *IgG* e *IgM*) en el suero porcino y después de la separación cromatográfica, en las fracciones de lavado y elución usando el método de inmunodifusión radial con kits comerciales específicos para cerdo (Betyl Labs, Inc, USA) (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). En la fracción de las proteínas adsorbidas a la columna (fracción de elución) se encontró 100% de la *IgG* y de la *IgA* y 55% de la *IgM*, mientras que en la fracción de lavado (proteínas que no se unieron a la matriz) se encontró 100% de la albúmina y 30% de la *IgM*. El resto de *IgM* quedó fuertemente adherida a la matriz y se desprendió una vez que se realizó el tratamiento con guanidina para regenerar la columna (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Los resultados anteriores demostraron que se pueden separar prácticamente todas las inmunoglobulinas presentes en el suero porcino en un sólo paso cromatográfico.

Para complementar el estudio básico y con el fin de optimizar el proceso de fraccionamiento desarrollado se estudiaron los siguientes factores: estabilidad de la columna en presencia de guanidina, estabilidad de la agarosa al tiempo de almacenamiento, e influencia del tiempo de acetilación en la capacidad de la matriz

(Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Posteriormente, se procedió al escalamiento del proceso a nivel laboratorio. Se sintetizó cantidad suficiente de gel para realizar siete etapas de escalamiento, cada una aumentando el volumen de cama (2, 5, 12, 23, 46, 100 y 260 mL) y la cantidad de proteína a aplicar. Se encontró una disminución no significativa en la capacidad de adsorción de las matrices al aumentar la cantidad de matriz. Esto se debió a fenómenos de compresión que se solucionaron aumentando el diámetro de las columnas (Ramos-Clamont y colaboradores, 2006). Otra alternativa fue usar columnas por etapas en donde cada etapa pudiera visualizarse como un adsorbente tipo tanque de volumen constante. El solvente fluyó de una etapa hacia otra, mientras que el adsorbente permaneció fijo (Tejeda y colaboradores, 1995). Para concluir este estudio se comparó la eficiencia de separación de Igs de Sefarosa HA con una matriz comercial (gel TTM). No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las capacidades de ambas matrices. Esto indicó que Sefarosa HA pudo competir con matrices comerciales para separar albúmina de inmunoglobulinas. Sin embargo, el comportamiento de las matrices fue distinto (figura 8).

Figura 8. Capacidad de absorción de inmunoglobulinas porcinas de Sefarosa



Fuente: Ramos-Clamont (2003). HA (▲) y de gel T (■). Las matrices se equilibraron con Na_2SO_4 0.5M, pH 7.6, se cargaron con diferentes concentraciones de proteínas de suero porcino, se lavaron con Na_2SO_4 0.5M, pH 7.6 y se eluyeron con MOPS 10mM, pH 7.2. La capacidad se expresó como los mg de proteína eluida entre el volumen de cama de la matriz.

Concluido el estudio con las matrices se procedió a elaborar preparaciones estables de *Igs* para los lechones. Debido a que esta fracción constituyó únicamente el 15-20% de la proteína y que en la fracción albúmina quedaron entre 80 y 85% de las proteínas restantes, se decidió realizar un estudio para valorar el posible uso de albúmina en los alimentos. Para ello, se efectuaron los análisis proximal y microbiológico y se determinaron algunas de las propiedades funcionales de la albúmina porcina. Este estudio fue el tema del siguiente paso.

Paso 2: Valoración de la albúmina porcina

La albúmina fue la proteína más abundante del proteoma de los mamíferos. Representó del 40 al 60% del plasma sanguíneo. Su principal función era unir y transportar pequeñas moléculas orgánicas, endógenas o exógenas, como hormonas, ácidos grasos, vitaminas, antibióticos y minerales (Hushcha y colaboradores, 2000).

La albúmina de los mamíferos tenía una estructura primaria constituida por una cadena polipéptidica de cerca de 580 aa. La secuencia primaria de aminoácidos (aa) de las albúminas de diferentes mamíferos mostró una gran homología, lo que sugirió que la molécula evolucionó a partir de un precursor común o protoalbúmina (Carter y colaboradores, 1994a). Las albúminas séricas que más se parecen a la humana (HSA), son la de equino (ESA), con una identidad de 76.1% y la de porcino (PSA), cuya identidad fue de 76% (Carter y colaboradores, 1994b). Además de su función biológica, fue importante conocer la funcionalidad de la albúmina y su composición proximal, para poder usarla en los alimentos. Por ello fue necesario determinar el análisis fisicoquímico y las propiedades funcionales de la AP.

Se conocieron como funcionales a las propiedades físicas y químicas que afectaron el comportamiento de las proteínas en los sistemas alimentarios durante el procesamiento, almacenamiento, y el consumo (Kinsella, 1976). Las propiedades funcionales de las proteínas dependían de sus características físicas y químicas y, por tanto, del tipo de aminoácidos (aa) que las componían. La cantidad y tipo de aa fueron responsables por ejemplo, de la solubilidad, capacidad estabilizante y espumante de las proteínas y de las interacciones que pudieron establecer entre ellas mismas o con otras moléculas (Nelson y Cox, 2005).

Para el proceso de valoración de la Albúmina Porcina (AP) se obtuvieron 50 g de esta proteína a partir de la cromatografía de interacción hidrofóbica descrita con anterioridad. De cada corrida se obtuvieron 5.2 ± 0.2 g de AP, con la que se realizaron los experimentos. En la figura 9 se presentó el aspecto del producto obtenido

Figura 9. Aspecto de albúmina porcina liofilizada, obtenida por cromatografía de interacción hidrofóbica en Sefarosa HA



Fuente: Ramos-Clamont (2003).

Según los análisis practicados (AOAC, 1990), nuestro producto contenía 95% de proteína, 0% de lípidos, 3% de humedad, 1% de cenizas, menos de 1% de sodio y 0.01 mg/Kg de hierro. La tabla 1 mostró el contenido de aminoácidos esenciales obtenidos por HPLC. La AP tenía tres aminoácidos limitantes de acuerdo con los requerimientos para niños de 6 a 12 años establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (WHO/FAO/ONU, 1985). Es una fuente excelente del resto de los aminoácidos esenciales por lo que pudo usarse para fortificar alimentos que tuvieron bajo contenido de leucina, lisina, histidina, triptófano, valina y fenilalanina. De especial importancia fue el contenido de lisina ya que muchas proteínas vegetales tenían deficiencia de este aminoácido.

Tabla 1. Contenido de aminoácidos esenciales de albúmina porcina

<i>Aminoácidos esenciales</i>	<i>g/100g de proteína</i>
Fenilalanina	5.00 ± 0.40
Histidina	4.91 ± 0.33
Isoleucina	*1.56 ± 0.12
Leucina	6.83 ± 0.40

Lisina	5.00 ± 0.37
Metionina	*0.49 ± 0.03
Treonina	4.83 ± 0.33
Triptofano	*0.43 ± 0.03
Valina	3.01 ± 0.18

Fuente: Ramos-Clamont y colaboradores (2003). X ± DE: media y desviación estándar de 5 repeticiones. *aminoácidos limitantes según los requerimientos de WHO/FAO/ONU para niños de 6 a 12 años.

El estudio microbiológico completo sugerido por Ockerman y Hansen, (2000) para la incorporación de proteínas del plasma a los alimentos debía contener la cuenta de mesofílicos aerobios, Número Más Probable (NMP) de organismos coliformes, *Staphylococcus aureus* y ausencia de *Salmonella* spp. En nuestro estudio se determinaron estos análisis usando las técnicas propuestas por las Normas Oficiales Mexicanas, que fueron equivalentes a las técnicas de la AOAC. Ockerman y Hansen (2000), indicaron que la sangre o sus fracciones podían ser usadas en la industria alimentaria, debe garantizarse la ausencia de patógenos y que la cuenta total de microorganismos aerobios fuera menor a 1,000 UFC/g. La cuenta total de mesofílicos aerobios fue de menos de 10 UFC/g. No se detectó contaminación con coliformes, *Salmonella* o *S. aureus* (tabla 2). Esto fue un indicio de que la obtención de sangre y el posterior fraccionamiento del suero por HIC, se hicieron en condiciones sanitarias satisfactorias. Se realizaron además estudios microbiológicos complementarios en la Universidad Autónoma de México (UNAM) para garantizar la ausencia de virus que pudieran afectar a la salud. Estos análisis se han repetido durante varios años demostrando que la AP obtenida por el proceso desarrollado podía usarse como ingrediente alimentario.

Tabla 2. Análisis microbiológico de suero y fracción albúmina porcina

Análisis	Fracción Albúmina
Mesofílicos aerobios	<10 UFC/g
Coliformes totales	< 3NMP/g
Salmonella spp*	Ausencia
Staphylococcus aureus	< 10 UFC/g

Fuente: Ramos-Clamont y colaboradores (2003). n = 20; UFC/g: Unidades formadoras de colonias/gramo.

La solubilidad, la capacidad emulsificante, el índice de actividad emulsificante, la estabilidad de las emulsiones y la capacidad espumante son propiedades funcionales que deben determinarse a ingredientes proteicos para evaluar su uso potencial en los alimentos (Pearce y Kinsella, 1978; Patel y colaboradores, 1988). La AP tuvo una solubilidad en agua mayor al 92 por ciento. Los resultados obtenidos mostraron que el pH pudo afectar estos valores, disminuyendo la solubilidad hasta 85%, cuando la proteína se acercó a su punto isoeléctrico (pH 4.8). Lo anterior nos indicó que la albúmina pudo ser adicionada con mayor facilidad a alimentos que tuvieran un pH mayor de seis.

La tabla 3 nos indicó que la albúmina porcina presentó mejores propiedades emulsificantes que el suero entero. La albúmina contenía regiones hidrofílicas e hidrofóbicas que interaccionaron con el aceite y con el agua, respectivamente, estabilizando a la emulsión. Las emulsiones preparadas con AP también fueron más estables que aquellas preparadas con Suero Porcino (SP). A los 14 días de almacenamiento después de un tratamiento desestabilizante, la AP expulsó únicamente 1.3% del aceite, mientras que la SP casi el triple (tabla 3). Al comparar al AP con la albúmina bovina, ésta última resultó con mejor capacidad emulsificante. Lo anterior pudo deberse a diferencias en el contenido de aminoácidos específicos (Carter y colaboradores, 1994b).

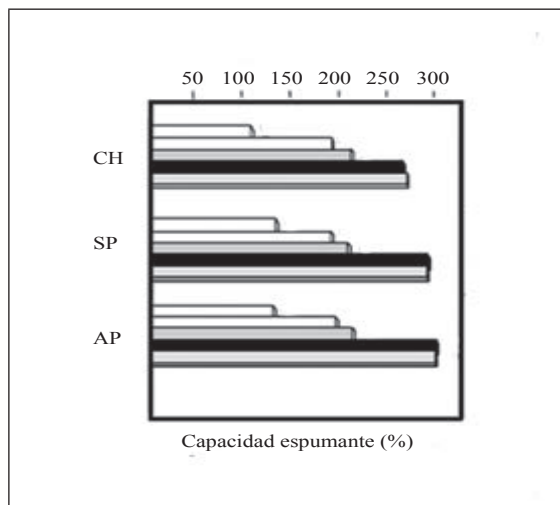
Tabla 3. Índice de actividad emulsificante en emulsiones preparadas con fracciones proteicas de sangre animal

<i>Fracción</i>	<i>X (%)</i>	<i>D.E</i>
Suero porcino 0.5%	76.4	2.1
Suero porcino 2.0%	199.5	3.4
Suero bovino 0.5%	101.0	2.4
Suero bovino 2.0%	310.2	7.2
Albúmina porcina 0.5%	165.2	4.7
Albúmina porcina 2.0%	405.7	9.7
Albúmina bovina 0.5%	189.3	2.8
Albúmina bovina 2.0%	475.8	8.6

Fuente: elaboración propia. n = 10; X: media; D.E: desviación estándar.

No encontramos diferencias ($p > 0.05$) entre la capacidad espumante de la albúmina porcina y la clara de huevo como se muestra en las figuras 10 y 11, respectivamente.

Figura 10. Comparación de la capacidad espumante (%) de las proteínas de clara de huevo (CH), suero porcino (SP) y albúmina porcina (AP) a diferentes concentraciones



Fuente: Ramos-Clamont y Vázquez-Moreno (2006).

Figura 11. Aspecto de las espumas elaboradas con clara de huevo, suero y albúmina porcina



Fuente: Fernández-Michel (2004).

A concentraciones de 2 a 6%, tanto las espumas de clara de huevo como las de albúmina porcina, presentaron estabildades entre 20 y 25 por ciento. Al aumentar la concentración de proteína a 8 y 10% la estabilidad aumentó 40%, sin que se encontraran diferencias significativas entre clara y albúmina. Por el contrario, la estabilidad de las espumas de suero porcino fueron menos estables, posiblemente por la presencia de globulinas que desestabilizan al sistema (Ramos-Clamont y Vázquez-Moreno, 2006).

La valoración de la albúmina porcina nos indicó que era una buena fuente de lisina, con solubilidad y características emulsificantes muy aceptables. Además, tenía una capacidad espumante similar a la de la clara de huevo y que las espumas formadas fueron igualmente estables, pudiendo sustituir a estas proteínas en algunas formulaciones alimenticias. Con esta información se decidió estudiar el efecto de la adición de AP en formulaciones panaderas, como se describió en el siguiente paso.

Paso 3: Efecto de la adición de albúmina porcina en panqués de chocolate; sustituyendo parte de la harina de trigo o de la clara de huevo

El pan es un vehículo ideal para la fortificación de nutrientes, es una fuente de energía barata y un alimento estable, muy consumido por muchas culturas. Cuando se mezclaron ingredientes con el propósito de fortificar alimentos, fue necesario hacer una cuidadosa selección con base al valor nutritivo del ingrediente y en un estudio de sus características físicas. Esto último con el fin de garantizar una buena mezcla (ŠvecyHrušková, 2010). Además fue importante investigar cómo se verían afectadas las características físicas y organolépticas del producto final fortificado (ŠvecyHrušková, 2010). El bajo contenido de lisina fue una de las principales deficiencias nutricionales del trigo y otros cereales. Por tanto, existía interés en encontrar la manera de suplir esta deficiencia (Abdel-Aal y Hucl, 2002). Como ya se indicó, la AP ha sido una excelente fuente de lisina (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003), por lo que puede suplir las deficiencias de este aminoácido en la harina de trigo y sus productos. Debido a lo anterior, se planeó elaborar panqués sustituyendo parte de la harina de trigo de su formulación con albúmina porcina para estudiar el efecto en sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

Por otro lado, muchas de las características que impartió el huevo como ingrediente de los alimentos, por ejemplo volumen, textura y esponjamiento, se debieron a la capacidad espumante de las proteínas de la clara (Lechevalier y colaboradores, 2007). Por ello también se realizaron experimentos para sustituir parte o el total de la clara de huevo con la albúmina porcina.

Para la elaboración de los panqués se siguió el método 10-90 de la AACC (2003) con las siguientes modificaciones: a la formulación original se le añadió chocolate en forma de cocoa, con el fin de enmascarar el posible sabor de la AP. Se aumentaron las cantidades de agua y manteca añadidas a la mezcla, para obtener una consistencia más suave. Se incorporó 0.2% de sorbato de potasio como conservador y goma

de xantano, para mejorar las características de panificación. La formulación base se describió en la tabla 4.

Tabla 4. Formulación base para panqué de chocolate

<i>Ingredientes</i>	<i>Gramos</i>
Harina	100.0
Azúcar	140.0
Shortening	45.0
Cocoa	20.0
Leche desgrasada en polvo	10.0
Sal	3.75
Bicarbonato de sodio	0.63
Polvo de hornear	5.00
Huevo entero en polvo	11.25
Clara de huevo en polvo	2.40
Goma xantana	0.20
Sorbato de potasio	0.50
Agua	161.00

Fuente: elaboración propia.

En dos experimentos independientes, se evaluó el efecto de sustituir parte de la harina (2, 4, 5 y 8%) por AP y el efecto de sustituir 50 y 100 % de clara de huevo por AP. Se elaboraron los panes, se les hicieron los análisis proximales y microbiológicos, la determinación de color textura (Ramos-Clamont y colaboradores, 2010) y volumen (AACC, 2003). Todos los análisis contaron con cuatro observaciones con cinco determinaciones independientes.

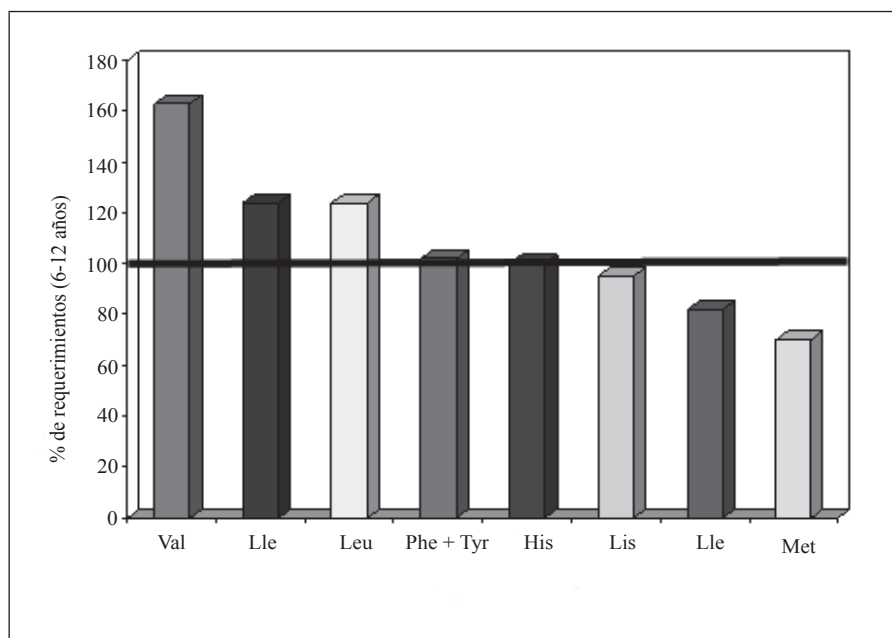
La tabla 5 mostró el contenido de proteína y humedad de los panqués de chocolate en los que se sustituyó parte de la harina de trigo con AP. El contenido de proteína aumentó significativamente en todos los casos con respecto al control, siendo casi el doble en el caso del panqué con 8% de AP. Este panqué presentó un mayor contenido de aminoácidos esenciales que el control. De acuerdo a los requerimientos de la WHO/UNO/FAO (1985) y considerando un peso promedio por panqué de 70 ± 1 g, un panqué con 8% de AP cumplió y en algunos casos sobrepasó, los requerimientos de la mayoría de los aminoácidos esenciales para niños de 6 a 12 años, aunque únicamente aportó 95% de la lisina, 82% de la treonina y 70% de la metionina (figura 12).

Tabla 5. Contenido de humedad y de proteína en panqué de chocolate con diferentes concentraciones de albúmina porcina sustituyendo a la harina de trigo

<i>Análisis</i>	<i>Control</i>	<i>2%</i>	<i>4%</i>	<i>6%</i>	<i>8%</i>
Proteína	6.0 _e	7.5 _d	8.5 _c	10.2 _b	11.3 _a
Humedad	25.5 _a	20.4 _e	20.6 _c	22.5 _b	22.3 _b

Fuente: Fernández-Michel (2004). Diferentes letras muestran diferencias significativas. Duncan ($p < 0.05$).

Figura 12. Porcentaje de cobertura de aminoácidos esenciales para niños de 6-12 años al consumir un panqué de chocolate de 70 g

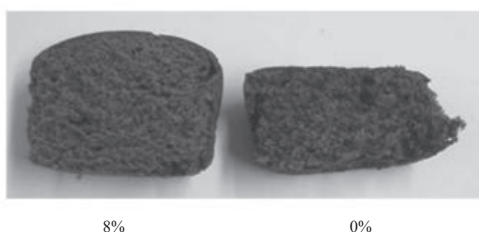


Fuente: Fernández-Michel (2004).

Los panqués mostraron excelente calidad microbiológica. No se detectó la presencia de coliformes o patógenos y las cuentas de hongos y levaduras no llegaron a 100 UFC/g, después de 15 días de almacenamiento. No hubo diferencias significativas en color y textura entre los panqués control y los que contenían AP. Mientras que los análisis sensoriales con 68 jueces, mostraron una mayor aceptación por el panqué de

chocolate con 8% de AP (Fernández-Michel, 2004). Una ventaja adicional de la incorporación de FA a la formulación fue que el esponjamiento del pan fue 18% mayor en los panqués sustituidos con 8% de AP, con respecto a los controles (figura 13). Lo anterior debido posiblemente a la capacidad estabilizante de la albúmina que permitió una mayor incorporación y retención de aire durante la preparación y a su capacidad de gelificar a altas temperaturas (Ramos-Clamont y Vázquez-Moreno, 2006).

Figura 13. Comparación del esponjamiento en panqués de chocolate con y sin albúmina porcina



Fuente: Fernández-Michel (2004).

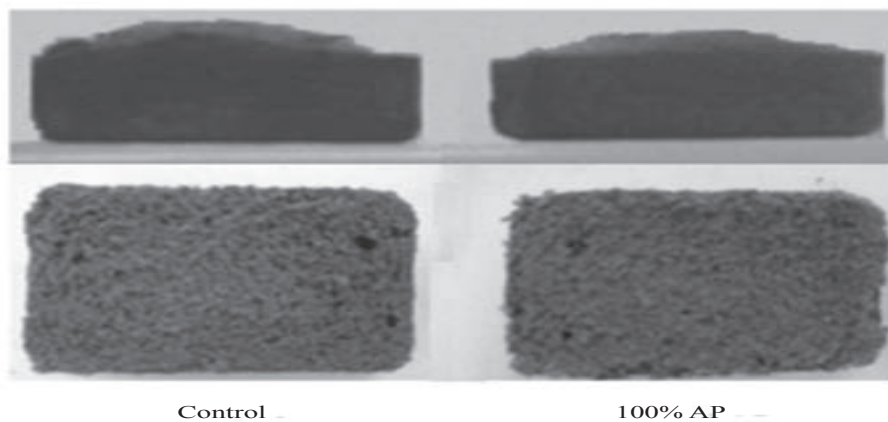
En conclusión, la sustitución de harina de trigo por 8% de AP en una formulación de panqués de chocolate, mejoró significativamente su valor nutricional y el esponjamiento de los panes sin afectar color, textura y preferencia (Fernández-Michel, 2004).

El segundo experimento consistió en sustituir 50 y 100% de la clara de huevo por la AP (Ramos-Clamont y colaboradores, 2010). La tabla 6 contiene los resultados del análisis de volumen, textura y color de los panqués. No hubo cambios significativos del volumen y la firmeza de los panqués control y aquellos en los que se sustituyó la clara con 50% de AP. La sustitución a 100%, provocó una disminución de aproximadamente 3% del volumen y disminuyó la firmeza ($p < 0.05$) de los panes (figura 14). Se ha observado que las proteínas de la clara y del suero sanguíneo mostraron una capacidad similar de formar redes tridimensionales que contribuyeron al esponjamiento del pan. El fraccionamiento del suero pudo haber contribuido a una ligera pérdida del establecimiento de interacciones con otras proteínas presentes en la formulación que afectaron tanto a la firmeza como al volumen (Raeker y Johnson, 1995). La sustitución de la clara de huevo con AP no afectó el color de los panqués (tabla 6). El hecho de que la coloración de la AP obtenida por HIC, fuera blanca aperlada representó una ventaja.

Tabla 6. Análisis físico de panqués de chocolate preparado sustituyendo clara de huevo con dos niveles de albúmina sérica porcina

<i>Análisis</i>	<i>Control</i>	<i>50 % AP*</i>	<i>100 % AP</i>
Volumen (cm ³)	147.6 ^a	150.2 ^a	142.9 ^b
Textura Compresión (N)	2.9 ^b	2.9 ^b	3.4 ^a
Color de la miga			
L	26.2 ^a	25.9 ^a	25.7 ^a
a*	10.1 ^a	9.9 ^a	9.8 ^a
b*	15.0 ^a	14.7 ^a	14.4 ^a

Fuente: Ramos-Clamont y colaboradores (2010). AP: albúmina sérica porcina. Medias con diferentes letras en las columnas, difieren estadísticamente ($P < 0,05$). N, Newton; L, a* y b escala colorimétrica L (levedad, desde el negro al blanco), a* (carácter verde rojo en ausencia de azul o amarillo) y b* (carácter azul amarillo en ausencia de verde o rojo).

Figura 14. Comparación de la consistencia de la miga y esponjamiento de panqués de chocolates elaborados con clara de huevo (control) y albúmina porcina (100% AP)

Fuente: Fernández-Michel (2004).

Al igual que en el experimento anterior, la calidad microbiológica de los panqués fue muy buena demostrando que, bajo las condiciones de obtención y fraccionamiento adecuadas, las proteínas de la sangre pudieron aplicarse a los alimentos, sin contaminarlos. Por otro lado, el análisis sensorial mostró igual preferencia por los controles

y los panqués con 50% AP y menor por los que contenían 100% de sustitución de la clara de huevo con AP. En conjunto, los resultados de este estudio nos indicaron que fue factible sustituir un 50% de la clara de huevo con AP sin afectar volumen, textura color, calidad microbiológica y preferencia de los panqués de chocolate.

En otras investigaciones realizadas, en las que se añadió 10% de AP a galletas de avena, se observó una elevación considerable del contenido y calidad proteica de la galleta. Sin embargo, el producto resultante fue más duro, afectando la preferencia del consumidor (datos no publicados). Debido a lo anterior se continúan buscando nuevas opciones para la formulación.

Conclusión

Cada uno de los pasos llevados a cabo en este estudio nos demostraron que es posible el aprovechamiento de las proteínas del suero sanguíneo y que dicho beneficio se puede diversificar, cuando las fraccionamos.

Referencias

- Abdel-Aal, E. S. M., y P. Hucl (2002), "Amino Acid composition and In Vitro protein digestibility of selected ancient wheat and their end Products", *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 15 (6), pp. 737-747.
- AAAC. American Association of Cereal Chemists (2003), *Approved Methods of the AACC*, 10th. (ed.), Methods, 10-05, 10-90. 54-21, 54-30A, 74-09. St. Paul Minnesota. U.S.A., pp. 100-786.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists (1990), *Official Methods of Analysis of the AOAC.*, 15th. (ed.), sections, 960.52, 923.03, 934.01, 963.15, 985.35, 999.11., Washington, D.C. USA. pp. 69-771.
- Bradford, M. M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), pp. 248-254.
- BREF. (2005), "Integrated pollution prevention and control reference document on best available techniques in the slaughterhouses and animal by-products", European Commission, disponible en <http://eippcb.jrc.es/reference/sa.html>; consultado el 7 abril del 2010.

- Butler, J. E., Y. Zhao, M. Sinkora, N. Wertz, y I. Kacs Kovics (2009), "Immunoglobulins, antibody repertoire and B cell development", *Developmental and Comparative Immunology*, vol. 33 (3), pp. 321-333.
- Cardoso-Jiménez, D., E. Guzmán-Soria, J. A. García-Salazar, J. Juvenio Hernández-Martínez, M. A. Díaz-Carreño, R. Rojo-Rubio y S. Rebollar-Rebollar (2008), "Competitividad del comercio exterior de la porcicultura mexicana en el Tratado de Libre Comercio de América del Norte", *Ciencia Ergo Sum*, vol. 15 (2), pp. 126-131.
- Carter, D. C., B. Chang, J. X. Ho, K. Keeling y Z. Krishnasami (1994a), "Preliminary Crystallographic Studies of Four Crystal forms of Serum Albumin", *European Journal of Biochemistry*, vol. 226 (3), pp. 1049-1052.
- Carter, D. C., J. X. Ho y C. B. Anfinsen (1994b), "Structure of Serum Albumin" in *Advances in Protein Chemistry*, vol. 45, pp. 153-203.
- Castillo, R.L., H. L. Montoya y G. J. Ruíz (2002), "Tratamiento de residuos en rastro", *Ciencia y Desarrollo*, vol. 27 (160), pp. 48-53.
- Fernández-Michel, S. G. (2004), "Efecto de la adición de suero porcino sobre propiedades físicas, sensoriales y nutricias en panqué de chocolate", Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, (tesis maestría).
- Gallardo, J. L., L. Villamar y M. A. Barrera (2006), "Situación actual y perspectiva de la producción de carne de porcino en México", *Revista Claridades Agropecuarias*, vol. 158, pp. 3-34.
- Hushcha, T. O., A. I. Luik y Y. N. Naboka (2000), "Conformation changes of albumin in its interaction with physiologically active compounds as studied by quasi-elastic light scattering spectroscopy and ultrasonic method", *Talanta*, vol. 53 (1), pp. 29-34.
- Kinsella, J. E. (1976), "Functional properties of protein in Food: A Survey. Critical", *Review in Food Science and Nutrition*, vol. 7, pp. 219-280.
- Laemmli, U. K. (1970), "Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4", *Nature*, 227 (5259), pp. 680-685.
- Lechevalier, V., R. Jeantet, A. Arhaliass, J. Legrand y F. Nau (2007), "Egg white drying: Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities", *Journal of Food Engineering*, vol. 83 (3), pp. 404-413.
- Nelson, D. L. y M. M. Cox (2005), *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. New York, Freeman.
- Norma Oficial Mexicana (1995), "Análisis microbiológicos", normas, NOM-092-SSA1-1994, NOM-111-SSA-1994, NOM-112-SSA1-1994, NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994, Diario Oficial de la Federación, México, disponible en <http://www.economia-noms.gob.mx/noms/inicio.do>.

- Patel, P. D., A. M. Stripp y J. C. Fry (1988), "Whipping test for the determination of foaming capacity of protein: a collaborative study", *International Journal of Food Science y Technology*, vol. 23 (1), pp. 57-63.
- Pearce, K. N., y J. E. Kinsella (1978), "Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 26 (3), pp. 716-723.
- Pierce, J. L., G. L. Cromwell, M. D. Lindemann, L. E. Russell y E. M. Weaver (2005), "Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of early weaned pigs", vol. 83, pp. 2876-2885.
- Porath, J. (1986), "Salt-promoted adsorption: Recent developments", *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, vol. 376, pp. 331-341.
- Porath, J. (1988), "IMAC-Immobilized metal ion affinity based chromatography", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 7 (7), pp. 254-259.
- Ockerman, H. W., y C. L. Hansen (2000), *Animal by-products processing yutilisation*, Lancaster, Technomic Publishing.
- Queiroz, J. A., C. T. Tomaz y J. M. S. Cabral (2001), "Hydrophobic interaction chromatography of proteins", *Journal of Biotechnology*, vol. 87 (2), pp. 143-159.
- Raeker, M. Ö., y L. A. Johnson (1995), "Thermal and Functional Properties of Bovine Blood Plasma and Egg White Proteins", *Journal of Food Science*, vol. 60 (4), pp. 685-690.
- Ramos-Clamont, M. G. (2003), "Inmunoglobulinas séricas porcinas: purificación, generación de concentrados estables y caracterización parcial de la adhesión de patógenos a sus estructuras oligosacáridas", Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Hermosillo, Sonora, México, (tesis doctoral).
- Ramos-Clamont, M. G., M. C. Candia-Plata, R. Guzmán Zamudio y L. Vázquez-Moreno (2006), "Novel hydrophobic interaction chromatography matrix for specific isolation and simple elution of immunoglobulins (A, G, and M) from porcine serum", *Journal of Chromatography A*, vol. 1122 (1-2), pp. 28-34.
- Ramos-Clamont, G., S. G. Fernandez-Michel, E. Magallanes-Castaneda, X. G. Alba-Hinojosa, R. Robles-Burgueño y L. Vazquez-Moreno (2010), "Evaluation of Porcine Albumin as a Partial Replacement for Egg White in Chocolate Cakes", *Revista Científica-Facultad de Ciencias Veterinarias*, vol. 20 (4), pp 422-429.
- Ramos-Clamont, G., Fernández-Michel, S., Carrillo-Vargas, L., Martínez-Calderón, E., y Vázquez-Moreno, L. (2003), Functional Properties of Protein Fractions Isolated from Porcine Blood, *Journal of Food Science*, vol. 68 (4), pp. 1196-1200.
- Ramos-Clamont, M. G. y L. Vázquez-Moreno (2006), "Foaming properties of porcine serum and porcine serum albumin", *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 5 (2), pp. 105-111.

- SAGARPA (2010), *Departamento de certificación de cerdo seguro*, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Hermosillo, Sonora.
- Signorini, M., S. Civit-Gual, M. Bonilla-Padilla, M. E. Cervantes-Ramírez, M. Calderón-Vázquez, A. Pérez-Montecillo, M. P. Espejel-Maya y C. Almanza-Rodríguez (2006), “Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales”, COFEPRIS, 2011, disponible en 189.254.115.244/work/sites/cfp/resources/LocalContent/.../EVAL1.PDF; consultado el 1 abril,
- Svec, I., y M. Hrusková, “Evaluation of wheat bread features”, *Journal of Food Engineering*, vol. 99 (4), pp. 505-510.
- Tejeda, A., R. M. Montesinos y R. Guzmán (1995), *Bioseparaciones*, México, UNISON, pp. 419-490.
- Vázquez-Moreno, L., y M. C. Candia Plata (1995), “Scale up isolation of immunoglobulins from pig serum by immobilized metal affinity chromatography”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 19 (5), pp. 367-380.
- Vázquez-Moreno, L., J. Porath, S. F. Schluter y J. J. Marchalonis (1992), “Purification of a novel heterodimer from shark (*Carcharhinus plumbeus*) serum by gel-immobilized metal chromatography”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, vol. 103 (3), pp. 563-568.
- WHO/FAO/UNU Expert Consultation (1985), *Energy and protein requirements*, Geneva: World Health Organ Tech Rep, pp. 724-264.
- Winzerling, J. J., P. Berna y , J. Porath (1992), “How to use immobilized metal ion affinity chromatography”, *Methods*, vol. 4 (1), pp. 4-13.

Proteínas de la sangre animal: obtención industrial, valor nutritivo y funcionalidad

Gabriela Ramos-Clamont Montfort y Luz Vázquez Moreno

Resumen

En México se obtienen alrededor de 275 mil toneladas anuales de sangre producto del sacrificio animal. La mayor parte de ésta se tira al drenaje sin tratamiento previo. El impacto ambiental que causa este subproducto es difícil de evaluar por la escasez de datos. Un estudio realizado a 306 mataderos (25% del total registrado en nuestro país), indica la producción de 121 294 L de sangre/día, que contaminan más de 22 millones de L de agua. Únicamente 40 rastros y 15 mataderos de los estudiados usan la sangre obtenida para la elaboración de fertilizantes, desaprovechando el alto valor proteico de este producto. En otros países se han desarrollado sistemas de colección higiénica de la sangre, a la que se agregaron anticoagulantes para separarla por centrifugación en plasma y paquete celular. Estas fracciones se secan y pueden usarse para la alimentación humana. Del plasma se aprovechan las propiedades funcionales de sus proteínas, que pueden sustituir a las del huevo en productos de panadería, o formar geles que retienen agua y grasa para estabilizar emulsiones cárnicas, como salchichas, mortadelas, bolognas. Nuevas perspectivas para la utilización del plasma son la modificación de sus proteínas para mejorar sus propiedades funcionales, la formación de geles en frío para disminuir los fosfatos y la sal en productos cárnicos y la obtención de péptidos con capacidad antioxidante a partir de la hidrólisis enzimática de las proteínas del plasma. Por su parte el paquete celular contiene hierro hémico que puede utilizarse para tratar algunos tipos de anemias, ya que se absorbe en el organismo más efectivamente (20 a 35%) que el hierro

de fuentes vegetales o minerales (1-15%). Las limitantes del uso del paquete celular son los sabores y olores que imparte a los alimentos. Las perspectivas para resolver estos problemas son, la micro-encapsulación y la liberación del grupo heme para utilizar la fracción proteica y el hierro, por separado. Un nuevo e interesante uso del paquete celular se está desarrollando y es, la obtención de péptidos bioactivos con potencialidad farmacéutica y/o alimentaria. En México existe poco interés de la industria alimentaria para utilizar la sangre animal. Una de las causas es la escasa tecnología desarrollada en el país. Se requiere de mayor investigación para poder presentar opciones alternativas y viables a la industria.

Palabras claves: Subproductos del sacrificio animal, sangre, proteínas, funcionalidad, valor nutritivo.

Introducción

En el sacrificio de los animales para la producción de carne se obtienen diversos subproductos que pueden usarse como fuente de nutrimentos. Las costumbres alimenticias de los mexicanos permiten que parte de estos subproductos se conviertan en co-productos, siendo consumidos frecuentemente por la población. Tal es el caso de las vísceras, la cabeza de res y las patas de cerdo. El subproducto que se aprovecha menos, es además el más contaminante. Nos referimos a la sangre de sacrificio que constituye de 4 a 5% del peso vivo de los animales (Signorini y colaboradores, 2006). El uso de la sangre en México es escaso, se procesa como harina para aplicarlo como fertilizante. La mayor parte se desecha en las aguas residuales o efluentes, sin considerar su potencialidad farmacéutica y alimentaria. En esta revisión abordaremos la problemática ambiental que representa el sub-aprovechamiento de la sangre y como contraparte, los métodos de obtención y fraccionamiento de este producto, así como su valor nutritivo y la funcionalidad de sus proteínas, enfocándolas a las posibilidades desarrolladas para su consumo por humanos.

Impacto ambiental de la sangre de sacrificio

La descarga al drenaje de las aguas residuales de las plantas de sacrificio animal es un problema que requiere de solución urgente. La contaminación producida depende en gran medida de la carga biológica del agua y afecta de diferente manera a los cuerpos de agua y a las aguas subterráneas (BREF, 2005). Si la descarga es sobre un cuerpo de agua, la contaminación incide negativamente sobre la vida acuática. Además,

compromete el uso futuro del vital líquido (industrial, agrícola o para consumo humano). La estrategia de la naturaleza para disminuir los niveles de contaminación es oxidar a los componentes biológicos residuales. Lo anterior, a través de la acción de diferentes microorganismos que toman el oxígeno (O_2) disuelto en el agua, para llevar a cabo estas reacciones. Si la carga biológica es muy alta el O_2 disuelto puede acabarse, comprometiendo la vida de los peces y las plantas que habitan al cuerpo de agua (MWH, 2005). Por otro lado, si se pretendiera usar esta agua para consumo o para uso agrícola, sería mucho más costoso tratarla en este punto, en comparación con haberla tratado antes de salir de la planta de sacrificio (Li y colaboradores, 2008).

El problema empeoró aún más cuando las descargas fueron continuas. El cuerpo de agua al quedarse sin oxígeno, inició un proceso de eutricación. La materia orgánica se acumuló en forma de lodos y el cuerpo de agua terminó por secarse (MWH, 2005). En el caso de las aguas subterráneas, la contaminación persistió durante un tiempo mayor, debido a la escasa posibilidad de aireación y, por tanto, de oxidación de la materia orgánica (del Neri y colaboradores, 2007). Fue importante indicar que el tejido sanguíneo tenía un contenido orgánico muy alto y requería de gran cantidad de O_2 para que las bacterias la pudieran degradar.

El grado de contaminación de un efluente se evaluó a través de diferentes parámetros. Entre ellos se encontraban el pH, la Demanda Química de Oxígeno (DQO), la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), el contenido de nitrógeno y de sulfuros (MWH, 2005). La sangre de sacrificio animal tenía la mayor DBO de todos los líquidos que constituyeron a las aguas residuales de los mataderos, aportando hasta 40% de este valor (BREF, 2005). Lo anterior significó que si no se desechó al drenaje, se estaría reduciendo hasta 40% de la capacidad contaminante de esta agua.

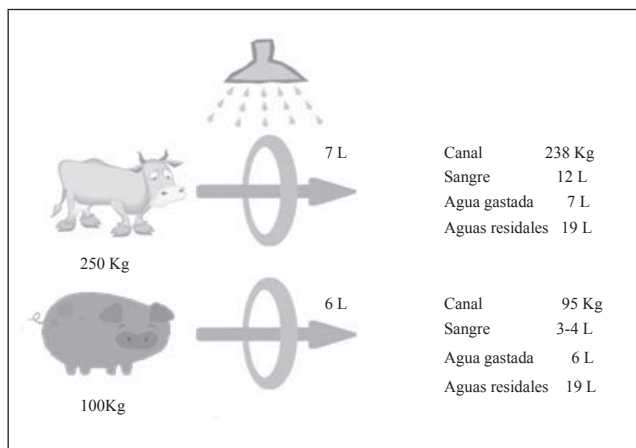
La DBO de la sangre de aves, bovinos y porcinos se estimó entre 140 a 200 g de O_2 /L. Es decir, se necesitaban entre 140 a 200 g de O_2 para oxidar un litro de sangre. Esta cantidad aumentó significativamente si la sangre se encontraba coagulada (DBO 900 g de O_2 /L) dificultando tratamientos posteriores y subiendo los costos considerablemente (BREF, 2005; Signorini, 2006). Por otro lado, la sangre contribuyó con grandes cantidades de nitrógeno (N_2) al efluente (30 g/L). El N_2 fue muy difícil de remover y por ello, participó de manera importante en los procesos de eutricación de los cuerpos de agua (BREF, 2005; Signorini, 2006).

Según la Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación en México (SAGARPA), el 50.5% del sacrificio de animales (bovinos, porcinos, aves, caprinos y equinos) se realizó en rastros y mataderos municipales. El 21.6% en plantas Tipo Inspección Federal (TIF) y 27.9% restante se llevó a cabo *in situ* (SAGARPA, 2009). La Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI), indicó que existen mil 061 Rastros Municipales y 154 establecimientos TIF en el país

(SECOFI, 2010). El impacto ambiental que provocaron las aguas residuales de todos estos establecimientos fue muy difícil de cuantificar, debido a la escasez de datos. Hay un trabajo de evaluación de riesgos realizado por Signorini y colaboradores, (2006), que pudo servirnos de referencia. En este estudio se cuantificó la sangre producida por rastros y mataderos municipales de poblaciones de más de 50 mil habitantes. En total se obtuvieron datos de 309 establecimientos de 259 municipios del país.

Los datos obtenidos por Signorini y colaboradores, (2006) indicaron que el 62.8% de los establecimientos estudiados no trataban el agua residual antes de verterla al drenaje y con ésto, 194 establecimientos produjeron diariamente y de manera individual, la misma contaminación que toda la población de Xalapa, Veracruz. Únicamente 40 rastros y 15 mataderos usaban parte de la sangre del sacrificio, destinándola principalmente para la elaboración de harina de sangre, que se aplicó como fertilizante. Los autores estimaron además que, por cada res sacrificada, se requieren 7 L de agua para canalizar la sangre al drenaje, mientras que se gastan 6 L por cada cerdo (figura 1). El aumento en el volumen de agua utilizado influyó en el volumen de agua residual que había que tratar, ya fuera en el matadero o en etapas posteriores.

Figura 1. Gasto de agua por canal para enviar la sangre de sacrificio al drenaje








Fuente: Signorini y colaboradores (2006).

Como se mencionó, la carga contaminante de una planta de sacrificio dependía fundamentalmente de la eficiencia en la recuperación de la sangre. En la tabla 1 se resumió la cantidad de sangre que se produjo del sacrificio de diferentes animales. Los

totales indicaron que sólo los establecimientos estudiados eliminaron 121 294 litros de sangre, que contribuyeron significativamente a la contaminación de los 22 734 560 L de agua/día, que se gastaron en la faena de los animales. Fue importante recordar que este estudio no contabilizó el total de rastros y mataderos y que no tomó en cuenta a las plantas TIF ni al sacrificio *in situ*. De lo anterior pudo estimarse que la cantidad real de litros de sangre eliminados y de agua contaminada por día pudo ser el triple o hasta el cuádruple de la cantidad determinada en el estudio de Signorini y colaboradores (2006). Somos un país en el que día con día se ha agravado el abasto de agua, es importante por lo tanto, tratar de contaminarla lo menos posible y la utilización de la sangre de sacrificio es una buena oportunidad para hacerlo.

Tabla 1. Cantidad diaria de sangre eliminada al drenaje-día por 309 rastros y mataderos municipales de la República Mexicana

Animal	Sacrificio diario	Sangre L/día	DBOS Kg/día
	6733.80	80 805.20	16 161.00
	9 179.40	27 538.20	5 508.00
	66 765.01	3 336.75	667.00
	577.80	9 179.40	1 836.00
	32.20	434.40	87.00
Total		121 294.35	24 259.00

Fuente: Signorini y colaboradores (2006).

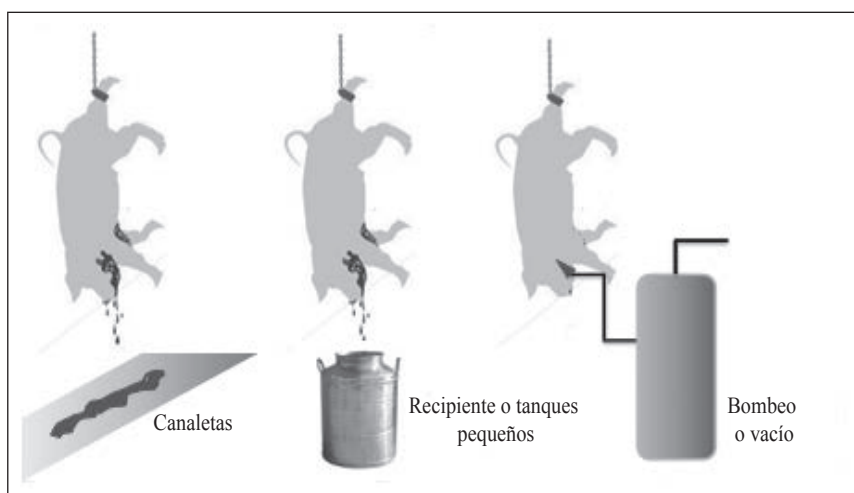
Sistemas de obtención de sangre y fraccionamiento de sus proteínas

Obtención de la sangre de sacrificio

La legislación mexicana sobre el sacrificio humanitario de animales estableció que el sangrado debía iniciarse lo más pronto posible después del aturdimiento del animal. Los tiempos recomendados para bovinos, caprinos, ovinos, equinos y venados han estado dentro de los 30 segundos después de la insensibilización. En cerdos, el sangrado se practicará dentro de los 20 segundos y en aves inmediatamente después del aturdimiento (NOM-033-ZOO-1995). Esta misma Norma indicó la técnica adecuada para el desangrado, dependiendo del tipo de animal que se fuera a sacrificar. Era importante que el animal se desangrara al máximo para garantizar la calidad de la carne (Ockerman y Hansen, 2000).

La planta de sacrificio debía contar con un sistema eficiente para recoger la sangre, cuyo diseño dependería de la cantidad de animales que se sacrificaran y del destino que se le quisiera dar al subproducto. Los principales sistemas de colección han sido por canaleta, en recipientes o tanques pequeños o con sistemas de extracción, utilizando cuchillos huecos (figura 2).

Figura 2. Métodos de colección de sangre de sacrificio



Fuente: elaboración propia.

Cuando la sangre se utilizó para harinas y alimentos para animales, la práctica común fue la implementación de un sistema de doble drenaje. La sangre se recogió entonces por canaletas. Durante el sacrificio, se abrió la tubería que canalizó la sangre preferentemente hacia un tanque de pre-inspección y posteriormente a otro tanque mayor de almacenamiento. Al término del sacrificio esta tubería se cerró y se abrió la segunda, dirigida hacia el desagüe, para permitir la limpieza de las instalaciones. El sistema podía ser manual o automatizado (BREF, 2005). Si el destino de la sangre fue la alimentación humana, se utilizaron los sistemas de colecta en tanques y extracción con cuchillo acanalado, cuidando la higiene a cada paso del proceso. Para el almacenamiento, fue recomendable coleccionar primero en un tanque pequeño de pre-inspección, para evitar deshacerse de grandes cantidades de sangre, en el caso de que se detectara algún problema en un animal, después del sacrificio (Ockerman y Hansen, 2000).

El uso de sangre entera para consumo humano no ha sido factible debido a su coloración y sobre todo a los olores y sabores desagradables que impartió a los alimentos. Esto último se debió a la escasa estabilidad del paquete celular ante la oxidación (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004; Burgeous y LeRoix, 1982). La mejor alternativa encontrada hasta el momento para usar la sangre en alimentos, fue separarla en suero sanguíneo y paquete celular. Industrialmente esto se logró adicionando anticoagulantes y fraccionándolo por centrifugación. Posteriormente, el plasma se congeló o deshidrató, para luego añadirlo a los alimentos (Ockerman y Hansen, 2000).

Obtención del plasma

a) Adición de anticoagulante

La sangre animal coaguló en 3-10 min dependiendo de la temperatura ambiente. Esto se debió a la trombina que convirtió al fibrinógeno soluble de la sangre en fibrina insoluble (Mateos y colaboradores, 2001). Para evitar la coagulación, se añadieron diferentes sustancias. El anticoagulante más usado fue el citrato trisódico [$Na_3(C_3H_5O(COO))_3$] en proporción de 2% p/v (López-Vázquez y Casp, 2004). En la práctica, para el caso de los cerdos, se añadieron 100 mL de $Na_3(C_3H_5O(COO))_3$ al 20%, por cada animal que será sacrificado (BREF, 2005). También se añaden citrato de sodio ($C_6H_5Na_3O_7$) o ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) en concentraciones de 0.2% directamente o diluidos en agua (2:1). Se preparó una solución 150 Kg de citrato y 300-400 L de agua, añadiéndose 0.5L de ésta por cada 15L de sangre (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). Los citratos quelaron o atraparon a los iones *Ca*. De esta manera no interaccionaron con la fibrina y se evitó la formación de la red tridimen-

sional que dio paso a la formación del coágulo (Mateos y colaboradores, 2001). La sal y los fosfatos también pudieron servir como anticoagulantes. Se preparó una mezcla conteniendo 22% de Na_2HPO_4 , 22% de $Na_2P_2O_7$, 16% $Na_2H_2P_2O_7$ y 40% de NaCl y se aplican 10 g/L de sangre (Ockerman y Hansen, 2000).

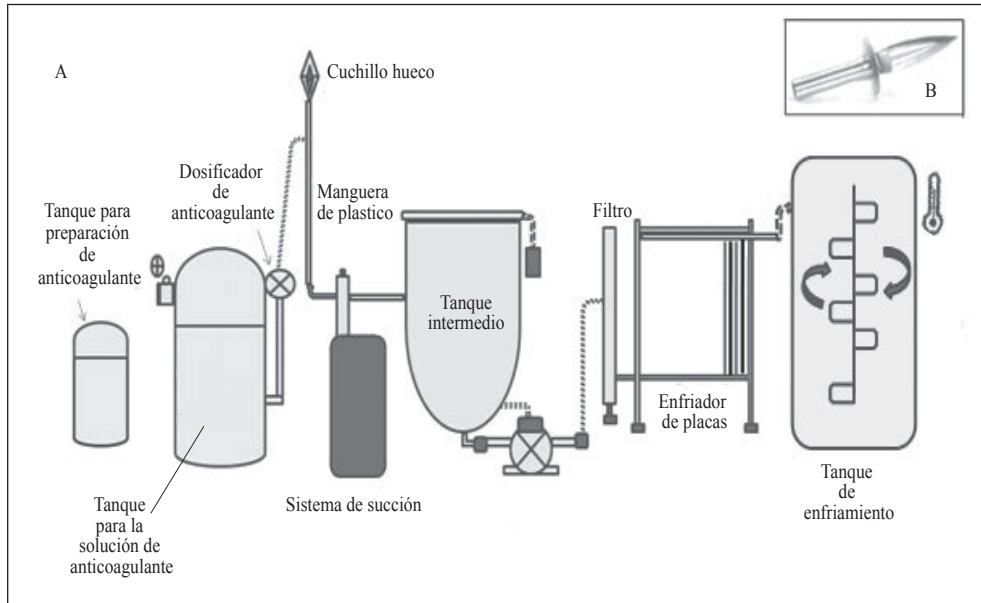
Otros anticoagulantes menos utilizados fueron los siguientes: las sales de heparina (Na, Li y Ca) se usaron a concentraciones de 200 mg/L cuando las proteínas de la sangre se destinaron a aplicaciones farmacéuticas (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). El ácido etilendiaminotetracético (EDTA, $Na_2C_{10}H_{14}N_2O_8$) se usó a razón de 2 g/L, permitido en varios países en productos de sangre para las industrias farmacéutica y alimentaria (Ockerman y Hansen, 2000). Los oxalatos de sodio ($Na_2C_2O_4$) y potasio ($K_2C_2O_4$) precipitaron al Ca. Se usaron en solución a 30% (1 g de solución/L de sangre) para aplicaciones estrictamente industriales, ya que eran tóxicos (Ockerman y Hansen, 2000).

b) Fraccionamiento

El procedimiento general para obtener plasma fue bombear la sangre hacia un tanque refrigerado (2-4 °C) con agitación, al que previamente se le ha añadido anticoagulante. De allí pasaron a la centrifuga industrial (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). Cuando se sacrificaron grandes cantidades de animales mayores se pudo utilizar el sistema de recolección cerrado (figura 3A). Este consistía de un tanque con anticoagulante que se dosificó con un caudalímetro hacia una manguera de succión de sangre. Esta manguera a su vez se encontraba conectada a una bomba de vacío que aspiró la sangre proveniente del animal, a través de un cuchillo hueco de doble filo (figura 3B). Cuando terminó el sangrado, el cuchillo se colocó en una banda de transporte que lo llevó a un sistema de limpieza automática (BREF, 2005; López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). Se usó un cuchillo hueco de doble filo, conectado a una manguera de succión por vacío (figura 3B). La sangre succionada se colectó en un contenedor, se filtró y se enfrió a 2 °C en un intercambiador de calor, para posteriormente ser almacenada a la misma temperatura en un tanque de refrigeración con agitación.

El sistema de succión por cuchillo hueco permitió obtener sangre de excelente calidad. Su principal desventaja fue que se obtuvo menor cantidad de sangre (Ockerman y Hansen, 2000). Ello debido a la contrapresión que ejerció el cuchillo y a que éste sólo permaneció 20-40 segundos en el animal por el gran volumen de sacrificio. Además, no fue posible que el operador supiera si la incisión fue precisa (BREF, 2005). Por lo anterior, la canal debería estar colgada después del proceso para facilitar la salida de la sangre remanente (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004).

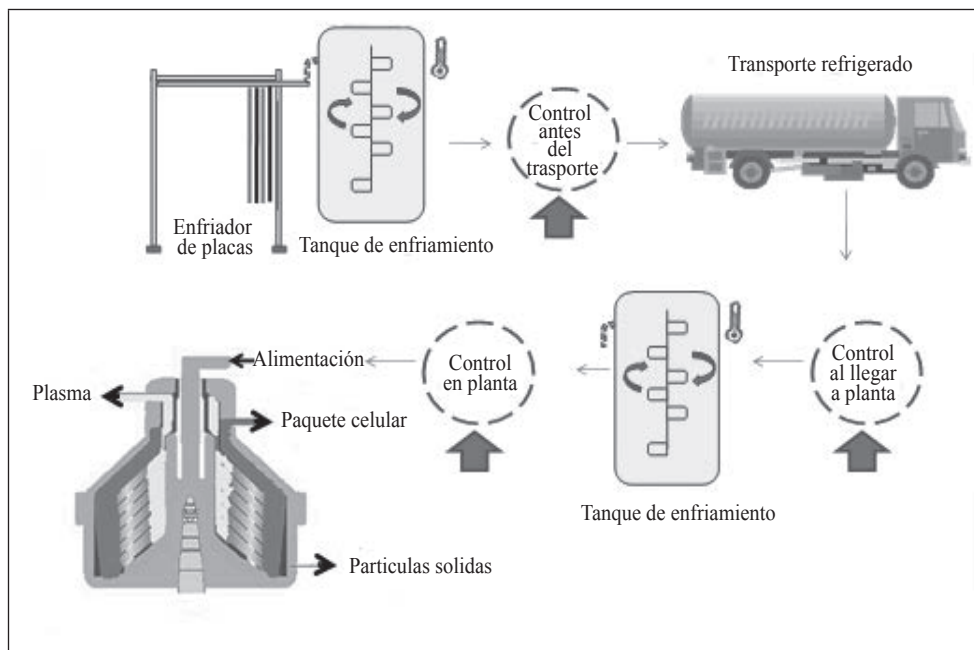
Figura 3. Sistema de recuperación por succión y enfriamiento de sangre de sacrificio para consumo humano



Fuente: Modificado de Madrid (1999).

La sangre almacenada debía permanecer a bajas temperaturas hasta antes de la centrifugación. Esta operación pudo llevarse a cabo en la planta de sacrificio o en la de procesamiento. En este último caso, se establecieron controles de inspección antes que la sangre deje el matadero, cuando llegó a la planta procesadora y antes de ser centrifugada (figura 4). Los puntos críticos de control serían la temperatura, la correcta higienización de tanques y pipas y la necesidad o no, de que la sangre volviera a ser filtrada (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004).

Figura 4. Centrifugación de la sangre para la obtención de plasma y operaciones que la anteceden



Fuente: Modificado de BREF (2005).

La centrifugación de la sangre se llevó a cabo aplicando la Ley de Stokes, aprovechando la diferencia de densidad entre el plasma y el paquete celular. En la figura 4 se mostró el corte transversal de una centrífuga de discos típica. La sangre entró por la parte superior y pasó a través de una válvula de flotación que la distribuyó hacia una serie de discos que giraban a muy alta velocidad. El paquete celular, que fue más pesado, se concentró hacia las paredes de la centrífuga. Desde allí se expulsa a una tubería que lo lleva a un tanque de almacenamiento refrigerado. Por otro lado, el plasma que es más ligero se concentra en el centro dirigiéndose hacia una salida diferente (Mc Cabe y Smith, 1998). Si llegaran a existir sólidos o partículas gruesas más pesadas que el paquete, éstas se concentrarían en ranuras pegadas a la pared del aparato, pudiendo ser retiradas durante la limpieza o expulsadas por un tercer compartimiento como se apreció en la figura.

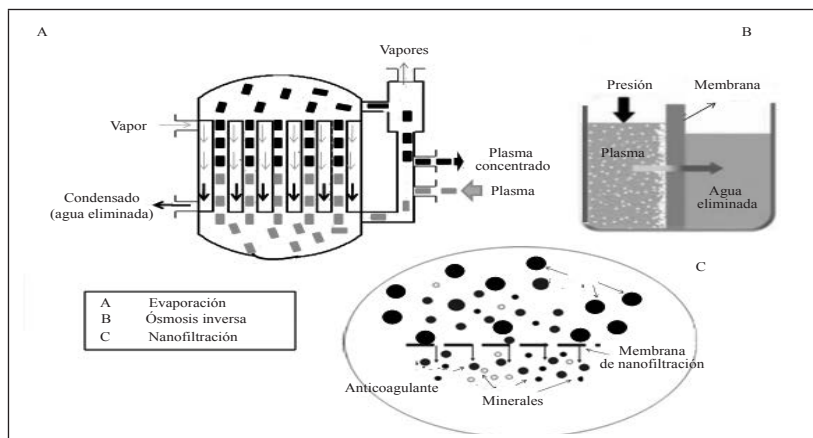
c) Concentración del plasma

Después de la centrifugación, el plasma se almacenó en un tanque de acero inoxidable refrigerado y se enfrió a 4°C. Las operaciones subsecuentes dependerían del tiempo de consumo. Para consumo inmediato el plasma se refrigeró. Si sería utilizado a los pocos meses, podría congelarse. Lo más recomendable fue deshidratarlo para alargar su vida de anaquel al máximo (BREF, 2005; Ockerman y Hansen, 2000). El plasma contenía 91% de agua, antes de congelarlo o secarlo había que eliminar parte del agua por concentración; de esta manera se ahorraría energía (BREF, 2005).

Actualmente se han aplicado tres operaciones de concentración (figura 5). La tradicional que fue la evaporación, la ósmosis inversa y la nanofiltración. Con estos procesos se elimina hasta el 75% del agua inicial contenida en el plasma y se concentraron los sólidos hasta 21-24% (BREF, 2005). La evaporación se llevó a cabo en un intercambiador de calor; el plasma entró por el extremo inferior, se dirigió por bombeo hacia un conjunto de placas acanaladas, cuyas paredes estaban en contacto con otra serie de placas alternas por donde fluía el vapor (figura 5A). El contacto entre placas provocó que el vapor transfiriera su calor al plasma, evaporando parte de su contenido de agua. El sistema usó bajas presiones (0.3-0.5 atm) para evitar que el calor dañara a las proteínas del plasma (McCabe y Smith, 1998).

En la ósmosis inversa se usaron sistemas de dos compartimientos separados por una membrana semipermeable (figura 5B). El plasma entró a presión (40 atm) al primer compartimiento. De esta manera se promovió la salida de agua hacia el segundo y la concentración del producto (Allgeier y Scott-Summers, 1995; BREF, 2005). La ósmosis pudo combinarse con la nanofiltración (figura 5C), donde se utilizaron nanomembranas que permitieron el paso de minerales y anticoagulante, pero no las proteínas (figura 5C). La nanofiltración también pudo usarse de manera individual para concentración del plasma (BREF, 2005).

Figura 5. Principio de las operaciones utilizadas para la concentración del plasma



Fuente: elaboración propia.

d) Congelación del plasma

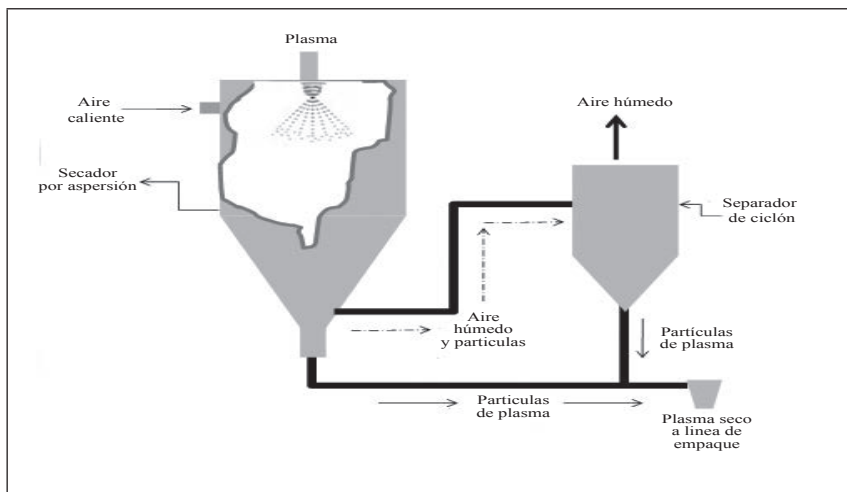
El plasma concentrado se congeló en hojuelas fabricadas en equipos semejantes a los empleados en la producción de helados. Éstos tenían un cilindro giratorio y un cuchillo de raspado para obtener las hojuelas que se almacenaron a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar su agregación. Las hojuelas se usaron en la elaboración de productos cárnicos emulsionados como salchichas y mortadelas. La congelación conservó las propiedades funcionales de las proteínas del plasma y favoreció la mezcla en las cortadoras (Ockerman y Hansen, 2000).

e) Deshidratación

Para deshidratar al plasma se utilizó el secado por aspersión. Esta operación implicó asperjar el plasma a alta presión (25-30 bar), usando un pulverizador que formó pequeñas gotas (10–200 μm de diámetro), que fueron proyectadas hacia una cámara de secado (figura 6). Al caer las gotas, entraron en contacto con una corriente de aire caliente, que evaporó la humedad rápidamente, convirtiendo a la gota en una partícula de polvo (Birchal y colaboradores, 2006). Era importante que las gotas tuvieran

un tamaño uniforme y que se produjeran con un ritmo consistente, para que todas las partículas se expusieran a las mismas condiciones de temperatura (Huang y Mujumdar, 2003). El aire que circuló a través de la cámara de secado era aire atmosférico que se pasó primero por un filtro y luego por un calentador de vapor o un calentador de gas indirecto, para posteriormente formar una corriente con ayuda de un ventilador. Las temperaturas utilizadas para el aire fueron 240°C de entrada y 90 °C de salida. El tiempo de contacto del aire con las gotas de plasma fue de 15 a 30 segundos (BREF, 2005). El polvo se colectó por la parte inferior de la cámara. El aire húmedo con algunas partículas de plasma se dirigió hacia un separador de ciclón para recuperar polvos. Al término del proceso el plasma se embolsó y se almacenó. El plasma seco contenía de 5 a 7% de humedad (Ockerman y Hansen, 2000). El plasma deshidratado se utilizó en la industria cárnica o como ingrediente para mejorar la salud del animal (Gao y colaboradores, 2011; Dávila y colaboradores, 2007).

Figura 6. Diagrama del secado por aspersión de plasma sanguíneo



Fuente: Adaptado Ockerman y Hansen (2000).

Paquete celular

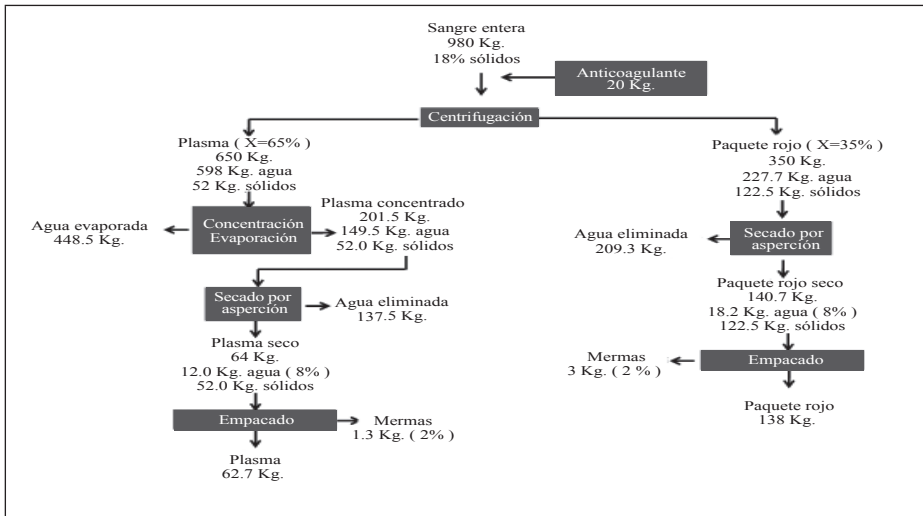
El paquete celular o paquete rojo de la sangre que se obtuvo de la centrifugación, se bombeó a alta presión hacia un secador por aspersión, posteriormente se embolsó y almacenó. En este caso no se requirió de una pre-concentración ya que esta fracción

contenía 30-40% de sólidos. La temperatura de secado fue más elevada que para el plasma ($\geq 250^{\circ}\text{C}$). El paquete rojo se usó como colorante natural en la industria cárnica, como ingrediente de alimentos para mascotas y pienso animal o como fertilizante (BREF, 2005).

Balance general de la obtención de plasma

Después de las operaciones antes mencionadas y a partir de 980 Kg de sangre y 20 Kg de anticoagulante se obtuvieron 138 Kg de paquete celular o paquete rojo y 62.7 Kg de plasma sanguíneo seco (figura 7).

Figura 7. Balance de materia de la obtención de plasma y paquete rojo a partir de 980 Kg de sangre



Fuente: Ockerman y Hansen (2000).

Inocuidad de la sangre y sus fracciones

Cualquier producto para consumo humano debía ser inocuo y en lo que respecta a la sangre, una de las principales preocupaciones fue la contaminación con patógenos que pudieran transmitirse al humano.

Contaminación microbiológica

La sangre de los animales sanos se encuentra esencialmente libre de microorganismos (Ockerman y Hansen, 2000). El riesgo de animales septicémicos, ha sido limitado, ya que la Legislación Mexicana indicó que los animales debían ser inspeccionados antes del sacrificio. La sangre fue un medio de cultivo ideal para los microorganismos y pudo contaminarse fácilmente durante la obtención y fraccionamiento, si no se establecieron los cuidados especiales (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). El procedimiento de colección determinó la calidad microbiológica de la sangre. Por ejemplo, en los sistemas cerrados como el del cuchillo hueco las cuentas microbianas fueron bajas ($<10^4$ UFC/ml) (Ockerman y Hansen, 2000). Además, el establecimiento de sistemas de control como el sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés) en la planta de sacrificio y de buenas prácticas de manufactura durante el fraccionamiento, evitaron la contaminación de las fracciones proteicas (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003a). Los principales puntos críticos serían entonces la inspección veterinaria, el método de colección y el tiempo y la temperatura de almacenamiento.

En nuestro país, la inspección veterinaria del animal es obligatoria. Sin embargo, sólo alrededor de 22% del sacrificio animal (Plantas TIF) se llevó a cabo en las mejores condiciones higiénicas (Signorini y colaboradores, 2006). Por otro lado, en México no han existido sistemas cerrados de colección de sangre, ni en todas las plantas de sacrificio se han implementado controles de calidad. Lo anterior implicó que la sangre obtenida fue muy susceptible a contaminarse. Por ello es necesario establecer mayores controles de calidad en los rastros municipales y promover la investigación para desarrollar nuevas técnicas de preservación de la sangre. A continuación se resumieron los principales estudios encontrados. La sangre es un producto muy perecedero que se altera rápidamente por acción de los microorganismos aportados durante el sangrado y las subsecuentes manipulaciones, bajo condiciones estrictamente controladas. Ramos-Clamont y colaboradores, (2003b) no detectaron contaminación de la sangre, paquete celular o suero con salmonela, coliformes o estafilococos. En contraste, los valores aproximados de las cuentas iniciales de un sistema abierto de colección de sangre en España fueron los siguientes: 10^6 UFC/g de mesofílicos aerobios, tres mil UFC/g de *Staphylococcus aureus*, 790 UFC/g de clostridios y cinco mil UFC/g de enterobacterias (Parés, 1998). Si la sangre entró en contacto con el contenido intestinal del animal, pudo contaminarse con enterobacterias de los géneros *Yersinia spp* y *Salmonella spp* o con algunas coliformes enteropatógenas (BREF, 2005; Ockerman y Hansen, 2000).

Después del sangrado y durante el almacenamiento en frío, la sangre y sus fracciones pudieron contaminarse con psicrófilos, entre los que destacó el género *Pseudomonas*. También, con otros organismos saprófitos, hemolíticos o proteolíticos, que alteraron sus propiedades orgnolépticas (BREF, 2005). Las cuentas iniciales encontradas por Parés (1998) para cada grupo de los microorganismos mencionados, fueron de alrededor 100 mil UFC/g.

Posibilidades de preservación

Fue posible considerar un tratamiento de saneamiento para mejorar la calidad microbiológica de la sangre. En general ha sido difícil someter a la sangre a tratamientos térmicos. Los experimentos en laboratorio han demostrado que una pasteurización de cuatro minutos a 68 °C, en un intercambiador de placas mejoró notablemente la calidad microbiológica de la sangre. Este sistema no pudo aplicarse a nivel industrial debido a la rápida oclusión de las placas del intercambiador (Ockerman y Hansen, 2000). En algunos países en desarrollo la vida de anaquel de la sangre se prolongó mediante la adición de 13 % de sal (actividad de agua, 0.88). Sin embargo, microorganismos como *Staphylococcus aureus* pudieron seguir creciendo a estas actividades de agua (Fornias, 1996).

La mejor alternativa de conservación de sangre fresca y sus fracciones ha sido, hasta el momento, la refrigeración. En sangre entera refrigerada entre 4 y 8° C no se observaron cambios sustanciales en la cuenta microbiana total, durante 3-5 horas. En cambio, a temperaturas de 8 a 11 °C se observó un aumento significativo de mesofílicos y coliformes (Ockerman y Hansen, 2000).

El grupo de investigación de la Universidad de Girona en España, ha realizado diferentes estudios de preservación de la sangre. Una estrategia sencilla y económica que han investigado, fue la preservación de la sangre con cultivos de Bacterias Lácticas (LAB). Como primer paso aislaron LAB de las instalaciones de rastros comerciales, encontrando una alta prevalencia (>90%) de cuatro especies, *Enterococcus raffinosus*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus reuteri* y *Lactococcus garvieae*. Posteriormente, estudiaron la actividad antagonica de las LAB hacia los principales microorganismos que contaminaron a la sangre, encontrando que pudieron inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *Bacillus* spp, aunque no a *E. coli* (Dávila y colaboradores, 2006a).

En un estudio posterior escogieron a las cepas con mayor capacidad antagonica, la PS99 (*Enterococcus raffinosus*) y la TA43 (*Lactobacillus reuteri*) e inocularon sangre en almacenamiento con éstas. Posteriormente, monitorearon el crecimiento de microorganismos contaminantes. Después de 144 horas a 5 °C observaron que el

crecimiento de coliformes, *Pseudomona* spp, y de bacterias hemolíticas y proteolíticas fue significativamente menor que en la sangre no inoculada. La PS99 resultó la mejor cepa y aumentó su actividad inhibitoria cuando se le añadió a la sangre 2 % de inulina (Dávila y colaboradores, 2006b). La inulina es un carbohidrato prebiótico que pudo ser aprovechado por la PS99, estimulando su crecimiento y, por tanto, la capacidad de competencia de la PS99 contra los microorganismos saprófitos que contaminaron la sangre.

Para completar el estudio el grupo de Girona inoculó paquete celular con PS99, 72 h a 5 °C. En seguida, aplicó presión hidrostática (400 MPa por 15 min a 20 °C) y determinó el efecto de este tratamiento en el crecimiento microbiano y sobre las propiedades funcionales (capacidad de espumar y emulsificar, solubilidad) del paquete. Encontraron que la combinación de las tres barreras (temperatura, actividad bacteriana antagonica y presión hidrostática) resultó más efectiva para inhibir el crecimiento de los saprófitos antes mencionados. El efecto sobre las propiedades funcionales del paquete no fueron significativas (Saguer y colaboradores, 2007).

Encefalopatía espongiiforme bovina

La encefalopatía espongiiforme que afectó a bovinos y a otros rumiantes ha causado gran preocupación desde que se probó que la enfermedad podía traspasar la barrera de las especies e infectar al humano, provocando con ello una nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (Hill y colaboradores, 1997). A partir de este momento las legislaciones de todos los países y el *Codex Alimentarius* han establecido que, por razones de seguridad, no debían consumirse proteínas de la sangre provenientes de rumiantes. En cambio, no existieron restricciones para las proteínas sanguíneas provenientes de porcinos y aves, animales en los que no se ha detectado este tipo de enfermedades (EC, 2001).

Proteínas del plasma, valor nutricional y propiedades funcionales

Valor Nutricional

El plasma sanguíneo está compuesto por 91% de agua 7-8% de proteínas y 1% minerales (Ockerman y Hansen, 2000). Contiene las principales proteínas de la sangre, excepto la hemoglobina. Es una mezcla compleja en la que destacan tres fracciones: la albúmina (60%), la fracción globina (35%, principalmente inmunoglobulinas) y el

fibrinógeno (4%). Su contenido proteico (70 a 80 g de proteínas /L) es el doble que el de la leche (35 g/L), como se aprecia en la tabla 2 (Burgeois y LeRoux, 1982).

Tabla 2. Composición comparativa entre el plasma sanguíneo y la leche

<i>Por litro</i>	<i>Plasma sanguíneo</i>	<i>Leche</i>
Proteínas	70 a 80 g	34 g
Lípidos	5 a 6 g	35 g
Glúcidos	1 g	49 g
Sales minerales	8 a 9 g	9 g
Otras sustancias	2 a 3 g	Residuos
Materia seca total	86 a 99 g	127

Fuente: Burgeois y LeRoux (1982).

El principal aminoácido limitante del plasma bovino y porcino es la metionina (tabla 3). Llama la atención el alto contenido de lisina, por lo que el plasma sanguíneo pudiera utilizarse en mezclas con otras fuentes proteicas deficientes en este aminoácido, por ejemplo el maíz.

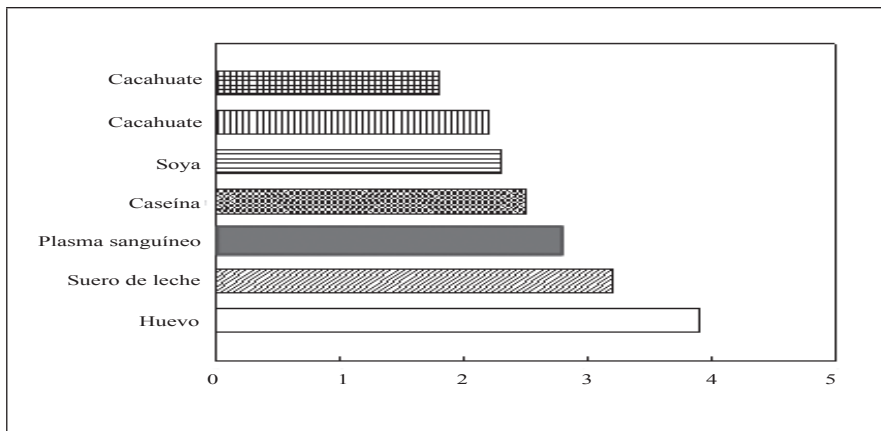
Tabla 3. Comparación del contenido de aminoácidos esenciales en plasma bovino y porcino con requerimientos para niños de 6-12 años

<i>Aminoácidos Esenciales</i>	<i>Plasma g/100 g de proteína</i>		<i>g/100 g de proteína* niños 6-12 años</i>
Histidina	5.80	5.68	1.9
Isoleucina ^b	1.08	1.28	2.8
Leucina	10.03	8.88	4.4
Licina	9.10	5.33	4.4
Metionina ^a	0.39	0.75	2.2
Phe + Trp	13.70	7.33	2.2
Treonina	5.01	2.28	2.8
Valina	5.65	6.18	2.5

Fuente: Bracho y colaboradores (2001). ^aPrimer aminoácido limitante; ^bsegundo aminoácido limitante. *WHO/FAO/ONU, (1985). **Estos valores corresponden a la sumatoria de metionina + cisteína. ***Fenilalanina + Tirosina.

La calidad biológica de las proteínas del plasma fue alta. Presentó valores de digestibilidad mayores a 90% y de razón de eficiencia proteica (PER, por sus siglas en inglés) mayores a la caseína de la leche, como se observó en la figura 8. El plasma tenía un PER de 2.8, lo que significó que por cada gramo de proteína que se consuma habría una ganancia en peso o un crecimiento en el organismo correspondiente a 2.8 g en (Del Rio-de Reys y colaboradores, 1980).

Figura 8. Comparación de la relación de eficiencia proteica (PER) de las proteínas del plasma sanguíneo con las de otras fuentes alimentarias



Fuente: elaboración propia.

El valor nutritivo de las proteínas del suero pudo ser aprovechado para enriquecer alimentos. Por ejemplo, la sustitución del 4% de suero porcino en panqués de chocolate aumentó la cantidad de proteína del panecito de 6 a 12%, sin afectar color, sabor y textura (Fernández-Michel y colaboradores, 2006). Para cada tipo de alimento que se desee fortificar, debería hacerse un estudio del efecto de la adición tanto en las propiedades nutricias, como en las fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del producto resultante.

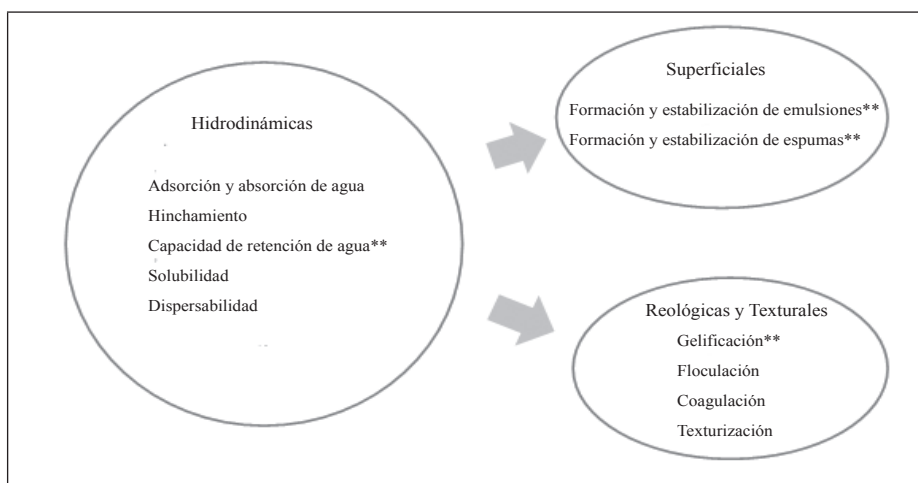
Propiedades funcionales

La función nutricia de las proteínas es el aporte de aminoácidos al organismo. Éstos, serán destinados a la construcción de células, tejidos y órganos, o a la síntesis de

proteínas activas como enzimas, lectinas, anticuerpos, hormonas, etc. (Nelson y Cox, 2005). Otras funciones importantes que desempeñan las proteínas son, las hidrodinámicas, superficiales y estructurales, que se relacionan con la apetencia, estabilidad y características organolépticas de los alimentos.

Se conocen como funcionales a las propiedades físicas y químicas que afectaron el comportamiento de las proteínas en los sistemas alimentarios durante el procesamiento, almacenamiento, y consumo (Kinsella, 1976). En la figura 9 se mostraron las principales propiedades funcionales de las proteínas. Las capacidades espumante, gelificante, emulsificante y de retención de agua, fueron propiedades que pudieron impartir las proteínas del plasma sanguíneo (Salvador y colaboradores, 2009; Dávila y colaboradores, 2007; Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b).

Figura 9. Algunas propiedades funcionales de las proteínas; () Propiedades importantes que imparten las proteínas del plasma**

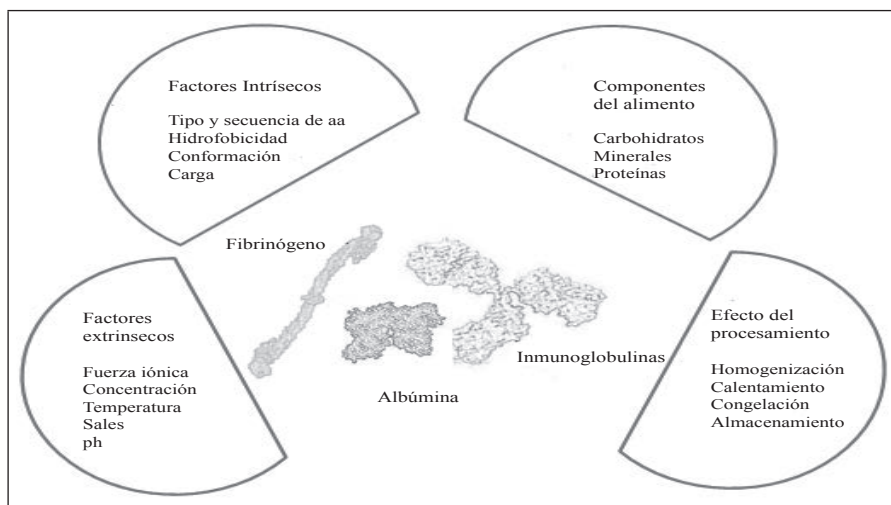


Fuente: elaboración propia.

Las proteínas del suero son más utilizadas por sus propiedades funcionales que por su valor nutricional. Su funcionalidad dependía de factores intrínsecos y extrínsecos (figura 10) (Kinsella, 1976), que incluyeron el tamaño, la forma, la composición y secuencia de aminoácidos (*aa*) de la proteína, así como su conformación, carga neta, distribución de cargas y relación hidrofobicidad/hidrofilicidad (Damodarán, 1996). Debido a que el plasma estaba compuesto principalmente por albúmina, globulinas y fibrinógeno, serán las características intrínsecas de estas proteínas las

que influyeron más en las propiedades funcionales del plasma (Dávila y colaboradores, 2007). También influyeron las características fisicoquímicas del ambiente, del alimento (moléculas que rodearon a las proteínas), y el efecto del procesamiento (Del Hoyo y colaboradores, 2008). Los enlaces covalentes y no-covalentes jugaron un papel importante en eventos que definían la solubilidad, capacidad de retención de agua y humectabilidad. Este fue el caso de la atracción de agua y solutos hacia las proteínas y la humectabilidad, mientras que la repulsión del agua por las secciones hidrofóbicas de la proteína influirían en la capacidad para estabilizar espumas y emulsiones (Burgeois y Le Roux, 1982).

Figura 10. Factores que influyen en las propiedades funcionales de las proteínas del plasma



Fuente: De Wit (1998).

a) Solubilidad

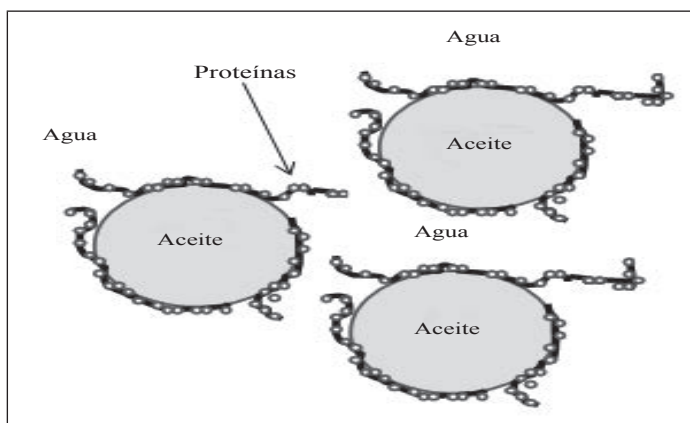
La solubilidad en agua, a pH cercano a ocho, del plasma proveniente de ave, bovino y porcino es de 90, 95 y 93% respectivamente (Dávila y colaboradores, 2007; Del Rio-de Reys y colaboradores, 1980; Tybor y colaboradores, 1975). A pH entre 4.5 y 7.5 el suero (plasma sin fibrinógeno) porcino presentó una solubilidad entre 85 y 93%, siendo el pH de 6.0 al que se presentó la menor solubilidad por estar más cercano al punto isoeléctrico de las proteínas mayoritarias (Dávila y colaboradores, 2007). Si se separó la fracción

albúmina de las inmunoglobulinas se observó que la albúmina porcina presentaba una solubilidad en agua cercana a 92-95% a pH 7 (Dávila y colaboradores, 2007; Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b), mientras que las inmunoglobulinas porcinas entre 75 y 85% (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b). Los datos de solubilidad de las fracciones fueron útiles cuando estas se separaron para utilizarse en diferentes aplicaciones. Por ejemplo, las inmunoglobulinas pudieron obtenerse para elaborar preparaciones que previnieran diarreas en animales pequeños. Su solubilidad pudo acrecentarse aumentando la fuerza iónica, por ejemplo en presencia de soluciones de fosfatos. Por otro lado, la albúmina pudo utilizarse para enriquecer alimentos o mejorar su funcionalidad, diluyéndola fácilmente en agua (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b).

b) Capacidad emulsificante

Las proteínas estabilizan emulsiones cuando sus *aa* hidrofóbicos interaccionan con el aceite y los hidrofílicos con el agua presentes en una emulsión (figura 11).

Figura 11. Emulsión estabilizada por proteínas



Fuente: elaboración propia.

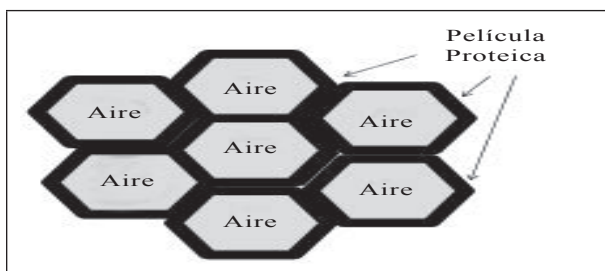
Han existido varios métodos para determinar la capacidad emulsificante de las proteínas, entre ellos se encuentran el Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y la Estabilidad de Emulsión (EE). El plasma y el suero porcinos mostraron IAE entre 440 y 600 m²/g cuando se determinaron en emulsiones obtenidas con aceite de maíz, utilizando concentraciones de plasma de 5 mg/mL (Dávila y colaboradores, 2007).

El IAE del plasma bovino fue de 646 m²/g (Prata y Sgabriel, 2008). La estabilidad de las emulsiones obtenidas fue muy buena, ya que después de aplicar condiciones de desestabilización y almacenar durante 14 días, solo se observó la separación del 1.3% del aceite emulsionado (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b). La capacidad emulsificante de la albúmina obtenida del fraccionamiento del suero fue significativamente mayor (de 2 a 5 veces más), que la del plasma o suero completos (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b). Este efecto dependería del pH. En la medida que la albúmina se acercó a su punto isoeléctrico (4.8) disminuyó su capacidad emulsificante, posiblemente por efectos de agregación (Dávila y colaboradores, 2007). Debería tomarse en cuenta el pH del alimento al que se le iba a agregar. En el caso del plasma y suero el efecto del pH fue menor, debido a que fueron una mezcla compleja de proteínas. La albúmina podría utilizarse para estabilizar emulsiones cercanas a la neutralidad, mientras que el plasma y suero en alimentos que tuvieran pH bajos como aderezos para ensalada y mayonesas.

c) *Capacidad espumante*

Como se apreció en la figura 12, las proteínas estabilizaron espumas formando una película flexible alrededor de las burbujas de aire incorporadas a un alimento. La película impidió la coalescencia de las burbujas (Damodaran, 1996; Halling, 1981).

Figura 12. Espuma estabilizada por proteínas



Fuente: elaboración propia.

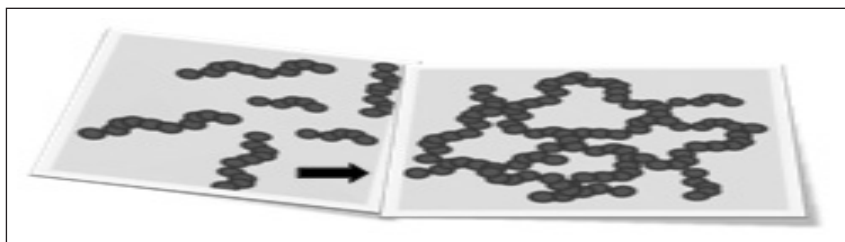
La capacidad espumante (CE; efectividad para encapsular gas) de las proteínas del plasma, suero y albúmina porcina fueron comparables a las de las proteínas del huevo (Dávila y colaboradores, 2007; Ramos-Clamont y Vázquez Moreno, 2006); Los cambios en el pH no influyeron significativamente, excepto por el suero porcino

que a pH de 4.5, presentó una disminución del 16% de su CE (Dávila y colaboradores, 2007). La estabilidad de las espumas (tiempo en que permanecieron sin destruirse), producidas con albúminas porcina y bovina, fueron comparables a las espumas de huevo y mayor que las producidas con plasma y suero (Ramos-Clamont y Vázquez-Moreno, 2006). La capacidad espumante de las proteínas de la sangre permitió que pudieran aplicarse por ejemplo, en la elaboración de espumas sólidas como productos de panadería. Ramos-Clamont y colaboradores (2010), encontraron que la albúmina porcina puede sustituir hasta 50% de la clara de huevo en una formulación de panqués de chocolate, sin afectar las características organolépticas ni la aceptación del producto por consumidores frecuentes de este tipo de pastillitos.

d) Capacidad gelificante

La habilidad de formar geles inducidos por calor fue la mejor propiedad funcional del plasma y se aprovechó principalmente en la elaboración de productos cárnicos (Damodaran, 1996). Durante la cocción de pastas cárnicas, las proteínas del plasma se desnaturalizaron parcialmente, exponiendo secuencias de aminoácidos hidrofóbicos y grupos sulfhidrilos que permitieron la interacción proteína-proteína para formar una red tridimensional como la que se esquematizó en la figura 13 (Pietrazic y colaboradores, 2007). Esta red se estabilizó posteriormente por puentes de hidrógeno y es muy útil en la elaboración de productos cárnicos porque atrapó agua y grasa (Dávila y colaboradores, 2007). La capacidad gelificante de las proteínas del plasma dependía del pH, la temperatura, la concentración de proteína y la cantidad de sal que presentó en el alimento (Totosaus y colaboradores, 2002). Los geles de albúmina porcina se tornaron débiles a pH entre 4.5 y 6, debido a que disminuye la posibilidad de establecimiento de puentes disulfuro (Stewart y colaboradores, 2005).

Figura 13. Interacciones proteína-proteína en la formación de geles inducidos por calor en proteínas del plasma



Fuente: elaboración propia.

Existen diferentes estrategias para mejorar la fuerza de los geles de proteínas del plasma a diferentes pH . Se ha modificado a estas proteínas por acilación, alquilación, esterificación, formación de amidas, oxidación y combinaciones de estas reacciones. Pero estas modificaciones no fueron factibles para alimentos por su posible toxicidad y pérdida de valor nutritivo (Means y Feeney, 1998). En los tratamientos físicos destacó la aplicación de presiones hidrostáticas capaces de modificar la conformación de las proteínas. Los geles obtenidos por este medio también fueron susceptibles a los cambios de pH (Parés y Ledward, 2001). Otra opción fueron las modificaciones enzimáticas. En este sentido, los tratamientos con transglutaminasa, una enzima con efecto entrecruzante, pudieron contribuir a obtener geles estructuralmente más fuertes (Fort y colaboradores, 2007).

Actualmente, se estudió la manera de inducir la gelificación de las proteínas del plasma en frío. Para ello se requirieron concentraciones elevadas en fibrinógeno, promoviendo la gelificación con calcio (Herrero y colaboradores, 2009). La aplicación tecnológica de este tipo de gelificación en cárnicos, contribuiría a reducir el contenido de cloruro de sodio y fosfatos en las formulaciones de salchichas, pasteles de carne, mortadelas. Lo anterior fue importante ya que la sal y los fosfatos estaban relacionados con enfermedades óseas y cardiovasculares (Desmond, 2006; Kemi y colaboradores, 2006).

Propiedades funcionales de péptidos

Otra estrategia para mejorar las propiedades funcionales del plasma fue la hidrólisis enzimática (Kong y Xion, 2006). Por ejemplo, los tratamientos con alcalasa produjeron péptidos de alta solubilidad, aunque con capacidad emulsificante muy disminuida, en comparación con las proteínas originales. Algunos de ellos fueron candidatos a ser utilizados como antioxidantes. Tal fue el caso del tetrapéptido HNGN (Liu y colaboradores, 2010).

Valor nutricional y propiedades funcionales del paquete celular

Valor nutricional

El paquete celular contenía las 2/3 partes de las proteínas de la sangre, siendo la hemoglobina el más importante de sus constituyentes (Ockerman y Hansen, 2000). El contenido proteico de esta fracción fue de 90-93% de proteína, independientemente de

que la sangre fuera de res o de cerdo (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b; Bracho y colaboradores, 2001). De acuerdo con los requerimientos de aminoácidos esenciales para niños de 6 a 12 años, establecidos por las diferentes Organizaciones de las Naciones Unidas (WHO/FAO/ONU, 1985), el paquete celular porcino cubría todos los requisitos excepto el de la metionina (Ramos-Clamont y colaboradores, 2003b). Esta deficiencia pudo suplirse agregando el paquete a alimentos ricos en metionina como los que contenían cereales, que por otro lado resultaron deficientes en lisina. La tabla 4 mostró la composición de aminoácidos esenciales presentes en el paquete celular porcino.

Tabla 4. Contenido de aminoácidos esenciales en paquete celular porcino (promedio de 24 observaciones y desviación estándar)

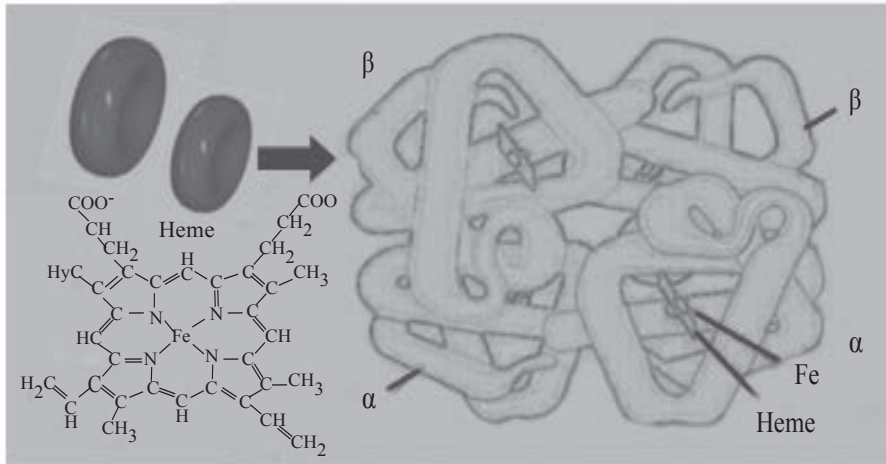
<i>Aminoácido</i>	<i>Paquete celular g/100 g de proteína</i>
Valina	15.64 ± 0.98
Metionina	^a 0.72 ± 0.04
Isoleucina	2.00 ± 0.07
Leucina	12.80 ± 0.82
Triptofano	1.39 ± 0.07
Lisine	7.22 ± 0.12
Histidina	3.41 ± 0.10
Threonina	8.23 ± 0.16
Fenilalanina	7.22 ± 0.28

Fuente: Ramos-Clamont y colaboradores (2003b). ^aAminoácido limitante para niños de 6 a 12 años, según los requerimientos de la WHO/FAO/ONU (1985).

Además del contenido de proteínas, el paquete celular era rico en hierro (*Fe*) hémico, proveniente de la hemoglobina (*Hb*). La *Hb* de los glóbulos rojos estaba compuesta por cuatro subunidades, 2α y 2β . Cada una de ellas contenía un grupo *heme* en cuyo centro se encontraba una molécula de *Fe* (figura 14). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la deficiencia de *Fe* se encuentra entre los factores más importantes que contribuyeron al estado de salud deficiente de gran parte de la población del mundo (OMS, 2002). Una opción que pudo ayudar a combatir a la anemia fue el enriquecimiento de alimentos con *Fe*, como se ha hecho en Suecia y en Estados Unidos (Cogswell y colaboradores, 2003). Una ventaja de utilizar hierro hémico para enriquecer a los alimentos fue que éste se absorbió en mucha mayor proporción (20-35%) y sin interferencia que el hierro no-hémico proveniente de los

vegetales o de sales minerales ferrosas. La absorción del *Fe* no-hémico fue del 1 al 15% y se vio obstaculizada por la presencia de otros componentes de los alimentos, como los fitatos (Frazer y Anderson, 2005).

Figura 14. Estructura de la hemoglobina y su grupo *heme*



Fuente: elaboración propia.

En el caso de poblaciones como las de México y Centro América un vehículo adecuado para fortificarse con *Fe* pudo ser la masa nixtamalizada, que se ha usado en la elaboración de tortillas. Lo anterior debido a que el consumo promedio de tortilla fue de 200 g/persona/día (Walter y colaboradores, 2003). Debido a que la deficiencia de *Fe* fue importante en poblaciones infantiles, otros alimentos que pudieron enriquecerse fueron las galletas y otras golosinas. El Dr. Guillermo Quintero Gutiérrez, investigador de Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI) del Instituto Politécnico Nacional y su grupo, han desarrollado un proceso de hidrólisis para separar al *heme* de la *Hb* y producir una pasta de chocolate rica en *Fe* con la estaban elaborando gelatinas, caramelos y galletas. Cien gramos de pasta contenían 14.1 g de proteína, 260 mg de *Fe* y 0.8 mg de *Zn*, además de lípidos y carbohidratos (Quintero-Gutiérrez y colaboradores, 2008). Este fue sólo un ejemplo de los muchos intentos que se hicieron para utilizar el paquete celular. En la siguiente sección analizaremos otros posibles usos y los problemas que hubo que solucionar para lograr que sean exitosos.

Usos del paquete celular en la alimentación humana

La principal limitante para el uso del paquete celular en alimentos estaba relacionada con los procesos de oxidación del *Fe*, que a su vez potenciaron la oxidación de los lípidos presentes en el alimento al que se le adicionaron (Ockerman y Hansen, 2000; Burgeois y Le Roux, 1982). Durante los procesos de obtención y almacenamiento del paquete celular, el *Fe* se oxidó transformando a la *oxiHb* ($Fe^{+2}-O_2$), rojo bermellón, en *metaHb* (Fe^{+3}), con color café marrón. Siendo el color una de las principales características en la que el consumidor se fijó. Este cambio de la *Hb* influyó significativamente en la aceptación del alimento por el consumidor. Además, el mismo hierro pudo actuar como catalizador de reacciones de oxidación de otros componentes del alimento, provocando con ello la formación de olores y sabores desagradables (Toldrá y colaboradores, 2003). Es por ello que el paquete celular se usó más en alimentos para mascotas y en alimentos para humanos se limitó a concentraciones menores o iguales a 1% (Ockerman y Hansen, 2000).

Se han propuesto varios mecanismos para utilizar el paquete en la alimentación humana:

- a) Estabilización del color del paquete celular bruto y la hemoglobina liberada por lisis de los glóbulos rojos
- b) Decoloración del pigmento
- c) Remoción del grupo heme

a) Estabilización de color

Fue difícil estabilizar el color de la *Hb*. Las estrategias fueron buscar una interacción estable entre el *Fe* y otro compuesto con el que tuviera mayor afinidad que con el O_2 o bien mantener un estado reductor que impidiera que el *Fe* se oxidara (Ockerman y Hansen, 2000). La primera forma fue la más efectiva y para ello pudo emplearse el Monóxido de Carbono (*CO*) o los nitritos (NO_2). El *CO* al combinarse con la *Hb* produjo *carboxiHb* ($Fe^{+2} \equiv CO$) de color rojo estable. El uso de *CO* pudo enmascarar malos manejos y además producir efectos tóxicos (Sorheim y colaboradores, 1997). Los NO_2 también se consideraron tóxicos, no obstante, su uso fue más aceptado ya que se utilizaron en los procesos de curado de los alimentos para estabilizar el color de la mioglobina de la carne. La adición de nitrito de sodio (100 ppm) a patés elaborados con paquete celular como ingrediente importante, mejoró notablemente el color

del producto final. El color obtenido se oscureció al contacto con el aire, afectando el color de la superficie del producto (Burgeois y Le Roix, 1982).

En lo que se refirió a mantener un ambiente reductor para estabilizar el color, un quelante suave como el ácido ascórbico pudo retardar la oxidación de la *Hb*, pero sólo temporalmente (Ockerman y Hansen, 2000). La adición de Ácido Nicotínico (*AN*) a 2% o Nicotinamina (*NAM*) a 2.5% aumentaron la estabilidad del color durante el secado por aspersión y el almacenamiento. El efecto fue parcial, ya que no impidió la eventual autooxidación de la *Hb*. Si se combinó 10% de glucosa con *AN* y *NAM* la oxidación disminuyó (Salvador y colaboradores, 2009). Una tecnología promisorio fue el encapsulamiento de la *Hb* en diferentes matrices. Esto pudo llevarse a cabo realizando mezclas de diferentes compuestos paquete celular y matrices encapsulantes y secarlas por aspersión (Saguer y colaboradores, 2003; Downhamr y Collins, 1997). Sin embargo, se requiere de estudios para encontrar las combinaciones adecuadas.

b) Decoloración del pigmento

La metodología desarrollada utilizó una solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El procedimiento inició promoviendo la hemólisis de los eritrocitos al agregar agua a 70 °C (relación 7:1), durante 30 min. Posteriormente, se añadió una solución de H_2O_2 a 3% para oxidar a la *Hb*. Se bajó la temperatura a 30 °C y se removió el H_2O_2 mediante un tratamiento con la enzima catalasa. La proteína coagulada se recuperó por filtración. El producto resultante fue insoluble en agua y no impartió sabores desagradables cuando se añadió a pastas para elaborar salchichas en concentraciones menores a 10% (Ockerman y Hansen, 2000; Wismer-Pedersen, 1979). La desventaja de este tratamiento fue que redujo la disponibilidad biológica de las proteínas tratadas, disminuyendo su valor nutritivo (Ockerman y Hansen, 2000).

c) Remoción del grupo Heme

La tecnología utilizada consistió en añadir ácido ascórbico (2 g/12 g de proteína) al paquete celular obtenido durante la centrifugación. Posteriormente, se añadió una solución de acetona (>30 %), en proporción acetona: paquete 4:1, y se llevó a pH a 2, a 4 °C. El tratamiento promovió la desnaturalización de la *Hb* y la subsecuente liberación del grupo heme. La presencia de acetona permitió que el *heme* permaneciera en solución y la fracción proteica precipite. El sobrenadante se destiló para obtener sales de grupo *heme* y la fracción proteica se re-solubilizó en agua, presentando la

ventaja de que podía ser añadida a productos ácidos donde permanecería soluble. La principal desventaja del tratamiento fueron los sabores desagradables que la proteína adquirió al ser tratada con acetona.

Una alternativa fue realizar el proceso con etanol, aunque el costo aumentó, debido a que se requirió de una mayor concentración de etanol para la desnaturalización de la proteína (Ockerman y Hansen, 2000; Divakaran, 1982). Estudios más recientes se han enfocado a la remoción del grupo *heme* mediante la hidrólisis enzimática de la hemoglobina (Sun y colaboradores, 2001). Con estos procesos se obtuvieron péptidos de la *Hb* y pudo recuperarse el grupo *heme* para fortificar alimentos con hierro hémico y combatir las anemias (Quintero-Ramírez y colaboradores, 2008).

Propiedades funcionales del paquete celular

Las principales propiedades funcionales del paquete celular fueron su capacidad de retención de agua, su efecto espesante y su capacidad para formar y estabilizar espumas. Estas propiedades permanecieron estables a pH bajos y diferentes concentraciones de sal (Ockerman y Hansen, 2000). La capacidad de retención de agua se aprovechó en la adición de paquete celular a productos cárnicos ingleses que contenían sangre, aunque el uso fue limitado (Wismer-Pedersen, 1979). La adición del paquete celular aumentó la estabilidad de las emulsiones dependiendo del pH del alimento (Ockerman y Hansen, 2000; Liu, 2002).

Obtención de péptidos bioactivos

Una alternativa para utilizar el paquete celular fue la obtención de péptidos bioactivos. El conocimiento de la estructura primaria de la hemoglobina, permitió identificar secuencias de aminoácidos con posible actividad biológica que pudiera ser útil tanto para la industria alimentaria, como para la farmacéutica (Dale y colaboradores, 2005; Zhao y colaboradores, 1996). Estos fragmentos pudieron obtenerse mediante la hidrólisis controlada de las proteínas, utilizando diferentes proteasas animales y vegetales (Fruitier y colaboradores, 1999). Aprovechando este conocimiento se han obtenido péptidos de la hemoglobina con actividad anti-hipertensiva (Zhao y colaboradores, 1996, antimicrobiana (Liepke y colaboradores, 2003), estimuladora del crecimiento de bacterias benéficas (Zhao y colaboradores, 1996) y con actividad opioide para combatir el dolor (Fruitier y colaboradores, 1999).

Si bien los primeros péptidos se obtuvieron a partir de la *Hb* humana, actualmente también se desarrollaron procesos de obtención de péptidos a partir de hemoglobina bovina y porcina (Zhao y colaboradores, 1996; Sun y colaboradores, 2011). Generaron péptidos con capacidad antioxidante usando *Hb* porcina y seis diferentes proteasas (papaina, alcalasa, pepsina, tripsina, y dos preparaciones comerciales flavourzyme y A.S.1398). Los péptidos fueron separados por ultrafiltración, resultando que aquellos de la fracción con masas menores a 3 *KDa* fueron los que presentaron mayor actividad antioxidante contra la peroxidación de lípidos y el radical superóxido.

La obtención de péptidos de *Hb* bovina ha sido más extensa, encontrándose que la mayoría de los péptidos con actividad biológica se localizaron principalmente alrededor de las regiones amino terminal y carboxilo terminal de las cadenas α y β (figura 14). De estas regiones, se purificaron 30 péptidos con actividad antimicrobiana, 24 de las cadenas α y seis de las cadenas β (Nedjar-Arroume y colaboradores, 2008). Yu y colaboradores (2006), purificaron dos péptidos anti-hipertensivos a partir de *Hb* bovina que presentaron las siguientes secuencias de aminoácidos LGFPTTKTYFPHF y VVYPWT. Estas secuencias correspondieron a los fragmentos 34-46 de la cadena α y 34-39 de la cadena β y presentaron valores de IC 50 para inhibición de la enzima convertidora de angiotensina de 4.92 y 6.02 μM , respectivamente.

También se han obtenido péptidos a partir de *Hb* bovina que presentaron dos actividades al mismo tiempo, anti-hipertensiva y anti- microbiana. Yaba y colaboradores (2011), obtuvieron cuatro péptidos con las siguientes secuencias:

- TKAVEHLDDLPGALSESDLHAHKLRVDPVNFKLLSHSLL,
- LDDLPGALSESDLHAHKLRVDPVNFKLLSHSL,
- KLLSHSL,
- LLSHSL

Correspondientes, respectivamente, a los fragmentos 67-106, 73-105, 99-105, y 100-105 de las cadenas α de la *Hb* bovina. Estas secuencias presentaron actividad antimicrobiana contra *Kocuria luteus* A270, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) entre 187.1 y 35.2 μM . Los péptidos obtenidos también tenían la capacidad de inhibir a la enzima convertidora de angiotensina presentando una actividad inhibitoria IC_{50} de 42.55 a 1,095 μM .

La obtención de péptidos bioactivos fue un campo promisorio para el uso del paquete celular. En algunos casos se requirieron estudios con modelos animales para probar su actividad *in vivo*, como fue el caso de péptidos anti-hipertensivos o con actividad opioide. En todos los casos se requirieron también estudios de toxicidad y actividad hemolítica para probar su inocuidad.

Estatus actual de la valoración de las proteínas de la sangre animal

La sangre animal ha sido un producto altamente nutritivo y por ello, muy perecedero. Diariamente se producían en México más de 275 mil toneladas, y sólo se aprovechaba un porcentaje ínfimo para la producción de harina de sangre (cinco plantas de producción en el país). La harina se usó principalmente como fertilizante (Signorini y colaboradores, 2006). El resto de la sangre se mezcló con otros subproductos y se desecha al drenaje, contaminando nuestro ambiente. Una posibilidad para la utilización de todos estos subproductos fue la obtención de gas metano (Hejnfelt, y Angelidaki, 2009). Sin embargo, estaríamos subutilizando 18-19 g de proteína/L de alto valor biológico y calidad nutricional.

La falta de sistemas de colección adecuados, debido, tanto a factores tecnológicos, como económicos, provocó que la calidad microbiológica de la sangre obtenida fuera baja, tanto por que se contaminó al entrar en contacto con la carcasa y con algunos desechos, como por su almacenamiento en condiciones inadecuadas (López-Vázquez y Casp-Vanaclocha, 2004). El producto obtenido no resultó un atractivo de inversión ni para las plantas de sacrificio, ni para la industria alimentaria. Se requería mayor investigación en este campo para poder presentar alternativas. Han sido escasos los grupos de investigación que en nuestro país, trabajan en esta línea. Destacan el Dr. Guillermo Quintero Gutiérrez del Instituto Politécnico Nacional que, como ya se mencionó, desarrolló un sistema para separar el grupo *heme* de la *Hb* y utilizarlo en la elaboración de una pasta para enriquecer golosinas (Quintero-Gutiérrez y colaboradores, 2008). En el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD), las Dras. Luz Vázquez Moreno y Gabriela Ramos Clamont Montfort, trabajan buscando aplicaciones clínicas y alimentarias, a las proteínas del suero porcino. Por su parte, el Dr. José Pablo Pérez-Gavilán Escalante, de la UNAM, ha desarrollado un proceso para obtener un producto comestible a partir de plasma porcino al que llamó PROMEAT y a partir del que se elaboran picadillos enlatados enriquecidos (Pérez-Gavilán, 2007). Actualmente, el proceso se ha implementado en el Rancho Frigorífico Santa Ana, en Pénjamo, Guanajuato trabajando con 2 mil litros de plasma diarios (La Crónica, 2011). Se requiere el interés de más plantas de sacrificio animal y en este sentido, las mejores candidatas, serían las plantas TIF que sacrifican cerdos que cuentan con sistemas de calidad implementados. En el caso de la sangre de bovino, existen restricciones importantes para su utilización, derivadas de la preocupación por la encefalopatía espongiiforme bovina.

Referencias

- Birchal, V. S., L. X. Huang, A. S. Mujumdar y M. L. Passos (2006), "Spray dryers: modeling and simulation", *Drying Technology*, vol. 24 (3), pp. 369-371.
- Bracho, M., E. Márquez y B. Arias de Muñoz (2001), "Aminoácidos en sangre de bovino y cerdo", *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. XI (2), pp. 133-138.
- BREF (2005), "Integrated pollution prevention and control reference document on best available techniques in the slaughterhouses and animal by-products. European Commission", disponible en <http://eippcb.jrc.es/reference/sa.html>; consultado 7 abril del 2001
- Burgeois, C. M., y P. Le Roux (1982), *Problemas microbiológicos del aprovechamiento del quinto cuarto de los animales de carnicería*. En *Proteínas animales*, México, editorial el Manual Moderno, pp. 311-333.
- Cogswell, M. E., L. Kettel-Khan y U. Ramakrishnan (2003), "Iron supplement use among women in the United States: science, policy and practice", *Journal of Nutrition*, vol. 133 (6), pp. 1974S-1977S.
- Dale, C. S., R. Pagano y V. Rioli (2005), "Hemopressin: a novel bioactive peptide derived from the alpha 1-chain of hemoglobin", *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 100 (Suppl 1), pp. 105-106.
- Damodaran, S. (1996), "Functional properties", in S. Nakai y H. W. Modler, *Food proteins. Properties and characterization*, New York VCH, pp. 167-234.
- Dávila, E., D. Pares, G. Cuvelier y P. Relkin (2007), "Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH", *Meat Science*, vol. 76, pp. 216-225.
- Dávila, E., E. Saguer, M. Toldra, C. Carretero y D. Parés (2006a), "Preservation of porcine blood quality by means of lactic acid bacteria", *Meat Science*, vol. 73, pp. 386-393.
- Dávila, E., D. Pares y N. K. Howell (2006b), "Fourier transform Raman spectroscopy study of heat-induced gelation of plasma proteins as influenced by pH", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, pp. 7890-7897.
- Del Hoyo, P., M. Rendueles y M. Díaz (2008), "Effect of processing on functional properties of animal blood plasma", *Meat Science*, vol. 78, pp. 522-528.
- Del Nery, V., I. Nardi, M. Damianovic, E. Pozzi, A. Amorim y M. Zaiat (2007), "Long-term operating performance of a poultry slaughterhouse wastewater treatment plant", *Resource Conservation Recycling*, vol. 50, pp. 102-114.
- Del Rio de Reys, M., S. Constantinides, V. Sgarbieri y A. Dash (1980), "Chicken blood plasma proteins: physicochemical and functional properties", *Journal of Food Science*, vol. 45, pp. 17-20.

- Desmond, E. (2006), "Reducing salt: A challenge for the meat industry", *Meat Science*, vol. 74, pp. 188-196.
- De Wit, J. N. (1998), "Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products", *Journal of Dairy Science*, vol. 81, pp. 597-608.
- Divakaran, S. (1982), *Animal blood processing and utilization (13)*, Food and Agricultural Organization of United Nations, Rome.
- Downham, A., y P. Collins (1997), "Colouring our foods in the last and next millenium", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 35, pp. 5-22.
- Fernández-Michel, S., G. Ramos-Clamont y L. Vázquez-Moreno (2006), "Características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de panqués de chocolate adicionados con proteínas de suero porcino", *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. XVI (4), pp. 420-427.
- Fornias, O. V. (1996), "Edible by-products of slaughter animals", Animal Production and Health Paper FAO, 123, Rome, disponible en <http://www.FAO.org/index>
- Fort, N., C. Carretero, D. Parés, M. Toldrà y E. Sauer (2007), "Combined treatment of porcine plasma with microbial transglutaminase and cysteine: effects on its heat-induced gel properties", *Food Hydrocolloids*, vol. 21, pp. 463-471.
- Frazer, D.M., y G. J. Anderson (2005), "Iron Imports. I. Intestinal iron absorption and its regulation", *American Journal of Physiology, Gastrointestinal Liver Physiology*, vol. 289 (4), pp. G631-G635.
- Fruitier, I., I. Garreau, A. Lacroix, A. Cupo y J. M. Piot (1999), "Proteolytic degradation of hemoglobin by endogenous lysosomal proteases gives rise to bioactive peptides:hemorphins", *FEBS Letters*, vol. 447, pp. 81-86.
- Gao, Y. Y., Z. Y. Jiang, Y. C. Lin, C. T. Zheng, G. L. Zhou, y F. Chen (2011), "Effects of spray-dried animal plasma on serous and intestinal redox status and cytokines of neonatal piglets", *Journal of Animal Science*, vol. 89 (1), pp. 150-157.
- Halling, P. J. (1981), "Protein-stabilized foams and emulsions", *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 13, pp. 155-203.
- Hejnfelt, A., y I. Angelidaki (2009), "Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products", *Biomass and Bioenergy*, vol. 33, pp. 1046-1054.
- Herrero A. M., M. I. Cambero, J. A. Ordóñez, L. de la Hoz y P. Carmona (2009), "Plasma powder as cold-set binding agent for meat system: Rheological and Raman spectroscopy study", *Food Chemistry*, vol. 113, pp. 493-499.
- Hill, A. F., M. Desbruslais, S. Joines, K. C. Sidle, I. Gowland y J. Collinge (1997), "The same prion strain causes vCJD and BSE", *Nature*, vol. 389, pp. 448-450.
- Huang, L. X., y A. S. Mujumdar (2003), "Classification and selection of spray dryers", *Chemical Industry Digest*, vol. 4, pp. 75-84.

- Kemi, V. E., M. U. Karkkainen y C. J. E. Lamberg-Allardt (2006), “High phosphorus intakes acutely and negatively affect Ca and bone metabolism in a dosedependent manner in healthy young females”, *British Journal of Nutrition*, vol. 96, pp. 545-552.
- Kinsella, J. E. (1976), “Functional properties of food proteins: A review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 7, pp. 219-280.
- Kong, B. H., y Y. L. Xiong (2006), “Antioxidant activity of zein hydrolysates in a pilot process”, *Journal of Food Science*, vol. 40, pp. 155-159.
- Li, J., M. Healy, X. Zhan y M. Rodgers (2008), “Nutrient removal from slaughterhouse wastewater in intermittently aerated sequencing batch reactor”, *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 7644-7650.
- Liepke, C., S. Baxmann, C. Heine, N. Breithaupt, L. Standker y W. G. Forssmann (2003), “Human hemoglobin-derived peptides exhibit antimicrobial activity: a class of host defense peptides”, *Journal of Chromatography B*, vol. 791, pp. 345-356.
- Liu, D.-C. (2002), *Better utilization of by-products from meat industry. Food y Fertilizer Technology Center*, pp. 1-15.
- Liu, Q., B. H. Kong, Y. L. Xiong y X. F. Xia (2010), “Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein as influenced by the degree of hydrolysis”, *Food Chemistry*, vol. 118 (2), pp. 403-410.
- López-Vázquez, R., y A. Casp-Vanaclocha (2004), *Tecnología de mataderos*, Madrid, editorial Mundi-Prensa.
- Mateo, J., A. Santamaria, M. Borrell, J. C. Souto y J. Fontcuberta (2001), “Fisiología y exploración de la homeostasis”, en J. Sans Sabrafen, C. Besses Raebel y J. L. V. Corrons (eds.), *Hematología clínica*, Madrid, Hartcourt, pp. 597-618.
- McCabe, W., y J. Smith (1998), *Unit operations of chemical engineering*, McGrawHill.
- Means, G., y R. E. Feeney (1998), “Chemical modifications of proteins: A review”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 22 (5), pp. 399-426.
- MWH. (2005), *Physical and chemical quality. En Treatment: principles and design*, New Jersey, John Wiley y Sons, Inc. pp. 21-130
- Nedjar-Arroume, N., V. Dubois-Delval, E. Y. Adje, J. Traisnel, F. Krier, P. Mary, M. Kouach, G. Briand y D. Guillochon (2008), *Bovine hemoglobin: An attractive source of antibacterial peptides*, *Peptides*, vol. 29, pp. 969-977.
- Nelson, D.L., y M. M. Cox (2005), *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. New York, Freeman.
- Norma Oficial Mexicana (1995), *Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres*, NOM-033-ZOO-1995.
- Ockerman, H. W., y C. L. Hansen (2000), “Animal by-products processing y utilisation. Lancaster: Technomic Publishing Co Parés, D. (1998). Caracterización y revaloración de la fracción plasmática de la sangre de cerdo procedente de

- mataderos industriales”, Departamento de Ingeniería Química y Agrícola y Tecnología de Alimentos Universidad de Girona, tesis doctoral.
- Parés, D., y D. A. Ledward (2001), “Emulsifying and gelling properties of porcine blood plasma as influenced by high pressure processing”, *Food Chemistry*, vol. 74, pp. 139-145.
- Pérez-Gavilán, E. J. P. (2007), *Procedimiento para la recuperación de proteínas de la sangre de cerdo y su conservación*, Patente núm. 246171, México.
- Pietrasik, Z., A. Jarmoluk y P. J. Shand (2007), *Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial*.
- Prata, A. S., and V. C. Sgarbrieri (2008), “Composition and physicochemical properties of two protein fractions of bovine blood serum”, *Ciência. Tecnologia. Alimentaria*, vol. 28 (4), pp. 964-972.
- Quintero-Gutiérrez, A. G., G. González-Rosendo, J. Sánchez-Muñoz, J. Polo-Pozo, y J. J. Rodríguez-Jerez (2008), “Bioavailability of heme-iron in biscuit filling using piglets as an animal model for humans”, *International Journal of Biological Sciences*, 4 (1), pp. 58-62.
- Ramos-Clamont, G., M. D. C. Candia-Plata, R. Guzmán y L. Vazquez-Moreno (2006), “Novel hydrophobic interaction chromatography matrix for specific isolation and simple elution of immunoglobulins (A, G, and M) from porcine serum”, *Journal of Chromatography A*, vol. 1122, pp. 28-34.
- Ramos-Clamont, G., S. Fernandez-Michel, L. Carrillo-Vargas, E. Martinez-Calderon y L. Vazquez-Moreno (2003a), “Functional properties of protein fractions isolated from porcine blood”, *Journal of Food Science*, vol. 68, pp. 1196-1200.
- Ramos-Clamont, G., S. Fernández-Michel, Magallanes-Castañeda, Alba-Hinojosa, Robles-Burgueño y L. Vázquez-Moreno (2010), “Evaluación de albúmina porcina como sustituto parcial de clara de huevo en panqués de chocolate”, *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. XX (4), pp. 422-429.
- Ramos-Clamont, G., y L. Vázquez-Moreno (2006), “Foaming properties of porcine serum and porcine serum albumin. Propiedades espumantes del suero y albúmina porcina”, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 5 (2), pp. 1-7.
- Ramos-Clamont, G., L. Vázquez-Moreno, S. Fernández-Michel, E. Martínez-Carlderón y L. Carrino-Vargas (2003b), “Characterization of porcine serum obtained under controlled conditions in a slaughterhouse of Hermosillo, México”, *Revista Científica FCV-LUZ*, vol. XIII (1), pp. 53-58.
- SAGARPA (2009), “Producción de carne de res, cerdo y ave en la República Mexicana”, disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/>

- Saguer, E., S. Altarriba, C. Lorca, D. Parés, M. Toldrá y C. Carretero (2003), “Colour stabilization of spray-dried porcine red blood cells using nicotinic acid and nicotiamide”, *Food Science and Technology International*, vol. 9 (4), pp. 301-307.
- Saguer E., E. Dávila, M. Toldrá, N. Fort, S. Baixas-Nogueras, C. Carretero y D. Parés (2007), “Effectiveness of high pressure processing on the hygienic and technological quality of porcine plasma from biopreserved blood”, *Meat Science*, vol. 76, pp. 189-193.
- Salvador, P., M. Toldrá, D. Parés, C. Carretero y E. Saguer (2009), “Color stabilization of porcine hemoglobin during spray-drying and powder storage by combining chelating and reducing agents”, *Meat Science*, vol. 83 (2), pp. 328-333.
- SECOFI (2010), “Producción de carne en México”, disponible en www.economia-sniim.gob.mx/.../e_GanCan1a.asp.
- Signorini, M., S. Civit-Gual, M. Bonilla-Padilla, M. E. Cervantes-Ramírez, M. Calderón-Vázquez, A. Pérez-Montecillo, M. P. Espejel-Maya y C. Almanza-Rodríguez (2006), “Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales”, COFEPRIS, disponible en 189.254.115.244/work/sites/cfp/resources/LocalContent/.../EVAL1.PDF; consultado 1 abril del 2011.
- Sorheim, O., T. Aune y T. Nesbakken (1997), “Technological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified- atmospheres packaging of meat”, *Trends in Food Science and Technology*, vol. 8, pp. 307-312.
- Stewart, A. J. C. A. Blindauer y S. Berezenko (2005), “Role of Tyr84 in controlling the reactivity of Cys34 of human albumin”, *FEBS Journal*, vol. 272 (2), pp. 353-362.
- Toldrá, M., E. Dávila, E. Saguer, N. Fort, D. Parés y C. Carretero (2008), “Functional and quality characteristics of red blood cell fraction from biopreserved porcine blood as influenced by high pressure processing”, *Meat Science*, vol. 80, pp. 380-388.
- Totosaus, A., J. G. Montejano, J. A. Salazar y I. Guerrero (2002), “A review of physical and chemical protein-gel induction”, *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 37 (6), pp. 589-601.
- Tybor, P., Dill, C., y W. Landmann (1975), “Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process”, *Journal of Food Science*, vol. 40, pp. 155-159.
- Sun, Q., H. Shen y Y. Luo (2011), “Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions derived from porcine hemoglobin”, *Journal of Food Science y Technology*, vol. 48 (1), pp. 53-60.
- Walter, T., F. Pizro y M. Olivares (2003), “Iron bioavailability in corn-masa tortillas is improved by the addition of disodium EDTA”, *Journal of Nutrition*, vol. 133 (10), pp. 3158-3161.

- WHO/FAO/UNU Expert Consultation (1985), *Energy and protein requirements*, Geneva, World Health Organ Tech Rep, pp. 724-264.
- Wismer-Pedersen, J. (1979), "Utilization of animal blood in meat products", *Food Technology*, vol. 33 (8), pp. 76-80.
- Yaba, A. E., R. Balti, M. Koauch, D. Guillochon y D. Nedjar-Arroume (2011), "α 67-106 of bovine hemoglobin: a new family of antimicrobial and angiotensin I-convertin enzyme inhibitory peptides", *European Food Research and Technology*, vol. 232 (4), pp. 637-646.
- Yu, Y., J. Hu, Y. Miyaguchi, X. Bai, Y. Du y B. Lin (2006), "Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from porcine hemoglobin", *Peptides*, vol. 27, pp. 2950-2956.
- Zhao, Q. Y., J. M. Piot, V. Gautier y G. Cottenceau (1996), "Isolation and characterization of a bacteria growth-stimulating peptide from a peptide bovine hemoglobin hydrolysate", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 45, pp. 778-784.

Importancia del *rigor mortis* en productos pesqueros

Edgar Iván Jiménez Ruiz, Víctor Manuel Ocaño Higuera, Enrique Márquez Ríos, Abril Zoraida Graciano Verdugo, Alfonso N. Maeda Martínez, Francisco Javier Castillo Yáñez

Resumen

En México, la pesca representa una de las principales actividades económicas, en donde se comercializan una gran variedad de especies que por su contenido nutricional y bajo costo son consideradas alternativas viables para cubrir las demandas de alimentación y nutrición del país. Además del aspecto nutricional, otro factor muy importante y que debe considerarse en el mercado para determinar la forma de distribución y consumo, ha sido la calidad e inocuidad del producto final. Inmediato a la muerte, los productos de la pesca experimentan una serie de cambios bioquímicos que tienen gran impacto sobre la calidad final y vida de anaquel. En este sentido, se ha considerado que uno de los procesos bioquímicos *post mortem* más importante es el *rigor mortis*, que puede prolongarse por días dependiendo de la especie, las condiciones de captura (época, arte de pesca, método de sacrificio) y temperatura de almacenamiento. Varios estudios han destacado la importancia del *rigor mortis* en el músculo de diferentes especies pesqueras y el impacto que éste fenómeno tiene en la calidad (apariencia, capacidad de retención de agua y textura) del producto final. Además, se ha observado que retardar el inicio y velocidad del *rigor mortis* promueve una mejor calidad y mayor vida de anaquel. Por consiguiente, en el presente capítulo se abordan aspectos relacionados al *rigor mortis* y su impacto en la calidad y vida de anaquel en los productos pesqueros.

Palabras clave: Cambios *post mortem*; *rigor mortis*; calidad; productos pesqueros.

Introducción

Los productos pesqueros han representado durante mucho tiempo un alimento de gran tradición y popularidad en el mundo. De hecho, existen países donde el principal aporte de proteína animal se obtiene a través del consumo de alimentos de origen acuático. Cada vez ha sido mayor el sector de la población que ha tomado en cuenta este tipo de productos como una alternativa de alimento saludable si se compara con las carnes rojas. Lo anterior se basa principalmente en el bajo contenido de grasas saturadas y alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y 6), que se han relacionado con efectos benéficos en la salud, principalmente en padecimientos cardiovasculares. Esto último ha sido importante principalmente en países con alto nivel económico, en donde existe una alta incidencia de enfermedades de tipo cardiovascular (Huss, 1995).

En la literatura se ha descrito que la calidad de los productos pesqueros está influenciada por la especie, método de captura, temperatura del medio y de almacenamiento y por el manejo poscaptura, que afectan la calidad final (Sikorski y colaboradores, 1990). En la actualidad, la calidad e inocuidad alimentaria son aspectos de gran interés para las industrias procesadoras, autoridades dedicadas al control sanitario de los alimentos y consumidores. Lo anterior se debe principalmente a la creciente demanda del consumidor por adquirir productos pesqueros de la mejor calidad posible, así como al gran número de enfermedades transmitidas por alimentos que ocurren año con año (Huss, 1995).

En los productos de la pesca, se ha observado que su calidad y vida de anaquel depende de la velocidad con la que se llevan a cabo los procesos bioquímicos *post mortem*, entre los que se encuentran la degradación de ATP, *rigor mortis*, disminución de glucógeno, descenso de pH, desnaturalización de proteínas y cambios en la textura. De estos, el *rigor mortis* se considera el cambio de mayor importancia por el impacto que tiene en la calidad y vida de anaquel de los productos. Este fenómeno que implica el paso del músculo de un estado relajado a otro rígido e inflexible, involucra a su vez una serie de reacciones y cambios *post mortem* (Sikorski y colaboradores, 1990).

En la literatura se ha reportado que las condiciones *antemortem* (principalmente la temperatura) tienen un fuerte efecto en la condición fisiológica de los organismos, lo que a su vez modifican la bioquímica *post mortem* (Ocaño-Higuera, 2003). Además, se ha descrito para algunas especies como la carpa *Cyprinus carpio* (Hwang y colaboradores, 1991), sardina *Sardinops melanosticta* y macarela *Pneumatophorus japonicus* (Watabe y colaboradores, 1989), tilapia *Oreochromis* spp. (Tomé y colaboradores, 2000), que las condiciones de almacenamiento tienen un efecto notable

sobre los procesos *post mortem*, específicamente sobre el *rigor mortis*. El estudio y entendimiento de los aspectos bioquímicos y eventos relacionados con este proceso son importantes para determinar las condiciones apropiadas de manejo pre- y post-captura de las especies de origen acuático utilizadas como alimento, lo que a su vez podría resultar en un mayor y mejor aprovechamiento de las mismas.

En el presente capítulo se abordarán aspectos involucrados con el *rigor mortis* en productos pesqueros, retomando algunos puntos relacionados con la calidad y vida de anaquel. Para ello, se discutirán los estudios más importantes que se han realizado sobre el tema y se extraerán las consideraciones y conclusiones más importantes.

Rigor mortis

Generalidades

El *rigor mortis* es uno de los procesos bioquímicos más importantes en los productos pesqueros. Este fenómeno se presenta después de que los organismos mueren y cuando el ATP disminuye a $\leq 1 \mu\text{mol/g}$ músculo, lo que provoca un estado rígido e inflexible del músculo. El tiempo en que se lleva a cabo este proceso puede variar dependiendo de la especie, las condiciones de captura, la temperatura y la velocidad de enfriamiento (Cheftel y Cheftel, 1976; Sikorski y colaboradores, 1990).

Aunado al desarrollo del *rigor mortis* se presenta una disminución del pH muscular por la generación de ácido láctico y su consecuente disociación, además se considera que dicha disminución da lugar a su instauración. Anteriormente, se pensaba que la resolución del *rigor mortis* se presentaba por disociación del complejo actina-miosina formado durante la instauración, pero se ha observado que más bien se lleva a cabo por la separación de los filamentos delgados de actina de la línea “Z”, debido a cambios iónicos en el sistema o bien, por acción de las catepsinas liberadas al desestabilizarse las membranas lisosomales por efecto de la disminución del pH muscular (Cheftel y Cheftel, 1976).

A la fecha se ha estudiado el desarrollo de este evento *post mortem* en peces como la tilapia *Oreochromis* spp. (Tomé y colaboradores, 2000), pargo *Pagrus auratus* (Morison, 2004), jurel *Trachurus japonicus* (Mishima y colaboradores, 2005), lenguado *Paralichthys olivaceus* (Suárez-Mahecha y colaboradores, 2007), salmón *Salmo salar* (Roth y colaboradores, 2006; Mørkøre y colaboradores, 2008), carpa *Cyprinus carpio*, trucha *Oncorhynchus mykiss* (Durán y colaboradores, 2008) o crustáceos como el camarón *Penaeus japonicus* (Matsumoto y Yamanaka, 1991) y la langosta *Nephrops norvegicus* (Gornik y colaboradores, 2009). De igual forma, se

han desarrollado trabajos en animales terrestres como bovinos (Novelo-Barrera y colaboradores, 2008), cerdos (Graziotti y colaboradores, 2000), aves: pavo y pollo (Sams y Dzuik, 2008; Li y colaboradores, 2010).

Principales eventos *post mortem* relacionados

Disminución de pH

El pH es un parámetro que permite determinar si una sustancia es ácida, neutra o básica. Su cálculo se realiza aplicando el logaritmo inverso de la concentración de iones H^+ presentes en un sistema. Los valores varían de 0 a 14, en donde una sustancia o sistema con un valor de pH de siete se considera neutra, mientras que valores por debajo o por encima del neutro se consideran ácidos o básicos, respectivamente (Lehninger y colaboradores, 2008).

La velocidad y grado de disminución de pH *post mortem* durante el *rigor mortis* se debe a la formación de ácido láctico que es el principal producto final de la glucólisis anaeróbica en la mayoría de los productos de la pesca, en donde el grado de descenso de pH depende de la cantidad de glucógeno almacenado en el músculo (Ashie y colaboradores, 1996; Mørkøre y colaboradores, 2008; Durán y colaboradores, 2008; Gornik y colaboradores, 2010). Sin embargo, también se ve afectado por la especie, condiciones *antemortem* y de sacrificio y de la liberación de fosfato inorgánico y amonio provenientes de la degradación de ATP y proteínas, respectivamente (Sikorski y colaboradores, 1990). En la literatura se indican valores de pH cercanos a 7.0 para organismos vivos. Por ejemplo, se han descrito valores iniciales de 6.6, 7.0, 6.9, 6.8 y 6.5 para lenguado *Paralichthys patagonicus* (Massa y colaboradores, 2005), langosta *Panulirus interruptus* (Márquez-Ríos y colaboradores, 2007), salmón *Salmo salar* (Mørkøre y colaboradores, 2008), carpa *Cyprinus carpio* y trucha *Oncorhynchus mykiss* (Durán y colaboradores, 2008), respectivamente.

Producción y utilización de energía

El ATP es el nucleótido más abundante en el músculo de organismos vivos y se genera durante la glucólisis en el sarcoplasma, así como en el ciclo de los ácidos tricarbónicos y la cadena de transporte de electrones en la mitocondria (Lehninger y colaboradores, 2008). Para las dos últimas rutas es necesaria la presencia de oxígeno que no se suministra cuando el organismo muere, por lo que la generación de

energía aeróbica se detiene (Huss, 1995). Bajo éstas condiciones, la mayor parte del *ATP post mortem* se genera por la glucólisis anaeróbica, que es un proceso muy ineficiente para la producción neta de energía (2 *ATP*), en comparación a la glucólisis aerobia (36 *ATP*).

En el caso de los organismos acuáticos, estos almacenan glucógeno en su músculo, el cual, bajo condiciones de requerimiento de energía lo obtienen a través de rutas aeróbicas o anaeróbicas. En las etapas iniciales *post mortem* se puede obtener energía rápidamente por dos vías. La primera es a través de la enzima adenilato quinasa, que cataliza la formación de *ATP* mediante la unión de dos moléculas de adenosina 5' difosfato (*ADP*) con la concomitante producción de adenosina 5' monofosfato (*AMP*). La otra vía es a través de la utilización de fosfágenos, que en vertebrados es la creatina fosfato (Lehninger y colaboradores, 2008) y en invertebrados la arginina fosfato (Wongso y colaboradores, 1998). La reacción consiste en regenerar *ATP* por transferencia del grupo fosfato del fosfágeno al *ADP* por la enzima creatina quinasa o arginina quinasa. Es importante destacar que en el caso de los invertebrados se ha observado que la arginina liberada se une a una molécula de piruvato por la enzima octopina deshidrogenasa, para producir octopina y no ácido láctico (Grieshaber y Gäde, 1976). Se considera la acumulación del ácido láctico como el factor principal en la acidificación muscular *post mortem*. En el caso de la octopina no existe evidencia de su posible participación en la caída de pH debido a su alcalinidad (Huss, 1995).

Las concentraciones de *ATP* y productos de degradación en el músculo están muy relacionados con el *rigor mortis* y con la pérdida de frescura e inicio de deterioro. La degradación del *ATP* se presenta en dos etapas, la primera consiste en la transformación rápida de este metabolito hasta *ADP*, *AMP* y, posteriormente, hasta inosina 5' monofosfato (*IMP*), inosina (*HxR*) e hipoxantina (*Hx*), por acción de enzimas endógenas. En la segunda etapa que se lleva a cabo lentamente, se observa una oxidación de la *Hx* hasta Xantina y después hasta ácido úrico, por enzimas bacterianas durante la etapa de *post rigor* (Surette y colaboradores, 1988; Ashie y colaboradores, 1996).

Se ha observado que los niveles de *ATP* en productos pesqueros disminuyen significativamente durante las primeras 24 horas *post mortem* cuando se almacenan a 0 °C, además la velocidad y nivel de degradación se relacionó con la especie y el tipo de músculo (Sikorski, y colaboradores, 1990). La mayoría de los estudios coinciden al reportar valores de *ATP* ≤ 1 $\mu\text{mol/g}$ en las primeras 12-24 h, observándose normalmente el inicio del *rigor mortis* en este periodo de tiempo. Lo anterior se ha encontrado en jurel *Trachurus japonicus* (Mishima y colaboradores, 2005), calamar gigante *Dosidicus gigas* (Márquez-Ríos y colaboradores, 2007), calamar Japonés *Todarodes pacificus* (Omura y colaboradores, 2007), y salmón *Salmo salar* (Mørkøre y colaboradores, 2008).

Desnaturalización de proteínas

La desnaturalización de una proteína consiste en la pérdida de cualquiera de sus estructuras de orden superior: secundaria, terciaria o cuaternaria, lo que provoca a su vez una disminución o desaparición de sus propiedades funcionales, afectando así sus características fisicoquímicas (Lehninger y colaboradores, 2008). Los principales factores que afectan la estabilidad de las estructuras proteicas son la temperatura, detergentes y pH. Este último es el más importante por ser el más relacionado con el *rigor mortis*. Dependiendo del grado de descenso del pH, las diferentes proteínas musculares pueden enfrentarse a pH cercanos a su punto isoeléctrico, en que disminuyen las fuerzas de repulsión entre ellas, tendiendo a agregarse y precipitar, perdiendo así su funcionalidad.

Durante la disminución de pH que normalmente acompaña al proceso de *rigor mortis* se promueve la liberación de catepsinas por desestabilización de las membranas lisosomales (inicio de la autólisis). Estas enzimas que tienen actividad en un amplio rango de pH (en especial las catepsinas D y L) pueden degradar proteínas estructurales provocando una inestabilidad en las células musculares, incluso rompiendo los complejos actina-miosina que formaron el entrecruzamiento durante el proceso de *rigor mortis*. El mismo pH bajo generado puede promover la pérdida de conformación de algunas proteínas del sarcómero, disminuyendo su función estructural y generando inestabilidad dentro del propio sistema de la célula muscular. Además, se ha visto que las moléculas de colágeno que forman el tejido conectivo son más susceptibles a la degradación cuando pierden su configuración nativa (Pedrosa-Menabrito y Regenstein, 1988).

Se ha estudiado la desnaturalización de proteínas y su relación con el *rigor mortis*, en donde destacan estudios realizados en trucha *Oncorhynchus mykiss*, salmón *Salmo salar*, langosta *Nephrops norvegicus* (Robb y colaboradores, 2000; Poli y colaboradores, 2005; Mørkøre y colaboradores, 2008; Gornik y colaboradores, 2009). En general, los efectos de la desnaturalización proteica asociados al *rigor mortis* se han relacionado con una disminución en la solubilidad de las proteínas, capacidad de retención de agua y de la coloración muscular.

Deterioro bacteriano

El control de la acción bacteriana en el músculo vivo de los productos pesqueros se lleva a cabo por los propios sistemas de defensa de los organismos. Una vez que los organismos mueren dichos mecanismos cesan. Por lo tanto, es en este punto cuando

el crecimiento microbiano, dependiendo de las condiciones *antemortem* y *post mortem* puede retardarse o acelerarse. Otros mecanismos de defensa son las barreras físicas como la piel en el caso de los pescados, seguido de las estructuras de las células musculares que impiden el libre acceso para los microorganismos (Huss, 1995).

El deterioro bacteriano en los productos de la pesca se puede relacionar con el *rigor mortis* en dos etapas principales, discutidas a continuación. En primer lugar, se ha observado que el descenso del pH por la acumulación de ácido láctico durante el *rigor mortis* actúa como un antimicrobiano natural, retardando el crecimiento de las bacterias (Domínguez y Gutiérrez, 1993). El inicio de la proliferación bacteriana se ha relacionado con la resolución del *rigor mortis* en el sentido de que durante esta última etapa se inicia la autólisis, que promueve la desestabilización del complejo proteico que forma el sarcómero. Se considera que bajo éstas condiciones, el complejo estructural de las células musculares resultaría más susceptible al ataque y proliferación de la microflora bacteriana propia del organismo (Surette y colaboradores, 1988; Ashie y colaboradores, 1996).

Factores que influyen en el desarrollo del *rigor mortis*

Existen muchas variables o condiciones que tienen influencia en el *rigor mortis*. A continuación se detallan los principales factores relacionados con este evento.

Especie

Se ha descrito que la especie es uno de los factores involucrados en el desarrollo del *rigor mortis* y en diferentes estudios publicados se han encontrado variaciones en el tiempo requerido para que se presente este proceso. En el caso de peces, Iwamoto y colaboradores (1990) reportaron para medregal del Japón (*Seriola quinqueradiata*), chato índico (*Platycephalus indicus*) y perca rayada (*Oplegnathus fasciatus*) almacenados a 0 °C, que el inicio y el máximo *rigor mortis* se presentaron a las 2 y 7, 10 y 20, 0 y 13 h, respectivamente. En este mismo estudio se observó que el inicio del *rigor mortis* se retardó considerablemente cuando las tres especies se almacenaron a 10 °C en comparación a 0 °C. En bacalao (*Gadus morhua*) sacrificado por percusiones craneales y almacenado en hielo, se reportó el inicio del *rigor* a las 22 h, con un rigor máximo a las 26 h, mientras que en organismos que fueron anestesiados previo al sacrificio, el inicio del *rigor* se retrasó hasta 47 h (Digre y colaboradores, 2011). De igual forma, existen otros estudios que nos permiten aseverar que la velocidad de

inicio del *rigor* si está en función de la especie (Skjervold y colaboradores, 2001; Roth y colaboradores, 2006; Kiessling y colaboradores, 2006; Durán y colaboradores, 2008).

Se han desarrollado algunos estudios en crustáceos, por ejemplo, Matsumoto y Yamanaka (1991) evaluaron el efecto de la temperatura de almacenamiento (10, 5, 0 y -3 °C) sobre el inicio del *rigor mortis* del camarón *Penaeus japonicus*. Estos investigadores reportaron que el rigor inició a las tres horas, independientemente de la temperatura. Encontraron que el desarrollo del rigor se presentó más rápidamente a las temperaturas de almacenamiento más bajas (0 y -3 °C). Por otro lado, Gornik y colaboradores (2009), no observaron la instauración del *rigor mortis* aún después de 24 horas de almacenamiento a 10 °C en langosta Noruega *Nephrops norvegicus*. Con respecto a moluscos, Kimura y colaboradores (1999), encontraron el *rigor* máximo después de las 48 h en el pectínido *Patinopecten yessoensis* almacenado a 0 °C. Por todo lo anterior es evidente la diferencia en el desarrollo del proceso de *rigor mortis* de acuerdo a las distintas especies estudiadas. Es importante mencionar el efecto de otras variables involucradas en estos estudios, como el estrés *antemortem*, el método de sacrificio y temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis*. Por lo tanto, más adelante se discutirá el impacto de factores como el estrés *antemortem*, el método de sacrificio y temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis*.

Condiciones antemortem

El proceso de *rigor mortis* en productos pesqueros se puede visualizar como una consecuencia del impacto de las condiciones de almacenamiento, principalmente la temperatura. Existen estudios en los que se ha evaluado el efecto que las condiciones *antemortem* pueden llegar a mostrar sobre el desarrollo de este importante proceso *post mortem*. Los estudios se han llevado a cabo principalmente en peces como el salmón *Salmo salar* o la carpa *Cyprinus carpio* (Kiessling y colaboradores, 2006; Roth y colaboradores, 2006; Mørkøre y colaboradores, 2008; Durán y colaboradores, 2008), aunque también se han realizado investigaciones al respecto en especies que no pertenecen al ambiente acuático como porcinos, bovinos y aves (Graziotti y colaboradores, 2000; Novelo-Barrera y colaboradores, 2008; Sams y Dzuik, 2008; Li y colaboradores, 2010). Con respecto a los productos relacionados con las pesquerías, los principales factores *antemortem* evaluados han sido la temperatura de aclimatación o desarrollo de los organismos (relacionada a su vez con la estacionalidad o época de captura), el estrés y el ayuno.

El efecto de la temperatura *antemortem* sobre el *rigor mortis* se ha evaluado llevando a cabo la aclimatación de los organismos en el corto y largo plazo. Por ejemplo, en un estudio realizado por Kiessling y colaboradores (2006) con salmón *Salmo salar*, se reportaron diferencias en el proceso de *rigor mortis* de acuerdo a la temperatura a la que los especímenes fueron sometidos previo al sacrificio. En este trabajo, un lote de organismos fue mantenido 10 días a una temperatura de aclimatación de 4 °C, mientras que otra parte de éstos fueron colocados en un tanque con agua a 12 °C durante el mismo periodo de tiempo, y fueron transferidos a 4 °C durante 2 h previo al sacrificio. Este último lote de organismos presentó un *rigor mortis* más acelerado debido probablemente al estrés generado por el choque térmico. En otro estudio realizado con *Pagrus auratus* se llevó a cabo una aclimatación a diferentes temperaturas, pero durante todo un periodo de cultivo con organismos con un peso inicial de 9 g hasta alcanzar 107-209 g de peso entero. Se evaluaron dos distintas temperaturas de aclimatación simulando condiciones de verano (19.6 °C) e invierno (11.9 °C), encontrando que esta última temperatura permitió retardar el *rigor mortis* (Jerrett y colaboradores, 2002). Otros estudios donde se ha evaluado el efecto de la temperatura de aclimatación sobre el *rigor mortis* se han realizado con la especie *Cyprinus carpio*, donde inicialmente se reportó un probable desarrollo más acelerado de este evento en organismos aclimatados a una temperatura elevada (30 °C) en comparación con una baja (10 °C) (Watabe y colaboradores, 1990). A partir de estudios posteriores se encontró que además de la temperatura de aclimatación, lo que pudiese estar afectando el proceso de *rigor mortis* es la diferencia entre esta temperatura y la de almacenamiento (Abe y Okuma, 1991; Hwang y colaboradores, 1991). Esto también aplica para el estudio mencionado anteriormente realizado con *Pagrus auratus* (Jerrett y colaboradores, 2002).

Con respecto al impacto del estrés sobre el desarrollo del *rigor mortis*, se han realizado diferentes trabajos, principalmente en peces. En un estudio con salmón *Salmo salar* se evaluó el efecto del estrés por hacinamiento o por estimulación eléctrica comparado con organismos descansados y relajados (controles) previo al sacrificio. Se encontró que la estimulación eléctrica *antemortem* presentó mayores efectos negativos tanto en el tiempo de instauración del *rigor mortis*, así como en el nivel de rigor máximo, al compararlo con los dos tratamientos restantes. Como era de esperarse, los resultados más favorables se obtuvieron con los organismos que se mantuvieron en un estado *antemortem* relajado (Roth y colaboradores, 2006). Resultados similares para el uso de la estimulación eléctrica previa al sacrificio se han reportado para la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Robb y colaboradores, 2000). En un estudio similar llevado a cabo con trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* y con la carpa *Cyprinus carpio*, se evaluó el efecto del nivel de estrés provocado

por el sacrificio mediante percusiones craneales y por el método tradicional (por asfixia) sobre el *rigor mortis*. Para ambas especies se encontró que el primer método permitió retardar el *rigor mortis*, obteniendo a su vez beneficios en la calidad del producto final, respecto principalmente a la textura y algunos atributos bioquímicos (Durán y colaboradores, 2008).

En otros estudios, en los que se evaluó el efecto del estrés sobre el *rigor mortis*, Thomas y colaboradores (1999), encontraron para salmón *Salmo salar* y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* que el ejercicio previo al sacrificio aceleró el proceso de *rigor mortis*. En este último estudio y al igual que en la mayoría de los estudios en los que se evaluó el impacto de factores *antemortem* sobre el proceso de *rigor mortis*, se ha observado que también se vieron afectados otros parámetros bioquímicos y de calidad, entre los que se encontraba una disminución de los niveles de ATP muscular y una drástica caída de pH *post mortem*, así como cambios en la textura y color.

Condiciones post mortem (temperatura de almacenamiento)

La temperatura de almacenamiento ha sido uno de los principales factores que influyen el proceso de *rigor mortis*. Los estudios más interesantes se han realizado en especies como la carpa *Cyprinus carpio* (Abe y Okuma, 1991; Hwang y colaboradores, 1991), sardina *Sardinops melanosticta* y macarela *Pneumatophorus japonicus japonicus* (Watabe y colaboradores, 1989), tilapia *Oreochromis* spp. (Tomé y colaboradores, 2000). En estudios realizados con la especie *Cyprinus carpio* se evaluó el desarrollo del *rigor mortis* utilizando temperaturas de almacenamiento de 0 y 10 °C. Se encontró que a esta última temperatura el evento *post mortem* mencionado se retrasaba con respecto a su aparición, así como también se obtenía un rigor máximo menos pronunciado (Abe y Okuma, 1991). En un trabajo similar con esta misma especie, los resultados del efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis* se relacionaron no sólo con la temperatura de almacenamiento, sino también con la temperatura a la que habían sido mantenidos los organismos previo a su sacrificio o bien, la diferencia entre estas dos (Hwang y colaboradores, 1991). En estudios realizados con sardina (*Sardinops melanosticta*) y macarela (*Pneumatophorus japonicus japonicus*) almacenadas a 0 y 10 °C, se encontró para ambas especies un *rigor mortis* más pronunciado a la temperatura más baja. Sin embargo, a pesar de que el rigor máximo fue menor para los organismos almacenados a 10 °C, estos presentaron una rápida resolución del rigor (o relajación muscular), después de cinco horas *post mortem* (Watabe y colaboradores, 1989).

Iwamoto y colaboradores (1990) reportaron diferencias en el progreso del *rigor mortis* con respecto a la temperatura de almacenamiento para diferentes especies. De la misma manera, en un estudio realizado con tilapia *Oreochromis spp.*, se encontró que a 10 °C se retardaba el tiempo para alcanzar el *rigor mortis* máximo, en comparación con organismos almacenados a temperaturas de 0 y 27 °C. Por lo anterior, en este estudio se recomendó almacenar los organismos a 10 °C durante las primeras 24 h, para posteriormente transferirlos a la temperatura más baja, evitando así una posible contaminación bacteriana y reducción de la vida de anaquel (Tomé y colaboradores, 2000).

En algunos de los estudios analizados se concluyó que un *rigor mortis* más acelerado y de mayor magnitud a temperaturas bajas (normalmente utilizando 0 °C) se debía a la incapacidad del retículo sarcoplásmico para recaptar el Ca^{+2} desde el sarcoplasma. Lo anterior provoca que las concentraciones relativamente elevadas de Ca^{+2} mantenidas dentro del sarcoplasma promuevan la actividad de la ATP de Mg^{+2} muscular, consumiendo las reservas energéticas (ATP). Por lo tanto, con esta ausencia o baja concentración de ATP muscular, se forma el complejo actina-miosina sin pasar al estado relajado, dando lugar a la aparición del *rigor mortis* (Watabe y colaboradores, 1989; Iwamoto y colaboradores, 1990; Tomé y colaboradores, 2000).

Métodos de seguimiento del *rigor mortis*

Debido a la importancia que representa el *rigor mortis* como factor determinante en la calidad de los productos pesqueros, se han desarrollado una serie de métodos para evaluarlo. A continuación se describen brevemente algunas metodologías y estudios que se han empleado y aplicado principalmente en peces.

Métodos físicos

En general, las evaluaciones de tipo físicas para medir el *rigor mortis* encajan dentro de aquellas que toman en cuenta los cambios estructurales debidos a la fuerza endógena que se genera en el músculo por contracción del sarcómero, como es el caso de la medición de la tensión isométrica. Por otro lado, también se evalúa el efecto o resistencia del músculo a una fuerza externa aplicada, como por ejemplo en la medición del ángulo de flexión determinado ya fuera en peces o crustáceos (Kiessling y colaboradores, 2006).

En un estudio realizado con salmón *Salmo salar* se aplicaron dos métodos físicos para monitorear el proceso de *rigor mortis* a diferentes temperaturas de aclimatación y almacenamiento (Kiessling y colaboradores, 2006). Uno de ellos consistió en la determinación de la contracción del filete entero utilizando un analizador automático de imágenes, con la ventaja de que se pueden generar una gran cantidad de datos de las imágenes a medida que se desarrolla el *rigor mortis*. El segundo método usado por Kiessling y colaboradores (2006), conocido como “Índice de Rigor”, es uno de los más utilizados en peces y toma en cuenta la rigidez *post mortem* que presentan los organismos. Con este método se mide la flexión de la cola y se reporta como porcentaje de flexión con respecto a las condiciones iniciales. Esta técnica es relativamente fácil de realizar y no exige la utilización de herramientas, equipos o accesorios sofisticados (Bito y colaboradores, 1983).

Algunos estudios sobre el *rigor mortis* en los que se han utilizado evaluaciones físicas se han llevado a cabo en crustáceos como la langosta noruega *Nephrops norvegicus* (Gornik y colaboradores, 2009). Entre las evaluaciones realizadas en este estudio se encuentra el análisis de imágenes por microscopía de luz y herramientas histológicas para medir la contracción del sarcómero, relacionando esto con el *rigor mortis*. En este mismo estudio, se evaluó el *rigor mortis* determinando el ángulo de flexión del abdomen, similar a la técnica reportada por Bito y colaboradores (1983) para peces. Esta técnica ya había sido reportada anteriormente por Matsumoto y Yamanaka (1991) para el camarón *Penaeus japonicus*.

Métodos mecánicos

Al igual que en el caso de las evaluaciones físicas, los métodos mecánicos también se pueden incluir dentro de esa misma clasificación que toma en cuenta la medición de la fuerza endógena muscular o bien la fuerza externa aplicada. Kiessling y colaboradores (2006), evaluaron dos métodos mecánicos para monitorear el *rigor mortis* en salmón (*Salmo salar*). En el primero de ellos, se aplicó la medición de la tensión isométrica del músculo estriado extirpado, mediante un analizador de carne Rigotech® (Reologica Instruments AB, Suecia). La técnica y el dispositivo también fueron utilizados en el análisis de *rigor mortis* de la trucha *Oncorhynchus mykiss* (Stien y colaboradores, 2006). Este equipo presenta la ventaja de que contiene una cámara o compartimento en el que se llevan a cabo las mediciones, en la que se puede controlar la temperatura durante las determinaciones. En algunos trabajos se han utilizado aparatos o dispositivos (algunos más elaborados que otros) para dar seguimiento al proceso de *rigor mortis*, incluso en ciertos casos con otros tipos de músculo de

organismos no pesqueros. Algunos de estos ya se han venido realizando desde hace tiempo con ratas, bovinos y cerdos empleando diferentes tipos de rigómetros (Kobayashi y colaboradores, 2001).

Kiessling y colaboradores (2006), también utilizaron un método que se basa en la evaluación de los cambios en la dureza muscular por compresión con una sonda esférica similar a las utilizadas en texturómetros convencionales. Este método se utiliza como una alternativa a técnicas poco objetivas basadas en evaluaciones sensoriales como el *Finger Test*, practicadas normalmente por los consumidores bajo condiciones comerciales o algunas que incluso se han seguido utilizando como es el “Método del Estado de Rigor” (Digre y colaboradores, 2011). En este caso, la técnica está incluida dentro de las que se basan en la medición de la resistencia del músculo a una presión o fuerza externa aplicada. La utilización del rigómetro o dispositivos similares pertenecen a métodos que determinan la fuerza endógena generada en el músculo.

Es importante considerar que de acuerdo a las técnicas anteriormente descritas, el *rigor mortis* se puede dividir en dos fases. La primera fase dominada por las fuerzas endógenas generadas en los sarcómeros durante la contracción, que puede ser fielmente monitoreada evaluando la contracción del filete entero y la tensión isométrica. Lo anterior basándonos en que estas fuerzas endógenas arrojaron los valores pico para ambas técnicas entre 8 y 24 h *post mortem*. La segunda fase del *rigor mortis* fue observada de mejor manera mediante la evaluación de la dureza y la rigidez, en la que de manera general los valores pico se obtuvieron entre 24 y 48 horas *post mortem* para ambas técnicas.

Métodos bioquímicos

Existe una gran cantidad de parámetros, metabolitos o compuestos que se relacionan con el proceso de *rigor mortis* en los productos pesqueros, por lo que su variación, producción o degradación ha sido utilizada en el estudio y entendimiento de este importante evento *post mortem*. Entre los principales podemos mencionar el ATP, ácido láctico, glucógeno y pH.

En la mayoría de trabajos de bioquímica *post mortem* en los que se estudia el proceso de *rigor mortis*, el ATP es reconocido como uno de los principales metabolitos involucrados. Uno de los primeros estudios al respecto, fue realizado por Bate-Smith y Bendall (1947), que trabajaron con músculo de conejo y reportaron la importancia del ATP en la contracción muscular y a su vez en el *rigor mortis*. Además observaron que su hidrólisis y consumo tiene un papel fundamental en el desarrollo de este

proceso. Posteriormente, Sikorski y colaboradores (1990) reportaron que de manera general, en el músculo de los productos pesqueros la instauración del *rigor mortis* se lleva a cabo cuando los niveles de ATP disminuyen hasta $\leq 1 \mu\text{mol/g}$. A partir de esto, la determinación de ATP se utiliza como técnica de apoyo o como complemento en una gran cantidad de estudios en los que se realiza el seguimiento al proceso de *rigor mortis* mediante otro tipo de técnicas.

Algunos de los primeros estudios donde se evaluó el comportamiento *post mortem* de la concentración de ATP con respecto al *rigor mortis* en productos pesqueros, se llevaron a cabo con la carpa *Cyprinus carpio* (Watabe y colaboradores, 1990, Abe y Okuma, 1991; Hwang y colaboradores, 1991) y con *Seriola quinqueradiata*, *Platycephalus indicus* y *Oplegnathus fasciatus* (Iwamoto y colaboradores, 1990). Los resultados obtenidos en estos estudios indicaron una clara tendencia a la disminución de los niveles de ATP con la concomitante aparición o instauración del *rigor mortis*. Entre los trabajos más recientes en los que se ha utilizado este metabolito como indicador del *rigor mortis* en peces se encuentran los realizados con el salmón *Salmo salar* (Wang y colaboradores, 1998), bacalao *Gadus morhua* (Cappeln y Jessen, 2002) y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Thomas y colaboradores, 1999). Además, existen estudios realizados en especies de crustáceos: camarón *Penaeus japonicus* y la langosta *Nephrops norvegicus* (Matsumoto y Yamanaka, 1991; Gornik y colaboradores, 2009) o el pectínido *Patinopecten yessoensis* (Kimura y colaboradores, 1999).

Además del uso del ATP como indicador, en muchos de los estudios realizados con productos pesqueros también se han determinado otros compuestos. Por ejemplo, el ácido láctico se considera un importante metabolito relacionado con el *rigor mortis* por ser el compuesto final de la glucólisis anaeróbica, teniendo en cuenta que bajo condiciones *post mortem* la principal fuente de producción de ATP es mediante esta vía. Además, el ácido láctico se relaciona con un parámetro muy importante como lo es el pH, ya que se considera a este compuesto el principal responsable de la acidificación *post mortem* del músculo. Recordemos también que el pH se relaciona de manera cercana con el proceso de instauración y resolución del proceso de *rigor mortis*, como se mencionó anteriormente. Se sabe que el nivel de glucógeno que mantienen como reserva los organismos previo a su sacrificio dictará en gran parte los niveles en las concentraciones de ácido láctico *post mortem* y, por lo tanto, los movimientos de pH.

Efecto del *rigor mortis* sobre la calidad del producto final: consideraciones finales

Es bien conocido que el *rigor mortis* y los cambios bioquímicos asociados a este fenómeno pueden llegar a tener gran influencia sobre la calidad final de los productos pesqueros. Aunque existen una gran cantidad de trabajos en los que se ha estudiado el *rigor mortis* y los procesos *post mortem*, poco se ha estudiado sobre el efecto directo de este fenómeno sobre la calidad final de los productos pesqueros. A pesar de lo anterior, los estudios reportados hasta el momento permiten concluir que al hablar de calidad en productos pesqueros se debe considerar dos aspectos importantes, uno de ellos, los atributos sensoriales, mientras que el segundo la inocuidad (relacionada con la calidad microbiológica). En el primer caso, se sabe que la velocidad de inicio e intensidad con la que se presenta el *rigor mortis* en el músculo de los productos pesqueros, puede llegar a tener gran influencia sobre algunas características entre las que se destacan el color, capacidad de retención de agua y la textura. Las variaciones en estos atributos se relacionan principalmente con cambios conformacionales principalmente de las proteínas estructurales (miofibrilares), que pueden llegar a sufrir una desnaturalización y con ello perder su funcionalidad, lo que es de suma importancia tecnológica. Estudios en los que se han evaluado el impacto de las diferentes etapas del *rigor mortis* sobre atributos de calidad de productos pesqueros, han encontrado que el estado de pre-, in- o *postrigor mortis* influye en forma importante en parámetros físicos como el color, capacidad de retención de agua y textura. Los mejores resultados se obtuvieron al realizar estas operaciones en estado de *pre-rigor* (Skjervold y colaboradores, 2001; Birkeland y colaboradores, 2007). Con respecto a la cuestión microbiológica, el deterioro de los productos pesqueros por esta vía se presenta después de la resolución del *rigor mortis*, provocando una cascada de eventos que aunados a los procesos endógenos actúan en detrimento de los atributos de calidad e inocuidad del producto (Huss, 1995).

En la literatura, la información sobre el impacto que tiene el *rigor mortis* en la calidad y vida de anaquel de los productos de la pesca no ha sido muy concluyente, por lo que resulta necesario un estudio más detallado del mismo. Lo que es un hecho es que retardar el inicio y la velocidad del *rigor mortis* permitiría obtener un producto de mayor calidad y vida de anaquel (Sikorski y colaboradores, 1990; Huss, 1995), debido a que después de la resolución del *rigor mortis* se presentan una serie de eventos que disminuyen la calidad tanto sensorial como microbiológica de los productos pesqueros.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Sonora por las facilidades otorgadas para el desarrollo del presente capítulo, así como al Dr. Aldo Alejandro Arvizu Flores por la revisión del mismo.

Referencias

- Abe, H. y E. Okuma (1991), *Rigor mortis* progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 57, pp. 2095-2100.
- Ashie, I. N. A., J. P. Smith y B. K. Simpson (1996), “Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 36, pp. 87-121.
- Bate-Smith, E. C. y J. R. Bendall (1947), “*Rigor mortis* and adenosine triphosphate”, *The Journal of Physiology*, vol. 106, pp. 177-185.
- Birkeland, S., L. Akse, S. Joensen, T. Tobiassen y T. Skåra (2007), “Injection-salting of pre rigor fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*)”, *Journal of Food Science*, vol. 72, pp. E029-E035.
- Bito, M., K. Yamada, Y. Mikumo y K. Amano (1983), “Studies on *rigor mortis* of fish: I. Difference in the mode of *rigor mortis* among some varieties of fish by modified Cutting’s method”, *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, vol. 109, pp. 89-96.
- Cappeln, G. y F. Jessen (2002), “ATP, IMP, and glycogen in cod muscle at onset and during development of rigor mortis depend on the sampling location”, *Journal of Food Science*, vol. 67, pp. 991-995.
- Cheftel, J. C. y H. Cheftel (1976), *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos*, Zaragoza, España, Acribia.
- Digre, H., U. Erikson, I. G. Aursand, L. Gallart-Jornet, E. Misimi y T. Rustad (2011), “Rested and stressed farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) chilled in ice or slurry and effects on quality”, *Journal of Food Science*, vol. 76, pp. S89-S100.
- Domínguez, G. T. y V. Gutiérrez (1993), “Elaboración y evaluación de la estabilidad de salchichas ahumadas de tilapia”, México, Hermosillo, Sonora, Universidad de Sonora, tesis de licenciatura.
- Durán, A., U. Erdemli, M. Karakaya y M. Tyilmaz (2008), “Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in- or post-rigor periods”, *Fisheries Science*, vol. 74, pp. 1146-1156.

- Gornik, S. G., A. Albalata, R. J. A. Atkinson y D. M. Neil (2009), “Biochemical investigations into the absence of *rigor mortis* in Norway lobster *Nephrops norvegicus*”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, vol. 373, pp. 58-65.
- Gornik, S., A. Albalat, R. Atkinson, G. Coombs y D. Neil (2010), “The influence of defined ante-mortem stressors on the early post-mortem biochemical processes in the abdominal muscle of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758)”, *Marine Biology Research*, vol. 6 (3), pp. 223-238.
- Graziotti, G., C. Ríos y L. Basso (2000), “Las fibras musculares esqueléticas y la producción de carne en el cerdo”, *Revista Argentina de Producción Animal: As*, vol. 20 (2), pp. 145-159.
- Grieshaber, M. y G. Gäde (1976), “The biological role of octopine in the squid, *Loligo vulgaris* (Lamarck)”, *Journal of Comparative Physiology B*, vol. 108, pp. 225-232.
- Huss, H. H. (1995), “Quality and quality changes in fresh fish (FAO. Fisheries Technical Paper 348)”, Rome, Italy, Food and Agriculture Organization of the United Nations, disponible en <http://www.fao.org/docrep/V7180E/V7180E00.HTM>; consultado el 15 de enero del 2009.
- Hwang, G. C., H. Ushio, S. Watabe, M. Iwamoto y K. Hashimoto (1991), “The effect of thermal acclimation on *rigor mortis* progress of carp stored at different temperatures”, *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 57 (3), pp. 541-548.
- Iwamoto, M., Yamanaka, H., Abe, H., Watabe, S. y K. Hashimoto (1990), “*Rigor mortis* progress and its temperature-dependency in several marine fishes”, *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 56, pp. 93-99.
- Jerrett, A., R. Law, A. Holland y S. Black (2002), “Profiles of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*) postmortem metabolism as affected by acclimated temperature and postmortem storage temperature”, *Journal of Food Science*, vol. 67, pp. 2843-2850.
- Kiessling, A., L. H. Stien, Ø. Torslett, J. Suontama y E. Slinde (2006), “Effect of pre- and post-mortem temperature on rigor in Atlantic salmon muscle as measured by four different techniques”, *Aquaculture*, vol. 259, pp. 390-402.
- Kimura, M., M. Narita, H. Nomata, H. Ushio y H. Yamanaka (1999), “Effects of washing methods on the *rigor* of scallop adductor muscle”, *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 65 (1), pp. 103-107.
- Kobayashi, M., H. Ikegaya, I. Takase, K. Hatanaka, K. Sakurada y H. Iwase (2001), “Development of *rigor mortis* is not affected by muscle volume”, *Forensic Science International*, vol. 117 (3), pp. 213-219.
- Lehninger, A. L., D. L. Nelson y M. M. Cox (2008), *Lehninger: principles of biochemistry*, New York, W. H. Freeman, 5th ed.

- Li, C., P. Shi, C. Xu, X. Xu y G. Zhou (2010), "Tracing processes of *rigor mortis* and subsequent resolution of chicken breast muscle using a texture analyzer", *Journal of Food Engineering*, vol. 100, pp. 388-391.
- Márquez-Ríos, E., S. Gómez-Jiménez, V. M. Ocaño-Higuera, F. J. Castillo-Yañez y R. Pacheco-Aguilar (2007), "Efecto de la emersión a corto plazo a dos temperaturas de exposición aérea sobre parámetros de calidad en cola de langosta espinosa, *Panulirus interruptus*", *Ciencias Marinas*, vol. 33 (1), pp. 1-10.
- Massa, A. E., D. L. Palacios, M. E. Paredi y M. Crupkin (2005), "Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys patagonicus*)", *Journal of Food Biochemistry*, vol. 29, pp. 570-590
- Matsumoto, M. y H. Yamanaka (1991), "Studies of *rigor mortis* of kuruma prawn muscle", *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 57, pp. 2121-2126.
- Mishima, T., T. Nonaka, A. Okamoto, M. Tsuchimoto, T. Ishiya, K. Tachibana y M. Tsuchimoto (2005), "Influence of storage temperatures and killing procedures on *post-mortem* changes in the muscle of horse mackerel caught near Nagasaki Prefecture, Japan", *Fisheries Science*, vol. 71, pp. 187-94.
- Morison, A. K. (2004), "Is *rigor mortis* the cause of post-mortem shrinkage in juvenile *Pagrus auratus*?", *Journal of Fish Biology*, vol. 65, pp. 883-888.
- Mørkøre, T., I. Pablo, T. Mazo, T. Vildana y O. Einen (2008), "Impact of starvation and handling stress on *rigor* development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L)", *Aquaculture*, vol. 277, pp. 231-238.
- Novelo-Barrera, R., J. Franco-Sconamiglio, G. Bianchi-Olascoaga, O. Feed-Boliolo, O. Bentacur-Murgiondo, P. Benia-Arocena y V. Stefanell-Fuidio (2008), "Efecto de la temperatura de refrigeración sobre la calidad de la carne de novillos Holstein a lo largo de la maduración", *Técnica Pecuaria en México*, vol. 46 (2), pp. 137-145.
- Ocaño-Higuera, V. M. (2003), "Efecto de la temperatura sobre la fisiología *antemortem* y la bioquímica *posmortem*, calidad y vida de anaquel del músculo abductor, en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*", Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., México, Hermosillo, Sonora, tesis de doctorado.
- Omura, Y., M. Yamazawa, Y. Yamashita, E. Okazaki y S. Watabe (2007), "Relationship between *postmortem* changes and browning of boiled, dried, and seasoned product made from Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle", *Journal of Food Science*, vol. 72, pp. C044-C049.
- Pedrosa-Menabrito, A. y J. M. Regenstein (1988), "Shelf-life extension of fresh-fish spoilage of fish", *Journal of Food Quality*, vol. 11, pp. 117-127.
- Poli, B. M., G. Parisi, F. Scappini y G. Zampacavallo (2005), "Fish welfare and quality by pre-slaughter management", *Aquaculture International*, vol. 13, pp. 29-49.

- Robb, D. H. F., S. C. Kestin y P. D. Warriss (2000), *Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout*. *Aquaculture*, vol. 182, pp. 261-269.
- Roth, B., Slinde, E. y Arildsen, J. (2006), "Pre or post *mortem* muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on *rigor mortis* and the physical properties of flesh", *Aquaculture*, vol. 257, pp. 504-510.
- Sams, A. R. y C. S. Dzuik (1999), "Meat quality and *rigor mortis* development in broiler chickens with gas-induced anoxia and *postmortem* electrical stimulation", *Poultry Science*, vol. 78, pp. 1472-1476.
- Sikorski, Z. E., A. Kolakowska y J. R. Burt (1990), "Postharvest biochemical and microbial changes", en Z. E. Sikorski (ed.), *Seafood: Resources, nutritional composition and preservation*, USA, FL, CRC, pp. 55-75.
- Skjervold, P. O., A. M. Bencze-Rora, S. O. Fjaera, A. Vegusdal, A. Vorre y O. Einen (2001), "Effects of pre-, in-, or post-*rigor* filleting of live chilled Atlantic salmon", *Aquaculture*, vol. 194 (3-4), pp. 315-326.
- Stien, L. H., J. Suontama y A. Kiessling (2006), "Image analysis as a tool to quantify *rigor* contraction in pre-*rigor*-filleted filets", *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 50, pp. 109-120.
- Suárez-Mahecha, H., A. De Francisco, L. E. Beirão, S. Pardo-Carrasco y M. Cortés-Rodríguez (2007), "Pérdida de textura post *mortem* de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío", *Acta Biológica Colombiana*, vol. 12 (1), pp. 3-18.
- Surette, M. E., T. A. Gill y P. J. LeBlanc (1988), "Biochemical basis of *postmortem* nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 36, pp. 19-22.
- Thomas, P. M., N. W. Pankhurst y H. A. Bremner (1999), "The effect of stress and exercise on post-*mortem* biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout", *Journal of Fish Biology*, vol. 54, pp. 1177-1196.
- Tomé, E., M. Iglesias, M. Kodaira y A. González (2000), "Efecto de la temperatura de almacenamiento en el *rigor mortis* y en la estabilidad de la tilapia (*Oreochromis* spp.) cultivada", *Revista Científica, FCV-LUZ*, vol. 10 (4), pp. 339-345.
- Wang, D., J. Tang, L. Correia y T. Gill (1998), "Postmortem changes of cultivated Atlantic salmon and their effects on salt uptake", *Journal of Food Science*, vol. 63, pp. 634-637.
- Watabe, S., G. C. Hwang, H. Ushio y K. Hashimoto (1990), "Changes in *rigor mortis* progress of carp induced by temperature acclimation", *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 54 (1), pp. 219-221.
- Watabe, S., H. Ushio, M. Iwamoto, M. Kamal, H. Ioka y K. Hashimoto (1989), "*Rigor mortis* progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation", *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 55 (10), pp. 1833-1839.

Wongso, S. H., H. Ushio, T. Ohshima y H. Yamanaka (1998), “Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 22, pp. 65-81.

Presencia de aminas biogénicas en pescado

*Guillermo Barba-Quintero, José Alberto Ramírez de León,
Gonzalo García Tapia*

Resumen

Las aminas biogénicas son agentes importantes de intoxicación en alimentos e indicadores de descomposición del pescado. En este trabajo se mencionaron las principales bacterias que descarboxilan a los aminoácidos del pescado que forman aminas biogénicas. También se indican los métodos para determinarlas, los síntomas de la ingesta de las aminas y la normatividad existente para histamina. Por último, se presentaron algunas investigaciones de aminas biogénicas en pescado, haciendo énfasis en putrescina y cadaverina, como las próximas aminas por ser reguladas por el Departamento de Alimentos y Drogas (*Food and Drug Administration*, FDA) en Estados Unidos de América y que impactaran en la industria de nuestro país.

Introducción

El origen de las aminas biogénicas en los productos de la pesca y sus derivados es propiciada por la presencia y crecimiento de bacterias de las familias Enterobacteriaceas, Pseudomonadaceas y Vibrionaceas que poseían enzimas descarboxiladoras, lo que les permite formar histamina, putrescina, cadaverina, tiramina, agmatina y triptamina a partir de la histidina, ornitina, lisina, tirosina, arginina y triptófano, respectivamente (Halász y colaboradores, 1994). La histidina, ornitina y lisina,

como constituyentes de las proteínas, se encontraron en el músculo de los peces y en forma relativamente abundante en atún, bonito, caballa, macarela, sardina, lisa, dorado y sierra (Carvajal y Osuna 2011; Barba, 2007; Anta y colaboradores, 2001; Antoine y colaboradores, 2001).

La putrescina y cadaverina incrementaron la toxicidad de la histamina, inhibiendo las enzimas que metabolizaron la histamina en el intestino tales como, la N-metiltransferasa y la diamino oxidasa (Lakshmanan y colaboradores, 2002; Ozogul y colaboradores, 2002; Ben y colaboradores, 1999; Gingerich y colaboradores, 1999; Rodríguez-Jerez y colaboradores, 1994; Lehane y Olley, 2000), descubrieron que el isómero *cis* del ácido urocánico (derivado de la histidina por acción de la histidasa) estimuló la degranulación de las células cebadas, aumentando la liberación de histamina endógena.

Las principales bacterias productoras de histamina incluyeron a *Morganella morganii*, *Klebsiella neumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Hafnia alvei*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrofila*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas putrefaciens* (Barba, 2007; Kim y colaboradores, 2000; Ben y colaboradores, 1999; Yoshinaga y López-Sabater, 1994; Rodríguez-Jerez y colaboradores, 1994; Midd y colaboradores, 1988; Frank y colaboradores, 1985; Kourany, 1983; Yoshinaga y Frank, 1982; Frank, 1982; Taylor y colaboradores, 1979). Otras aminas biogénicas fueron producidas por las bacterias *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Clostridium spp*, *Bacillus spp* (Rodríguez-Jerez y colaboradores, 1994).

Algunos de los métodos para el análisis de aminas biogénicas incluyeron cromatografía líquida de alta presión (Mietz y Karmas, 1977), cromatografía de gas (Rogers y Staruszkiewicz, 1997; Staruszkiewicz y Bond, 1981), espectrofluorometría (Vidal y colaboradores, 1990) y un método enzimático rápido recientemente desarrollado para histamina, usando un lector de microplaca (Étienne y Bregeon, 1992).

Aunque fueron diferentes las aminas biogénicas que se produjeron en pescado, la presencia de histamina recibió mayor atención por estar asociada con diversos incidentes de envenenamiento por consumo de peces de la familia de los escómbridos, principalmente atún, caballa, mahi-mahi (dorado del Hawaii). En los peces recién capturados la concentración de histamina fue mínima (0-4 mg/Kg). La producción de histamina se presentó durante su almacenamiento, proceso y comercialización, debido a un deficiente manejo de las temperaturas, permitiendo el desarrollo microbiano. Mietz y Karmas (1977), propusieron un índice de calidad química basado en las aminas biogénicas, indicadoras de la pérdida de la calidad en el atún enlatado. Este índice de calidad se pudo medir con base a la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Calidad} = \frac{\text{ppm histamina} + \text{ppm putrescina} + \text{ppm cadaverina}}{1 + \text{ppm espermidina} + \text{ppm espermina}}$$

Este Índice de calidad está muy relacionado con la aceptación organoléptica del producto, un valor más elevado del índice de calidad está asociado con un mayor rechazo sensorial del producto enlatado.

Intoxicación alimentaria

La intoxicación alimentaria por consumo de aminas biogénicas se denomina escombrototoxicación, ya que aparece fundamentalmente tras la ingesta de pescado de la familia de los escómbridos (atún, bonito, caballa), que no se almacenó en óptimas condiciones de enfriamiento. Entre los síntomas que presentan los pacientes intoxicados por histamina y otras aminas están síntomas de alergia como la aparición de sarpullido, urticaria, edema e inflamaciones, problemas gastrointestinales como náuseas, vómito, diarrea y calambres abdominales. Otros síntomas incluyen hipertensión, dolor de cabeza, palpitación, enrojecimiento y picazón. En forma severa espasmos bronquiales, sofocación y fallas respiratorias (Valls, y colaboradores 1999; Shalaby, 1997). El distress respiratorio y el shock anafiláctico aparecieron con mayor frecuencia en pacientes con cardiopatía o neumopatía previas (Anta y colaboradores 2001; Lehane y Olley, 2000).

La escombrototoxicación se presentó en 50 a 100% de las personas que ingirieron el espécimen deteriorado. El período de latencia fue de minutos a horas y la clínica se mantuvo desde pocas horas hasta uno o dos días. El diagnóstico de confirmación se basó en determinar la concentración de histamina en muestras del pescado sospechoso. Se han descrito concentraciones hasta 30 veces superiores a las consideradas normales (< 9 mmol/100 g de tejido, equivalentes a 10 mg/100 g ó 100 ppm). En los casos en que no fue viable disponer de una muestra del alimento considerado sospechoso, se pudo determinar la concentración de histamina en sangre y orina de los pacientes (Anta y colaboradores, 2001).

Límites de histamina permitidos en pescado

El contenido límite máximo permitido de histamina para comercializar productos pesqueros frescos y enlatados varía entre países. En Estados Unidos, la FDA estable-

ció desde 2001, un nivel de acción de riesgo de 50 mg/Kg (50 ppm) de pescado (FDA, 1995). En la Unión Europea se estableció un valor máximo de 100 mg/Kg (Directiva, 1991; Real Decreto, 1993). En México se permite un límite máximo de 100 mg/Kg de pescado (Norma oficial NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba). No existían límites de regulación para otras especies de pescado y otras aminos relacionadas con envenenamiento por histamina (FDA, 2001).

Investigaciones sobre aminos biogénicas en pescado

El atún y otras especies de los escómbridos (atún, bonito, macarela, sierra), además de la familia scombresocidae (sardina, arenque), clupeidos (salmón), carangidos (jureles, pámpano), coriphaenidos (dorado), mugilidos (lisa), y engraulidos (anchoveta, boqueron), tienen altas cantidades de aminos biogénicas (FDA, 2001; Kim y colaboradores, 2000; Ben y colaboradores, 1999; Soares y Gloria, 1994).

Afsharmanesh y colaboradores (2011), estudiaron el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) conservado en un buque de pesca. Encontraron concentraciones de histamina, cadaverina y putrescina de 4.30, 23.29 y 12.37 mg/Kg, respectivamente. Concluyeron que durante la manipulación de ésta materia prima se potenciaba la presencia de cadaverina.

Un estudio realizado en México, mostró que los peces sierra del Pacífico (*Scomberomorus sierra*), lisa (*Mugil cephalus*) y dorado (*Coryphaena hippurus*) expendidos en diferentes lugares en Mazatlán Sinaloa, presentaron una calidad microbiológica aceptable, aunque no óptima, y valores relativamente bajos de histamina (10-15 mg/Kg), considerándose aptos para consumo humano (Carvajal y Osuna, 2011).

En Taiwán se detectó un envenenamiento por histamina en personas que consumieron cubos de marlín blanco del atlántico, encontrándose 523 mg/Kg en el espécimen considerado el origen de la intoxicación (Hwi y colaboradores, 2010).

Barba y colaboradores (2007), determinaron la formación de histamina, putrescina y cadaverina, encontrando 530, 390 y 460 mg/kg, respectivamente, en caldo de atún de aleta amarilla (*Thunnus albacares*) inoculado con *Vibrio alginoliticus* aislado de la salmuera de conservación de las embarcaciones atuneras e incubado a 35 °C durante 48 horas.

La salchicha fresca y fermentada de carpa plateada fue estudiada por Yongjin y colaboradores, (2007). Encontraron que el contenido de aminoácidos después de 24 horas de fermentación fue: asparagina 9 mg/kg, glicina 30, serina 23, histidina 2,120,

glutamina 33, tirosina 4, alanina 89, arginina 19, cisteína 12, valina 53, metionina 23, fenilalanina 22, leucina 33, lisina 86 y prolina 19. La formación de aminas biogénicas reportada fue: histamina 461 mg/kg, putrescina 137, cadaverina 216, tiramina 52.5, triptamina 12.2, espermidina 1.6 y espermita 2.1.

Guillen y colaboradores (2004), evaluaron la producción de histamina inoculando *Morganella morganii* y *Serratia liquefaciens* en atún (*Thunnus thynnus*) y en macarela (*Trachurus murhyii*) cuantificando la máxima concentración de 40 y 30 micromoles/mL respectivamente a 37 °C y pH de 5.3.

La formación de histamina, cadaverina y putrescina en barrilete (*Katsuwonus pelamis*) en dorado (*Coryphaena hippurus*) y atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) almacenados 18 horas en hielo a bordo de la embarcación, fue de tres mil 300, 70 y 11 mg/kg, respectivamente de cada amina biogénica estudiada (Staruszkiewicz y colaboradores, 2004).

Torres y colaboradores (2003), evaluaron el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre el crecimiento de bacterias productoras de histamina en lisa (*Mugil curema*) y en róbalo (*Centropomus undecimalis*) encontrando 130 y 2.5 mg/kg, respectivamente, a 10 °C y 72 horas y los principales microorganismos presentes en lisa y róbalo fueron *Aeromonas sp*, *Enterobacter sp*, *E. coli*, *Citrobacter freundii* y *Proteus mirabilis*.

Lakshmanan y colaboradores (2002), determinaron los cambios en la formación de cadaverina y putrescina durante el seco-salado de sardinas (*Sardinella gibbosa*) con y sin vísceras. Encontraron que el contenido de bacterias halofílicas formadoras de histamina fue despreciable en las sardinas seco-saladas, aunque hubo presencia de un gran número de bacterias formadores de putrescina y cadaverina en el pescado seco-salado. La etapa crítica para la formación de aminas se observó en la etapa inicial del secado. *Pseudomonas* y *Alcaligenes* fueron las bacterias que formaron aminas biogénicas en mayor cantidad en las sardinas seco-saladas. En las sardinas secadas al sol con una concentración arriba de 10% de NaCl y menos de 40% de humedad se inhibió el crecimiento de bacterias halofílicas formadoras de aminas, retardándose la formación de aminas tóxicas.

La formación de aminas por bacterias está influenciada por la temperatura: *Klebsiella pneumoniae* mostró menos producción de cadaverina a 10 °C que a 20 °C a las 48 horas de almacenamiento de filetes de atún, *Pseudomonas morganii*, *Pseudomonas vulgaris* y *Hafnia* no formaron histamina cuando fueron incubadas a temperatura de 1 °C por un periodo de un mes (Halász y colaboradores, 1994). *Morganella morganii* generó niveles altos de histamina y cadaverina a 15 °C (Gingerich y colaboradores, 1999). En atún ojo grande se alcanzaron niveles tóxicos de histamina a 22, 10 y 4 °C después de 1, 3 y 6 días de almacenamiento respectivamente (Silva y colaboradores,

1998). *Morganella morganii* fue la más prolífica y prevalente formadora de histamina seguida por *Proteus vulgaris* a temperatura de 25 °C (Kim y colaboradores, 2001). Filetes de macarela tratados con proteinasas presentaron 120 ppm de histamina después de ocho días a 4 °C, 500 ppm después de 24 horas a 28 °C y 205 ppm después de cuatro horas a 37 °C (Pan y colaboradores, 1986). La formación de histamina y los microorganismos presentes en macarela del Pacífico (*Scomber japonicus*) fue estudiada por Kim y colaboradores (2001), determinando tres mil a 25 °C después de dos días, dos mil a 15 °C en cuatro días, 500 a 4 °C a los 11 días. Los microorganismos presentes fueron *Morganella morganii* y *Vibrio alginoliticus* principalmente.

Gingerich y colaboradores (1999), evaluaron la presencia de histamina, cadaverina y putrescina en pescado azul (*Pomatomus saltatrix*) inoculado y no inoculado con *Morganella morganii* almacenado dos días a 15 °C, encontrando 2 200, 97 y 0 mg/Kg de histamina, putrescina y cadaverina, respectivamente, cuando se inoculó, y 930, 96 y 50 mg/kg, respectivamente, cuando no fue inoculado.

Los cambios en histamina, tiramina, putrescina y cadaverina, durante la manufactura y almacenamiento de anchovetas (*Engraulis encrasicolus*) fue realizado por Veciana-Nogués y colaboradores (1996), encontrando cantidades de 3000, 200, 150 y 400 mg/kg, respectivamente, a 20 °C durante 48 horas.

Conclusiones

Las aminas biogénicas, particularmente la histamina asociada con brotes de intoxicación alimentaria por consumo de alimentos marinos, se producen por la presencia y crecimiento de microorganismos. El pescado podría no presentar un deterioro químico, microbiológico o sensorial que alerte al consumidor del riesgo del consumo del alimento. Es por ello que los pescados deben manejarse con un estricto control de la temperatura para evitar el riesgo de intoxicación por histamina. El pescado seco-salado también puede producir histamina por lo que el nivel de sal y humedad es importante. La histamina producida no se destruye posteriormente durante el proceso del pescado, ya sea salado, refrigerado, congelado o enlatado, por lo que las prácticas de buen manejo para inhibir su formación son determinantes.

Referencias

- Afsharmanesh S., S. Peighambari, B. Shabanpure, G. Daraei (2011), “Biogenic amines production during ice storage in whole yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) on board of catch vessels”, *Minerva Biotecnológica*, vol. 23, pp. 59-63.
- Anta Fernández M., J. M. Bravo González, S. Fernández Rozas, O. Goffaux Gómez-Caro, O. García-Castrillo Riesgo (2001), *Escombroid intoxicación por consumo de bonito. Servicio de urgencias*, Valdecilla, Cantabria, vol. 13, pp. 132-135.
- Antoine F. R., C. I. Wei, R. C. Littell, B. P. Quinn, A. D. Hogle, M. R. Marshall (2001), “Free aminoacids in dark and white muscle fish as determined by o-phthaldialdehyde precolumn derivatization”, *Journal of Food Science*, vol. 66, pp. 72-77.
- Barba Q. G. (2007), “Aislamiento y caracterización de bacterias descarboxiladoras y la producción de aminas biogénicas en la salmuera de congelación del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en embarcaciones del Pacífico Mexicano”, México, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, tesis doctoral.
- Ben G. B., J. M. Vietites Baptista de Sousa, T. G. Villa, Barros, J. Velázquez (1999), “Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*)”, *Journal of Food Protection*, vol. 62, pp. 933-939.
- Carvajal, G. A. V., y Z. R.C. Osuna (2011), “Cuantificación de histamina por fluorometría y por cromatografía de intercambio iónico y su relación con la contaminación microbiana en Sierra del Pacifico (*Scomberomorus sierra*), lisa (*Mugil cephalus*) y en Dorado (*Coryphaena hippurus*) expendidos en diferentes lugares de Mazatlán, Sinaloa, México”, México, Instituto Tecnológico de Mazatlán, tesis profesional.
- Directiva Comunidad Económica Europea (1991), *Normas aplicables a la producción y puesta en el Mercado de los productos pesqueros (91/439/CEE)*.
- FDA (1995), *Decomposition and histamine-raw, frozen tuna and mahi-mahi; canned tuna; and related species; revised compliance policy guide*, pp. 39754-39756.
- FDA/CFSAN (2001), *Fish and Fisheries Products Hazards and Control Guidance*, 3er ed, Chapter 7, Scombrototoxin (histamine), Formation (A Chemical Hazard), pp. 1-28.
- Gingerich T. M., Lorca, T., Flick G. J., Pierson M. D., McNair H. M. (1999). Biogenic amine survey and organoleptic changes in fresh, stored and temperature – abused bluefish (*Pomatomus saltatrix*), *Journal of Food Protection*, vol. 62 (9), pp. 1033-1037.
- Halász A., A. Barath, L. Sarkadi, W. Holzapfel (1994), “Bioorganic amines and their production by microorganisms in food”, *Trends in Food Science and Technology*, vol. 5, pp. 42-49.

- Hwi C., R. Yu, H. Hsiu, S. Chung, C. Wen, M. Chia, H. Yung, (2010), "Determination of histamina and biogenic amines in fish cubes (*Tetracturus angustirostris*) implicated in a food-borne poisoning", *Food Control*, vol. 21, pp. 13-18.
- Kim, S. H., B. Begoña, V. J. Barros, R. J. Price, H. An (2000), "Histamine and biogenic amine production by *Morganella morganii* isolated from temperature-abused albacore", *Journal of Food Science*, vol. 63, pp. 244-251.
- Kim, S. H, K. Field, D. Chang, W. I. Cheng (2001), "Identification of bacteria crucial to histamine accumulation pacific mackerel during storage", *Journal of Food Protection*. vol. 64, pp. 1556-1564.
- Kourany, M. (1983), "Medium for isolation and differentiation of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*", *Applied and environmental microbiology*, vol. 45, pp. 310-312.
- Lakshmanan R., R. Shakila, G. Jeyasekaran (2001), "Changes in the halophilic amine forming bacterial flora during salt-drying of sardines (*Sardinella gibbosa*)", *Food Research International*, vol. 35, pp. 541-546.
- Lehan, e L., J. Olley (2000), "Histamine fish poisoning revisited", *Int J Food Microbiol*, vol. 58, pp. 1-37.
- Mietz, J. L., E. Karmas (1977), "Chemical quality index of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography", *Journal of Food Science*, vol. 42, pp. 155-159.
- Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1 (2009), *Productos y Servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba*.
- Ozogul F, K. D. A. Taylor, P. Quantick, Y. Ozogul (2002), "Change in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack", *Journal of Food Science*, vol. 67 (7), pp. 2497-2501.
- Pan B. S., J. M. Kuo, L. J. Luo y H. M. Yang (1986), "Effect of endogenous proteinases on histamine and honeycomb formation in mackerel", *Journal of food Biochemistry*. vol. 10, pp. 305-319.
- Rodríguez-Jerez J. J., E. I. López-Sabater, A. X. Roig-Sagues, M. T. Mora-Ventura (1994), "Histamine, cadaverine and putrescine forming bacteria from ripened spanish semipreserved anchovies", *Journal of Food Science*, vol. 59, pp. 998-1001.
- Rogers I. P., W. F. Staruszkiewicz (1997), "Gas chromatography method for putrescine and cadaverine in canned tuna and mahimahi and fluorometric method for histamine (minor modification of A.O.A.C. official method 977.13): collaborative study", *Journal of A.O.A.C. International*, vol. 80 (3), pp. 591-602.
- Shalaby A. R. (1996), "Significance biogenic amines to food safety and human health", *Journal of Food Composition and Analysis*. vol. 29, pp. 675-690.

- Silva C. G., J. B. Duarte, D. J. Da Ponte, M. L. Enes Dapkevicius (1998), "Storage temperature effect on histamine formation in big eye tuna and skipjack", *Journal of Food Science*, vol. 63, pp. 644-647.
- Soares V. F. M. y M. B. A. Gloria (1994), "Histamine levels in canned fish available in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil", *J. Food Composition and Analysis*, vol. 7, pp. 102-109.
- Staruszkiewicz, W. F., J. D. Barnett, L. P. Rogers, A. R. Benner, L. L. Wong, J. Cook (2004), "Effects of on-board and dockside handling on the formation of biogenic amines in mahimahi, skipjack tuna and yellowfin tuna", *Journal of Food Protection*. vol. 67, pp. 134-141.
- Taylor, S. L., S. Guthertz, M. Leatherwood, R. Lieber (1979), "Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid poisoning", *J. Applied and Environmental Microbiological*. vol. 37, pp. 274-278.
- Torres G., P. Izquierdo, M. Allara, y A. García (2003), "Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el crecimiento de bacterias productoras de histamina en dos especies de pescado: lisa (*Mugil curepa*) y róbalo (*Centropomus undecimalis*)", *Revista Científica, FCV-LUZ*, vol. XII (4), pp. 263-268.
- Valls, J. E., R. A. Bello, M. S. Kodaira (1999), "Validation of liquid chromatography analysis of biogenic amines in canned fish products", *Journal of Aquatic Food Product Technology*, vol. 8 (3), pp. 79-91.
- Veciana, N. M. T., H. S. Albala, F. A. Marine, C. C. Vidal (1996), "Changes in biogenic amines during the manufacture and storage of semipreserved anchovies", *Journal of Food Protection*, vol. 59 (11), pp. 1218-1222.
- Vidal, C. M., N. M. T. Veciana, y F. A. Mariné (1990), "Spectrofluorometric determination of histamine in fish and meat products", *J. Assoc. Official Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 565-567.
- Yongjin, H., X. Wenshui, L. Xiaoyong (2007), "Changes in biogenic amines in fermented silver carp sausages inoculated with mixed started cultures", *Food Chemistry*, vol. 104, pp. 188-195.
- Yoshinaga, D. H., H. A. Frank (1982), "Histamine producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus Pelamis*)", *Appl Environ Microbiol*, vol. 44, pp. 447-452.

Evaluación y control de los cambios fisicoquímicos que se presentan durante el esterilizado de la carne de jaiba azul (*Callinectes sapidus*) capturada en la Laguna Madre de Tamaulipas

*Wendy Marisol Mazón Abarca, Rocío M. Uresti Marín,
José Alberto Ramírez de León, Gonzalo Velazquez de la Cruz*

Resumen

La esterilización de la carne de jaiba permite asegurar su inocuidad, sin embargo durante el tratamiento, el calentamiento de la carne provoca su decoloración u oscurecimiento afectando su aceptación organoléptica. Este deterioro puede evitarse mediante el empleo de diferentes aditivos, pero estos pueden afectar otros atributos del producto incluyendo el perfil de sabor. El presente trabajo discute las condiciones de proceso, el tipo y concentración de aditivos necesarios para poder obtener un producto inocuo sin alterar las características organolépticas de la carne de jaiba azul. El empleo de ácido cítrico permite preservar el sabor del producto, teniendo poco efecto en el color, pero afecta la textura del producto. El empleo de metabisulfito de sodio permite darle blancura, pero tiene un efecto negativo en altas concentraciones ya que induce la pérdida de sabor y provoca reacciones alérgicas. La carne de jaiba puede esterilizarse satisfactoriamente a 121 °C por 35 minutos con concentraciones de ácido cítrico a 0.5%, metabisulfito de sodio al 0.01%, EDTA a 0.007% y 0.3% de pirofosfato ácido de sodio.

Palabras clave: Jaiba azul, esterilización, aditivos, aceptación organoléptica.

Introducción

La jaiba azul es un crustáceo decápodo. Su cuerpo está cubierto de un exoesqueleto de color verde oscuro y presenta dos dientes triangulares entre la zona orbital. Los machos tienen las tenazas azul claro, las hembras maduras de color rojo carmín. Es la especie más conocida de su género, por su importancia comercial.

La carne de jaiba es un producto de carácter perecedero por su composición rica en proteínas, susceptibles a deterioro por sus propias enzimas proteolíticas y la presencia de una cantidad considerable de microorganismos causantes de alteraciones, que tienden a afectar sus propiedades nutricionales, organolépticas y de inocuidad sanitaria. Para evitar cambios desagradables se han desarrollado diferentes formas de conservación de la carne de jaiba y otros crustáceos, que incluyen enhielado, refrigeración, pasteurización y enlatado.

En la Laguna Madre de Tamaulipas, la captura de jaiba azul, es una de las actividades pesqueras más importantes de la región, ya que es el sostén económico de muchas familias y es tal el auge que los procesadores de carne de jaiba se han dado a la tarea de buscar alternativas para comercializarla. Una de estas alternativas ha sido el enlatado.

En nuestro país, las plantas enlatadoras que desarrollan productos para el mercado nacional como para fines de exportación, deben cumplir con los parámetros de calidad mínimos exigidos en la Norma Mexicana NMX-F-487-SCFI-2001. Productos de la pesca. Carne de cangrejo enlatada. Especificaciones.

Despicado de la carne de jaiba

Actualmente, existen en el estado varias plantas de procesamiento que despican la carne de jaiba y la envasan para su exportación. En la planta, las jaibas son clasificadas por sexos, y se eliminan las jaibas muertas, para asegurar la calidad de la carne que se va a producir. Después de la cocción, el producto es enfriado mediante corrientes de aire, eviscerado y lavado. Se dejan escurrir en un cuarto frío a 10 °C, durante 8 horas. El despicado se realiza en una habitación a una temperatura controlada, no mayor a los 18 °C, para evitar bacterias que alteren la calidad de la carne. La pulpa es empacada, pesada, pasteurizada y conservada a 2 °C, con el objeto de lograr una vida más larga en el anaquel, y que llegue al consumidor en condiciones óptimas.

El cocido a vapor de las jaibas previo a la separación de la carne fue el sistema más recomendado, para conservar mejor las propiedades de la carne y permitir una vida de anaquel más larga, aunque el costo de la instalación y del equipo fue

más elevado (Oesterling, 1984). Sin embargo, los operadores de plantas prefirieron la cocción por hervido, ya que los rendimientos de carne fueron más altos y el equipo fue más económico. El buen éxito de estos procesos dependía de la calidad de la materia prima y ésta de la procedencia y la manipulación de las jaibas antes de llegar a la planta (Palacios, 1999).

En México, la calidad de estos productos y las plantas están regidos respectivamente por la NOM-029-SSA1-1993: “Bienes y servicios. Productos de la pesca. Crustáceos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias” y por la NOM-128-SSA1-1994: “Bienes y servicios. Establece la aplicación de un sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en la planta industrial procesadora de productos de la pesca” (SEMARNAP, 1999).

La capacidad de una planta estaba en función del número de personas que sacan la pulpa de la jaiba. En promedio, cada persona procesaba 100 kg de materia prima entera al día. El volumen de producción es considerado a partir de que cada 8 kg de jaiba entera produce uno de pulpa.

Oscurecimiento de la carne de jaiba procesada térmicamente

En los crustáceos (y en los insectos), la polifenoloxidasas se encuentra en forma de pro enzima, inactiva, que es activada por proteólisis por una proteasa endógena. Diversas sustancias producidas por microorganismos activan la proteólisis del pro enzima y la formación de enzima activo. El descenso de pH puede actuar inicialmente reduciendo la actividad del enzima, (su pH óptimo está entre cinco y siete), pero también, si es suficientemente bajo, se desnaturaliza de forma irreversible.

Los agentes quelantes son inhibidores muy eficientes, ya que son capaces de eliminar los átomos de cobre del centro activo del enzima y por consiguiente la inactivan. Pueden utilizarse el EDTA, pirofosfato, y especialmente el ácido cítrico, que combina el efecto de la acidez con la capacidad secuestrante de metales.

La decoloración azul o azulamiento en la superficie de la carne, fue uno de los principales problemas durante el enlatado y se relacionó con la coagulación de la sangre en esta (Babbit y colaboradores, 1973a y b). Ya que se ha reportado que la carne de *Callinectes sapidus* estaba más sujeta a esta decoloración que otras especies (Boon, 1975). Esta forma de decoloración fue asociada con el proceso térmico, por lo que se incrementó a medida que la temperatura y el tiempo de cocción van aumentando. Es por ello que este fenómeno se presentó con más frecuencia en el esterilizado que en la pasteurización. Otro factor a considerar fue la temperatura a la que se encontraba la carne durante el almacenamiento. La causa de esta decoloración,

se creyó que se debía a un constituyente de la sangre de la jaiba y los mecanismos de reacción, que se involucraron en la pigmentación azul, entre los que se contemplaron a los compuestos ferrosos, cuprosos, de hemocianina y complejos de biuret o proteínas de cobre. De los más comunes se consideraron a los sulfuros de hierro y de cobre, siendo el último más probable, debido a que la reacción de decoloración ha sido inhibida por compuestos químicos como la feniltiourea y cianuro reaccionan con el cobre.

Otro mecanismo fue la oxidación de los compuestos fenólicos, como ejemplos tenemos a la tirosina que formó a la melanina, siendo catalizadas por la enzima tirosinasa que es un constituyente característico de la sangre de crustáceos, sin embargo Bailey y colaboradores (1960) no encontraron tirosinas en la sangre de *Callinectes sapidus*, aunque encontraron que la hemocianina actuó como enzima que oxida el fenol y el pirocatecol. Aunque existía la posibilidad de que la enzima pudiera permanecer activa después del proceso térmico y ello le permitiera causar la decoloración, se ha reportado que la tirosinasa fue destruida a 60 °C. En otras especies se ha encontrado una ligera pérdida de actividad enzimática después de dos minutos a 85 °C y en otros, algunas sobrevivieron hasta 30 minutos a 100 °C. Por lo anterior, también se ha considerado a la hemocianina y sus derivados como causantes de la decoloración, debido a que la hemocianina contenía cobre, fenol, tirosina y fue una proteína, que tenía la capacidad de actuar como una fenolasa, además de ser una fuente de cobre para la decoloración. Esta, al ser expuesta al calor y a sustancias sulfuradas produjo una sustancia azul verdosa generada por el complejo sulfuro-hemocianina (Boon, 1975).

Aditivos usados en el enlatado de carne de jaiba

Ácido cítrico

Es una sustancia natural que se añade industrialmente como aditivo. Sus funciones son como agente secuestrante o quelante, agente dispersante y acidificante. Su capacidad secuestrante de iones metálicos lo coloca como auxiliar en la preservación contra la oxidación. Secuestra o quela los iones cobre, hierro y níquel, que puedan estar presentes en los productos. Si estos metales no son inactivados pueden causar decoloración, rancidez y rompimiento en la textura. Evita la decoloración del pescado, crustáceos, moluscos en conserva y semiconservas, crustáceos frescos y congelados y en pescados y cefalópodos congelados, troceados, picados y bloques prensados de pescado en conserva, crustáceos congelados y ultra congelados.

EDTA

El Ácido Etilen Diamino Tetracético (EDTA) es un efectivo agente quelante que carece de sabor, al contrario de otros agentes quelantes y no aporta acidez. El aditivo absorbido se elimina en la orina sin metabolizar. Cuando se utiliza en cantidades excesivas se ha comprobado que causa vómitos, diarrea, retortijones abdominales, impide que el cuerpo absorba oligoelementos como el hierro, zinc y cobre. La ingestión diaria admisible se estima en 2.5 mg por Kg, de peso corporal.

Metabisulfito ácido de sodio

Antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de diversos microorganismos, actúa como antioxidante y evita el oscurecimiento. En productos cárnicos mejora el color/aroma, e inhibe el crecimiento de bacterias superficiales. A dosis elevadas produce olores y sabores desagradables que limitan su uso. Además su efecto blanqueador puede conducir a error o fraude hacia el consumidor. Los sulfitos han sido asociados a algunas reacciones alérgicas (principalmente asmáticas).

Pirofosfato ácido de sodio

Son utilizados para mantener o amortiguar el pH, lo que es de gran interés porque el color y el sabor de los alimentos están fuertemente influenciados por el pH. También se le usa porque mantiene la alcalinidad en las salmueras, lo que es útil en la industria cárnica, porque la alcalinidad del medio ayuda a emulsificar la grasa y logra que las carnes se suavicen. También permiten que la proteína del músculo presente menos interacción proteína-proteína y mayor interacción proteína-solvente, lo que permite incrementar la capacidad de retención de agua, aumento el rendimiento y reduciendo la sinéresis en el producto final. También actúa como estabilizante para promover la emulsificación entre grasa, agua y proteína. Es un excelente secuestrante, lo que significa que puede ligarse con impurezas de los metales contenidos en el agua como hierro, magnesio, cobre y también con el calcio.

Formación de estruvito

El enlatado de la carne de jaiba presenta como inconveniente la formación de estruvito, que es un mineral en forma de cristales de coloración amarillenta, constituida por

una mezcla de fosfato de magnesio y amonio, es moderadamente soluble en condiciones neutras y alcalinas, pero fácilmente soluble en el ácido. La acidificación del producto inhibe la formación del estruvito (Babic-Ivancic y colaboradores, 2006).

Características de la carne de jaiba azul enlatada comercial

Atributos de color

En la tabla 1 se pueden observar las características de color de diferentes productos comerciales de carne de jaiba enlatada que se producen y comercializan en Estados Unidos.

La reflectancia de la carne de jaiba azul (*Callinectes sapidus*), se determinó con un colorímetro portátil (Hunter Lab, MiniScan Xe plus, modelo 45/0-L, Reston VA, USA). Que se calibró con una teja blanca y una negra, identificadas como estándares. Los parámetros obtenidos por el instrumento (L^* , a^* y b^*), se utilizaron para calcular los valores de C^* y h° , respectivamente, de acuerdo a las ecuaciones siguientes: $C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$ $H^\circ = \arctan (b^*/a^*)$.

Los atributos de color variaron entre productos (tabla 1). Estas variaciones fueron mínimas en la mayoría de los productos, pero muy notorias para dos de ellos, uno que declara provenir de la tenaza (*Bumble bee, claw*) y otro que en la etiqueta lo señaló como un producto rosa (*Ocean Prince, pink*). Estos últimos dos productos provenían de carne oscura de la jaiba, ubicada en sus tenazas. En estos productos el valor de matiz (H^*) estuvo en el rango de 57.2-60, que les dio una coloración café-naranja. La intensidad moderada del croma (C^*) 11.6-17, indicó que el matiz o tono puede ser apreciado y el bajo valor de luminosidad (L^*) (39.3-58.7) permitió que el color del producto se observara más oscuro. La carne del producto *Bumble bee claw* fue la que más oscura se apreciaría, por tener un valor de croma más alto y un valor de luminosidad mas bajo. Los otros productos presentaron un valor de matiz (H^*) en el rango de 88.1-94, lo que ubicó a los productos con un tono o matiz amarillo. El rango de croma moderado, ubicado entre 9.5-12.3, combinado con valores de luminosidad altos hicieron que estos productos se vieran como amarillos claros a grisáceos-amarillos.

Tabla 1. Mediciones de color de la parte superior e inferior de las latas comerciales

<i>Muestras</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	<i>C*</i>	<i>H*</i>
Great value	67.1±4.6 ^c	0.3±0.1 ^b	11.±0.4 ^{a,b}	11.0±0.4 ^{a,b,c}	88.6±0.6 ^c
Crown prince (fancy white)	64.6±3.1 ^c	0.4±0.7 ^b	10.3±2.5 ^a	10.3±2.5 ^{a,b}	88.1±2.6 ^c
Chicken of the sea (lump crab)	66.2±4.1 ^c	0.4±0.3 ^b	10.4±1.0 ^a	10.5±1.0 ^{a,b}	87.9±1.3 ^c
Chicken of the sea (White crab)	66.2±6.7 ^c	1.2±0.6 ^c	12.2±2.1 ^b	12.3±2.1 ^c	84.6±2.6 ^b
Bumble bee (fancy lump)	61.8±4.1 ^{b,c}	-0.6±0.6 ^a	9.5±1.3 ^a	9.5±1.2 ^a	93.9±3.4 ^d
Bumble bee (fancy white)	62.6±4.3 ^{b,c}	-0.6±0.5 ^a	9.5±0.7 ^a	9.5±0.7 ^a	94.0±3.2 ^d
Bumble bee (claw)	39.3±5.6 ^a	9.3±0.5 ^c	14.3±0.5 ^c	17.1±0.6 ^d	57.2±1.2 ^a
Ocean prince (pink)	58.7±1.6 ^b	5.8±0.6 ^d	10.0±0.9 ^a	11.6±0.9 ^{b,c}	60.0±2.5 ^a

Fuente: Valores promedio de seis latas analizadas y desviación estándar. ^{a,b,c}Valores distintos señalan diferencia significativa entre productos (columnas) para un mismo atributo de color.

Parámetros físicos y fisicoquímicos

En la tabla 2 se mostró el rango determinado en los parámetros físicos y fisicoquímicos de los productos comerciales. Fue importante señalar que los productos comerciales evaluados estaban envasados en latas del mismo tamaño y declaraban el mismo contenido neto.

El vacío en las latas fue muy homogéneo, variando sólo 2 mm de mercurio (764-766 mmHG). Este parámetro se evaluó mediante la metodología señalada en la NMX-F-144-1978 Determinación del vacío en recipientes rígidos herméticamente sellados. Se basó en la medición de la diferencia existente entre la presión atmosférica del medio ambiente y la presión del interior del envase a la misma temperatura, usando un manómetro tipo *Bourdon* generalmente conocido como Vacuómetro.

El contenido de capacidad de llenado de masa fue muy homogéneo para las diferentes latas, variando entre 186.7-188.7 g, lo que indicó que las latas tenían una capacidad similar. Este se midió mediante la norma NMX-F-314-1977. Consistió en vaciar el contenido del envase, lavarlo, secarlo y pesarlo. Se llenó el envase con agua destilada a 20° C, hasta 5 mm abajo del borde inferior del doble cierre y se pesó. La diferencia de peso entre el envase con agua y el envase vacío se consideró la capacidad del llenado. El peso del producto drenado varió sólo 2 gramos concordando con la capacidad de las latas.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos estandarizados de la carne de jaiba comercial

<i>Parámetro evaluado</i>	<i>Rango de valor</i>
Vacío (mmHg)	764-766
Masa drenada (g)	117-119
Masa de capacidad de llenado (g)	186.7-188.7
Textura (Kg)	1.24-1.28
pH Fase líquida	6.44-6.66
pH Fase sólida	6.45-6.55
pH Ambas fases mezcladas	6.45-6.61

Fuente: elaboración propia.

La textura de la carne de jaiba fue muy homogénea en todos los productos variando entre 1.24-1.28 Kg. Este parámetro fue evaluado con un método desarrollado por nuestro grupo. Se introdujeron 30 gramos de carne drenada en una celda de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura. Utilizando un texturómetro TA-XT2i (*Stable Micro Systems, Viena Court, England*), se comprimió el alimento usando una sonda con un disco compresor de 3.5 cm de diámetro, lo que permitió que la masa drenara hacia arriba por el espacio que queda entre la celda compresora y las paredes del recipiente (*back extrusion*). Las muestras se presionaron hasta un 80% de la altura inicial, a una velocidad de 1 mm/seg. Se determinó la fuerza máxima necesaria para comprimir las muestras.

El pH de la fase líquida, fase sólida y ambas fases homogenizadas presentaron valores similares que variaron entre 6.44 y 6.66, lo que señaló que el producto mantuvo un pH cercano a la neutralidad.

Efecto del ácido cítrico y el metabisulfito de sodio en la carne de jaiba esterilizada

Cambios en el pH y color

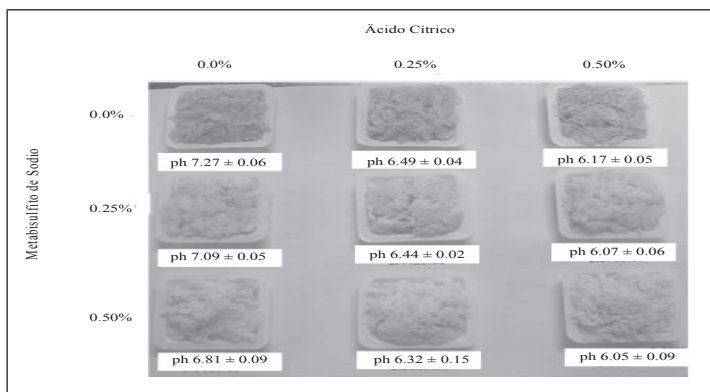
Los productos comerciales que se elaboraron en Estados Unidos emplearon cuatro aditivos declarados en las etiquetas: ácido cítrico, metabisulfito de sodio, EDTA y pirofosfato ácido de sodio.

Se esterilizó carne de jaiba a 135 °C por 25 minutos, lo que pudo considerarse un tratamiento excesivo, buscando inducir el oscurecimiento de la carne por calor.

Se evaluó el efecto del ácido cítrico en un rango del 0 a 0.5% y del metabisulfito de sodio en un rango similar. El pirofosfato de sodio se mantuvo constante en 0.3% y 0.007 en EDTA. En la figura 1 se pudo observar el efecto sobre el pH y el color. En ausencia de metabisulfito de sodio (0%, control), al incrementar la concentración del ácido cítrico la carne se acidificó. Se observó que la carne de jaiba control (0% de ácido) presentó pH 7.27 y alcanzó pH 6.17 al adicionar 0.5%, pero su efecto inhibitorio en la decoloración no fue muy notoria.

La carne de jaiba sin ácido cítrico (0%, control) y sin metabisulfito de sodio presentó un pH de 7.27 y un color muy oscuro. La adición de metabisulfito de sodio permitió modificar el pH alcanzando un valor mínimo de 6.81 al adicionar 0.5% de metabisulfito. El cambio de pH por efecto del metabisulfito fue menor que el cambio de pH inducido por el ácido cítrico, pero su efecto en el color fue mucho más evidente, incluso con sólo 0.25% del aditivo. Fue importante señalar que esta concentración de metabisulfito rebasa por mucho el máximo permitido de 0.01%, pero permitió observar el efecto que cada aditivo tenía en el producto final.

Figura 1. Efecto de la concentración del ácido cítrico y metabisulfito de sodio en el pH y el color



Fuente: elaboración propia.

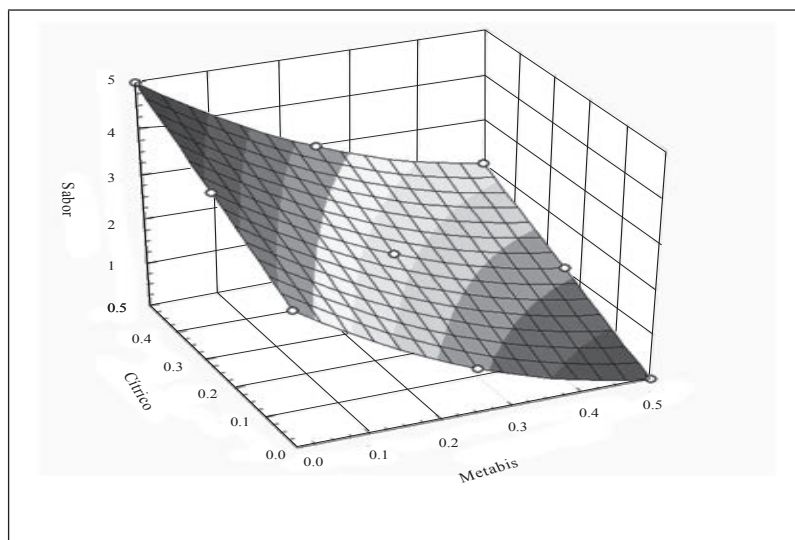
Cambios en el sabor y textura

La adición de ácido cítrico tuvo un efecto protector en la protección del sabor (Figura 2). Esto determinado por un panel semi-entrenado. Entre más ácido se adicionó,

el producto esterilizado conservó mejor el sabor de la jaiba fresca. El incremento en el contenido de metabisulfito de sodio provocó la pérdida del sabor del producto. La adición de ácido cítrico permitió disminuir el efecto negativo del metabisulfito de sodio permitiendo retener el sabor.

La textura se vio afectada por la acidificación del producto. La carne de jaiba esterilizada, adicionada con 0.5% de ácido cítrico, presentó una textura fibrosa, poco jugosa y poco apetitosa, lo que afectó negativamente la aceptación sensorial del producto final.

Figura 2. Efecto de la concentración del ácido cítrico y metabisulfito de sodio en el sabor

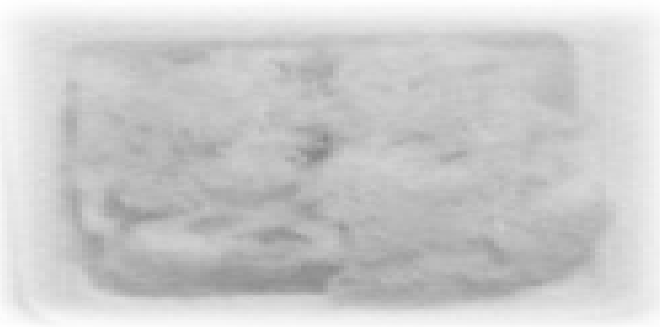


Fuente: elaboración propia.

Condiciones de procesamiento

El empleo de 0.5% de ácido cítrico, 0.01% de metabisulfito de sodio, 0.007 de EDTA y 0.3% de pirofosfato ácido de sodio permitió obtener carne de jaiba esterilizada a 121 °C por 35 minutos, condiciones que aseguraron en exceso la inocuidad del alimento, con características de color y sabor similares a las de los productos comerciales (figura 3), así como propiedades físicas y fisicoquímicas equivalentes.

Figura 3. Aspecto de la carne de jaiba esterilizada



Fuente: elaboración propia. Aspecto de la carne de jaiba esterilizada a 121 °C por 35 minutos, empleando 0.5% de ácido cítrico, 0.01% de metabisulfito de sodio, 0.007 de EDTA y 0.3% de pirofosfato ácido de sodio.

Conclusiones

La esterilización de la carne de jaiba indujo cambios en la coloración, oscureciendo el producto final. El empleo de aditivos químicos permitió evitar el oscurecimiento, pero pudieron tener efectos negativos en los atributos organolépticos. El metabisulfito de sodio permitió disminuir el oscurecimiento, pero afectó negativamente el sabor. El ácido cítrico permitió conservar el sabor, pero pudo afectar la textura del producto. Las condiciones adecuadas para procesar carne esterilizada incluyeron 0.5% de ácido cítrico, 0.01% de metabisulfito de sodio, 0.007 de EDTA y 0.3% de pirofosfato ácido de sodio.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría de la alumna Wendy Marisol Mazón Abarca, y al Fondo Mixto CONACyT-Gobierno del estado de Tamaulipas por el apoyo brindado para realizar el presente trabajo a través del proyecto TAMPS-2008-C17-105637.

Referencias

- Babbitt, J. K., D. K. Law, D. L. Crawford (1973a), "A research note Phenolases and blue discoloration in whole cooked Dugeness crab (*Cancer magister*)", *Journal of Food Science*, vol. 38, pp. 1089-1090.
- Babbitt, J. K., D. K. Law, D. L. Crawford (1973b), "Blueing discoloration in canned crab meat (*Cancer magister*)", *Journal of Food Science*, vol. 38, pp. 1101-1103.
- Babic-Ivancic, V., J. Kontrec, L. Brevecic (2006), "Kinetics of struvite to newberyite transformation in the precipitation system $MgCl_2-NH_4H_2PO_4-NaOH-H_2O$ ", *Water Research*, vol. 40 (18), pp. 3447-3455.
- Bailey, M. E., E. A. Fieger and A. F. Novak (1960), "Phenol oxidase in shrimp and crab", *Journal of Food Science*, vol. 25, pp. 565-572.
- Boon, D. D. (1975), "Discoloration in processed crabmeat: A review", *J. Food Sci*, vol. 40, pp. 756-761.
- Morillo de Montiel N. (1986), "Método para el Procedimiento Industrial de la Carne de Cangrejos", *FONAIAP Divulga*, vol. 21, pp. 34-40.
- Oesterling, M. (1984), *Manual for handling and shedding blue crabs (Callinectes sapidus)*. Gloucester Point, VA. Virginia Inst. of Mar. Sci. Col. William & Mary. vol. 271, pp. 1-94.
- Palacios, F., M. R. and V. A. Gómez (1999), *Opinión Técnica para la captura de jaiba en 3 cooperativas de la Laguna Madre*, Tamps. Instituto Nacional de la Pesca Centro Regional de Investigación Pesquera de Tampico México (inédito).
- SEMARNAP (1999), *Anuario Estadístico de Pesca*, SEMARNAP. México.

Concentrados proteicos de calamar gigante: obtención, caracterización fisicoquímica y propiedades funcionales

*Iván de Jesús Tolano Villaverde, Guadalupe Dihort García,
Victor Manuel Ocaño Higuera, Josafat Marina Ezquerra Brauer,
Edgar Iván Jiménez Ruiz y Enrique Márquez Ríos*

Resumen

Actualmente, el calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un recurso pesquero sub-utilizado, pese a que se trata de una especie abundante en el Golfo de California, por consiguiente se tiene un creciente interés en crear productos de valor agregado a partir de esta especie. Dado sus características la especie posee el potencial para la manufactura de concentrados proteicos. Es abundante, de bajo costo, magro, músculo blanco, fácil faenado, sin espinas ni escamas, además posee un alto rendimiento. Los concentrados proteicos son la base para la elaboración de análogos de pescado u otros productos basados en la capacidad gelificante de las proteínas musculares. Se han elaborado concentrados proteicos de calamar mediante el proceso tradicional de surimi, así como a través de las disoluciones acidas/alcalinas. Durante el proceso de extracción las proteínas pueden presentar cambios conformacionales-estructurales que repercuten en las propiedades funcionales. Existen diversas técnicas útiles en la determinación de dichos cambios, entre las que podemos mencionar a la electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes, que ayuda a determinar la posible formación de agregados proteicos, o bien si se presenta hidrólisis. La determinación de hidrofobicidad de superficie

explica el desplegamiento proteico; la cuantificación de grupos sulfhidrilos totales y reactivos además de dar idea sobre el desplegamiento también ayuda a determinar la contribución del puente disulfuro en la gelificación; la calorimetría diferencial de barrido es una prueba sensible para determinar cambios en la temperatura de desnaturalización de los diferentes componentes proteicos en un concentrado, lo que ayuda a explicar el grado de desnaturalización causado por el procedimiento de extracción. Mientras que las pruebas reológicas, en especial el módulo de almacenamiento es útil en la explicación del fenómeno de gelificación. Estas pruebas en su conjunto brindan un buen panorama sobre los cambios conformacionales que sufren las proteínas durante la obtención de un concentrado proteico, pero además son útiles en la explicación del fenómeno de gelificación. El conocimiento de los cambios conformacionales o el grado de desnaturalización que sufren las proteínas es información valiosa en el entendimiento de las propiedades funcionales. Por consiguiente la importancia de la comprensión de los cambios estructurales de las proteínas durante el proceso es fundamental. El presente capítulo comprende una breve revisión de los cambios conformacionales debidos al método de extracción y su repercusión en la funcionalidad, en especial solubilidad y gelificación.

Palabras claves: Cambios conformacionales, calamar gigante, concentrado proteico.

Introducción

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en los últimos años ha representado una de las principales pesquería en varias regiones del Pacífico, desde el sur de California en Estados Unidos hasta el sur de Chile. En el Golfo de California esta pesquería ha representado una importante fuente económica, particularmente en Sonora (Salinas y colaboradores, 2005). Las prácticas de captura de calamar y su importancia económica estaban gobernadas por la dinámica de las exportaciones mexicanas a los mercados asiáticos, correspondiendo el 89% de la producción, exportándose el producto como materia prima o producto intermedio a bajo precio (Luna y colaboradores, 2006).

Salinas y colaboradores (2005), sugirieron que pese a la falta de costumbre de considerarlo en la dieta de los mexicanos, existía potencial en el mercado nacional para fomentar el consumo del calamar gigante en diversas presentaciones (fresco, congelado, precocido, bailarinas), productos que paulatinamente se empezaron a introducir debido a la existencia de factores que incidieron favorablemente en la ingesta como su bajo contenido de grasa y su valor nutricional elevado (Klett, 1996), dando la pauta para la aplicación de diversas tecnologías como la elaboración de productos secos y concentrados proteicos principalmente para la elaboración de sustituto de otras

especies marinas, entre las que destaca el pulpo (Luna y colaboradores, 2006). Los concentrados proteicos podían tener una amplia aplicación en la industria alimentaria. Se han usado para el enriquecimiento de alimentos para consumo humano directo e indirecto, así como para la elaboración productos texturizados que dieron la apariencia de la carne de abasto o como aditivo en la elaboración de productos con propiedades funcionales y tecnológicas. Los concentrados proteicos de origen marino se obtuvieron de proteínas miofibrilares. Han sido utilizados principalmente para la elaboración de “surimi” en donde su metodología fue desarrollada en un principio para especies de pescado de músculo blanco. No obstante, se ha conseguido su adaptación para calamar gigante dándole un valor agregado (Cortés-Ruiz y colaboradores, 2008).

Se han realizado varias investigaciones en la búsqueda de mejorar el proceso de obtención de concentrados proteicos del músculo de pescado de varias especies (Félix-Armenta y colaboradores, 2009). En este sentido, se han obtenido concentrados a partir de calamar gigante mediante el método tradicional, así como a través de la disolución ácida/alcalina y posterior precipitación isoeléctrica, en los que se ha reportado una pobre capacidad gelificante y una alta actividad proteolítica (Sánchez-Alonso y colaboradores, 2007). Los nuevos procesos de obtención de concentrados proteicos basados en disoluciones ácidas o alcalinas ha cobrado gran auge, debido a que ofrecieron varias ventajas en comparación con el método tradicional, las principales fueron: gasto menor de agua y mayor recuperación de proteína. Sin embargo, estos cambios de pH suelen causar cambios conformacionales-estructurales a las proteínas obtenidas, con su consecuente repercusión en la funcionalidad (Nolsøe y Undeland, 2009). Por ello, el presente capítulo centró su atención en el estudio de los cambios conformacionales inducidos por el método de extracción y la posible repercusión en la capacidad gelificante.

Obtención de concentrados proteicos

Aunque se han desarrollado una variedad procesos para la elaboración de concentrados proteicos, la mayoría se han basado en la solubilización del músculo de pescado triturado para eliminar lípidos y agua, y concentrar con ello las proteínas (Stillings y Knobl, 1971). Algunos concentrados proteicos fueron diseñados solamente para fines nutricionales debido a su excepcional valor nutritivo, pero con propiedades limitadas. Otros tienen propiedades funcionales deseables para la industria alimentaria y pueden ser utilizados en los alimentos por estos atributos.

La elaboración de concentrados proteicos de organismos marinos se fundamentó en el uso más eficiente del recurso pesquero por la conversión de especies subutilizadas o bien que no se aprovecharon óptimamente a productos aceptables para consumo humano (Stillings y Knobl, 1971). Un concentrado proteico pudo ser elaborado por diversas vías, la forma más común es el proceso tradicional del surimi, que implica alrededor de tres ciclos de lavado con tres a nueve volúmenes de agua. Durante el lavado, los componentes solubles en agua fueron diluidos y parte de las grasas neutras fueron removidas, enseguida se adicionan crioprotectantes antes de su congelación en bloques (Nolsøe y Undeland, 2009). La tecnología tradicional padecía de una serie de inconvenientes, como la alta demanda de agua, los bajos rendimientos en la recuperación de proteínas, la reducida eliminación de lípidos y la generación de efluentes con elevada carga orgánica. Por ello, en los últimos años, Hultin y Kelleher (1999, 2000) han propuesto otro tipo de tecnologías pretendiendo reducir los inconvenientes de la tecnología anterior. Ésta, implicaba ya fuera disolución ácida (pH 2.5-3.5) o alcalina (pH 9-10) de ambas fracciones proteicas: miofibrilares y sarcoplásmicas (hemoglobina, mioglobina y enzimas proteolíticas) y a continuación, la recuperación de proteínas solubles mediante precipitación isoeléctrica (pH 5.0-5.5).

Las aplicaciones potenciales de los concentrados proteicos obtenidos mediante disolución ácida/alcalina, o el método tradicional fueron amplias, la más estudiada fue la elaboración de productos gelificados. Los concentrados podían tener diversos fines como por ejemplo: su empleo como revestimiento de productos fritos, para mejorar la capacidad de retención de agua de productos marinados, así como en la producción de hidrolizados proteicos, sólo por citar algunos usos (Nolsøe y Undeland, 2009).

El músculo de cefalópodos como el calamar gigante (*Dosidicus gigas*) ha tenido el potencial de ser utilizado en la manufactura de concentrados proteicos para la elaboración de análogos de productos de pescado u otros productos basados en la capacidad de formación de gel de las proteínas musculares (Félix-Armenta y colaboradores, 2009). En los últimos años se han realizado una serie de investigaciones encaminadas en el establecimiento del mejor proceso para obtener concentrados proteicos con buenas características funcionales de esta especie. Se ha estudiado el método tradicional, así como las disoluciones ácidas/alcalinas propuestas por Hultin y Kelleher (1999, 2000). Estudios realizados por Sanchez-Alonso y colaboradores (2007) en concentrados proteicos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), obtenidos mediante el método tradicional, puntualizaron la pobre calidad funcional de las proteínas extraídas. Debido a esto Gómez-Guillen y Montero (1997) propusieron el uso de agentes gelificantes con la finalidad de mejorar dicha propiedad.

Cortés-Ruiz y colaboradores (2008), y Dihort-García y colaboradores (2011), obtuvieron concentrados proteicos de calamar mediante solubilización ácida y alcalina, respectivamente. Ambos grupos de investigación reportaron una mejora en la capacidad gelificante, así como también la manifestación de cambios estructurales ocasionados durante la extracción. Los cambios de pH al que se someten las proteínas musculares durante la disolución ocasionan cambios estructurales y conformacionales, que pueden afectar la funcionalidad de las proteínas recuperadas (Nolsøe y Undeland, 2009). En ocasiones, dichos cambios repercuten en una mejora en la capacidad gelificante. Por ello, resulta conveniente estudiar las disoluciones ácidas y alcalinas en cada especie con la finalidad de establecer el pH de la disolución que brinde mejores propiedades gelificantes.

Cambios conformacionales-estructurales

Los procesos alternativos para obtención de concentrados proteicos propuestos por Hultin y Kelleher (1999, 2000) inducen a la desnaturalización con la modificación de pH del medio. El desplegamiento proteico a *pH's* ácidos disoció la cola de miosina debido a la repulsión electrostática, mientras que no se disoció en condiciones alcalinas. No obstante, ambas disoluciones conducen a cambios conformacionales significativos en la fracción globular de la cabeza de miosina, sugiriendo que toma una configuración similar a un glóbulo fundido. En el reajuste de pH hacia la neutralidad la cadena pesada toma una forma estructural similar al estado nativo con cierto grado de enrollamiento en la cola mientras que la cabeza globular es menos compacta, más hidrofóbica y estructuralmente menos estable.

Un desdoblamiento parcial de la miosina y proteínas miofibrilares inducido por soluciones ácidas y alcalinas seguido por el replegamiento después de la precipitación isoeléctrica, promueve la exposición de la superficie hidrofóbica, la actividad superficial interfacial y el contenido de grupos sulfhidrilos, que a su vez pueden conducir al mejoramiento de las propiedades gelificantes y emulsificantes (Kristinsón y Hultin, 2003). Por ello, es importante el estudio de los cambios conformacionales que sufren las proteínas, no sólo por el cambio de pH, sino también por el proceso térmico al que es sometido el concentrado proteico durante la transición sol-gel. El mejor entendimiento de dichos cambios proporciona información útil para predecir posibles variaciones de funcionalidad proteica, sin embargo, el estudio resulta complejo. No obstante, hoy en día existen diversas técnicas que pueden ser muy útiles para evaluar estos sucesos.

Perfil Electroforético

Dependiendo de las características inherentes de cada especie, las disoluciones ácidas/alcalinas pueden causar hidrólisis parcial o formación de agregados proteicos. Aunado a esto, la acción de proteasas endógenas remanentes en un concentrado proteico puede también hidrolizar proteínas, pudiendo repercutir seriamente en la calidad del gel obtenido. Dihort-García y colaboradores (2011), estudiaron la disolución alcalina en proteínas de manto de calamar (*Dosidicus gigas*), las principales proteínas detectadas en el manto de calamar fueron: la Cadena Pesada de Miosina (CPM), Meromiosina Pesada (MMP), Paramiosina (PM) y Actina (AC). Observaron que la disolución alcalina hidrolizó casi en su totalidad la CPM y la MMP, probablemente debido a la hidrólisis inducida por el tratamiento de disolución alcalina o a la activación de proteasas alcalinas en el manto. Palafox y colaboradores (2009) sugirieron que la presencia de CPM, PM y AC a altas concentraciones después del paso de extracción en los pH ácido o alcalino de los concentrados proteicos de calamar pueden favorecer sus propiedades funcionales. En este sentido la desaparición de CPM y MMP puede afectar la capacidad gelificante del concentrado proteico. En otro estudio Córtes-Ruiz y colaboradores (2008), estudiando la disolución ácida de proteínas del manto de calamar detectó una ligera hidrólisis de CPM, detectando la presencia de MMP y MML (Meromiosina Liger). Ambas resultaron de la hidrólisis de miosina.

Por otra parte, se ha reportado que el músculo del manto de calamar contiene al menos dos tipos de enzimas proteolíticas: una que rompe la molécula de miosina en fragmentos de MMP y MML y otra que rompe la miosina en subfragmentos S-1 y varilla (Konno y colaboradores, 2003). Sánchez-Alonso y colaboradores (2007), obtuvieron un concentrado proteico a partir de manto de calamar (*Dosidicus gigas*), evaluaron la autólisis de las proteínas del mismo en un periodo de 24 horas a 2-5°C, encontrando que la CPM decreció en un 93% durante las primeras dos horas, desapareciendo completamente en 24 horas de almacenamiento. Ellos atribuyeron la degradación a la alta actividad proteolítica del músculo de calamar (Konno y colaboradores, 2003), de ahí la importancia de procesar de forma inmediata y a baja temperatura el concentrado proteico obtenido.

Hidrofobicidad de superficie (S_{0ANS})

La determinación de la hidrofobicidad de superficie de las proteínas de alimentos, es útil para evaluar sus propiedades de solubilidad y gelificación, porque determina la distribución y el grado de exposición de las regiones hidrofóbicas, ya que durante su

plegamiento después de la síntesis proteica, los residuos polares están expuestos hacia el exterior del sistema proteico, mientras que los residuos apolares ocupan el interior de la proteína para disminuir el contacto con el agua (Marín-Martínez, 2002). Por lo que un aumento en $S_{0,ANS}$, implica un desplegamiento de la proteína.

Los cambios en pH durante el proceso de extracción pueden causar cambios conformacionales en las proteínas, uno de estos cambios es un aumento o disminución en la hidrofobicidad de superficie. En un estudio reciente sobre la disolución alcalina y posterior precipitación isoeléctrica de proteínas del manto de calamar (*Dosidicus gigas*) Dihort-García y colaboradores (2011), reportó que el tratamiento ocasionaba cambios en la solubilidad a baja ($\mu=0.05$) y alta fuerza iónica ($\mu=0.5$), así como un aumento significativo ($p<0.05$) en la fracción correspondiente a proteína soluble en álcali (proteína insoluble a $\mu=0.5$). Lo anterior fue atribuido a un aumento en la hidrofobicidad de las proteínas obtenidas.

Las regiones hidrofóbicas en la superficie proteica usualmente determinan la solubilidad y susceptibilidad para agregarse (Cardamone y Puri, 1992). Tolano (2010), estudiando los cambios conformacionales en un concentrado proteico obtenido mediante disolución alcalina, detectó una aguda disminución en la solubilidad. Sin embargo, dicha disminución no se vio acompañada de un aumento en la hidrofobicidad de superficie de acuerdo a $S_{0,ANS}$. La baja solubilidad del concentrado proteico alcalino repercutió en una pobre interacción del reactivo ANS con las proteínas traduciéndose en una menor intensidad de fluorescencia. Además de la disminución de solubilidad los aglomerados formados por la interacción proteína-proteína ocultan restos hidrofóbicos, dificultando así la interacción con ANS, por lo que la hidrofobicidad resulta menor en dicho sistema proteico. Resultados similares fueron obtenidos por Kim y colaboradores (2003), en músculo de pescado. Ellos observaron que cuando las proteínas fueron sometidas a solubilización alcalina (pH=12) la hidrofobicidad disminuyó. Estos investigadores atribuyen este comportamiento a que los pH's alcalinos causan cambios conformacionales en las proteínas provocando la formación de agregados proteicos, siendo estos agregados los responsables en la disminución de la hidrofobicidad.

Grupos Sulfhidrilos totales (SHT) y reactivos (SHR)

La determinación de los grupos Sulfhidrilos (SH) detecta aquellos grupos tioles en la periferia de la proteína, aquellos grupos disponibles para reaccionar (Kim y colaboradores, 2005). Estos grupos influyen significativamente en las propiedades funcionales de las proteínas de los alimentos, además desempeñan un papel muy

importante en la formación de estructuras relativamente rígidas en los geles debido a la conversión de SH a S-S (Marín-Martínez, 2002). Por ello, la cuantificación de SHT y SHR son de suma importancia para explicar las propiedades texturales o reológicas de geles proteicos. Durante la transición sol-gel el aumento gradual de temperatura provoca un desplegamiento proteico, lo que conlleva a un aumento en la exposición de grupos SH, aumentando así el contenido de grupos SHR. El aumento en grupos SHR, así como el aumento en la temperatura propician el intercambio de SH a S-S, ocasionando una disminución en grupos SH. En consecuencia, el fenómeno de gelificación se asocia con una disminución de grupos SH y un aumento en S-S. El contenido de SHT y SHR puede variar en función de la especie, Tolano (2010) cuantificó el contenido de SHT y SHR en manto de calamar, encontrando 3.1 y 2.9 moles/10⁵g, respectivamente, lo que sugiere que en el manto existe un 93% de grupos SH disponibles para reaccionar. No obstante, el contenido de SHT en manto de calamar fue inferior al reportado para otras especies como burbot (*Lota lota*) y abadejo del Atlántico (*Gadus morhua*) con 5.2 y 8.2 moles/10⁵g, respectivamente (Riebroy y colaboradores, 2009). Estas diferencias pueden ser atribuidas a características inherentes de cada sistema proteico, es bien conocido que el músculo de invertebrados como *Dosidicus gigas* presentan un alto contenido de paramiosina, llegando incluso a estar en proporción muy similar a miosina, un contenido mucho más bajo de miosina podría ser la principal causa del menor contenido de SHT en el músculo de esta especie.

La disolución alcalina realizada por Tolano (2010), ocasionó una disminución drástica en el contenido de SHT y SHR, lo cual podría suponer que la mayor cantidad de grupos tioles fueron removidos en la fracción soluble al momento de ajustar a 5.5 el pH de la disolución alcalina. Otra posible razón podría ser lo documentado por Yongsawatdigul y Park (2001) en músculo de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*), en el que observaron que bajo condiciones alcalinas, el contenido de SH decrece conforme aumenta el pH, indicando que quizás los grupos tiol son más susceptibles a la oxidación a pH alcalinos, resultando en la formación de enlaces disulfuro. Mohan, y colaboradores (2007), en su estudio sobre proteínas del músculo de liza (*Mugil cephalus*) también encontraron que la concentración de sulfhidrilos reactivos disminuye cuando el homogeneizado de proteínas se somete a condiciones alcalinas, y explican que una de las causas puede ser la formación de enlaces disulfuro. El incremento de pH favorece las reacciones de desnaturalización y el paso de grupos SH a S-S por lo que facilita la reacción de disociación y agregación de las proteínas (Kim y colaboradores, 2003).

Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB)

El comportamiento térmico de las proteínas miofibrilares es de gran importancia tecnológica para la determinación y predicción de la calidad de los productos cárnicos, debido a que las proteínas miofibrilares poseen propiedades funcionales que determinan en gran medida las características propias de la carne como la textura, por lo que la calorimetría diferencial de barrido es una buena opción para la determinación de parámetros térmicos. Se considera la técnica más adecuada para estudiar la energética en las transiciones de plegamiento-desplegamiento de proteínas, permitiendo caracterizar termodinámicamente los cambios conformacionales inducidos por los cambios de temperatura en proteínas (Conejero-Lara y colaboradores, 2000).

A pesar de la gran importancia de la estabilidad de proteínas en alimentos de origen marino, existe poca información concerniente al estudio calorimétrico de las proteínas del manto de calamar en comparación con otras especies como mamíferos, aves y peces. Ramírez-Olivas y colaboradores (2004), trabajando con almacenamiento en hielo de *Dosidicus gigas* reportaron tres picos de transición endotérmica correspondiente a la desnaturalización de la miosina, actina y proteínas sarcoplásmicas. Detectaron una temperatura de desnaturalización (T_d) para miosina de calamar fresco de 50.1 °C y un cambio de entalpia (ΔH) de 0.58 J/g. Mientras que durante el almacenamiento en hielo, la entalpia disminuyó a 0.49 J/g y 0.44 J/g para el 5^o y 15^o días de almacenamiento, respectivamente, atribuyendo dicha disminución a la actividad enzimática de las proteínas endógenas del músculo de calamar gigante. Por otra parte, Tolano (2010), trabajando con las proteínas del manto de calamar encontró un pico a los 60.1 °C con un ΔH de 0.02 J/g, pudiendo atribuirse tal diferencia a distinta estación de captura, talla, sexo, así como a una distinta región geográfica de captura de los especímenes. En este mismo estudio cuando las proteínas del manto de calamar se sometieron a la disolución alcalina, se detectó un pico a los 57 °C con un ΔH de -0.06 J/g, atribuyéndose la variación en T_d y ΔH a cambios conformacionales inducidos por la disolución alcalina. La menor cantidad de energía necesaria para inducir un cambio conformacional en las proteínas sujetas a disolución alcalina sugieren una disminución de interacciones electrostáticas proteína-proteína y proteína-agua debido probablemente a un aumento en la hidrofobicidad, tal como lo sugieren Gómez-Guillén y Montero (1997), lo que repercute directamente en la capacidad de retención de agua (Dihort-García y colaboradores, 2011).

Reología (medidas dinámicas oscilatorias)

Las medidas dinámicas oscilatorias permiten monitorear la gelificación. Las deformaciones inducidas generalmente son muy pequeñas y sus efectos sobre la estructura puede decirse que son insignificantes, por lo que los estudios en las propiedades reológicas del músculo de pescado y de las dispersiones proteicas, son de gran valor para una mejor comprensión de los mecanismos de gelificación y para el desarrollo de productos (Venugopal, 1997). La gelificación puede monitorearse a partir de dos parámetros independientes, el módulo de almacenamiento (G'), que describe la cantidad de energía que es almacenada elásticamente en la estructura y el módulo de pérdida (G''), que es una medida de la pérdida de energía o la respuesta viscosa (Mota-Ramos e Ibarz, 2006). Generalmente, sólo se utiliza el modulo de almacenamiento para monitorear la capacidad gelificante de proteínas, debido a que los sistemas son mas elásticos que viscosos.

Dublán (2006), observó que durante el barrido de temperatura de un homogeneizado de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), el modulo elástico era mayor que el módulo viscoso, y que además se observa el punto de gelificación típico del músculo de cefalópodos, que ya ha sido reportado para otras especies (Gómez-Guillén y colaboradores, 2002), en donde G' alcanza un mínimo a 35-40 °C y, posteriormente aumenta exponencialmente hasta llegar alrededor de los 76 °C, después disminuye el módulo de almacenamiento.

La recuperación de proteínas mediante disoluciones ácidas/alcalinas causan daños conformacionales-estructurales en las proteínas, en ocasiones esos cambios suelen beneficiar la propiedad gelificante. Tolano (2010), estudiando las proteínas del manto de calamar (*Dosidicus gigas*), reportó un comportamiento similar al encontrado por Dublan (2006), un continuo incremento en el módulo elástico desde el inicio hasta los 38 °C, posteriormente un aumento hasta llegar cerca de los 76 °C. En el mismo estudio, pero en un concentrado proteico obtenido mediante disolución alcalina a pH 10, se observó que G' alcanza un mínimo en el intervalo de 35-40 °C, posteriormente aumenta exponencialmente hasta llegar alrededor de los 80 °C.

En otro estudio realizado por Campo-Deaño y colaboradores (2009), propusieron la precipitación isoeléctrica directa, así como la disolución ácida para obtener concentrados de manto de calamar (*Dosidicus gigas*). A través de estudios reológicos estos investigadores detectaron que la disolución ácida preservó mejor la funcionalidad de las proteínas miofibrilares en comparación con el concentrado obtenido mediante precipitación isoeléctrica directa. Sánchez-Alonso y colaboradores (2007), propusieron la disolución a baja fuerza iónica y posterior precipitación isoeléctrica

de proteínas del manto de calamar (*Dosidicus gigas*) para obtener concentrados proteicos funcionales. Compararon el comportamiento de G' del concentrado obtenido contra un homogeneizado de manto, el concentrado obtenido mostró valores de G' diez veces mayores que el manto homogeneizado. Estos investigadores también reportaron el típico perfil de gelación en manto de calamar, sin embargo, éste fue ligeramente distinto en el concentrado proteico, atribuyéndose probablemente a la acción enzimática endógena que ha sido eliminada.

Propiedades funcionales

Solubilidad

Un concentrado proteico puede obtenerse de distintas maneras. Cualquiera que sea la forma de obtenerlo la base del procedimiento es la solubilidad de las proteínas, así por ejemplo la metodología se basa en la insolubilidad de las proteínas miofibrilares en agua o baja fuerza iónica, descartando aquellas proteínas solubles (sarcoplásmicas), así como otros compuestos solubles indeseables. Las metodologías propuestas por Hultin y Kelleher (1999, 2000) se fundamentan en la solubilidad por efecto del pH, donde las proteínas musculares alcanzan su máxima solubilidad a pH 's extremos, mientras que la recuperación de proteína se basa en ajustar el pH de la solución a 5.0-5.5, que corresponde al pH de las proteínas miofibrilares. El método de obtención de concentrados proteicos puede afectar la solubilidad de la proteína obtenida, repercutiendo así en la funcionalidad. Teóricamente, la proteína requiere ser soluble para interactuar con el agua, lípidos y ésta misma, por ello la determinación de la solubilidad se determina con el fin de estimar su habilidad para ejercer roles tecnológicos, como su capacidad de formar geles (Konno y colaboradores, 2003).

Fraccionación de proteínas

Dado que durante la extracción de proteínas, éstas pueden sufrir cambios conformacionales que pueden alterar su solubilidad, es necesario estudiar el cambio en el patrón de solubilidad del concentrado proteico obtenido. Se puede estudiar el cambio en la solubilidad por efecto del proceso solubilizando el sistema proteico en una solución tampón a determinado pH, fuerza iónica (μ) y temperatura. El análisis de la solubilidad fraccionada, es decir, el estudio de la solubilidad en función de la fuerza iónica arroja mayor información. Dicho estudio permite cuantificar los posibles

cambios en la solubilidad de todas las fracciones proteínicas en un músculo o concentrado proteico, se puede cuantificar la fracción sarcoplásmica, miofibrilar, estromal, así como una fracción soluble en álcali, que corresponde a proteína agregada (Kijowski, 2001).

Dihort-García y colaboradores (2011) obtuvieron un concentrado proteico de manto de calamar (*Dosidicus gigas*) mediante disolución alcalina. En manto detectaron 29.1, 56.8 y 14.1% de proteína sarcoplásmica, miofibrilar y soluble en álcali, respectivamente. En lo que respecta a las fracciones proteicas del concentrado proteico detectaron un 8.1, 55.0 y 36.9% de proteína sarcoplásmica, miofibrilar y soluble en álcali. Los autores atribuyeron el cambio en el patrón de solubilidad a la desnaturalización por efecto del pH, así como a la eliminación de una fracción proteica durante la precipitación a punto isoeléctrico.

En otro estudio, con la misma especie (*Dosidicus gigas*), pero estudiando la disolución ácida, Cortés-Ruiz y colaboradores (2008) encontraron un 53.6% de proteína soluble en álcali y sólo un 21.1% de proteína miofibrilar. Estos investigadores han sugerido la desnaturalización de la fracción miofibrilar formando agregados proteicos a través de enlaces no covalentes, repercutiendo en un concentrado proteico con baja solubilidad en agua o a baja fuerza iónica. No obstante, la capacidad gelificante de dicho concentrado fue grado AA, que es la máxima calidad en la técnica de doblado (el gel no se quiebra al doblarlo en cuatro cuadrantes). La desnaturalización por efecto del pH puede observarse notoriamente en el aumento del porcentaje en proteína soluble en álcali, es decir, proteína insoluble a fuerzas iónicas de 0.05 y 0.5. Lo anterior supone cambios estructurales en la estructura terciaria y secundaria de las proteínas presentes, en las que la exposición de aminoácidos hidrofóbicos hacia el exterior de la proteína pudiera ser la causa de su insolubilidad. El cambio en la solubilidad como una propiedad funcional es un parámetro importante en las proteínas presentes en un concentrado proteico. En ocasiones ha sido difícil dar una conclusión respecto a la funcionalidad si se toma como referencia sólo a la solubilidad, ya que no es correcto precisar que proteínas con alto grado de solubilidad tendrán magníficas propiedades funcionales (Ako y colaboradores, 2010).

Gelificación

La gelificación es un proceso de dos fases que involucra la desnaturalización de proteína nativa y agregación de una estructura parcialmente desdoblada. La formación del gel ocurre cuando las interacciones proteína-proteína conducen a la formación de la estructura tridimensional capaz de incorporar moléculas de agua. Para

ello es necesario obtener un balance entre las fuerzas repulsivas (interacciones electrostáticas) y atractivas (interacciones hidrofóbicas) para evitar el colapso de la red tridimensional durante la formación del gel (Fligner y Mangino, 1991).

Entre los principales factores que afectan la gelificación tenemos: la temperatura, pH, fuerza iónica y concentración de proteína (Gómez-Guillen y colaboradores, 1996). Dado que el contenido de proteína en un concentrado proteico normalmente oscila entre 20 y 15% (el resto es en su mayoría humedad), los estudio de gelificación en especies marinas habitualmente se realizan a concentración de proteína constante, dejando a variación la temperatura, pH y fuerza iónica. Dada las características inherentes de cada especie la gelación debe o puede realizarse en etapas, ya que algunas especies se caracterizan por presentar los fenómenos de *suwari* y *modori*. La gelación del calamar parece no presentar ninguno de estos fenómenos, por ello los geles de calamar suelen realizarse típicamente a 90 °C/30 minutos. En lo que respecta a pH y fuerza iónica, éstas suelen ser las variables más estudiadas, el pH afecta directamente la carga neta de las proteínas, el rango de pH mayormente estudiado oscila entre 5.5 y 8.0, ya que a *pH's* mayores o inferiores la formación de un gel resultado difícil. La variación en fuerza iónica habitualmente se hace con *NaCl* o *KCl*. Sobresalen los estudios con *NaCl* ya que es la sal empleada en los alimentos. El rango de estudio normalmente va de 0 a 3% de *NaCl*. Dada que la concentración de proteína y temperatura suelen ser variables poco modificables, el correcto establecimiento de pH y fuerza iónica suelen determinar las características texturales de los geles.

Estudios previos han reportado la pobre habilidad gelificante de las proteínas del manto de calamar (Gómez-Guillen y Montero, 1997). Por ello en los últimos años se han buscado nuevas alternativas en la obtención de concentrados proteicos, así como la adición de hidrocoloides que ayuden a mejorar las propiedades texturales de los geles obtenidos (Dihort-García y colaboradores, 2011; Cortés-Ruiz y colaboradores, 2008; Sánchez-Alonso y colaboradores, 2007). Dihort-García y colaboradores (2011), y Cortés-Ruiz y colaboradores (2008), evaluaron la capacidad gelificante del manto de calamar (*Dosidicus gigas*) y de concentrados proteicos obtenidos a través de disolución alcalina y ácida, respectivamente. Ambos grupos de investigadores reportaron mejores propiedades gelificantes en geles elaborados a partir de ambos concentrados proteicos en comparación con geles elaborados del manto. De acuerdo al análisis del perfil de textura la disolución ácida produjo geles más firmes que la disolución alcalina, mientras que la prueba de doblado arrojó valores *AA* para geles obtenidos con la disolución ácida y *C-A* para la disolución alcalina, siendo de mejor calidad los geles obtenidos por disolución ácida de acuerdo a la técnica de doblado. La capacidad de retención de agua fue de 95% para la disolución ácida en comparación con 36% en la disolución alcalina.

Campo-Deaño y colaboradores (2009) obtuvieron dos concentrados proteicos; uno mediante disolución ácida y posterior precipitación isoelectrica y otro por medio de precipitación isoelectrica directa de las proteínas del manto de calamar (*Dosidicus gigas*). Compararon la capacidad gelificante de ambos concentrados, encontrando que la disolución ácida brinda mejores geles. En otro estudio Sánchez-Alonso y colaboradores (2007), explotaron la alta solubilidad de las proteínas del manto de calamar. Propusieron la disolución neutra a baja fuerza iónica y su posterior precipitación isoelectrica. Estos investigadores compararon la capacidad gelificante del manto de calamar (*Dosidicus gigas*) con la del concentrado proteico obtenido. Los geles elaborados a partir del concentrado proteico fueron de mayor calidad que los elaborados directamente del manto.

A pesar de la baja capacidad gelificante de las proteínas del manto de calamar en comparación con la de los peces, los concentrados proteicos brindan geles de mayor calidad en comparación con aquellos obtenidos directamente del manto. Esto se atribuye a la remoción de una parte de la fracción sarcoplásmica, a través de los ciclos de lavado ya que se eliminan proteasas endogenas, así como otras proteínas (globulinas y albuminas) que coagulan por calor y se adhieren a las proteínas miofibrilares impidiendo que se forme la red tridimensional. Como ya se ha visto, las propiedades funcionales, en especial la solubilidad y la gelificación, se verán afectadas dependiendo del método de obtención de un concentrado proteico. Por ello, en primera instancia ha sido importante definir el mejor protocolo de extracción, después, establecer las condiciones de pH, temperatura y fuerza iónica apropiadas con la finalidad de obtener geles de calidad apropiada.

Referencias

- Ako, K., T. Nicolai, D. Durand (2010), "Salt-induced gelation of globular protein aggregates: structure and kinetics", *Biomacromolecules*, vol. 11, pp. 864-871.
- Campo-Deaño, L., C. A. Tovar, M. J. Pombo, M. T. Solas, A. J. Borderías (2009), "Rheological study of giant squid surimi (*Dosidicus gigas*) made by two methods with different cryoprotectants added", *Journal of Food Engineering*, vol. 94, pp. 26-33.
- Cardamone, M., y N. K. Puri (1992), "Spectrofluorimetric assessment of the surface hydrophobicity of proteins", *Biochemical Journal*, vol. 282 (2), pp. 589-593.
- Conejero-Lara, F., O. López-Mayorga, M. Sadqui (2000), *Calorimetría Diferencial de Barrido. En estudio termodinámico de los estados parcialmente plegados del dominio SH3 de espectrina*, Departamento de Química Física, Universidad de Granada, España. pp. 39-64.

- Cortés-Ruiz, J. A., R. Pacheco-Aguilar, M. E. Lugo-Sánchez, G. Carvallo-Ruiz, G. García-Sánchez (2008), "Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation", *Food Chemistry*, vol. 110, pp. 486-492.
- Dihort-García, G., V. M. Ocano-Higuera, J. M. Ezquerro-Brauer, E. Lugo-Sánchez, R. Pacheco-Aguilar, E. Marquez-Rios (2011), "Producción y evaluación funcional de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) obtenido mediante disolución alcalina", *CyTA-Journal of Food*, VOL. 9 (3), PP. 171-179.
- Dublán, G. O. (2006), "Evaluación de los cambios estructurales y fisicoquímicos del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) durante el almacenamiento en refrigeración o congelación", México D.F., Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, tesis doctoral.
- Félix-Armenta, A., J. C. Ramirez-Suarez, R. Pacheco-Aguilar, M. E. Díaz-Cinco, G. Cumplido-Barbeitia, G. Carvallo-Ruiz (2009), "Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle muscle gelled-emulsified type product: Formulation, processing and physicochemical characteristics", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 44, pp. 1517-1524.
- Fligner, K. L., and M. E. Mangino (1991), "Relationship of composition to protein functionality", en N. Parris y R. Barford (eds.), *Interactions of Food Proteins*, ACS Symposium Series, pp. 1-12.
- Gómez-Guillén, M. C., J. L. Hurtado, P. Montero (2002), "Autolysis and protease inhibition effects on dynamic viscoelastic properties during thermal gelation of squid muscle", *Journal of Food Science*, vol. 67 (7), pp. 2491-2496.
- Gómez-Guillén, M. C., y P. Montero (1997), "Improvement of giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle gelation by using gelling ingredients", *Z. -Lebensm Unters Forsch A.*, vol. 204, pp. 379-384.
- Gómez-Guillén, M. C., T. Solas, J. Borderías, M. P. Montero (1996), "Effect of heating temperature and sodium chloride concentration on ultrastructure and texture of gels made from giant squid (*Dosidicus gigas*) with addition of starch, i-carrageenan and egg white", *Z. -Lebensm Unters Forsch A.*, vol. 202(3), pp. 221-227.
- Hultin, H. O., y S. D. Kelleher (1999), "Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition", Rockport, MA, Advanced Protein Technologies, Inc. U.S., Patent 6005073, disponible en <http://www.freepatentsonline.com/6005073>.
- Hultin, H. O., y S. D. Kelleher (2000), "High-efficiency alkaline protein extraction", US Patent 6,136,959, October 24.
- Kijowski, J. (2001), "Muscle proteins", en Z. E. Sikorski (ed.), *Chemical and functional properties of food proteins*, New York, CRC Press LLC, pp 233-64.

- Kim, Y. S., J. W. Park, Y. J. Choi (2003), “New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics”, *Fisheries Science*, vol. 69 (6), pp. 1231-1239.
- Kim, B. Y., W. B. Yoon, J. W. Park (2005), “Rheology and texture properties of surimi gels”, en J. W. Park (ed.), *Surimi and surimi seafood*, Boca Raton, Fla., CRC Press, pp. 491–582.
- Klett, A. (1996), “Pesquería del calamar gigante (*Dosidicus gigas*)”, en M. Casas-Valdez y G. Ponce-Díaz (eds.), *Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur*, vol. I, México, SEMARNAP, FAO, INP, CIBNOR, CICMAR, CETMAR, pp. 127-149.
- Konno, K., C. Young-ie, T. Yoshioka, P. Shinho, N. Seki (2003), “Thermal denaturation and autolysis profiles of myofibrillar proteins of mantle muscle of jumbo squid *Dosidicus gigas*”, *Fisheries Science*, 69, pp. 204-209.
- Kristinsson, H. G., y H. O. Hultin (2003), “Changes in conformation and subunit assembly of cod myosin at low and high pH and after subsequent refolding”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, pp. 7187-7196.
- Luna, R. M., G. J. Urciaga, Z. C. Salinas, M. M. Cisneros, M. L. Beltrán (2006), “Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora”, *Economía, sociedad y territorio*, vol. 6 (22), pp. 535-560.
- Marín-Martínez, M. L. (2002), “Efectos del tratamiento térmico en la hidrofobicidad, en los grupos -SH, en la antigenicidad y en la capacidad de ligar grasa de las proteínas cárnicas”, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid, tesis doctoral.
- Mohan, M., D. Ramachandran, T. V. Sankar, R. Anandan (2007), “Influence of pH on the solubility and conformational characteristics of muscle proteins from mullet (*Mugil cephalus*)”, *Process Biochemistry*, vol. 42, pp. 1056-1062.
- Mota-Ramos, A., y A. Ibarz (2006), “Comportamiento viscoelástico de pulpa de membrillo en función de la concentración de sólidos solubles”, *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, vol. 26 (1), pp. 214-219.
- Nolsøe, H., y I. Undeland (2009), “The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art”, *Food Bioprocess Technology*, vol. 2, pp. 1-27.
- Palafox, H., J. H. Córdova-Murrieta, M. A. Navarrete del Toro, F. L. García-Carreño (2009), “Protein isolates from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by pH-shift processing”, *Process Biochemistry*, vol. 44, pp. 584-587.
- Ramírez-Olivas, R., O. Rouzaud-Sánchez, N. Haard, R. Pacheco-Aguilar, J. M. Ezquerro-Brauer (2004), “Changes in firmness and thermal behavior of ice-stored

- muscle of jumbo squid (*Dosidicus gigas*)”, *European Food Research and Technology*, vol. 219, pp. 312-315.
- Riebroy, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, U. Erikson, T. Rustad (2009), “Acid-induced gelation of natural actomyosin from Atlantic cod (*Gadus morhua*) and burbot (*Lota lota*)”, *Food Hydrocolloids*, vol. 23, pp. 26-39.
- Salinas, Z. C. A., H. S. Sánchez, N. E. Aragón, V. C. Sanchez, M. G. Soria, G. G. Escoto, C. T. Moctezuma, C. S. Camarillo, R. A. Mejía, F. G. Bazzino (2005), *Programa maestro de pesquería de calamar gigante*, Comité sistema producto de la pesquería de calamar gigante en el estado de Sonora.
- Sánchez-Alonso, I., M. Careche, A. J. Borderías (2007), “Method for producing a functional protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle”, *Food Chemistry*, vol. 100, pp. 48-54.
- Stillings, B. R., y G. Knobl (1971), “Fish protein concentrate: a new source of dietary protein”, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48(8), 412.
- Tolano, V. I. J. (2010). “Obtención de un concentrado proteico de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*) por disolución alcalina y evaluación de cambios conformacionales”, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, tesis de licenciatura.
- Venugopal, V. (1997), “Functionality and potential applications of thermostable water dispersions of fish meat”, *Trends in Foods Science & Technology*, vol. 8 (8), pp. 271-276.
- Yongsawatdigul, J., Y. S. Kim, J. W. Park (2001), “Biochemical and gelation properties of acid-and alkaline-aided solubilization of fish muscle proteins”, Presented at Int'l Symposium, More Efficient Utilization of Fish and Fisheries Products. Kyoto University, Kyoto, Japan, Octubre 8-10.

Características fisicoquímicas de tripsinas de peces y su aplicación en la industria alimentaria

Ramón Gertrudis Valdez Melchor, Enrique Márquez Ríos, Víctor Manuel Ocaño Higuera, José Luis Arias Moscoso, Santiago Valdez Hurtado y Francisco Javier Castillo Yáñez

Resumen

A nivel mundial la industria pesquera solamente aprovecha alrededor de 50% del producto bruto, el resto (subproducto) lo descartan. Los subproductos actualmente tienen un alto valor en la industria alimentaria debido a que contienen una gran diversidad de compuestos bioactivos que pueden ser aprovechados, un ejemplo muy claro son las enzimas. En lo que respecta a las enzimas, se ha reportado que la familia de las serina proteasas presenta propiedades muy particulares y de gran utilidad en tecnología de alimentos, una de las enzimas más importantes dentro de este grupo es la tripsina.

Las tripsinas de peces de origen acuático presentan propiedades fisicoquímicas muy específicas y peculiares, por ejemplo, amplios rangos de actividad tanto para pH como temperatura (pH 8-12; 38.5-70 °C), presentan una gran estabilidad en un rango de pH que va desde 5.0-12.0, así como también en presencia de surfactantes y agentes oxidantes, sin embargo, existen evidencias de que son inestables a temperaturas superiores a los 30 °C. Los extremos *N-terminal* de este tipo de enzimas son muy similares entre sí y la poca diferencia que existe en sus secuencias de aminoácidos les otorga una funcionalidad fisicoquímica única.

Hoy en día estas enzimas se han estado utilizando como aditivo para la elaboración de hidrolizados de proteínas, en la optimización de los procesos de extracción de aceite, en la maduración de productos alimenticios, en la extracción de caroteno-

proteínas, así como también en la modificación de las propiedades reológicas de las masas de trigo.

Palabras clave: tripsina, subproductos, serina proteasas, peces.

Introducción

En las principales industrias pesqueras, los subproductos de organismos marinos comprenden cerca de 50%. Estos materiales son en gran medida sub-utilizados y/o descartados como desechos, pudiéndose obtener a partir de éstos enzimas, proteínas, vitaminas y ácidos grasos que pueden ser recuperados y utilizados en sectores industriales o en las ciencias biológicas (Sandbakk, 2002). Dentro de los compuestos biológicos mencionados anteriormente, se tiene a las enzimas, éstas son catalizadores biológicos de todos los organismos, participan activamente en la conversión de reactantes a productos regulando así los procesos metabólicos (Murray y colaboradores, 2007). Cuando el organismo muere estas enzimas siguen trabajando y en función de la actividad que presentan se ha visto que pueden llegar a tener numerosas aplicaciones en la industria de alimentos (Murray y colaboradores, 2007).

Las enzimas que principalmente se han estudiado en organismos acuáticos son las proteasas. De éstas, la tripsina (EC 3.4.21.4) es de quien se tiene mayor información. Pertenece a la familia de las serina proteasas y se puede encontrar en altas concentraciones en el tracto digestivo de los peces (Kishimura y Hayashi, 2002). Esta enzima hidroliza enlaces peptídicos sobre el enlace carboxílico del lado de residuos de arginina y lisina. Se ha identificado en una amplia variedad de organismos terrestres y microorganismos principalmente, siendo los últimos los más representativos (Rypniewski y colaboradores, 1994).

No obstante, la tripsina e isotripsinas han sido aisladas y caracterizadas a partir de peces de regiones frías, templadas, subtropicales y tropicales. Algunos de los tejidos de donde se han aislado son las vísceras, el bazo, el intestino y los ciegos pilóricos. Debido a claras diferencias catalíticas con su contraparte terrestre las enzimas de origen acuático pueden llegar a tener numerosas aplicaciones en la industria de alimentos, por ejemplo en la elaboración de hidrolizados de proteínas, para mejorar los rendimientos de extracción de aceite, para eliminar la piel de filetes y en la extracción de caroteno-proteínas (Gildberg y colaboradores, 2000; Klomklo y colaboradores, 2007b; Shi y colaboradores, 2007).

Características fisicoquímicas de tripsinas de peces

La tripsina normalmente es inestable y se desnaturaliza a pH ácidos y a altas temperaturas (Castillo-Yañez y colaboradores, 2005). Debido a las diversas condiciones de

los distintos hábitats donde se encuentran los peces, las tripsinas de origen acuático tienden a exhibir diferencias en sus propiedades fisicoquímicas (cuadro 1). Esto puede notarse en sus valores óptimos de pH y temperatura, baja energía de activación, alta actividad catalítica a bajas temperaturas, así como una baja termo-estabilidad.

Se ha encontrado que las tripsinas aisladas de peces tienen pesos moleculares que varían desde 23.8-30.7 *kDa* (Hau y Benjakul, 2006; Liu y colaboradores, 2007). Su alta actividad enzimática en un amplio rango de temperatura (38-65 °C) hacen de esta enzima una excelente herramienta biotecnológica con un amplio potencial de aprovechamiento a nivel industrial (Klomklao y colaboradores, 2006a; Liu y colaboradores, 2007). Kishimura y colaboradores (2008), observaron que la tripsina proveniente de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) era inestable a temperaturas mayores a los 30 °C. Un dato de gran interés para el tecnólogo en alimentos, ya que si un proceso requiere desactivar esta enzima sólo se requeriría un gasto mínimo de energía calorífica para lograrlo, o bien, si el proceso requiere que la enzima se mantenga activa en un ambiente frío, la tripsina de abadejo de Alaska podría también ser una muy buena opción.

Otra característica relevante que presentan las tripsinas de peces, es que mantienen un amplio rango de pH óptimo. Estos valores pueden variar entre 8-11 (Bougatef y colaboradores, 2007; Hau y Benjakul, 2006). Aunado a esto, también son estables en un amplio margen de pH 5-12 (Kishimura y colaboradores, 2008; Klomklao y colaboradores, 2007a; Klomklao y colaboradores, 2007b), así como en presencia de surfactantes o agentes oxidantes (Klomklao y colaboradores, 2005).

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de tripsinas e isotripsinas de peces

Nombre común del pez	PM (kDa)	pH óptimo	T óptima (°C)	Estabilidad	
				T (°C)	pH
Anchoveta japonesa (TR-I) ^{V,1}	24.0	8.0	60	T < 50	pH > 5.0
Anchoveta japonesa (TR-II) ^{V,1}	24.0	8.0	60	T < 50	pH > 5.0
Pargo ^{CP,2}	23.8	8-11	55	T < 40	----
Carbonero ^{CP,3}	24.0	8.0	50	T < 40	----
Jurel ^{CP,3}	24.0	8.0	60	T < 50	----
Atún tongol ^{B,4}	24.0	8.5	65	T < 50	6.0-11.0
Sardina ^{V,5}	25.0	8.0	60	----	6.0-9.0
Bonito del Atlántico ^{CP,6}	29.0	9.0	65	T < 50	7.0-12.0
Pez azul ^{CP,7}	28.0	9.5	55	T < 40	7.0-12.0
Carpa (GT-A) ^{I,8}	30.7	8.0	38.5	----	----
Carpa (GT-B) ^{I,8}	26.4	8.5	44	----	----

Pez hoki ^{CP,9}	26.0	9.0	60	T < 40	6.0-11.0
Abadejo de Alaska ^{CP,10}	24.0	8.0	50	T < 30	pH > 5.0
Huachinango ^{CP,11}	23.0	8.5	60	25-55	7.0-10.0

Fuente: donde: PM: peso molecular, T: temperatura y pH: potencial de hidrógeno. Los superíndices que se muestran a continuación representan al tejido del cual se obtuvo la tripsina; el superíndice^B representa al bazo, ^{CP}los ciegos pilóricos, ^{HP}el hepatopancreas, ^Iel intestino y ^{Va} las vísceras. ¹Kishimura y colaboradores (2005), ²Hau y Benjakul (2006), ³Kishimura y colaboradores, (2006b), ⁴Klomklao y colaboradores, (2006a), ⁵Bougatef y colaboradores, (2007), ⁶Klomklao y colaboradores, (2007a), ⁷Klomklao y colaboradores (2007b), ⁸Liu y colaboradores (2007), ⁹Shi y colaboradores (2007), ¹⁰Kishimura y colaboradores (2008), ¹¹Khantaphant y Benjakul (2010).

No obstante, al igual que otras enzimas sus propiedades fisicoquímicas y catalíticas pueden variar dependiendo de la especie, alimentación, sexo, etapas de crecimiento, factores ambientales como el pH, temperatura, demanda bioquímica de oxígeno y fenómenos climáticos.

Se ha observado que la tripsina muestra una mayor estabilidad en presencia de iones calcio, reportándose dos sitios de enlace. El primer sitio tiene una alta afinidad por los iones calcio y se presenta comúnmente en tripsinógeno y tripsina, mientras que el sitio secundario solamente se encuentra en zimógenos (Kishimura y colaboradores, 2006a). La ocupación del sitio primario por iones calcio estabiliza a la proteína y la protege contra la desnaturalización o autólisis.

Los organismos tienden a adaptarse de acuerdo al ambiente en el que residen, presentando cambios a nivel molecular con el paso del tiempo, lo que trae como resultado su evolución. Estos cambios moleculares pueden ser observados en las diferencias que existen entre los residuos que conforman las estructuras primarias de tripsinas de distintas especies de peces.

En años recientes, se han obtenido secuencias *N-terminal* de tripsinas a partir de peces capturados en diferentes zonas climáticas observándose diferencias (cuadro 2), ejemplo de esto son la caballa (Kishimura y colaboradores, 2006a), el carbonero (*Physiculus japonicus*) (Kishimura y colaboradores, 2006b) y el abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Kishimura y colaboradores, 2008), organismos que son provenientes de regiones frías, mientras que la anchoveta japonesa (*Engraulis japonica*) (Kishimura y colaboradores, 2005), la sardina verdadera (*Sardinops melanostictus*) (Kishimura y colaboradores, 2006a) y el jurel (*Seriola quinqueradiata*) (Kishimura y colaboradores, 2006b) son de zonas templadas.

Por otro lado, el pez hoki (*Macruronus novaezealandiae*) (Shi y colaboradores, 2007) y el pez azul (*Pamatomus saltatrix*) (Klomklao y colaboradores, 2007b) residen en hábitats subtropicales, en tanto que el atún tongol (*Thunnus tonggol*) (Klomklao y colaboradores, 2006a), el atún barrilete (*Katsuwonus pe-*

lamis) (Klomklao y colaboradores, 2006b), el atún aleta amarilla (*Thunnus albacores*) (Klomklao y colaboradores, 2006) y el bonito del Atlántico (*Sarda sarda*) (Klomklao y colaboradores, 2007a) son peces de regiones tropicales.

Cuadro 2. Secuencia *N-terminal* de tripsinas e isotripsinas de peces capturados en diferentes regiones

<i>Nombre común y zona climática</i>	<i>Secuencia N-terminal</i>
Peces de zonas frías	
Carbonero ³	IVGGYECPKHSQPHQVSLNS
Abadejo de Alaska ¹⁰	IVGGYECKTHSQAHQVSLNS
Caballa ²	IVGGYECPHTQAHQVSLDS
Peces de zonas templadas	
Anchoveta japonesa TR-I ¹	IVGGYECQAHSQPHTVSLNS
Anchoveta japonesa TR-II ¹	IVGGYECQPYSQPHQVSLDS
Sardina verdadera ²	IVGGYECKAYSQPWQVSLNS
Jurel ³	IVGGYECPYSQPHQVSLNS
Peces de zonas subtropicales	
Pez hoki ⁹	IVGGQECVPNSQPFMASLNY
Pez azul ⁸	IVGGYECKPKSAPVQVSLNY
Peces de zonas tropicales	
Atún tongol ⁴	IVGGYECQAHSQPHQVSLNA
Atún barrilete ⁵	IVGGYECQAHSQPHQVSLNS
Atún aleta amarilla ⁶	IVGGYECQAHSQPHQVSLNA
Bonito del Atlántico ⁷	IVGGYECQAHSQPWQPVLNS

Fuente: ¹Kishimura y colaboradores (2005), ²Kishimura y colaboradores (2006a), ³Kishimura y colaboradores (2006b), ⁴Klomklao y colaboradores (2006a), ⁵Klomklao y colaboradores (2006b), ⁶Klomklao y colaboradores (2006), ⁷Klomklao y colaboradores (2007a), ⁸Klomklao y colaboradores (2007b), ⁹Shi y colaboradores (2007), ¹⁰Kishimura y colaboradores (2008).

La diferencia que existe entre un ambiente climático y otro, pone en evidencia la adaptación del organismo que se ve reflejada a nivel molecular en la conformación *N-terminal* de aminoácidos que conforman a la tripsina(s). El *N-terminal* es el que otorga diferencias conformacionales y fisicoquímicas muy específicas a cada tripsina, lo cual se ve reflejado en su temperatura óptima de acción, termo-estabilidad, pH óptimo y estabilidad al pH.

Otras propiedades fisicoquímicas que exhiben las tripsinas de peces son sus parámetros cinéticos (cuadro 3). Estos varían dependiendo del sustrato al que estén atacando debido a que su modo de acción se dirige de forma diferente en la hidrólisis

sis. Esto se puede observar al usar el sustrato sintético Benzoil-Arginina-P-Nitroanilida (BAPNA), en un ensayo enzimático, en base a que la hidrólisis se dirige específicamente hacia el enlace amida. Cuando el sustrato es Tosil-Amida-Metil-Ester (TAME), la hidrólisis se dirige hacia el enlace éster.

Las tripsinas aisladas de diferentes peces varían una de otra en cuanto a sus rendimientos de hidrólisis, propiedad que es muy relevante al momento de elección por el tecnólogo en alimentos. Se pueden observar parámetros cinéticos (cuadro 3) como la constante de Michaelis-Menten (K_m), la constante de catálisis (K_{cat}) y la eficiencia catalítica (K_{cat}/K_m) para tripsinas e isotripsinas de distintas especies de peces capturados en distintas zonas climáticas.

Existen compuestos que con base a sus propiedades físicas, químicas y biológicas pueden alterar parcial o totalmente la estructura de una enzima, incluyendo a su sitio activo, trayendo como resultado la disminución o pérdida total de su actividad biológica. A este tipo de compuestos se les llama inhibidores, dentro de los inhibidores de proteasas más importantes se encuentra el inhibidor de serina proteasas, fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF). También existen inhibidores muy específicos, como los inhibidores de tripsina, ejemplos de estos son: el inhibidor de tripsina de soya (SBTI), el *N*- α -tosil-*L*-lisinil-clorometilcetona (TLCK) y la benzamidina.

Cuadro 3. Parámetros cinéticos de tripsinas e isotripsinas de peces

Nombre común	Kcat (S ⁻¹)	Km (mM)	Kcat/km (s ⁻¹ .mM ⁻¹)
Tilapia del Nilo ^{CP, 1}	----	0.755 ^β	----
Sardina Monterey ^{CP, 2}	2.12 ^β	0.051 ^β	41.5 ^β
Pargo patudo ^{CP, 3}	1.06 ^β	0.312 ^β	3.4 ^β
Atún tongol ^{B, 4}	200 ^τ	0.250 ^τ	800 ^τ
Pez hoki ^{CP, 5}	0.33 ^β	0.060 ^β	5.5 ^β
Pez hoki ^{CP, 5}	19.0 ^τ	2.080 ^τ	9.1 ^τ
Sepia ^{HP, 6}	2.32 ^τ	0.064 ^τ	36.3 ^τ
Huachinango ^{CP, 7}	4.71 ^β	0.507 ^β	9.3 ^β
Huachinango ^{CP, 7}	112 ^τ	0.328 ^τ	341.5 ^τ

Fuente: Donde el *superíndice* τ representa al sustrato sintético *N*- α -p-tosil-*L*-arginina metilesterhidroclorido y el *superíndice* β representa al sustrato sintético *N*-*benzoil-DL-arginina p-nitroanilida*. Los superíndices que se muestran a continuación representan al tejido del cual se obtuvo la tripsina. El *superíndice* β representa al bazo, ^{CP} los ciegos pilóricos y ^{HP} al hepatopáncreas. Dentro de las constantes cinéticas, *Kcat* representa a la constante de catálisis, *Km* a la constante de Michaelis-Menten y *Kcat/Km* representa a la eficiencia catalítica. ¹Bezerra y colaboradores (2005), ²Castillo-Yañez y colaboradores (2005), ³Hau y Benjakul (2006), ⁴Klomklao y colaboradores (2006a), ⁵Shi y colaboradores (2007), ⁶Jellouli y colaboradores (2009), ⁷Khantaphant y Benjakul (2010).

El cuadro 4 muestra el efecto de varios inhibidores sobre la actividad de la tripsina de diferentes especies de peces. No obstante, es bueno señalar que el porcentaje de inhibición de la tripsina depende también de la concentración de inhibidor que se utilice para llevar a cabo el ensayo. Se ha reportado que el sbti inhibió fuertemente a la tripsina de pargo (Hau y Benjakul, 2006), carbonero, jurel (Kishimura y colaboradores, 2006b), bonito del Atlántico (Klomklao y colaboradores, 2007a), pez hoki (Shi y colaboradores, 2007) y abadejo de Alaska (Kishimura y colaboradores, 2008). También existen evidencias de que el tlck exhibió una fuerte inhibición sobre la tripsina del carbonero, jurel (Kishimura y colaboradores, 2006b), bonito del Atlántico (Klomklao y colaboradores, 2007a) y el abadejo de Alaska (Kishimura y colaboradores, 2008). De igual manera se ha documentado que la benzamidina ha mostrado un poder de inhibición muy similar al sbti y tlck sobre la tripsina del pez hoki (Shi y colaboradores, 2007).

Existen inhibidores generales de tripsina que actúan fuertemente sobre ella, inhibiendo a todas aquellas enzimas que pertenecen a la familia de las serina proteasas, ejemplo de ello son el pmsf y la aprotinina. Se ha reportado que el pmsf inhibió fuertemente a la tripsina del pez hoki (Shi y colaboradores, 2007) y del bonito del Atlántico (Klomklao y colaboradores, 2007a). No obstante, se tienen antecedentes de que la tripsina proveniente del pez hoki (Shi y colaboradores, 2007), también fue inhibida fuertemente por aprotinina.

Hay otro tipo de inhibidores que actúan de manera parcial sobre la tripsina de peces, entre ellos se encuentra el Ácido Etilendiaminotetracético (edta), el inhibidor irreversible de cisteína proteasas (E-64), la pepstatina A y el Tosilfenilalaninaclorometilcetona (tpck). Hay evidencias que demuestran que tripsinas de especies como el pargo, el carbonero, el jurel y el abadejo de Alaska han sido inhibidas de manera parcial en presencia de edta, tpck, pepstatina A y E-64 (Fox, 1993; Nielsen y Borresen, 1997; Shahidi y colaboradores, 1992; Simpson y Haard, 1987; Valdez-Hurtado, 2006; Ward y colaboradores, 2009). En un proceso de purificación de enzimas los ensayos de inhibición son de gran utilidad, ya que ponen en evidencia la existencia de contaminación por proteasas que son ajenas a la de interés.

Cuadro 4. Efecto de inhibidores sobre la actividad de tripsina de peces

<i>Especie</i>	<i>Inhibidor</i>	<i>Concentración del inhibidor</i>	<i>Inhibición(%)</i>
Pargo ^{CP.1}	SBTI	0.1mM	100
	E-64	0.1 mM	27
	EDTA	2 mM	10
	Pepstatina A	0.1 mM	1

Carbonero ^{CP,2}	SBTI	1 mg/mL	93
	TLCK	5.0 mM	86
	TPCK	5 mM	6
	EDTA	2.0 mM	21
Jurel ^{CP,2}	SBTI	1 mg/mL	96
	TLCK	5.0 mM	80
	TPCK	5 mM	9
	EDTA	2.0 mM	29
	----	----	----
Bonito del Atlántico ^{CP,3}	SBTI	1.0 mg/mL	84
	TLCK	5 mM	100
	PMSF	1 mM	89
	----	----	----
Pez hoki ^{CP,4}	SBTI	0.5 μM	100
	PMSF	10 mM	90
	Aprotinina	12.5 U	95
	Benzamidina	5.0 mM	83
Abadejo de Alaska ^{CP,5}	SBTI	1 mg/mL	91
	TLCK	5 mM	82
	TPCK	5 mM	11
	Pepstatina A	0.01 mM	3
	EDTA	2 mM	2

Fuente: Donde el superíndice ^{CP} representa a los ciegos pilóricos, tejido de donde se obtuvo a la tripsina. Los inhibidores se representan de la siguiente forma: inhibidor reversible de tripsina de soya (SBTI), inhibidor irreversible de cisteína proteasas (*E-64*), fenilmetanosulfonilfluorido (PMSF), *N-α-tosil-L-lisil-clorometilcetona* (TLCK) y ácido etilenediaminetetraacético (EDTA). ¹Hau y Benjakul (2006), ²Kishimura y colaboradores (2006b), ³Klomklao y colaboradores (2007a), ⁴Shi y colaboradores, (2007) ⁵Kishimura y colaboradores (2008).

Aplicaciones de la tripsina en la industria alimentaria

Las proteasas son una herramienta poderosa, capaces de modificar las propiedades funcionales de las proteínas presentes en los alimentos. Entre las principales modificaciones que pueden realizar este tipo de bio-moléculas se encuentran: el aumento en la digestibilidad y solubilidad, modificación de las propiedades de emulsificación (unión de la grasa con el agua), formación de espumas, le otorgan fuerza a los geles,

reducen la viscosidad en formulaciones, así como también mejoran el secado, etc. (Freire y colaboradores, 2009; Yin y colaboradores, 2009).

Shi y colaboradores (2007), han señalado las diferentes aplicaciones en las que se puede emplear la tripsina en la industria alimentaria, entre ellas se encuentra la producción de hidrolizados de proteínas, como ablandador de carne y como ayudante para mejorar los rendimientos en la extracción de aceite. Para ello se deben considerar diferentes factores: costo, disponibilidad, temperatura y pH óptimo de acción, especificidad de sustrato, estabilidad y sensibilidad a los inhibidores o activadores, y si hablamos de enzimas de origen acuático se le añade la disponibilidad de temporada, las variaciones en el contenido y/o actividad así como el origen o fuente de selección de la materia prima (Iyer y Ananthanarayan, 2008).

Cuando se habla de enzimas digestivas o del tracto digestivo no podemos pasar por alto a la tripsina. La tripsina es una enzima proteolítica, muy eficaz en la hidrólisis de una variedad de proteínas (Shi y colaboradores, 2007). Al presentar una gran actividad y diversidad en su uso, la tripsina se puede aplicar en diversos campos de acción.

Las proteínas de la leche como la caseína y el suero se utilizan comúnmente en la industria alimentaria como extensores de la carne, y en la elaboración de alimentos especiales. Además de su alto valor nutricional, las proteínas lácteas también tienen capacidad espumante, emulsificante y gelificante. Estas propiedades funcionales pueden ser mejoradas mediante la hidrólisis enzimática de estas proteínas por la acción de tripsina (Livney, 2010). En la industria láctica, la oxidación de la leche es un fenómeno indeseable, ya que provoca las características típicas de sabor a cartón, sabor metálico, y a leche hervida (Hedegaard y colaboradores, 2006).

El tratamiento de la leche con tripsina mejora su estabilidad a la rancidez oxidativa, presumiblemente debido al fortalecimiento en los enlaces de cobre de la proteína de la leche modificada por la enzima (Fox, 1993). Las tripsinas de origen bovino (*Bos taurus*) y bacalao de Groenlandia (*Gadus ogac*) tienen efectos similares en la prevención oxidativa de los lípidos de la leche en concentraciones superior a 0.0013 por ciento. Sin embargo, la tripsina de bacalao puede ser inactivada por completo en el proceso de pasteurización, ganando importancia el hecho de utilizar tripsina de peces adaptadas a temperaturas frías por su inestabilidad térmica, ya que la enzima residual no presentaría problemas de hidrólisis en las proteínas de la leche (Simpson y Haard, 1987).

En la industria panadera, la solubilidad de las proteínas también puede ser mejorada por la hidrólisis enzimática, lo que reduce el tamaño de las cadenas de los polipéptidos. Las enzimas utilizadas comercialmente incluyen a la tripsina. Estas preparaciones, solubilizan enzimáticamente el gluten, dándole muchas de las propiedades químicas deseadas como, la estabilidad de la espuma y la formación de emulsiones.

Además se mejora la disponibilidad de la masa en cuanto al manejo y aumenta su capacidad para retener burbujas de aire, lo que se traduce como efectos benéficos sobre las propiedades de la masa y producto final (Mondor y colaboradores, 2009).

Existen diferentes estudios que señalan el uso de enzimas tripticas recuperadas de peces. Gildberg y Shi (1994), utilizaron una mezcla de enzimas proteolíticas en la maduración del músculo de arenque (*Clupea harengus*). Giri y colaboradores (2011), encontraron que la fermentación autolítica del manto de calamar común (*Todarodes pacificus*) se aceleró por la adición de proteasas con actividad similar a tripsina, presentando una mejora sustancial en el sabor del producto. En otro estudio Kasankala y colaboradores (2011), determinaron el papel de las diferentes enzimas proteolíticas en la producción de salsa de pescado. Ellos determinaron que la principal enzima involucrada en la degradación del tejido parecía ser una enzima similar a tripsina.

Nielsen y Borresen (1997) lograron reducir el tiempo de fermentación de arenque a dos meses por medio de la adición de enzimas proteolíticas como tripsina y quimotripsina, considerando que los tiempos de maduración normales en la producción de salsa de pescado de arenque salado se obtienen durante un almacenamiento de 6 a 12 meses.

A diferencia de Szymczak (2011) que también logro resultados similares en la fermentación de arenque (*Clupea harengus*) realizada después de dos meses de almacenamiento, usando sal a bajas concentraciones (5%) y pH de cuatro para la fermentación inicial. En Canadá, se logró marinar capelín macho (*Mallotus villosus*) para la producción de salsas mediante la utilización de hepatopáncreas de calamar (2.5%), como resultado, se detecto una mayor cantidad de aminoácidos libres (6.3%), mientras que la mejor aceptación se observó en muestras tratadas con hepatopáncreas del calamar en comparación con aquellos tratadas con proteasas de hongo, pronasa y quimotripsina (Shahidi y colaboradores, 1992).

El uso de proteasas juega un papel muy importante en la obtención de hidrolizados proteicos con propiedades funcionales aceptables. Dichos concentrados comúnmente se obtienen a partir de peces pelágicos de poco valor comercial, de subproductos del fileteado, de las capturas incidentales de los arrastres y de los subproductos del procesamiento de pescado. El método enzimático es ampliamente utilizado para mejorar la solubilidad y las propiedades funcionales dependientes de la solubilidad de las proteínas de pescado (Di Bernardini y colaboradores, 2011).

Para la producción de hidrolizados de proteínas de pescado se utilizan procesos autolíticos similares donde las enzimas proteolíticas catalizan la rotura hidrolítica de los enlaces peptídicos en las proteínas y polipéptidos involucrados, además de producir péptidos de bajo peso molecular y/o aminoácidos. Estos procesos, se basan en crear una mezcla de enzimas de peces con proteasas endógenas y/o microbiana para posteriormente incubarse en un reactor bajo condiciones óptimas de actividad

de la enzima. Para obtener mejores resultados en la obtención de estos concentrados enzimáticos hay que tomar en cuenta los tiempos de reacción enzimática, ya que la hidrólisis no controlada puede producir péptidos de cadena corta con pobres propiedades funcionales, así como también contribuir al sabor amargo de los productos obtenidos (Samaranayaka y Li-Chan, 2008).

El grado de hidrólisis de las proteínas es importante en la optimización de los parámetros en un proceso. Otro uso común que se le ha dado a las proteasas de origen marino, es en el tratamiento de los subproductos de la pesca. En este sentido Valdez-Hurtado (2006), utilizó un extracto crudo de vísceras de sardina con actividad similar a tripsina y quimotripsina para tratar el subproducto de la elaboración de harina de pescado (agua de cola), encontró que la enzima redujo la viscosidad así como la densidad de proteína de alto peso molecular en el agua de cola. También se ha reportado que la tripsina se puede utilizar para elaborar productos pesqueros como el caviar o bien para eliminar la piel de los filetes, así como en la maduración de productos (Gildberg y colaboradores, 2000). Además la tripsina puede utilizarse para la extracción de caroteno-proteínas a partir de los desperdicios procesados del camarón. Recientemente Klomklao y colaboradores (2007b), recuperaron caroteno-proteínas del desperdicio de camarón tigre usando tripsina de ciegos pilóricos del pescado azul.

Como se ha explicado, existen diferentes formas y maneras en las que se pueden utilizar las proteasas, específicamente a la tripsina de origen acuático. Ésta puede usarse en una amplia variedad de alimentos, así como en su procesamiento. La industria láctea la utiliza en la coagulación de la leche y desarrollo del sabor principalmente. En la panificación se usan para el desarrollo de gluten. En el procesamiento de pescados y mariscos, en la producción de harinas de pescado, en la recuperación mejorada de aceite y en la acuicultura. Para el procesamiento de la proteína animal, en el mejoramiento de la digestibilidad, reducción de la alergenicidad, mejora del sabor, ablandamiento de la carne, mejora de la funcionalidad, así como en la generación de péptidos bioactivos (Ward y colaboradores, 2009).

Conclusiones

La tripsina de organismos acuáticos capturados en diferentes regiones muestra una actividad proteolítica óptima en un amplio rango de temperatura (38-65 °C) y se ha observado que es inestable a temperaturas mayores a los 30 °C. Posee además un amplio margen de pH óptimo (8-11), presentando estabilidad en el rango de pH 5.0-12.0.

Aunado a ello, la tripsina también presenta estabilidad en presencia de surfactantes y agentes oxidantes, mostrando mayor estabilidad en presencia de iones calcio.

La secuencia *N-terminal* de las distintas tripsinas de peces capturados en diferentes regiones muestra diferencias en la composición de sus residuos, factor que le otorga características especiales para cada estructura en particular, teniendo como resultado una marcada variación en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas. Como consecuencia las tripsinas de origen acuático presentan características fisicoquímicas distintas de su contraparte terrestre. Estas diferencias han sabido explotarse en las ciencias biológicas, en especial en la industria alimentaria, en donde la tripsina puede ser utilizada como aditivo en la elaboración de hidrolizados de proteínas, para mejorar los rendimientos de extracción de aceite, para eliminar piel en filetes, en maduración de productos alimenticios, en la modificación de las propiedades reológicas de las masas de trigo, entre otras aplicaciones.

Agradecimientos

Le doy gracias a mi Dios padre, a mi madre, Rosario Melchor Meza, a mi padre, Ramón Gertrudis Valdez Gracia, y a mí novia, Odilia Azucena Higuera Barraza por su apoyo incondicional. También al Dr. Enrique Márquez Ríos por invitarme a participar en el presente libro, sin pasar por alto le agradezco infinitamente a la red de alimentos, nutrición y salud, encabezada por el Dr. José Alberto Ramírez de León, por dejarme participar en este proyecto.

Referencias

- Bezerra, R. S., E. J. F. Lins, R. B. Alencar, P. M. G. Paiva, M. E. C. Chaves, L. C. B. B. Coelho (2005), "Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Process Biochemistry*, vol. 40 (5), pp. 1829-1834.
- Bougatef, A., N. Souissi, N. Fakhfakh, Y. Ellouz-Triki, M. Nasri (2007), "Purification and characterization of trypsin from the viscera of sardine (*Sardina pilchardus*)", *Food Chemistry*, vol. 102 (1), pp. 343-350.
- Castillo-Yañez, F. J., R. Pacheco-Aguilar, F. L. Garcia-Carreno and M. D. L. Navarrete-Del Toro (2005), "Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine *Sardinops sagax caerulea*", *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, vol. 140 (1), pp. 91-98.

- Di Bernardini, R., P. Harnedy, D. Bolton, J. Kerry, E. O'Neill, A. M. Mullen (2011), "Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products", *Food Chemistry*, vol. 124 (4), pp. 1296-1307.
- Fox, P. F. (1993), "Exogenous Enzymes in Dairy-Technology-a Review", *Journal of Food Biochemistry*, vol. 17 (3), pp. 173-199.
- Freire, M. D. M., I. M. Vasconcelos, M. V. Oliveira, G. A. de Souza, M. L. R. Macedo (2009), "Characterization of a Saccharide-Binding Protein from *Talisia esculenta* Seeds with Trypsin Inhibitory Activity", *Protein and Peptide Letters*, vol. 16 (12), pp. 1557-1564.
- Gildberg, A., y X. Q. Shi (1994), "Recovery of Tryptic Enzymes from Fish Sauce", *Process Biochemistry*, vol. 29 (2), pp. 151-155.
- Gildberg, A., B. K. Simpson, N. F. Haard (2000), *Uses of Enzymes from Marine Organisms Seafood Enzymes*, New York, USA, Marcel Dekker, Inc.
- Giri, A., K. Osako, T. Ohshima (2011), "Effects of hypobaric and temperature-dependent storage on headspace aroma-active volatiles in common squid miso", *Food Research International*, vol. 44 (3), pp. 739-747.
- Hau, P. V., y S. Benjakul (2006), "Purification and characterization of trypsin from pyloric caeca of bigeye snapper (*Pricanthus macracanthus*)", *Journal of Food Biochemistry*, vol. 30 (4), pp. 478-495.
- Hedegaard, R. V., D. Kristensen, J. H. Nielsen, M. B. Frost, H. Ostdal, J. E. Hermansen (2006), "Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk", *Journal of Dairy Science*, vol. 89 (2), pp. 495-504.
- Iyer, P. V., y L. Ananthanarayan (2008), "Enzyme stability and stabilization - Aqueous and non-aqueous environment", *Process Biochemistry*, vol. 43 (10), pp. 1019-1032.
- Jellouli, K., A. Bougatef, D. Daassi, R. Balti, A. Barkia, M. Nasri (2009), "New alkaline trypsin from the intestine of Grey triggerfish (*Balistes capriscus*) with high activity at low temperature: Purification and characterisation", *Food Chemistry*, vol. 116 (3), pp. 644-650.
- Kasankala, L. M., Y. L. L. Xiong, y J. Chen (2011), "The Influence of Douchi Starter Cultures on the Composition of Extractive Components, Microbiological Activity, and Sensory Properties of Fermented Fish Pastes", *Journal of Food Science*, vol. 76 (1), pp. C154-C161.
- Khantaphant, S., y S. Benjakul (2010), "Purification and characterization of trypsin from the pyloric caeca of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*)", *Food Chemistry*, vol. 120 (3), pp. 658-664.
- Kishimura, H., y K. Hayashi (2002), "Isolation and characteristics of trypsin from pyloric ceca of the starfish *Asterina pectinifera*", *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, vol. 132 (2), pp. 485-490.

- Kishimura, H., K. Hayashi, Y. Miyashita, Y. Nonami (2005), “Characteristics of two trypsin isozymes from the viscera of Japanese anchovy (*Engraulis japonica*)”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 29 (5), pp. 459-469.
- Kishimura, H., K. Hayashi, Y. Miyashita, Y. Nonami (2006a), “Characteristics of trypsins from the viscera of true sardine (*Sardinops melanostictus*) and the pyloric ceca of arabesque greenling (*Pleuroprammus azonus*)”, *Food Chemistry*, vol. 97 (1), pp. 65-70.
- Kishimura, H., S. Klomklao, S. Benjakul, B. S. Chun (2008), “Characteristics of trypsin from the pyloric ceca of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*)”, *Food Chemistry*, vol. 106 (1), pp. 194-199.
- Kishimura, H., Y. Tokuda, S. Klomklao, S. Benjakul, S. Ando (2006b), “Comparative study of enzymatic characteristics of trypsins from the pyloric ceca of yellow tail (*Seriola quinqueradiata*) and brown hakeling (*Physiculus japonicus*)”, *Journal of Food Biochemistry*, vol. 30 (5), pp. 521-534.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, H. Kishimura, B. K. Simpson (2006a), “Purification and characterization of trypsin from the spleen of tongol tuna (*Thunnus tonggol*)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54 (15), pp. 5617-5622.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, H. Kishimura, B. K. Simpson (2006b), “Purification and characterization of trypsins from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) spleen”, *Journal of Food Chemistry*.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, H. Kishimura, B. K. Simpson (2007a), “29 kDa trypsin from the pyloric ceca of atlantic bonito (*Sarda sarda*): Recovery and characterization”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55 (11), pp. 4548-4553.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, H. Kishimura, B. K. Simpson (2007b), “Trypsin from the pyloric caeca of bluefish (*Pomatomus saltatrix*)”, *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, vol. 148 (4), pp. 382-389.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, H. Kishimura, B. K. Simpson, H. Saeiki (2006), “Trypsins from yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) spleen: Purification and characterization”, *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, vol. 144 (1), pp. 47-56.
- Klomklao, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, B. K. Simpson, H. Kishimura (2005), “Partitioning and recovery of proteinase from tuna spleen by aqueous two-phase systems”, *Process Biochemistry*, vol. 40 (9), pp. 3061-3067.
- Liu, Z. Y., Z. Wang, S. Y. Xu, L. N. Xu (2007), “Two trypsin isoforms from the intestine of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)”, *Journal of Comparative*

- Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, vol. 177 (6), vol. 655-666.
- Livney, Y. D. (2010), "Milk proteins as vehicles for bioactives", *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol. 15 (1-2), vol. 73-83.
- Mondor, M., S. Aksay, H. Drolet, S. Roufik, E. Farnworth, J. I. Boye (2009), "Influence of processing on composition and antinutritional factors of chickpea protein concentrates produced by isoelectric precipitation and ultrafiltration", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 10 (3), pp. 342-347.
- Murray, R. K., D. K. Granner, V. W. Rodwell (2007), *Bioquímica Ilustrada*, in E. e. m. m. S. A. d. C.V. (ed.), Harpe, México.
- Nielsen, H. H., y T. Borresen (1997), *The influence of intestinal proteinases on ripening of salted herring. Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*, vol. 38, pp. 293-304.
- Rypniewski, W. R., A. Perrakis, C. E. Vorgias, K. S. Wilson (1994), "Evolutionary Divergence and Conservation of Trypsin", *Protein Engineering*, vol. 7 (1), pp. 57-64.
- Samaranayaka, A. G. P., E. C. Y. Li-Chan (2008), "Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from Pacific hake (*Merluccius productus*)", *Food Chemistry*, vol. 107 (2), pp. 768-776.
- Sandbakk, M. (2002), *Handling of by-products from cod-fish - a state of the art report from selected countries*.
- Shahidi, F., X. Q. Han, J. Synowiecki, J. A. Balejko (1992), *Enzymatic modification of marine proteins: I. Male and spent capelin. Paper presented at the Atlantic fisheries and technology conference*.
- Shi, C. Y., S. N. Marshall, B. K. Simpson (2007), "Purification and characterization of trypsin from the pyloric ceca of the new zealand hoki fish (*Macruronus novaezealandiae*)", *Journal of Food Biochemistry*, vol. 31 (6), pp. 772-796.
- Simpson, B. K., and N. F. Haard (1987), *Cold-adapted enzymes from fish. Paper presented at the Food Biotechnology*.
- Szymczak, M. (2011), "Comparison of physicochemical and sensory changes in fresh and frozen herring (*Clupea harengus* L.) during marinating", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91 (1), pp. 68-74.
- Valdez-Hurtado, S. (2006), "Caracterización proximal y tratamiento enzimático del agua de cola generada por una industria productora de harina de pescado en Sonora", tesis doctoral. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, Hermosillo, Sonora, México.
- Ward, O. P., M. B. Rao and A. Kulkarni (2009), *Encyclopedia of Microbiology*, (Academic Press ed.). Oxford, Moselio Schaechter.

Yin, S. W., C. H. Tang, Q. B. Wen, X. Q. Yang (2009), “Effects of Acylation on the Functional Properties and In Vitro Trypsin Digestibility of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Protein Isolate”, *Journal of Food Science*, vol. 74 (9), pp. E488-E494.

Tendencias en la elaboración de botanas de maíz

*Karla Yuritzí Amador Rodríguez,
Laura Eugenia Pérez Cabrera
y Fernando Bon Rosas*

Resumen

En este capítulo se analizan las tendencias, innovación y desarrollo de botanas de maíz, describiéndose el desarrollo de un producto tipo totopo a base de harina de maíz a partir de la sustitución parcial de harinas. Actualmente el sector de botanas tiene la necesidad y demanda de productos con una mejor calidad nutricional, para ello las empresas del sector se basan en tres factores importantes: el incremento de proteína, el incremento de fibra y la reducción de aceite. Para lograr estos objetivos la industria se enfrenta a retos tecnológicos como alteración y modificación de las características de las masas de maíz nixtamalizado por la sustitución de ingredientes que incrementen su valor nutricional o por procesos tecnológicos para la reducción de aceite.

Palabras clave: totopo, desarrollo, tendencias, innovación.

Introducción

En las últimas décadas, la población a nivel mundial ha cambiado de forma drástica los hábitos alimenticios, debido a múltiples factores laborales, sociales y económicos. Esto aunado al desarrollo y mejoramiento de alimentos por parte de la investigación y la industria han permitido disponer de alimentos fácil de prepararse, listos para

consumirse, con mejores características nutricionales, fisicoquímicas y sensoriales para el consumidor. Algunos de los productos más demandados por la población han sido los alimentos denominados botanas o *snacks*, que son alimentos listos para consumirse, dulces o salados, que se consumen entre comidas, por la simple necesidad de comer, por carencia de tiempo para cocinar, por hambre, por antojo, convivencia social y laboral. Estos productos aunque de alto consumo, están catalogados como “*chatarra*”, sin tomar en cuenta que aportan energía, proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales en mayor o menor proporción. Se han etiquetado, pero poco se ha hecho por proveer a la población de botanas o *snacks* con mejor calidad nutrimental, atacando los puntos negativos o desventajosos de estos alimentos.

Los productores de botanas son empresas grandes, medianas y pequeñas. Algunos cuentan con marca comercial, otros maquilan para empresas más grandes. Dentro del negocio existen decenas de fabricantes prácticamente caseros, que producen de manera irregular, según el costo por temporada de la materia prima. Sus productos generalmente son comercializados por ellos mismos. Y por supuesto están los grandes productores de botanas, que abarcan poco más de 80% del mercado mexicano. Los niños y jóvenes presentan una preferencia evidente hacia las botanas, esto puede ser debido a que el fenómeno publicitario constituye uno de los pasos que condicionan el cierre del proceso producción-consumo. En estas etapas de la vida, la cantidad y calidad nutricional de la proteína son particularmente importantes debido a su esencial función en el desarrollo físico y mental (Almeida-Domínguez y colaboradores, 1990).

El próspero desarrollo de una nueva botana depende extensamente en el uso de nuevas formas y sabores aceptables. La variedad de botanas es limitada y el mercado esta abierto para nuevas ideas e innovaciones. Los procesos pueden usar tecnología de extrusión para añadir cualquier peculiaridad a una categoría de un producto existente o para nuevas formulaciones. Una amplia variedad de productos de botanas pueden ser producidos por un simple cambio en el sabor y tal vez en la forma de la figura sin cambiar la formulación y las condiciones del proceso (Prinyawiwatkul y colaboradores, 1993).

Definición y clasificación

Las botanas se conceptualizan como una comida ligera, que se consume entre las comidas regulares (primer término acuñado, 1757). La denominación aplica desde platillos, entradas o aperitivos de una comida en casa o restaurante, totopos de maíz, sopas instantáneas, hasta un tazón de cereal, una barra de cereal, galletas y leche. Es bastante notorio que el número de las botanas o *snacks* que son consumidos durante el día se ha incrementado en las últimas décadas y se incrementará aún

más en el futuro a corto plazo (Cees de Graaf, 2006). Ríos (1989), clasificó en siete grupos los productos tipo botana de acuerdo al proceso al que eran sometidos, en el cuadro 1 se presenta dicha clasificación:

Cuadro 1. Clasificación de botanas de acuerdo a su proceso

<i>Proceso</i>	<i>Botanas</i>
Frituras	Papas fritas, zanahoria frita, plátano frito, derivados de papa, chicharrón de cerdo, frituras de harina
Extruidos	Pellets de harina, corn-chips, extruidos de masa: corn-sticks, collets
Troquelados	Botanas de tortilla
Recubiertos	Extruidos compuestos, cacahuates recubiertos
Explotados	Palomitas de maíz
Tostados	Cacahuates, habas, almendras, semillas de calabaza, semillas de girasol, garbanzos
Horneados	Pretzels

Fuente: Ríos (1989).

Los totopos de maíz se ubican en los productos troquelados y se denominan botanas de tortilla. El troquelado consiste en hacer una lámina uniforme y delgada por medio de dos placas o dos rodillos. Después por medio de un cortador si es necesario o por el moldeo previo de una porción de masa, marcar piezas triangulares y circulares. Los alimentos tipo totopos de maíz se definen como productos elaborados a partir de maíz nixtamalizado y molido o bien Harinas de Maíz Nixtamalizado (HMN) que son formados, cocidos, parcialmente secados y fritos (Lusas y Rooney, 2001).

Botanas de maíz nixtamalizado

Se puede pensar que el antecedente de las botanas de maíz fue la tortilla, diminutivo de torta (“pan de maíz”, según las crónicas de Sahagún y Díaz del Castillo) que puede ser definida como un disco de masa con un diámetro de entre 160 y 250 mm y un grosor de 1 a 2 mm, la cual es cocida en un comal a temperaturas de 280 a 300 °C durante 90 a 120 (Figuerola y colaboradores, 2000). Entonces a partir de esta pieza cocida se empezó a “orear” y freír lo que cambia sus características organolépticas además de dar pie a la creación de un sin fin de platillos.

Materia prima utilizada en la elaboración de totopos

Harina de maíz nixtamalizado

Uno de los logros tecnológicos más importantes en este campos es la fabricación de harina de maíz nixtamalizada (HMN) que comenzó a utilizarse apenas hace 50 años (Figueroa y colaboradores, 2001). A parte de tener ventajas prácticas para su preparación, reduce considerablemente la mano de obra, la inversión para equipo, los problemas asociados con la adquisición de granos de maíz y la generación de desechos contaminantes (nejayote) durante la elaboración del nixtamal (Bello y colaboradores, 2006). La HMN puede almacenarse a temperatura ambiente por relativamente periodos largos, la producción y distribución puede ser ajustada a la demanda. El producto es altamente homogéneo y tiene mejores condiciones de higiene. Sin embargo, entre algunas desventajas se tienen el incremento de los costos, la carencia de olor y de textura apropiada comparada con la masa de nixtamal (Figueroa y colaboradores, 2001).

Las HMN son en realidad harinas pre-gelatinizadas, en las que el grano ha sido sometido a un proceso térmico previo, dándole características nuevas y usos diversificados. Cambio en las propiedades como capacidad de absorción de agua, solubilidad, viscosidad en un medio acuoso son características de las harinas pregelatinizadas (Harper y colaboradores, 1981).

En cuanto al valor nutrimental de las masas de maiz nixtamalizado y las HMN, las primeras tienen cantidades significativas de gránulos de almidón libres con bajo contenido de proteína y las HMN tienen una cantidad de almidón y proteína muy similar a la presente en el grano de maíz (Gómez y colaboradores, 1991). Aunque durante la molienda ocurre un daño en los gránulos de almidón, modificando su estructura y convirtiendo las zonas cristalinas en moléculas desordenadas, que pueden hidratar fácilmente y degradarse en enzimas amilolíticas. El daño en el almidón y excesivo calentamiento puede generar una masa pegajosa, grumosa y tortillas con características poco deseadas (Martínez-Flores y colaboradores, 1998).

El tamaño de las partículas afecta de forma muy significativa a la estabilidad de las masas, productos intermedios y finales. Entre más grande sea el tamaño de las mismas mayor es la estabilidad, ya que la superficie total de las partículas es menor en relación al peso total y pueden también influir en propiedades como la capacidad de absorción y retención de agua en las formulaciones. La capacidad de absorción de agua (CAA) es la cantidad de agua que absorbe la harina para obtener una masa de consistencia apropiada para la preparación de tortillas, tostadas, totopos o cualquier

producto de maíz nixtamalizado. El índice de solubilidad en agua (ISA) indica la cantidad de sólidos disueltos por el agua cuando una muestra de harina se somete a un exceso de este líquido, indica también el grado de cocción que ha tenido el grano con que se preparó la harina (González y colaboradores, 1991).

Dentro de las harinas no convencionales utilizadas en la fabricación de tortillas y totopos son destacables la harina de nopal por su aporte en fibra y la harina de soya por su aporte de proteína. Se detallan sus características principales:

Harina de nopal (opuntia spp)

Los aztecas llamaban al nopal “*nochtli*” o “*nopalli*”. Es una arbustiva que forma parte de la familia de las cactáceas, que conforman alrededor de mil 600 especies en 122 géneros. En México, la ingesta anual per cápita es de 6.4 kilos de nopal. El nopal se utiliza principalmente como forraje, pero igualmente se comercializan las pencas tiernas para venderse como verdura. La Harina de Nopal (HN) también vino a modificar el valor nutrimental del producto por su alto aporte en fibra. El rol benéfico de la fibra dietaria y otras fuentes ricas en fibra insoluble han sido demostradas por varios investigadores (Hoedge y colaboradores, 2004; Chau y colaboradores, 2004). Esto al parecer debido principalmente a la alta viscosidad, las fibras pueden inhibir o disminuir la digestión del almidón mediante el retraso de la absorción y difusión de la glucosa a través del tubo digestivo (Wolf y colaboradores, 2001). La presencia de HN en tortilla no es nuevo, y han aparecido diversas marcas en el mercado, en donde el contenido de fibra se incrementa y la reducción de calorías es notoria con respecto a la tradicional. Sáenz (1997) observó 42.2% de fibra dietaria en harina de nopal de la que 28.45% era fibra insoluble y 14.54% soluble, es decir una relación 2:1 de fibra insoluble contra la soluble. La fibra dietaria del nopal incrementa el valor nutricional del pan, pero al mismo tiempo altera las propiedades reológicas de la masa y finalmente la calidad y propiedades sensoriales en el pan (De Escalada y colaboradores, 2005). Aunque algunos autores han reportado que bajas concentraciones de fibra dietaria, dependiendo de su origen, pueden a su vez determinar un efecto beneficioso desde el punto de vista del proceso de panificación y la calidad del pan hecho con HN. La adición de más de 20% de HN podría afectar la textura y alterar negativamente la aceptación de los consumidores. Otra propiedad alterada es la reología, aparentemente la temperatura de rehidratación de la HN de entre 75-80 °C afecta el contenido y viscosidad del mucílago disminuyendo su efecto (Sáenz, 1997). Se han realizado estudios con nopal en fresco, triturado y en jugo demostrándose que tiene un potente efecto hipoglucémico, ya que pueden retener

glucosa y puede retardar el efecto de difusión de la misma en el cuerpo. De igual forma Garibay y San Martín (2006) mostraron que fracciones ricas en fibra insoluble de nopal tienen la capacidad de retención de la glucosa, señalando que este efecto es más eficiente si se consume como parte de la dieta. El alto contenido de fibra dietaria de HN y su efecto funcional, hace al nopal un ingrediente atractivo en la incorporación de fibra a otros alimentos y sobre todo a la dieta. También es posible usar la HN como una alternativa para sustituir la fibra de otras fuentes vegetales (Sáenz, 1997).

Harina de soya desgrasada (glycine max)

Aunque la soya se ha utilizado para consumo humano desde hace siglos en las culturas asiáticas, su introducción en occidente es muy reciente y a pesar que para muchas personas, los alimentos derivados de soya son nuevos y diferentes, actualmente se están consumiendo de manera significativa. Un ejemplo es el consumo de aceite de soya. Los productos de soya pueden ser buenos sustitutos de los alimentos animales, debido a que, a diferencia de otras leguminosas, la soya ofrece un perfil de aminoácidos completo, conteniendo todos los aminoácidos esenciales para la nutrición humana, que deben ser adicionados a la dieta debido a que no son sintetizados por el organismo. La sustitución de Harina de Soya Desgrasada (HSD) en tortillas ha reportado un mejor comportamiento funcional que los concentrados y aislados de soya adicionados a niveles iguales de proteína (Rooney, 1999). Otras de las ventajas de la incorporación de HSD se ha debido principalmente a su bajo costo, alto contenido de proteínas y el efecto complementario a las proteínas del maíz, que eleva significativamente la calidad proteica de alimento. Adicionalmente, la soya ha sido estudiada ampliamente y se le ha reconocido como anticancerígeno (Herman y colaboradores, 1995; Xu, 2000). La reducción del riesgo de desarrollar cáncer mamario y de próstata (Herman, 1995; Lamartiniere, 1995,1998; Sarkar, 2002) y un efecto hipocolesterolemico (Rosell, 2004; Tovar y colaboradores, 2002; Baum y colaboradores, 1998). Rooney (1999), elaboró tortillas con soya en diferentes formas: harina de soya natural, harina de soya tostada, harina de soya desgrasada y concentrado de soya. La harina de soya desgrasada natural, adicionada al maíz, reportó un mejor comportamiento funcional en las tortillas de maíz, que la harina de soya desgrasada tostada, el concentrado de soya y los aislados de soya, adicionados al maíz a niveles iguales de proteína. Las tortillas que contenían 5% de harina de soya desgrasada natural aumentaron la absorción de humedad de la masa y, en general, produjeron tortillas con un mayor contenido de humedad. La harina de soya desgrasada

natural aumentó la suavidad y doblez de la tortilla durante su almacenamiento. La combinación de 0.5%, de Carboxi-Metil-Celulosa (CMC)-hidrocoloide comercial usado en fabricación de tortillas para darles flexibilidad y aumentar retención de humedad y 5% de harina de soya desgrasada natural, produjo tortillas que permanecieron suaves y flexibles durante su almacenaje, a 23°C y 4°C. La textura de tortillas recalentadas mejoró con la adición de harina de soya desgrasada natural y el 0.5% de CMC. El uso de harina de soya desgrasada natural puede transmitir a las tortillas propiedades funcionales útiles, junto con la obvia mejora nutricional. Un panel informal de degustación encontró aceptables el sabor y la textura de las tortillas de maíz. En Octubre de 1999, la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos en Estados Unidos) autorizó el uso la leyenda "*Dietas bajas en grasas saturadas y colesterol que incluyan 25 g de proteína de soya pueden reducir los riesgos de enfermedades cardiacas*".

Proceso de elaboración de totopos de maíz a partir de HMN

Rehidratado de harinas y amasado

El rehidratado de harinas consiste en lograr que cada partícula de la harina absorba agua para hidratarse y tomar la consistencia de masa. El agua a adicionar es preferible registre temperaturas de entre 40-50°C, ya que es más fácil absorberla por parte de la harina además de favorecer a la pre-gelatinización del almidón. El amasado aplicado y la consistencia inicial de la masa deben combinarse para producir una masa con la que se pueda formar las piezas "testales" con el grosor, tamaño y forma deseada y homogéneas.

Precocido

Ya formados los testales, en un primer paso se calientan y con ello se sella la cara inferior con un mínimo de deshidratación. En el segundo paso los testales se voltean y continúa el calentamiento para sellar la otra cara y pasar a la banda de enfriado. El precocido tiene diversas funciones: el sellado de ambas caras de los testales para la solidificación y desarrollo de la textura final de la pieza, la precocción de la parte interna del testal, el inmediato enfriado con la finalidad de que esas piezas no permanezcan calientes y al momento de la recolección se adhieran unas a otras. El contenido de humedad de la masa para totopos debe ser menor que para la tortilla,

ya que un alto contenido humedad puede producir vapor que inflaría la pieza ganando humedad residual que podría promover defectos posteriores durante el freído como: mayor absorción de aceite, inflado de piezas y estancamiento de aceite en cavidades formadas por el inflado. El calentamiento del agua durante el horneado causa gelatinización del almidón y desnaturalización de proteínas que interaccionan con fibra y grasa creando una estructura que al deshidratarse es responsable de la textura del totopo, las características físicas y químicas de la masa deben ser adecuadas para crear esta estructura durante el horneado. En el caso de los productos fritos, es la gelatinización la que juega un rol importante en la crujencia y textura de los productos terminados (Xue y Ngadi, 2007). Al salir el totopo del comal, es llevado por medio de un transportador que permite que haya circulación de aire sobre el producto, consiguiendo con ello equilibrar las humedades del centro y de la superficie, con lo cual evita que exista un mayor grado de humedad en el centro que ocasionará ampollas durante la etapa de freído.

Deshidratado

El deshidratado consiste en la eliminación de la mayor cantidad de agua del producto. La razón principal es porque el agua residual será intercambiada por aceite durante el freído. Es decir, a mayor cantidad de agua mayor cantidad de aceite absorbido. El deshidratado tiene la función de secar parcialmente la tortilla o totopo, impartir una apariencia ligeramente tostada y desarrollar la textura final de la tortilla. La combinación de la humedad y el tamaño de partícula de la masa con la temperatura y tiempo de residencia en el horno deben optimizarse para productos específicos (Almeida-Domínguez, 1996). Tradicionalmente se inició usando el Deshidratado Solar (DS) que consiste en “*tender*” las piezas precocidas en marcos, durante 30 a 45 minutos para que el sol se encargue de deshidratar muy lentamente el producto. Es un proceso artesanal y tiene la ventaja de usar la energía solar y no gastar en insumos para el deshidratado, pero depende de muchos factores climáticos y es variable en las estaciones del año. Para la elaboración de productos fritos (totopos), con textura crujiente color claro y baja absorción de aceite, las características del nixtamal y la masa deben combinarse con diversos tratamientos térmicos: precocción y deshidratado, para producir piezas con relativamente bajo contenido de humedad de 30-40% sin inflarse y que permitan una distribución homogénea del agua en la pieza durante el reposo previo al freído (Véles, 2004).

Nuevos tratamientos de deshidratación incorporados en la elaboración de productos de maíz nixtamalizado

Anteriormente, el deshidratado de alimentos se comenzó haciendo artesanalmente con la exposición solar, pero tiene varios inconvenientes como un proceso lento (de 30 a 45 minutos), sujeto a las condiciones ambientales (variabilidad en intensidad de sol durante todo el año, la presencia de nublado o lluvias), posibilidad de contaminación debido a roedores o pájaros, presencia de viento y polvo.

Hoy en día uno de los procesos implementados y desarrollados para sustituir el deshidratado solar (DS), es el deshidratado por Infrarrojo (DIR). Así mismo, recientemente se ha reportado que el uso de, pretratamientos con campos de pulsos eléctricos, ultrasonidos e infrarrojo en combinación con secado convectivo permiten una mejor permeabilización de las membranas celulares y menos cambios estructurales (Marin y colaboradores, 2006).

Durante la etapa de cocción o deshidratado de productos de tortilla de maíz, es esencial un rápido calentamiento de ambas superficies para mantener un adecuado y balanceado nivel de humedad en el interior de la tortilla. La radiación infrarroja (IR) debe ser transmitida perpendicularmente a las dos superficies del testal a deshidratar, que se logra mediante la utilización de un emisor de infrarrojos de configuración de deshidratado solar (DS),

La etapa más importante de la radiación IR en el proceso de deshidratado consiste en deshidratar desde las capas internas del producto hasta las externas en ambas caras del producto alcanzando la temperatura de evaporación del agua.

Una característica importante a ser considerada en la deshidratación por radiación infrarrojo es determinar la longitud de onda de banda dentro de los cuales el factor de absorción del producto es relativamente independiente de los cambios en la temperatura, ya que de lo contrario, la absorción de infrarrojos de onda de dicho producto será baja y por lo tanto, el proceso de deshidratado podría ser ineficaz.

Freído

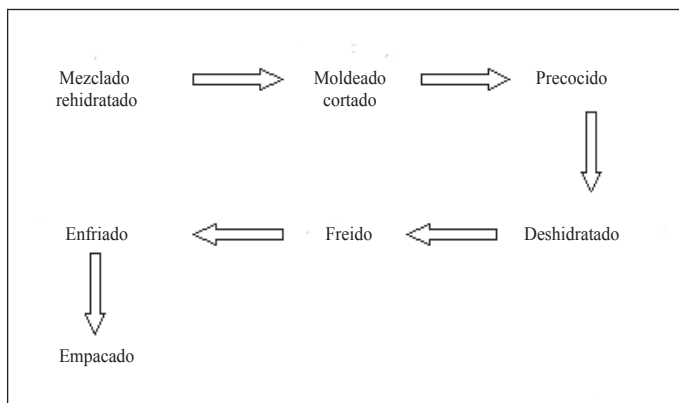
Consiste en la inmersión en aceite de las piezas deshidratadas, a temperaturas de entre 185-190 °C. El tiempo de inmersión es variable pues a mayor cantidad de humedad presente en el alimento, más tiempo será necesario para lograr la evaporación de agua, la formación de una estructura rígida y el desarrollo del color deseado.

Durante el freído se deshidratan rápidamente las piezas hasta un contenido de humedad de 1.5-2.5% con el desarrollo de la textura, la apariencia y el sabor del producto final. El recubrimiento de sal y otros saborizantes confieren el sabor final al producto. La temperatura del aceite, el tiempo de freído, la calidad del aceite y la alimentación uniforme del producto a la freidora son factores de control. Se desea una combinación de parámetros que produzcan una evaporación rápida del agua a través de la formación de poros en las piezas sin formar exceso de burbujas grandes en la superficie. La estructura de la pieza frita es rígida y porosa y el aceite penetra a las piezas a través de los poros y las burbujas de la superficie tienden a llenarse de aceite aumentando el contenido de aceite de los productos fritos (Almeida-Domínguez, 1996). En los primeros 15 del freído se tiene el mayor rango de pérdida de humedad y absorción de aceite y continua constante conforme el freído prosigue; así mismo, se incrementa la velocidad de pérdida de humedad cuando la temperatura se incrementa (Moreira y colaboradores, 1995).

Los totopos contienen de 21-34% de aceite, y este contenido varía dependiendo del tipo de grano, el proceso de cocción, la granulometría de la harina o masa, tiempo de deshidratado, y otros (Lee, 1991). Durante el freído 20% de aceite es absorbido por el totopo y 80% permanece en la superficie de éste. Ya durante el enfriamiento 64% se absorbe por el totopo y otro 34% permanece en la superficie del totopo (Kawas y Moreira, 2001). La apariencia opaca y aceitosa es indeseable. Totopos demasiado duros para romper (morder) o muy quebradizos son indeseables. Muchos son los factores que son conocidos que afectan la absorción de aceite. Incluidos la gravedad específica o el contenido de humedad y superficie del alimento en contacto con el medio de freído (Adambounou y Castaigne, 1981; Gamble y Rice, 1987), tiempo de freído (Pravisiani y Calvelo, 1986), temperatura de freído (Van Zeddelmann, 1981), número de ciclos de freídos (Varela y colaboradores, 1988), ingredientes en los alimentos (sólidos, humedad, grasa y proteína), porosidad y tratamientos previos al freído (secado, blanqueado).

De la misma manera el contenido de aceite es también influenciado por el contenido de proteína, fibra y grasa y son factores que influyen en la absorción de aceite durante el freído de productos de maíz nixtamalizado y soya (Thoufeek y colaboradores, 1995). La reducción del contenido de aceite en los alimentos fritos ha sido un área de interés de investigadores ya que es esencial para la calidad del producto y es desventajoso para el alimento y el procesador (alto coste de operación) y para el consumidor (valor nutricional) (Thoufeek y colaboradores, 1995). En la figura 1. se presenta el proceso tradicional para la elaboración de totopo de maíz a partir de HMN:

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso tradicional de elaboración de totopos a partir de Harina de Maíz Nixtamalizado



Fuente: elaboración propia.

Algunas características de los totopos según Lusas y Rooney (2001):

1. Seguros, y libres de químicos potencialmente peligrosos, sustancias tóxicas y microorganismos patógenos.
2. Típicamente preparado comercialmente en grandes cantidades mediante procesos continuos.
3. Sazonado, usualmente con sal, y frecuentemente adicionado de sabores.
4. Estabilidad en anaquel, no requiere refrigeración para su conservación.
5. Empacados listos para el consumo, típicamente divididos en piezas pequeñas, de fácil manejo con los dedos, y pueden tener apariencia aceitosa o seca dependiendo en las expectativas del cliente para el producto en específico.
6. Vendido al cliente en condiciones frescas, frecuentemente logrado por las siguientes medidas:
 - Empleando materiales de empaque que excluyen del interior la humedad, el oxígeno y son ligeros, para proteger la crujencia del producto, la oxidación natural de grasas y remoción adicional de catálisis oxidación respectivamente.
 - Algunas veces empleando un empaque de atmósferas inertes (nitrógeno) y/o sistemas antioxidantes probados para una protección de grasas adicional.
 - Empaques de códigos de fechas y remoción de estos de los anaqueles si no son vendidos a tiempo.

Atributos de calidad de productos fritos

Los atributos de calidad de totopos (“*tortilla chips*”) que son altamente apreciados en el mercado incluyen: *a)* Libres de exceso de aceite. *b)* Color claro y brillante característico. *c)* Piezas delgadas. *d)* Sin exceso de burbujas. *e)* Crujientes. *f)* Libres de olor a rancidez. Las características de textura en los alimentos depende de diferentes propiedades físicas y fisicoquímicas del producto, pero también del único y complejo sistema sensorial humano (Moskowitz, 1987).

Es conveniente que las grasas usadas para freído tengan las siguientes características: altos puntos de humeo, que no produzcan humos desagradables bajo condiciones normales de freído, que tengan larga vida de anaquel, que produzcan alimento con superficies poco grasosas (que tengan poca absorción de grasa), que no impartan sabores extraños al alimento frito, que sean digeribles, que no produzcan gomas en forma excesiva dentro del freidor y que sean resistentes a la rancidez (Nieto, 1987). Uno de los factores críticos relacionados con la calidad de los totopos es la textura. Hardacre y colaboradores (2006), realizó perfiles de textura en botanas de maíz, midiendo plasticidad, elasticidad y la resistencia hasta la fractura del material.

El aumento de la preferencia por productos bajos en grasa aunado al crecimiento continuo en las ventas de totopos horneados pone un desafío adicional a los procesadores de productos de maíz nixtamalizado. Totopos bajos en grasa y con las características sensoriales de los totopos fritos es uno de los objetivos de la industria de las botanas (“*snacks*”). Combinaciones de varios tipos de calentamiento por radiación y convección y formulaciones con aditivos están siendo empleados comercialmente para la fabricación de estos productos.

Tendencias en la elaboración de botanas

En el contexto actual, que guía al sector de alimentos hacia una tendencia más saludable, la industria de botanas, “*snacks*” y confitería tiene un reto dual: por un lado responder a este enfoque hacia lo saludable reduciendo sus productos en grasa, sal y azúcar, pero al mismo tiempo no descuidar la esencia de su naturaleza, el placer de degustarlos. Las botanas son un alimento natural, que están elaboradas con ingredientes que son fundamentales en la alimentación humana: papa, maíz, cacahuete, frutos secos, arroz, trigo, y derivados. Además generalmente, se utilizan aceites vegetales que contribuyen a su sabor, y los condimentos que se utilizan son una mezcla de ingredientes derivados de leche, queso, chiles y especias.

En la lucha por atacar la obesidad en México, como ocurre en casi todos los países del mundo, se ha señalado al segmento de las botanas como uno de los responsables, en este sentido la tendencia a nivel mundial es la producción de botanas bajas en grasa. La industria de las botanas ha logrado de manera muy rápida reconvertir sus procesos o productos y ofrecen botanas con un perfil de saludable, mediante la sustitución de la etapa de fritura por el horneado, logrando mantener la esencia característica de una botana. Sin embargo en México, ha tenido un bajo impacto, ya que el gusto de las botanas se mantiene por el sabor y textura de las grasas, que aportan la fritura y los condimentos, principalmente quesos, esta característica es la limitante en el desarrollo de los productos bajos en grasas. Los productos bajos en grasa, sal, azúcar y carbohidratos existen en el mercado mexicano como una alternativa para todos los gustos, enfocándose hacia los jóvenes y adultos que quieren cuidar la línea.

La población en México tiene una deficiencia proteico calórico y en algunos nutrientes inorgánicos como el hierro. Los requerimientos de la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) en la población mexicana no se cubren en su totalidad, esto debido a que en las dietas no se consumen las cantidades necesarias, debido a hábitos de consumo no adecuados. Las calorías en la ingesta deben supervisarse, pero no a costa de las vitaminas, proteínas, minerales, fibras y el buen sabor. El maíz y sus derivados como el maíz nixtamalizado, cereal de maíz y harina de maíz son fundamentales para la fabricación de botanas, aportando hidratos de carbono, indispensables para la obtención de energía. En México el consumidor tiene el hábito por los productos a base de maíz y papa, nuestras culturas y nuestras raíces están muy arraigadas al maíz. Los productos a base de maíz poseen una amplia gama de productos como: totopos (tortillas chips), tostadas (corn chips), extruídos, lo que forma una variedad infinita de formas, tamaños y sabores. Aunado a que el precio por Kg de maíz esta por debajo del precio por kg de otro ingrediente básico como la papa, por tanto, los productos a base de maíz siempre serán más económicos, por ende este segmento es uno de los que más pueden ayudar y contribuir con soluciones a la problemática de obesidad y sobrepeso, debido a que las botanas a base de maíz pueden ser un excelente vehículo para el incremento de la calidad nutrimental de la población, a través de técnicas de fortificación y enriquecimiento, abarcando a todos los niveles socioeconómicos.

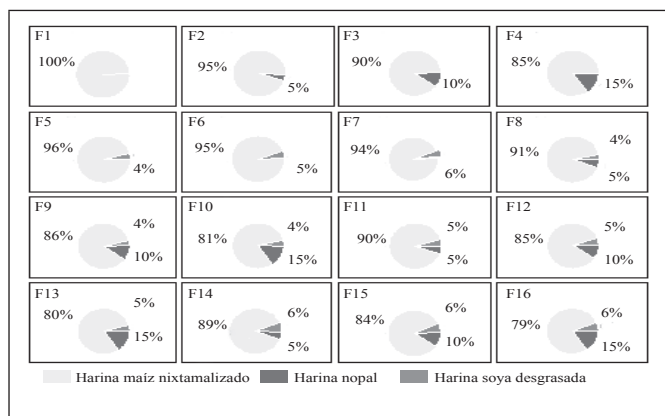
Varios proyectos de investigación han llevado acabo intentos para mejorar la calidad nutricional de los productos de maíz como tortillas, incluyendo enriquecimiento con soya y garbanzo y con aminoácidos (Bressani y Elias, 1972), adición de harinas concentradas de proteína de soya (Green y colaboradores, 1977; Serna-Saldivar y colaboradores, 1988; Rooney, 1999), y la adición de vitaminas y minerales

(Rosado y colaboradores, 1999). Con el objetivo de mejorar y diversificar la situación nutricional de la población en comunidades rurales de Nigeria, estudios realizados por Obatolu y colaboradores (2006), donde desarrollaron una tortilla cocida o frita de maíz y soya, mostraron un incremento significativo del índice de eficiencia proteico (PER) mediante la adición de 4-6% de soya.

Desarrollo de totopos a base de HMN con sustitución con harinas no convencionales

Totopos de HMN a partir de la sustitución parcial con HN y de HSD, se desarrollaron 16 formulaciones (figura 2) evaluando el impacto de la sustitución en las propiedades reológicas, tecnológicas, estructurales y mecánicas.

Figura 2. Formulaciones a partir de la sustitución de harinas no convencionales

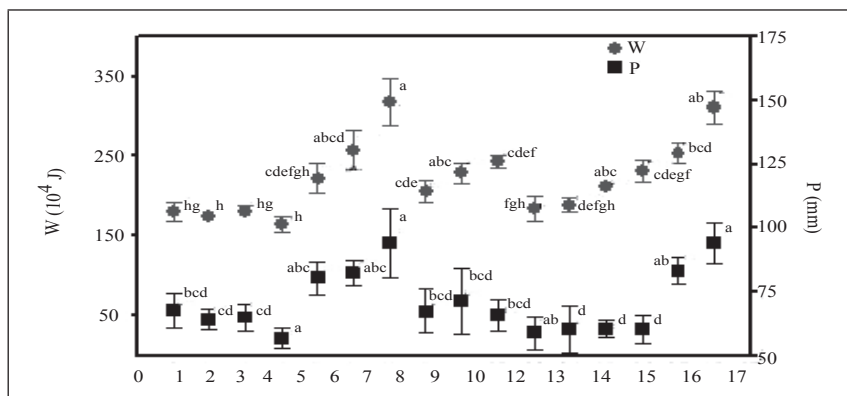


Fuente: elaboración propia.

Las propiedades reológicas de las masas evaluadas son influenciadas por el nivel y tipo de harina de sustitución (figura 3) de tal forma que la resistencia a la deformación de las masas se incrementa conforme aumenta la concentración de HSD, ya que esta influye en las propiedades reológicas de las masas, y en la facilidad de maquinado. El valor de P representa el valor de la presión máxima que está en relación con la resistencia de la masa a la deformación de las masas, y se relaciona con el contenido proteico de las masas

($r=0.91$). El trabajo realizado para deformar la masa (W) está fuertemente relacionado con el contenido de proteína y la fuerza de la harina (Serna-Saldívar, 1990).

Figura 3. Tenacidad (P) vs. Trabajo de deformación (W) en masas de HMN, HN y HSD



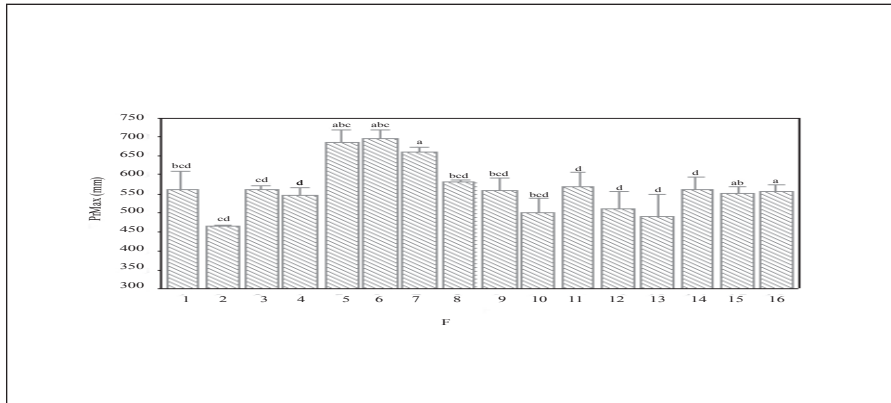
Fuente: elaboración propia.

Por su parte la tenacidad (P), se incrementó en las sustituciones simples con HSD ($F5$, $F6$ y $F7$), generando valores mayores que el testigo ($F1$), en las sustituciones combinadas hasta 6% de sustitución se presentó una influencia marcada por HSD. Figueroa y colaboradores, 1997 observaron que la adición de 4% y 6% de soya incrementó la cohesión de la masa, pero no afectó la adhesión, es decir, la soya incrementó el aglomeramiento de las partículas en la masa pero ésta no se hizo pegajosa. De Escalada y colaboradores (2005), observaron que la tenacidad de masas (P) aumenta con el agregado de fracciones ricas en fibra de calabaza para reología de masas farináceas, a su vez las interacciones P/L se vieron incrementadas, Rosell (2001), advierte que el comportamiento puede deberse a la interacción entre los polisacáridos y las proteínas de la harina.

La soya influye en la consistencia notoriamente en las sustituciones simples y en las sustituciones combinadas de porcentaje con valor de 6 (figura 4). Los incrementos de porcentaje HN no son marcados por la consistencia. La influencia de la HSD puede ser debida, posiblemente al aumento significativo en el contenido proteico de la HSD (52 por ciento). Rooney (1999), encontraron que con 5% de HSD se obtiene un óptimo en la facilidad de maquinado. La adición de sal al sistema reduce ligeramente la viscosidad. La sal liga al agua fuertemente e incrementa la capacidad de reten-

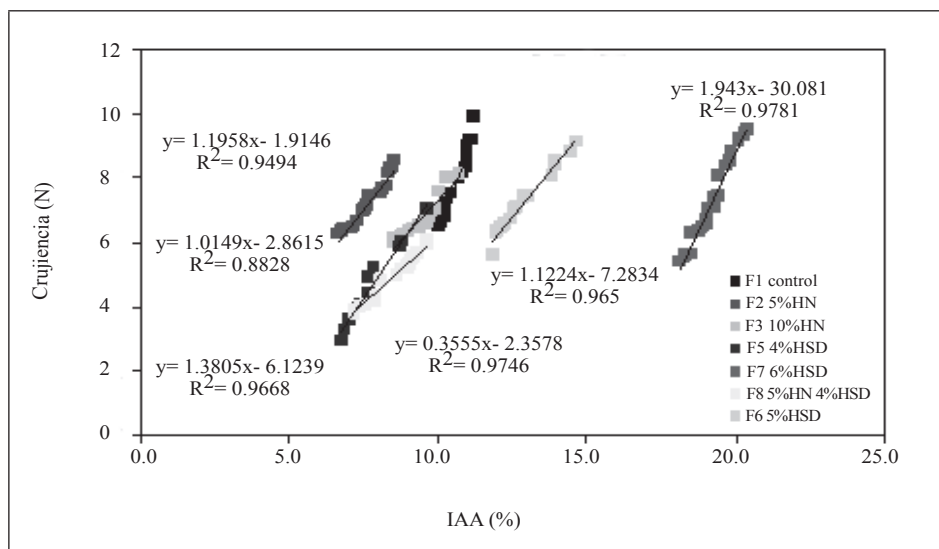
ción de agua del sistema (Changala y colaboradores, 1989). Xue y Ngadi (2006) demostraron que la sal afecta la solubilización de las proteínas del gluten en harinas de trigo resultando en una reducción en la consistencia. Normalmente, el trigo muestra mayor consistencia y viscosidad debido a la habilidad del gluten de trigo de absorber agua (Xue y Ngadi, 2006), en mezclas comparadas con harinas de arroz y maíz.

Figura 4. Consistencia (PrMAX) en masas de HMN, HN y HSD



Fuente: elaboración propia.

La relación entre la Absorción de Aceite (AA) y la crujiencia (figura 5) tiene influencia sobre las propiedades químicas y mecánicas de la sustitución de harinas no convencionales en el proceso de fabricación de totopos de maíznixtamalizado. Por una parte, se observa la relación existente entre la AA y la crujiencia. Resaltó que en las sustituciones de HSD aunque presentaron una mayor absorción de aceite, el parámetro de la crujiencia no se vio disminuido, posiblemente a la alta interacción de las proteínas y la formación de estructuras complejas y fuertemente ligadas. La HN logra disminuir la AA, al menor porcentaje de HN, recordando que posiblemente la parte soluble influye en el incremento de la absorción a mayor sustitución. Las formulaciones F2, F3, F5 y F8 logran reducir la absorción de aceite y la crujiencia con respecto al control (F1), logrando mejorar las características de reducción de aceite y crujiencia.

Figura 5. Correlación entre parámetros de crujiencia vs. AA

Fuente: elaboración propia.

La sustitución de HNM por HSD y HN en el proceso tradicional de elaboración de frituras de maíz (totopos) presentan un incremento en el contenido nutrimental, partiendo en que la harinas iniciales sustituidas, presentan mayores contenidos de proteína y fibra que son muy notables comparados a los contenidos de HNM que se utiliza tradicionalmente. Cabe destacar que la sustitución de HNM por HN y HSD también proporcionara un menor contenido de grasa total en las masas y productos finales, y un aumento significativo, además del aporte proteico y de fibra.

Agradecimientos

Al Programa de Investigación en Alimentos (PIAL) de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y al FOMIX 2010 Fondo Mixto Conacyt-Gobierno del Estado de Tamaulipas.

Referencias

- Adambounou, T. L., and F. Castaigne (1981), "Influence of partial drying on oil absorption and texture of french fries", *Canadian Institute of Food Science and Technology*, vol. 14 (4), pp. 304-309.
- Bressani, R., y L. G. Elías (1972), "La calidad proteínica del maíz opaco-2 como ingrediente de dietas rurales de Guatemala", *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, vol. 22, pp. 577-594.
- Almeida-Domínguez, H. D., y L. W. Rooney (1996), "Avances en la manufactura y calidad de productos de maíz nixtamalizado", Seminario de Asociación Americana de Soya (AAS), México, D. F. *Industria Alimentaria*, vol. 18, pp. 4-13.
- Almeida-Dominguez, H. D., N. G. Valencia and M. E. Higuera-Ciapara (1990), "Formulation of corn-based snack with high nutritive value; biological and evaluation", *Journal of Food Science*, vol. 55, pp. 228-230.
- Baum, J. A., H. Teng, J. W. Erdman, R. M. Weigel, B. P. Klein, V. W. Persky (1998), "Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women", *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 68, pp. 545-51.
- Cees de Graaf (2006), "Effects of snacks on energy intake: An evolutionary perspective", *Research Review Appetite*, vol. 47, pp. 18-23.
- Changala, R. G., N. S. Susheelamma and R. N. Tharanathan (1989), *Viscosity pattern of native and fermented black gram flour and starch dispersions*, *Starch-Starke*, vol. 41 (3), pp. 84-88.
- Chau, C. F., C. H. Chen and M. H. Lee (2004), "Comparison of characteristics, functional properties and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fraction", *Lebensm-Wiss u.-Technology*, vol. 37, pp. 155-160.
- De Escalada, M. F., A. M. Rojas, L. N. Gerschenson (2005), "Efecto del agregado de fibra de calabaza en la reología de las masas farináceas", Libro de Artículos En Extenso del V Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) (2006), "Santa María, Cuernavaca (MX)", Instituto Nacional de Salud Pública, Centro de Investigaciones en Nutrición y Salud, disponible en <http://www.insp.mx/ensanut/>; consultado en 2006.
- Figuroa, J. D. C., F. A. Lozano, C. S. López-Cajún and J. González-Hernández, (2000), "Evolution of the machines for the corn tortillas production", International symposium of History of the Machines and Mechanism Proceedings HMM, 93-99.

- Gamble, M. H. and P. Rice (1987), “Effect of Pre-fry drying on oil uptake and distribution in potato crisp manufacture”, *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 22 (5), pp. 535-539
- Garibay-Bagnis, C. and San E. Martín-Martínez (2006), “Hypoglycemic effect of nopal, chilacayote and guarumbo used for the treatment of diabetes mellitus”, International Scientific Congress. Mexican Association of Food Science, AMECA, A.C. Saltillo.
- Goldberg, I. (1994), *Functional foods designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*, ed., Chapman & Hall, New York.
- Green, J. R., J. T. Lawhon, C. M. Cater, K. F. Mattil (1977), “Utilization of whole undefatted glandless cottonseed kernels and soybeans to protein-fortify corn tortillas”, *Journal of Food Science*, vol. 42 (3), pp. 790-794.
- Hardacre, A. K., S. M. Clark, S. Riviere, J. A. Monro and A. J. Hawkins (2006), “Some textural, sensory and nutritional properties of expanded snack food wafers made from corn, lentil and other ingredients”, *Journal of Texture Studies*, vol. 37, pp. 94-111.
- Herman, C., T. Adlercreutz, B. R. Goldin, S. L. Gorbach, K. A. Hfckerstedt, S. Watanabe (1995), “Soybean phytoestrogen intake and cancer risk”, *Journal of Nutrition*, vol. 125, pp. 1-6.
- Hoedge, (2004), “Glycemic index and dietary fiber and the risk of type two of diabetes”, *Diabetes Care*, vol. 27 (11), pp. 2701-2706.
- Kawas, M. L. and R. Moreira (2001), “Characterization of product quality attributes of tortilla chips”, *Journal of Food Science and Technology*, vol. 22 (5), pp. 53-59.
- Lee, J. K. (1991), *Effect of processing conditions and maize varieties on physico-chemical characteristics of tortilla chips. Ph.D. dissertation*, Texas A & M University, College Station.
- Lusas, E. W. and L. W. Rooney (2001), *Snack Foods Processing*, (ed.) Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pennsylvania, USA.
- Moreira, R. G., V. E. Palau, V. E. Sweat and X. Sun (1995), “Thermal and physical properties of tortilla chips as a function of frying time”, *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 19, pp. 175-189.
- Moreira, R. G., X. Sun and Y. Chen (1997), “Factors affecting oil uptake in tortilla chips in deep-fat frying”, *Journal of Food Engineering*, vol. 31 (4), pp. 485-498.
- Moskowitz, H. R. (1987), *Food Texture. Instrumental and Sensory Measurement*, Marcel Dekker, New York.
- Nieto, J. (1987), *Apuntes no Publicados de Tecnología de Botanas*, Barcel del Centro, México.

- Obatolu, V., O. Omuetti and E. Adebawale (2006), “Qualities of extruded puffed snacks from maize-soybean mixture”, *Journal of Food Process Engineering*, vol. 29, pp. 149-161.
- Park, J., and S. Rheek (1993), “High-protein texturized products of defatted soy, flour, corn starch and beef; shelf-life, physical and sensory properties”, *Journal of Food Science*, vol. 58, pp. 21-27.
- Pravisani, C. I., and A. Calvelo (1986), “Minimum cooking time for potato strip frying”, *Journal of Food Science*, vol. 51 (3), pp. 614-617.
- Prinyawiwatkul, W., L. R. Beuchat, A. V. A. Resurreccion (1993), *Optimization of sensory qualities of an extruded snack based on cornstarch and peanut flour*, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, vol. 26, 393-399.
- Ríos, O. R. (1989), “Tecnología de botanas”, Facultad de Química UAQ, Tesis para obtener el título de IQA.
- Rosado J. L., R. Camacho-Solís and H. Bourges (1999), *Adición de vitaminas y minerales a harinas de maíz y de trigo en México*, México, Salud Pública, vol. 41 (2).
- Rosell, C. (2001), *Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality*, *Food Hydrocolloid*, vol. 15, pp. 75-79.
- Rosell, M. S., P. N. Appleby, E. A. Spencer and T. J. Key (2004), “Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition”, *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 80, pp. 1391-1396.
- Sáenz, C. (1997), “Cladodes: A source of dietary fiber”, *Journal of Professional Association of Cactus Development*, pp. 117-123.
- Serna-Saldivar, S. O., M. H. Gómez and L. W. Rooney (1990), “Technology, chemistry, and nutritional value of alkaline-cooked corn products”, in Y. Pomeranz, *Advances in Cereal Science and Technology*.
- Serna-Saldivar, S.O., R. Canett, J. Vargas, M. González, S. Bedolla and C. Medina (1988), *Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusión cooking*. *Cereal Chemistry*, vol. 65, pp. 44-48.
- Tettweiler, P. (1991), *Snacks foods worldwide*, Food Tecnolog., vol. 45, pp. 58-62.
- Thoufeek, A., N. Rekha, S. Singhal, R. Pushpa and P. Mohinder (1995), *Deep fat-fried snacks from blends of soya flour and corn, amaranth and chenopodium starches*, *Food Chemistry*, vol. 58 (4), pp. 313-317.
- Tovar, A. R., F. Murguía, C. Cruz, R. Hernández-Pando, C. A. Aguilar-Salinas and J. Pedraza-Chavarrí (2002), “A soy protein diet alters hepatic lipid metabolism gene

- expression and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokines in rats with chronic nephritic syndrome”, *Journal of Nutrition*, vol. 132, pp. 2562-2569.
- Van Zeddemann, H. (1981), *Frying and cooking fat and their quality control*, CCB Rev. Choc., Confect., Bakery, vol. 6 (3), pp. 25-27.
- Varela, G., A. E. Bender and I. D. Morton (1988), *In Frying of Foods Principles, Changes, New Approaches*, Ellis Horwood, Chichester, UK.
- Véles, J. J. (2004), “Caracterización de tostadas elaboradas con maíces pigmentados y diferentes métodos de nixtamalización”, **Querétaro, México, Facultad de Química**. Universidad Autónoma de Querétaro, Tesis para obtener el grado en Ciencias en Tecnología Avanzada.
- Wolf, B. W., T. M. S. Wolever, C. Bolognesi, B. A. Zinder, K. A. Garleb and J. L. Firkins (2001), “Glycemic response to a food starch esterified by 1-octenyl succinic anhydride in humans”, *Journal Agric. Food Chemistry*, vol. 49 (5), pp. 2674-2678.
- Xu, X., A.M. Duncan, K. E. Wangen, M. S. Kurzer (2000), *Soy consumption alters endogenous estrogen metabolism in postmenopausal women*, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 9, pp. 781-786.
- Xue, J., and M. Ngadi (2006), “Rheological properties of batter systems formulated using different flour combinations”, *Journal of Food Engineering*, vol. 77, pp. 334-341.
- Xue, J., and M. Ngadi (2007), “Thermal properties of batter systems formulated by combinations of different flours”, *LWT-Food Science and Technology*, vol. 40, pp. 1459-1465.

Ecología y potencial de valor agregado en especies aromáticas silvestres de Tamaulipas

*Margarita Hurtado González, Arturo Mora-Olivo
y Ramón López de León*

Resumen

Las plantas aromáticas son plantas que nacen en los campos o son cultivadas en los huertos por sus cualidades aromáticas, condimentarias e incluso medicinales. Han sido utilizadas desde hace mucho tiempo con diferentes fines: mejorar el sabor de las comidas, perfumar el ambiente, como balsámicos y antisépticos. Los procesos de transformación actuales ligados a la creciente demanda de productos naturales e inoctrinos hacen que las plantas aromáticas presenten un potencial de desarrollo y colocación en mercados nacionales e internacionales con un alto valor agregado. La industria alimenticia en lo particular está demandando grandes cantidades de aceites esenciales provenientes de plantas aromáticas que son utilizados principalmente como saborizantes, conservadores y componentes de empaques. En el estado de Tamaulipas existen de forma silvestre una serie de especies vegetales que caen dentro de la clasificación de plantas aromáticas, lo que representa un nicho de oportunidad. La Universidad Autónoma de Tamaulipas desarrolla una línea de investigación desde mediados de los años ochenta donde ha recabado información de aspectos botánicos, ecológicos y etnobotánicos sobre plantas silvestres comestibles, lo que permite contar con una base sólida para la continuidad de la cadena productiva de estas especies vegetales.

Palabras clave: Plantas Aromáticas, Silvestres, Potencial, Tamaulipas

Perspectivas y estudios recientes

Las plantas aromáticas son aquellas que siendo silvestres o cultivadas, contienen principios activos formados total o parcialmente por compuestos volátiles que les confieren una esencia o aroma en particular. Por lo general, las plantas aromáticas fueron en su mayoría sólo conocidas localmente y algunas de ellas muchas veces ignoradas. Con excepción de las especies de aromáticas clásicas usadas como especias y de uso más frecuente en medicina tradicional, en las últimas décadas, la utilización de las plantas aromáticas disminuyó drásticamente ante el embate del uso en la industria farmacéutica de sustancias sintéticas fácilmente aprovechables y de menor costo y a las nuevas técnicas en la conservación de alimentos. Actualmente, la creciente demanda de los consumidores que experimentan un nuevo interés por todas las especies aromáticas utilizables en la industria alimenticia como en la medicinal, aunado al enfoque de carácter mundial sobre un estilo de vida más sano, han ocasionado que se reanude el cultivo de muchas especies de las que casi se ha perdido memoria.

Durante los últimos 20 años en de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAT) se han realizado diversas investigaciones enfocadas a identificación, clasificación y manejo de la flora nativa del Estado (Hernández y colaboradores 1991; Mora-Olivo, y colaboradores 2009). Estudios más específicos relacionados a plantas comestibles (Hurtado y Hernández, 1989; Pérez, y colaboradores 2005), proporcionan datos sobre especies nativas comestibles, partes usadas y formas de consumo.

Específicamente sobre plantas aromáticas, desde la década de los ochenta investigadores de la UAT han desarrollado una línea de investigación en la que se ha recabado información de aspectos químicos, ecológicos, etnobotánicos y socioeconómicos sobre algunas plantas que poseen aceites esenciales como el orégano y otras similares. Estos datos han constituido una base para el establecimiento y la continuidad de la cadena productiva de estas especies vegetales.

Propiedades, usos y aplicaciones

Las plantas aromáticas se utilizan en sectores e industrias múltiples, casi todas en expansión y directamente relacionada con la alimentación, la salud y el cuidado del cuerpo. Estas plantas presentan características especiales que les confieren diversas propiedades: (Romero-Marquez, 2004; Martinello y Pramparo, 2005).

Propiedades químicas

Actividad antioxidante. Estas plantas provocan la fijación del oxígeno presente en las grasas de los alimentos evitando la oxidación de la misma, actúan de la misma forma con las trazas de metales que originan esta actividad.

Propiedades Físicas

Capacidad de inhibición. Tienen la propiedad de fijar las moléculas de agua, provocando un retraso en la pérdida de humedad del alimento, reteniendo a la vez el aroma.

Propiedades Farmacológicas

Estomáquicas. Despiertan y estimulan el apetito al favorecer la secreción de las glándulas digestivas.

Sedantes. Tienen la propiedad de calmar ciertos dolores como los dentales.

Tanto las propiedades como los usos de las plantas aromáticas están directamente relacionadas con sus componentes químicos (cuadro 1). Sobre todo para las aplicaciones industriales, la concentración de estos componentes en la extracción de aceites esenciales es sumamente apreciada.

El uso de las plantas aromáticas se ha diversificado para la atención a diferentes mercados (cuadro 2). Las plantas aromáticas conforman un grupo muy amplio de productos vegetales utilizados con múltiples fines y sometidos a procesos de transformación muy diversos. Cuando las plantas aromáticas se utilizan sin transformar, es decir, frescas, desecadas, enteras, troceadas o mezcladas, sus fines son la preparación de envasados, infusiones, dietéticos, condimentos, aromatizantes. Si se transforman para la obtención de aceites esenciales, extractos o resinas son ampliamente utilizados en la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica, en la industria química se usan como componentes fitosanitarios y de las pinturas (Fernández, 2006).

Cuadro 1. Compuestos químicos que dan el sabor y el olor característico de algunas plantas aromáticas

Planta	Compuesto Químico	Parte Utilizada
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	Alicina	Bulbo
Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>)	Metilchavicol, cineol, alcanfor	Hoja
Alcaravea (<i>Carum carvi</i>)	Carvona, limonero	Fruto
Alholva (<i>Trionella foenum graecum</i>)	Trigonelina	Semilla
Anís (<i>Pimpinella anisum</i>)	Anetol, Metilchavicol	Fruto
Apio (<i>Alpium graveolens</i>)	d-limoneno	Semilla, tallo, hoja
Canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	Aldehído cinámico, aldehído benzoico	Corteza
Cardamono (<i>Elettaria cardamomum</i>)	Terpinol, acetato de terpinol, cineol	Semilla
Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i>)	Linalol	Semilla y hoja

AVANCES DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

Comino (<i>Cominum cyminum</i>)	Aldehído cumínico	Fruto
Clavo (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	Eugenol, eugenia, vainillina	Botón floral
Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	Curcumina	Rizoma
Eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	Carvona	Hoja y semilla
Estragón (<i>Artemisia dracunculus</i>)	Felandreno, ocimeno	Hoja
Hinojo (<i>Poeniculum vulgare</i>)	Anetol, Penchona	Fruto y hoja
Jenjibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Gingerol, gingeron, pelandreno	Rizoma
Laurel (<i>Laurus nobilis</i>)	Cineol, eugenol, acetoeugenol	Hoja
Levística (<i>Levisticum officinale</i>)	Terpineol, terpeno	Hoja
Macis (<i>Myristica fragrans</i>)	Safrol	Anillo desecado
Mejorana (<i>Majorana hortensis</i>)	Terpineno, pineno, terpineol	Flor y hoja
Nuez moscada (<i>Myristica fragrans</i>)	Eugenol, isoeugenol, geraniol	Almendra
Oregano (<i>Origanum vulgare</i>)	Carvacrol, timol	Hojas
Perejil (<i>Petroselinum crispum</i>)	Apiol, pineno, miristicina	Semilla, raíz, hoja
Pimienta de Jamaica (<i>Pimenta dioica</i>)	Eugenol, isoeugenol, cineol	Fruto y hoja
Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>)	Piperina, chavicina, pelandreno	Fruto
Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	Cineol, borneol	Hoja
Salvia (<i>Salvia officinalis</i>)	Cienol, tuyona, borneol	Hoja
Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Timol, carvacrol	Hoja y Flor
Vainilla (<i>Vainilla fragans</i>)	Vainillina	Fruto

Fuente: Sotelo y Basurto (2007). NMX -FF-O72-1990.

Cuadro 2. Ejemplos de diferentes usos de plantas aromáticas

	Especies	Productos
Uso doméstico	Especies nativas, hierba buena, albahaca, estragón, laurel, mejorana, menta, orégano, salvia, eneldo, perejil, romero, salvia, tomillo.	
Elaboración de bebidas	Hierba, buena, albahaca, estragón, laurel, mejorana, menta, oregano, salvia.	
Industria alimenticia (absorbe 40% de la producción)	Hierba, buena, albahaca, estragón, laurel, mejorana, menta, orégano, salvia, eneldo, perejil, romero, tomillo.	Aditivos naturales (antioxidantes, colorantes, conservadores), dietéticos, licorería, nutrición animal.
Industria cosmética y perfumes (Absorbe 30% de la producción)	Hierba, buena, albahaca, estragón, laurel, menta, orégano, salvia, eneldo, romero, tomillo.	Cremas, jabones, colonias, lociones, perfumes, sales de baño.
Industria Farmacéutica (Absorbe 30% de la producción)	Albahaca, eneldo, mejorana, menta, perejil, salvia, tomillo, manzanilla.	Extractos, medicamentos, fitoterapia, aromaterapia, homeopatía, farmacia veterinaria.

Fuente: García-Nieto (2000); Di Paola (2006).

Aceites esenciales

El extracto o aceite esencial obtenido de las plantas aromáticas contiene sustancias volátiles capaces de comunicar ciertos aromas, colores, sabores, conservantes, o sustancias curativas. En realidad no existen límites bien definidos en el uso–consumo de cada uno de los productos. La utilización de las plantas está íntimamente relacionada con el uso de sus extractos, un mismo producto puede ser utilizado en procesos y productos muy diferentes (cuadro 2).

El uso de los aceites esenciales obtenidos de plantas aromáticas en las industrias alimenticia, farmacéutica y cosmética ha sido considerado desde hace muchos años, pero ahora también se incursiona en la agricultura para el control de plagas ocasionadas por hongos, bacterias y otros microorganismos (Proestos, y colaboradores, 2007; Díaz-Plaza, y colaboradores, 2007).

Estudios de aceites esenciales como alternativa al uso de antibióticos en humanos (Werka, y colaboradores, 2007) y en animales (Fuselli, y colaboradores, 2006; Roldán-Forero, L. 2010) son reportados frecuentemente en la búsqueda de fuentes naturales menos agresivas hacia los organismos. También la planta viva es usada como control biológico dentro de los huertos o como barrera limitante de las parcelas (Díaz-Plaza, R. 2010)

Las cualidades de estos productos, dado que no representan un peligro para la salud ni el medio ambiente y a su proceso de obtención no contaminante, le otorgan atractivo e interés a su producción, y responden a las crecientes exigencias de los consumidores en la demanda de alimentos sanos e inocuos.

Tendencias y Mercados Potenciales

Desde que se empezaron a utilizar, las plantas aromáticas y sus derivados fueron de los productos más caros y valiosos que tuvo la economía. Empezaron a usarse desde el siglo I y los primeros en usarlas fueron los griegos y los romanos. El comercio de estas hierbas empezó en el siglo XVIII en la Edad Moderna (Ferringno y Rosales, 2011).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se calcula que cerca de 2/3 partes de la población mundial (4 700 millones de personas) recurren a las plantas aromáticas y medicinales para su alimentación y uso medicinal. La tendencia va hacia una mayor expansión de la demanda, debido a cambios en los hábitos de consumo y la búsqueda de una vida más sana. Las proyecciones estiman una tasa de crecimiento de cerca de 4% anual, (Berzins y Romagnoli, 2005; Barrientos y Gamba, 2007).

En países en desarrollo como México el consumo es en su mayoría de tipo doméstico, con mayor énfasis en el consumo de especies nativas, a diferencia de los países desarrollados, donde el principal destino de las plantas aromáticas es la industrialización (Di Paola, 2006). Cameroni (2010), reporta, que el mercado de las plantas aromáticas deshidratadas se expande de forma vertiginosa en EUA llegando a crecimientos anuales de consumo entre 5 y 6%, en los que la fitoterapia crece a pasos agigantados considerándose uno de los mercados cuyos volúmenes de demanda aumentan actualmente en el mundo. Por otra parte, el departamento de Agricultura de los EUA (*United State Departament of Agriculture* USDA) reporta, que los últimos 10 años ha mostrado una tendencia en el alza de consumo de aceites esenciales y olearresinas sobre todo en el desarrollo de productos saborizados (Reed, y colaboradores 2011).

Por las razones anteriores, algunos países latinoamericanos y asiáticos están planificando fuertes políticas de expansión estimulando a sus productores, sistematizando los cultivos y estableciendo producciones complementarias. Los países de América del Sur y Centroamérica han incrementado sus exportaciones de plantas aromáticas debido al potencial de la biodiversidad y a la abundante mano de obra barata, que influyen en los precios tanto si son cultivadas o recolectadas, destacando Brasil, México, Argentina, Guatemala, Colombia y Perú con explotaciones agrícolas y forestales, así como la presencia de industrias transformadoras en el medio rural (García-Nieto, 2000).

Hay nuevas zonas de producción en África (Marruecos, Túnez, Egipto) y Turquía debido al desplazamiento de algunos cultivos (romero, tomillo, condimentos en grano) desde España. Otra región cada vez más especializada y siempre con bajos precios es la de los países de Europa del Este. El principal mercado internacional para las plantas aromáticas provenientes de las nuevas zonas de producción es la Unión Europea (y dentro de ella Alemania y Francia), un mercado estable donde existe una tradición de consumo. Los principales cambios que vienen dándose tienen que ver cada vez más con el comercio directo entre productor, que es a su vez el exportador y los industriales de los mercados consumidores (Ventura-Quesada, 2010).

Las nuevas demandas ligadas a flujos de turismo rural y ecológico, permitirán nuevas posibilidades para diversos productos, desarrollando nuevos tipos de empresas agroindustriales, a semejanza de lo que ocurre en algunos puntos de Europa, en los que se integra el cultivo y las fases industriales: destilados, extractos, a granel o envasados (Saldarriaga, 2007).

Existe una creciente preocupación de que ante un aumento de la demanda por las plantas aromáticas de recolección silvestre, estas especies estarían amenazadas de extinción y se provocaría además la destrucción de los bosques. Esto ha dado lugar a la domesticación, o al cultivo de algunas plantas aromáticas como la única forma de mantener la oferta en los niveles actuales y asegurar su producción controlada.

El mercado internacional está cada vez más dominado por grandes firmas compradoras de materia prima en todo el mundo, Estados Unidos, la Unión Europea y Japón superan el 60% del total de las importaciones mundiales. India y China son también grandes importadores de plantas aromáticas, además de ser a la vez grandes exportadores. Entre los grandes exportadores también se encuentran algunos países desarrollados, como los Estados Unidos, Alemania, Francia y Reino Unido.

En los países desarrollados las preocupaciones por la salud y por el cuidado del cuerpo son asuntos de gran actualidad. Cada vez es más frecuente el interés por conocer la calidad, la procedencia y el contenido de los productos que se consumen. De ahí que exista una tendencia creciente hacia la demanda de productos naturales certificados, en detrimento de los productos sintéticos (Fernández, 2006).

Las denominaciones de origen y el cultivo ecológico tienen éxito en el mercado y las perspectivas de futuro son muy prometedoras aunque no compiten en el mercado internacional con la misma intensidad que las producciones tradicionales, procedentes del cultivo o de la recolección silvestre.

Legislación

El alto precio y la valoración de las plantas aromáticas y sus productos han alentado su adulteración en toda época, especialmente cuando se las vende en polvo. Por ello es que, desde la antigüedad, se establecieron sencillos protocolos de análisis para detectar su genuinidad. En la actualidad, se realizan los siguientes estudios: Componentes solubles en agua, Componentes nitrogenados, Extracto etéreo, Hidratos de carbono solubles, Almidón (en semillas, y rizomas), los gránulos son característicos de cada especie, Material celulósico o fibra cruda, Sustancias minerales (poco abundantes) y Aceites esenciales (determinaciones físicas y químicas).

Una característica del comercio internacional es la creciente exigencia de calidad, especialmente, en lo que a normas sanitarias se refiere. La calidad y seguridad del producto, aún se basa en la confianza mutua del productor, comerciante, mayorista, importador, consumidor y en los controles que cada uno de ellos pudiese establecer en función de sus propios intereses o necesidades (Cameroni, 2010).

A partir del año de 1995, la Comisión del Codex Alimentarius adoptó el código de prácticas de higiene para especies y plantas aromáticas desecadas CAC/RCP-42-1995. El código ha sido enviado a todos los Estados miembros y miembros asociados de la FAO y de la OMS como texto orientativo correspondiendo a cada uno de los gobiernos en particular decidir qué uso hacer de éste (FAO, 2010).

La diversificación de usos de los compuestos de las plantas aromáticas ha llevado a modificaciones de carácter legal. Por ejemplo la Unión Europea manifiesta su posición respecto a considerar el uso de aceites esenciales en cubiertas, empaques o materiales de conservación como antioxidantes con el término de clase funcional reconocida dentro de nombres genéricos y sistema de numeración del codex (Codex CL 2006).

Las plantas aromáticas se ubican en el entorno de la agricultura y por tanto están sujetas al marco de las negociaciones agrarias que se desarrollan en el seno de la Organización Mundial del Comercio (OMS). La protección en los mercados internacionales no es muy elevada. Además del marco arancelario establecido por la OMS, el comercio de algunas plantas aromáticas se encuentra regulado por la convención sobre comercio internacional de especies amenazadas de Fauna y Flora silvestre (CITES). Varias especies de plantas aromáticas están incluidas como especies amenazadas por lo que sólo se pueden exportar con fines de investigación o con un permiso especial (Férrandez, 2006; CONABIO, 2009).

Los diferentes Tratados de Libre Comercio (TLC) también establecen nuevas reglas para el comercio mundial. En México las normas establecidas para la regulación de procesos de recolección, cultivo y transformación se denominan como Norma Oficial Mexicana y la Secretaría de Consumo y Fomento Industrial es la responsable de esta regulación. (ANFPA, 2011).

Especies a la alza

Dentro de las mismas plantas aromáticas, algunas están siendo más demandadas, ya sea por la diversificación de usos o por el contenido de compuestos químicos de sus aceites esenciales que son utilizados en el desarrollo de nuevos productos alimenticios y farmacéuticos (Berzins y Romagnoli, 2005; Cameroni, 2010).

Orégano

El orégano se utiliza como condimento en forma seca y fresca para dar sabor a salsas, adobos y aromatizar diversas viandas, desde el punto de vista culinario es la hierba aromática de mayor demanda en el mundo. Se emplea para elaborar licores y en la industria de la perfumería. En medicina natural se utiliza como tónico, digestivo, espasmódico, carminativo, expectorante, antiséptico de vías respiratorias, externamente se usa como analgésico, cicatrizante y antiséptico.

Salvia

Una de las grandes aplicaciones de los principios activos de la salvia, es su potencial uso como antioxidante natural. Se ha observado una enorme habilidad para inhibir la peroxidación de lípidos. Algunos diterpenos aislados de las partes aéreas de la salvia se han utilizado por su capacidad antibacteriana, además muestran actividad antivírica.

Tomillo

Es la especie más rústica de plantas aromáticas que se adapta a condiciones climáticas cálidas y frías, resistiendo las heladas de corto tiempo. El tomillo es una de las plantas más utilizadas en la industria alimenticia, como adobo en carnes y salsas. Su uso alimentario se debe a sus propiedades aromáticas y antisépticas, que facilitan la conservación de los alimentos.

Manzanilla

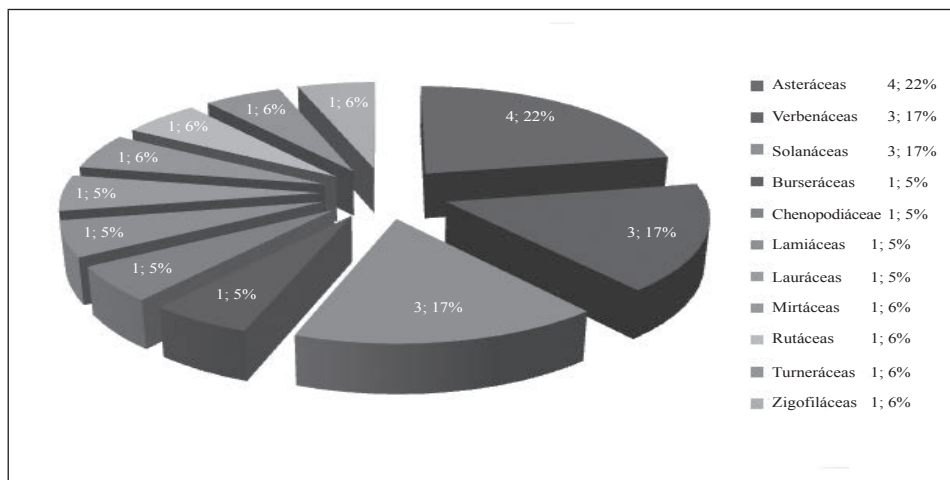
Es tal vez la más popular de todas las plantas medicinales. Fuertemente aromática, crece espontánea y abundantemente en zonas templadas. Las propiedades terapéuticas de la planta son muy conocidas: calmantes, tónicas, antiespasmódicas, febrífugas, digestivas, antirreumáticas y antineurálgicas.

Aromáticas en Tamaulipas

Hasta el momento se han estudiado 18 especies de plantas silvestres o naturalizadas en Tamaulipas, las cuales pertenecen a 14 géneros y 11 familias botánicas. Las compuestas o asteráceas, seguidas por las verbenáceas y solanáceas son las mejor representadas con cuatro y tres especies respectivamente (figura 1).

En general las especies tienen un uso medicinal, siendo la afección más frecuente el dolor de estómago. Algunas (cinco) se utilizan como bebida en infusión (té) o en licor (anís). La planta llamada damiana o hierba del venado, se usa principalmente por sus propiedades afrodisiacas. Otras plantas son usadas como condimento de comidas (epazote, laurel, orégano) y unas más son comunes para efectos ceremoniales. La mayoría de las especies tiene un olor agradable, aunque en algunos casos, este es fuerte y desagradable como ocurre con las plantas que se usa para hacer “limpias” o curar el “mal de ojo” como la orcajuda y el palo hediondo.

Figura 1. Distribución del número de especies de plantas aromáticas por familias botánicas en Tamaulipas



Fuente: elaboración propia.

Las hierbas y arbustos son las formas biológicas más comunes dentro de las plantas aromáticas estudiadas. Siendo escasos los árboles que son utilizados para este propósito. Las especies de zonas áridas y frías son mayormente utilizadas como plantas aromáticas, entre ellas destacan la gobernadora, la hierba de San Nicolás, el poleo y el orégano.

Fue interesante documentar que muchas de estas especies por su contenido químico contienen principios activos que son útiles para eliminar o atacar plagas, aunque en algunos casos la ingesta en exceso pueda causar daños graves. Este es el caso de la gobernadora, a la que se le atribuyen propiedades antifúngicas, antivirales y contra nemátodos y bacterias, pero que en Estados Unidos se ha prohibido su uso por el riesgo de causar daños a hígado y riñones.

Conclusiones

Las condiciones actuales de desarrollo y competencia, obligan a los países a buscar nuevas fuentes de materias primas para cubrir las diversas demandas de las industrias de alimentos, medicinal, cosmética. Si la tendencia presente continua, el mercado de las plantas aromáticas continuará creciendo durante los próximos años. Las plantas aromáticas tienen gran potencial en áreas no adecuadas para cultivos tradicionales con requerimientos de inversión más bajos.

En nuestro estado y prácticamente en todo el país existe un gran desconocimiento del potencial respecto a las especies aromáticas nativas debido a que no existe un censo fitosociológico que permita la completa identificación científico-taxonomía de las mismas. El conocimiento primero y el posterior desarrollo de estos cultivos, conjuntamente con sistemas de procesado, permitirían la diversificación de la producción local generando claros beneficios ambientales y socioeconómicos.

El ingreso de nuestro país a nuevos mercados en los que la demanda de productos para intercambio y balance comercial es un desafío constante, obliga la atención a este tipo de recursos que mediante diversos procesos de producción y transformación se tendrán productos más competitivos con un alto valor agregado.

Referencias

- Barrientos, J. C. and Y. Gamba (2007), *Apoyo al desarrollo de la agrocadena de aromáticas. Perspectiva del agronegocio de hierbas aromáticas culinarias y medicinales*, Universidad Autónoma de Colombia.
- Berzins, M. L. and R. Sergio (2005), “Cultivo de plantas aromáticas”, *Fruticultura & Diversificación*, vol. 11 (47), Buenos Aires, Argentina, pp. 24-32.
- Codex CL (2006), *Posición de la Comunidad Europea*, Comité del Codex sobre aditivos alimentarios. Revisión del Codex-CAC/GL 2003. Circular Codex
- CONABIO (2009), “CITES en México”, Convención sobre comercio internacional de especies amenazadas de Fauna y Flora silvestre, disponible en http://www.conabio.gob.mx/institucion/cooperacion_internacional/doctos/cites_mexico.html
- Di Paola, M. M. (2006), *Un modelo de producción de aromáticas*, Buenos Aires: Facultad de Agronomía-Universidad de Buenos Aires.
- Díaz-Plaza, R., F. Santamaría-Basulto, J. De la Cruz-Tul and F. Morales (2007), “Efecto de plantas aromáticas y barreras biológicas sobre la incidencia de virosis transmitidas por mosca blanca en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.)”, Cuarta convención mundial de Chile. Querétaro, Qro. México.
- FAO (2010), Normas oficiales del Codex. CODEX Alimentarius. FAO/WHO Food Standars, disponible en http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es
- Fernández, A. (2006), “Las plantas aromáticas y medicinales PAM, un potencial con gran necesidad de reorientación”, *Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, num. 209, Madrid, España, pp. 177-214.
- Ferrigno-Figueroa, M. and Y. Rosales (2011), *Hierbas del nuevo y del viejo mundo*, ensayo, Centro de Estudios culinarios ROCCATI.

- Fuselli, S., S. García, L. Gende, M. Equares and R. Fritz (2006), “Inhibición de *Paenibacillus larvae* empleando una mezcla de aceites esenciales y Timol”, *Revista Argentina de Microbiología*, núm 38 (2), Versión On-line ISSN, pp. 1851-7617.
- García-Nieto, L. (2000), “Las plantas medicinales y aromáticas: una alternativa de futuro para el desarrollo rural”, *Boletín Económico de ICE*, núm. 2652, Madrid, España, CATICE, pp. 29-40.
- Hurtado, M. and L. Hernández (1989), “Estudio preliminar de las plantas silvestres de la zona árida de Tamaulipas”, *Biotam*, I. Selección de especies, vol. 1 (2), pp. 70-76.
- Mora-Olivo, A., M. Hurtado-González, G. Gaona-García and J. Treviño-Carreón (2009), “Chochas: Las flores comestibles del desierto”, *Revista Ciencia UAT*, vol. (14), ISSN 2007-0624, pp. 10-13.
- NMX-FF-072-1990, Norma Oficial Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas. Diario Oficial de la Federación.
- Pérez, L.M., A. Mora-Olivo and S. Medellín (2005), “Las plantas comestibles silvestres”, en G. Sánchez-Ramos, P. Reyes-Castillo y R. Dirzo (eds.), *Historia Natural de la Reserva de la Biósfera El Cielo*, Tamaulipas, México. Ciudad Victoria, Tamaulipas: Universidad Autónoma de Tamaulipas.
- Proestos, C., I. S. Boziaris, G-J. E. Nychas and M. Komaitis (2006), “Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity”, *Food Chemistry*, vol. 95 (4), pp. 664-671
- Reed, B.M., V. Sarasan, M. Kane, E. Bunn and V. C. Pence (2011), “Biodiversity conservation and conservation biotechnology tools”, *In vitro celular & developmental biology-plant*. vol. 47 (1), pp. 1-4, DOI: 10.1007/s 11627-010-9337-0
- Roldan-Forero L. P. (2010), “Evaluación del uso de aceites esenciales como alternativa al uso de antibióticos promotores del crecimiento en pollos de engorda”, Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia.
- Romero-Marquez, M. (2004), *Plantas aromáticas: Tratado de aromatorepia científica*, 1ª ed. Kier. ISBN 950-17-1260-5, Buenos Aires, Argentina.
- Saldarriaga, L.F., G. M. Sánchez, M. Harlen, M. Sánchez, C. Bonilla (2007), “Evaluación agroindustrial de los aceites esenciales de algunas plantas aromáticas en condiciones del valle de CAUCA”, *Scientia et Technica*, Año XIII, num. 33, UTP ISSN, pp. 0122-1701.
- Sotelo, A., S. López and F. Basurto (2007), “Content of nutrient and antinutrient in edible flowers of wild plants in Mexico”, *Plants Food for Human Nutrition*. vol. 62 (3), pp. 133 -138.
- UNCTAD (2007), “Iniciativa Bio Trade: Principios y Criterios de Biocomercio. Nueva York y Ginebra”, United Nations, disponible en <http://www.unctad.org/Templates/StartPage.asp?intItemID=2068>

- Ventura-Quezada O. (2010), *Las plantas aromáticas y medicinales (PAM). Una alternativa para los ecosistemas de montaña*, Centro de Estudios para el Desarrollo y la Participación, ISBN: 978-612-45180-1-1, Lima, Perú, pp. 164.
- Werka, S. J., A.K. Bohme and W. Setzer (2007), “Biological activities of essential oils from Monteverde”, *Natural Product Communications*, vol. 2 (12), Costa Rica, Biblioteca OET, NBINA-8852, pp. 1215-1219.

Desarrollo y conservación de pitahaya (*Hylocereus undatus*, Haworth) en la Península de Yucatán

*Alma Rosa Centurión Yah, Lourdes Vargas Vargas, Luis Cuevas Glory,
Crescenciano Saucedo Veloz, Reginaldo Báez Zañudo,
Edmundo Mercado Silva, Enrique Sauri Duch*

Resumen

La pitahaya (*Hylocereus spp*) es un cactus suculento, rústico, originario de América tropical, que comprende de 16 a 18 especies. Dentro de estas especies se tiene *Hylocereus undatus*, Haworth la cual se encuentra ampliamente distribuida en las zonas tropicales y subtropicales de México, en Centroamérica y el Caribe, en donde se utilizó como planta ornamental en la época precolombina. Su fruto es una baya globosa, de forma elipsoidal a oval, de 10 a 12 cm de diámetro, con pulpa blanca y cáscara de color rojo a rojo purpúrea, con cicatriz floral profunda. Su cáscara está cubierta por formaciones salientes llamadas brácteas de forma triangular. La cáscara del fruto suele ser gruesa, de color rojo, rosado o amarillo. La pulpa es de color blanco, de sabor dulce, a veces un poco ácida, con suave aroma y delicada fragancia, con una gran cantidad de pequeñas semillas de color negro, de 2-3 mm de largo y 1-1.2 mm de ancho. En Yucatán, la época de producción de los frutos de pitahaya, normalmente se da entre los meses de mayo a octubre. Después de la polinización, hasta que los frutos alcanzan su color rojo característico suelen transcurrir de 47 a 53 días. El incremento del peso total de los frutos durante su desarrollo sigue una curva de tipo sigmoideal. Una vez que comienza la variación del color de

la piel, ésta ocurre muy rápido, pues en cuatro días adquiere una tonalidad roja o roja purpúrea según la variedad o cultivar. Una de las características de los frutos es que el contenido de sólidos solubles totales (*Brix*), no mejora durante la postcosecha. Su vida útil a temperatura ambiente es relativamente corta, de algunos días. Su almacenamiento en refrigeración permite incrementar su vida útil hasta alrededor de tres semanas, tiempo que depende del grado de madurez al momento de la cosecha y de la temperatura de almacenamiento.

Palabras clave: Pitahaya, postcosecha, vida útil, refrigeración, respiración, producción de etileno

Origen de la pitahaya

La pitahaya (*Hylocereus spp*) es un cactus suculento, rústico, originario de América tropical, que comprende de 16 a 18 especies. La tribu *Hylocereeae* se diferenció en el área caribeña en varios géneros, la mayoría llegó hasta México donde viven en distintos hábitats, especialmente como plantas epífitas (Bravo, 1978). Dentro de estas especies está la *Hylocereus undatus*, que se encuentra ampliamente distribuida en las zonas tropicales y subtropicales de México, en Centroamérica y el Caribe.

Se considera que *Hylocereus undatus*, Haworth ha sido una planta ornamental utilizada por nuestros antepasados lo cual es soportado por las evidencias presentadas por Fray Diego de Landa en 1560, en “Relación de las cosas de Yucatán” (Gari-bay, 1982) quien mencionó:

Hay unos cardos muy espinosos y feos y crecen a trozos siempre pegados a otros árboles, revueltos con ellos. Estos llevan una fruta cuya corteza es coloreada y semeja algo a la hechura de la alcachofa y blanda de quitar y sin ninguna espina. La carne que dentro tiene es blanca y llena de muy pequeños granos negros. Es dulce y delicada a maravilla aguanosa que se deshace en la boca, cómese a ruedas como naranjas y con sal, y no hallan los indios tantas por los montes cuantas comen los españoles [...]

El origen de *Hylocereus undatus* es incierto ya que mientras Fouqué (1972) propone que es originaria de México o Colombia, Jorge y Ferro (1989) señalan como probable origen a América del Sur porque, según ellos, ahí se han encontrado los géneros más primitivos. Otros autores señalados por Bravo (1978) dicen que proviene de la Martinica o de Colombia. La confusión podría deberse a que el término pitaya o pitahaya, con que se suele nombrar en varios países a los frutos de diversos cactus, se ha utilizado indistintamente para plantas de diferentes especies.

Las pitahayas cultivadas en México presentan mucha variación y son distintas a las que se cultivan en otros países de América, fundamentalmente en Colombia, Nicaragua y Guatemala. Principalmente, difieren en la forma, el tamaño, el color, la presencia o no de espinas en el fruto y los tiempos de crecimiento y desarrollo. En México, las que más se comercializan son las de piel roja con pulpa blanca, piel roja con pulpa roja y piel amarilla con pulpa blanca, siendo más común la primera.

Las pitahayas

Es común encontrar la palabra “pitaya” o “pitahaya”, sin que se señale la especie botánica. Bravo (1991) menciona que: “a los frutos de diversas cactáceas pertenecientes a las tribus *Hylocereae*, *Pachycereae* y *Echinocereae* se les designa con el nombre genérico de “pitaya”, término antillano introducido por los conquistadores españoles. De ese término se han derivado distintas formas ortográficas y fonéticas, como: “pitahaya”, “pitalla”, “pitaja”, “pitajaya” (Santamaría, 1942-1943; citado por Ortiz, 1999), aplicados indistintamente a todos ellos, aunque algunos autores piensan que no son sinónimos”.

Bravo (1978), señala que: el término “pitahayo” con el que comúnmente se designa a la planta y su femenino “pitahaya” con el que se nombra al fruto, es de origen antillano. Sin embargo, “pitahaya” y “pitaya”, son términos que hasta hace poco provocaban confusión, pues en algunas regiones de México ambas denominaciones se usaban indistintamente para nombrar a diversas especies de plantas cactáceas y sus frutos.

En el caso de las “pitahayas” existían variantes fonéticas, pues era pronunciado como “pitaaya”, siendo la pronunciación correcta la de “*pitajaya*”, tomando como base el sonido de la “h” tanto en el idioma taíno original como en el idioma maya de Yucatán, en los que la consonante no es muda, sino que tiene una dicción similar a la “j”.

Las llamadas “pitayas”, que son plantas parecidas a grandes “candelabros”, con frutos pequeños, con espinas y carentes de escamas, pertenecen a los géneros *Stenocereus* y *Pachycereus* de la tribu *Pachycereae* y de la misma familia *Cactaceae*, (Rodríguez, 2000).

En Yucatán al igual que en Centro y Sudamérica, se nombra indistintamente a los frutos como “pitahaya” o “pitaya”, ya que solamente se cultivan los del género *Hylocereus*. Algunos autores denominan “pitaya” a los del género “*Stenocereus*” y “pitahaya” a los del género *Hylocereus*. Para Patiño y Martínez (citado por Echeverri, 1990), “pitaya” es un término de procedencia haitiana que significa “fruta escamosa”, por lo que es probable que se refiera a los frutos de *Hylocereus*.

El fruto de *Hylocereus*, es conocido con diferentes nombres según el país y el idioma, aunque existen muchas variaciones entre unas y otras que no se encuentran completamente estudiadas y descritas en la literatura, pues indistintamente la terminología se utiliza para referirse a plantas y frutos de diversos géneros, (tabla 1). También es conocida como la “reina de la noche” porque sus grandes y hermosas flores de fragancia exquisita abren solamente durante la noche (Fouqué, 1972; Bravo, 1978).

Distribución geográfica

En el continente Americano *Hylocereus* spp, ha estado distribuido desde las costas de Florida hasta Uruguay, pasando por México, Islas del Caribe, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Perú y Brasil (Britton y Rose, 1963; Bravo, 1978; Becerra, 1986).

Las principales zonas productoras de pitahaya, *H. undatus*, en México son al mismo tiempo las regiones con mayor demanda, pues los frutos alcanzan precios atractivos para productores y comerciantes. Los principales estados productores son Yucatán, Campeche, Quintana Roo y Tabasco. En Puebla se cultivan especies con pulpa roja, y en Sonora y Jalisco se prefieren las del género *Stenocereus*.

Tabla 1. Diversas denominaciones de la pitahaya (*Hylocereus undatus*)

<i>País</i>	<i>Nombre o denominación</i>
Francia	Cierge lezard o poire de chardon
USA	Belle of the night, cinderella plant, night blooming cereus, strawberry pear
Inglaterra	Night flowering cactus
Cuba	Pitajaja
Colombia	Flor de cáliz, pitajaja, pitaya
Guatemala	Pitaya, pitahaya de cardón
México	Pitahaya roja, pitahaya blanca, junco tapatío, pitahaya, pitahaya orejona, pitajaya, pitaya reina de la noche, tasajo
Yucatán, México (Lengua Maya)	Wob (pitahaya), sak wob (pitahaya blanca), chac wob (pitahaya roja) (Standley, 1977)

Fuente: elaboración propia.

La planta

Los tallos de *Hylocereus* generalmente son verdes de forma triangular, con costillas más o menos onduladas, en cuyas areolas suelen tener una o varias espinas cortas. Normalmente estos tallos emiten raíces aéreas adventicias en los espacios intercostales, que tienen su origen en el cambium del tallo, desempeñan funciones de fijación, ya que se adhieren a los troncos de árboles o a las rocas sobre las que crecen y cuando estas raíces, al crecer, llegan al suelo, se comportan como raíces terrestres (Bravo, 1978).

Las flores son grandes, más de 30 cm de largo, de forma tubular, hermafrodita, de color blanco, con numerosos estambres. Las flores abren una sola vez durante la noche y es posible apreciarlas aún abiertas durante las primeras horas de la mañana (Ortiz, 1995). Su aroma atrae a muchos insectos, para ser polinizada.

El fruto

En general, el fruto de *Hylocereus undatus* es globoso, de forma elipsoidal a oval, de 10 a 12 cm de diámetro, con pulpa blanca y cáscara de color rojo a rojo purpúrea, con cicatriz floral profunda (figura 1). Su cáscara está cubierta por formaciones salientes llamadas brácteas, (por lo que se le conoce también como pitahaya orejona), dispuestas en forma más o menos helicoidal en todo el fruto, encontrándose más cercanas entre sí en la zona en la que el fruto se fija a la planta. Las brácteas tienen una forma más o menos triangular, con la base amplia pegada al fruto (Rodríguez, 1995; Ortiz, 1999).

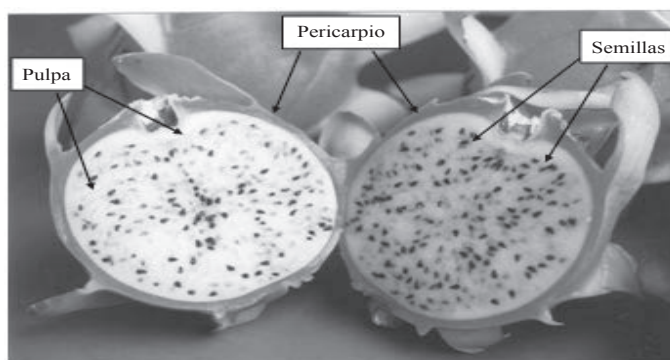
La cáscara del fruto es de origen caulinar, el epicarpo, mesocarpo y endocarpo forman el pericarpo, que constituye solamente la delgada película interior que rodea el ovario desarrollado (que representa la pulpa del fruto) que contiene un gran número de semillas. La pulpa es de color blanco, de sabor dulce, a veces un poco ácido, con suave aroma y delicada fragancia, con una gran cantidad de pequeñas semillas de color negro, de 2-3 mm de largo y 1-1.2 mm de ancho (Rodríguez, 1995; Ortiz, 1999), que contienen un aceite y se les atribuyen ligeras propiedades laxantes si se mastican.

Debido a su colorido, sobre todo cortada, es una fruta que resulta muy atractiva a la vista del consumidor y para adornar postres y ensaladas.

Se consume como fruta fresca, para lo que hay dos maneras principales de preparación. Una es pelándolas, lo cual se realiza sin dificultad, haciendo tres o cuatro cortes longitudinales sobre la cáscara y luego se retiran los segmentos de ésta tirando de la piel desde uno de los extremos del fruto. Las frutas peladas de esta manera quedan preparadas para poder cortarlas en rebanadas. Otra forma de comerlas es sin pelarlas, cortándolas longitudinal o transversalmente y sacando la pulpa directamente con una cuchara.

Algunas personas suelen ponerle unas gotas de jugo de limón para resaltar su suave y refrescante sabor característico. Además de su consumo como fruta fresca se utiliza con frecuencia para preparar diversos alimentos, y en la preparación de refrescos, cócteles de frutas, dulces, paletas y helados.

Figura 1. Estructura interna de la pitahaya (*Hylocereus undatus*)



Fuente: elaboración propia.

El cultivo de la pitahaya en Yucatán, México

Las pitahayas que tradicionalmente se han producido en mayor cantidad en la península de Yucatán son de cáscara de color rosa o rojo característicos y pulpa de color blanco, conocidas como pitahaya roja o “*chac wob*”, (Rodríguez y colaboradores, 1993), mientras que en Nicaragua y en otros países de Centroamérica, se han cultivado más las que tienen pulpa roja, aunque también son clasificadas como *Hylocereus undatus*, no habiéndose encontrado en Nicaragua los tipos cultivados en Yucatán, (Bolaños, 1994). Adicionalmente, hay otras variedades que se diferencian básicamente por la coloración de la piel, de la pulpa y por la forma.

Las características de calidad que deben de presentar los frutos de pitahaya para poder ser competitivos en los mercados regionales, nacionales e internacionales son: color de piel rojo o rojo purpúreo característico, tamaño que el mercado demande (pequeñas, medianas o grandes, alrededor de 250, 450 y 700 g, respectivamente), forma característica (globosa u ovoide), sabor característico (de agridulce a dulce), libre de daños y defectos por insectos o malos manejos, brácteas firmes, sanas y enteras.

Desarrollo y maduración de la pitahaya en la planta

En Yucatán, la época de producción de los frutos de pitahaya, normalmente está comprendida entre los meses de mayo a octubre tiempo durante el que la producción pareciera presentarse en forma de ciclos, pues la producción de las plantas es bastante simultánea.

En cada uno de estos ciclos de producción, desde la aparición de los botones florales en los esquejes, después de la polinización, hasta que los frutos alcanzan su color rojo característico en la piel, suelen transcurrir de 47 a 53 días, no obstante, este tiempo puede variar por influencia de la temperatura (época cálida, menor tiempo y época húmeda mayor tiempo); Ramírez, (1999), y Weiss y colaboradores, (1994), indican períodos de producción entre 39 y 52 días.

El ciclo o período de crecimiento y desarrollo del fruto es relativamente corto comparado con el de otros frutos, en el cual se aprecian cuatro etapas claramente diferenciadas:

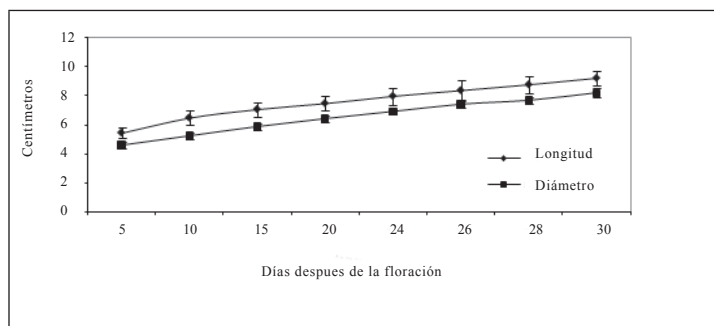
- a) Desde la aparición de botón floral hasta que las flores abren completamente, que en promedio tarda alrededor de 16 a 18 días.
- b) La plena apertura de la flor ocurre por un sólo día, durante la noche, tiempo que suele tardar de tres a cinco días.
- c) El desarrollo y crecimiento del fruto, desde la apertura plena de la flor hasta el inicio de la aparición de pequeñas zonas de la piel del fruto que cambian de color, del verde a pequeñas zonas amarillas o rojas, el tiempo promedio del crecimiento del fruto suele ser entre 26 y 27 días.
- d) El cambio total del color de la piel de los frutos para alcanzar el color rojo característico en toda la superficie, lo cual corresponde a la madurez de consumo de las pitahayas, lo que ocurre entre dos y tres días.

Bajo las condiciones normales de cultivo, es común que no todas las flores de *H. undatus* que abran en una planta den lugar a frutos. Se ha encontrado una conversión a frutos maduros entre 50 y 60% del total de flores que abren, aunque en diversos estudios se han reportado conversiones entre el 35 y el 95%, según variedad y condiciones de cultivo, Ramírez (1999). Parece ser que el éxito en el amarre de frutos y el tamaño que logren está en función de diversos factores como: entre otros, las características del medio (temperatura, humedad, condición nutrimental), tipo de polinización (libre o cruzada), presencia de polinizadores y tipo de cultivo (nativo o introducido).

Durante el crecimiento, los frutos van aumentando de tamaño de forma casi lineal (figura 2) por ejemplo, en un estudio se encontró que cinco días después de la floración (DDF) los frutos alcanzan 5.74 cm (\pm 0.469 cm) de longitud y, 4.56 cm (\pm 0.354 cm) de diámetro, con un peso entre 70 y 97 g., y al final del crecimiento, el tamaño es de 9.2 cm. (\pm 0.650 cm.) de longitud y 8.19 cm. (\pm 0.503 cm.) de diámetro, con peso entre 400 y 450 g., no encontrándose diferencia significativa, entre los frutos con 26, 28 y 30 DDF. El tamaño de los frutos maduros puede variar mucho, los más pequeños de 6.0 cm de longitud por 5.5 cm de diámetro con pesos entre 230 y 250 g., y los más grandes, de 12.0 a 14.0 cm de longitud y 11.0 cm., de diámetro con pesos entre 700 y 900 g.

La variabilidad en el tamaño que adquieren los frutos al final de su desarrollo, puede ser ventajoso para cubrir las demandas de los diferentes mercados de frutas. En la región sureste del país, por lo general los consumidores prefieren los frutos de mayor tamaño.

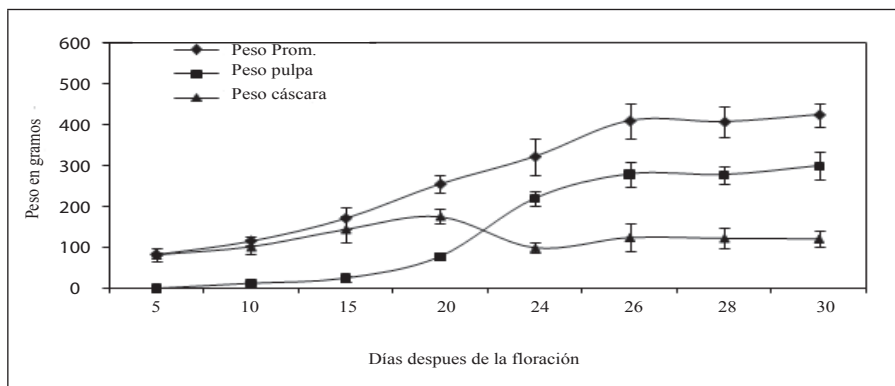
Figura 2. Tamaño adquirido por los frutos de pitahaya durante su desarrollo



Fuente: elaboración propia.

Durante los primeros 15 días de desarrollo de las pitahayas, casi todo el peso total del fruto lo conforma la cáscara (85.00%). A los 20 DDF el contenido de pulpa se incrementa hasta un 30% del peso total del fruto, 24 DDF ésta aumenta significativamente hasta el 68.2%, y a los 26 DDF HASTA EL 70.58% manteniéndose más o menos constante hasta la maduración completa, alrededor de 30 DDF (figura 3). Contrario al incremento del contenido de pulpa de las pitahayas durante su crecimiento, el porcentaje de cáscara disminuye proporcionalmente. El incremento del peso total de los frutos durante su desarrollo sigue una curva de tipo sigmoideal.

Figura 3. Curva de crecimiento de los frutos de pitahaya durante su desarrollo



Fuente: elaboración propia.

Durante el desarrollo de las pitahayas, además del cambio de tamaño, los cambios visibles más significativos se observan en las últimas etapas, en las cuales adquieren sus características propias de calidad para el consumo, lo que se observa es el cambio de color de la piel de verde claro (ángulo de tono de 116.6, °H) a verde claro (ángulo de tono de 108.3, °H) con la aparición de pequeñas zonas de color amarillento o rojizo en algunas partes del fruto (tabla 2).

Una vez que comienza la variación del color de la piel, ésta ocurre muy rápido, pues en dos días los frutos pierden prácticamente todo el color verde al crecer las zonas de color amarillo o rojizo hasta cubrir la totalidad de la superficie del fruto (ángulo de tono de 91.4 °H) y dos días después el color adquiere una tonalidad roja o roja purpúrea, según la variedad o cultivar (ángulo de tono de 51 °H). Por su parte, las brácteas que son estructuras características de la pitahaya *H. undatus*, mantienen el color verde claro sin adquirir el color rojo, aun cuando el fruto adquiera la madurez de consumo.

De manera simultánea al cambio de color de la piel, la composición de la pulpa cambia de manera significativa, pues los sólidos solubles totales aumentan de 9.50 a 12.61 °Brix entre los 24 y 30 DDF, la relación azúcar/acidez aumenta de 7.60 a 33.53 debido a la disminución de la acidez de 1.2 a 0.38%, los azúcares reductores aumentan del 4.50 a 6.56%, y la aceptación sensorial mejora de *desagrado* a *gusta mucho* (5/9 a 8/9), debido a la disminución del sabor ácido (3/7 a 7/7). En esta última etapa de maduración, la firmeza del fruto disminuye de 1.01 a 0.64 Kg/cm².

Tabla 2. Cambios de las principales características físicas, químicas y sensoriales de la pitahaya a partir de 20 días de la floración

<i>Características</i>	<i>Días después de la floración</i>				
	<i>20</i>	<i>24</i>	<i>26</i>	<i>28</i>	<i>30</i>
Firmeza (Kg/cm ²)	1.37 ^a	1.01 ^b	0.75 ^c	0.72 ^c	0.64 ^c
Sólidos solubles totales (°Brix)	4.6 ^d	9.5 ^c	12.8 ^a	11.8 ^b	12.6 ^a
Acidez (%)	1.4 ^a	1.2 ^b	1.1 ^c	0.58 ^d	0.38 ^c
Vitamina C (mg/100g)	14.73 ^a	12.2 ^b	10.87 ^c	9.61 ^c	12.11 ^b
Relación azúcar/acidez	3.4 ^c	7.6 ^d	11.7 ^c	20.6 ^b	33.5 ^a
Azúcares reductores (%)	2.4 ^d	4.5 ^c	5.9 ^b	5.8 ^b	6.6 ^a
Aceptación general	4 ^d	5 ^c	7 ^b	8 ^a	8 ^a
Sabor	1 ^e	3 ^d	4 ^c	5 ^b	7 ^a
Color (ángulo de tono)	132.2 ^a	116.6 ^b	108.3 ^c	91.4 ^d	51 ^e
Luminosidad del color (L*)	47.2 ^d	58.5 ^a	55.5 ^b	56.3 ^b	51.7 ^c

Fuente: elaboración propia. a,b,c Letras distintas en la misma fila indican diferencia significativa ($P < 5\%$).

En general se puede considerar que el principal indicador de que las pitahayas se han desarrollado totalmente y que han adquirido sus características de calidad, es el color de la piel, lo que lo hace ser un factor observable por el productor, para iniciar la cosecha. Si los frutos no se cosechan después de que adquieren el color rojo característico de la piel, alrededor de los 28 (DDF), en algunos casos, pueden ser atacados por pájaros y pueden sufrir agrietamiento y ruptura del pericarpio, con las consecuentes pérdidas de calidad, lo que se puede deber al efecto de la irrigación o de lluvia sobre la expansión excesiva del fruto.

Cambios de las pitahayas durante el almacenamiento postcosecha

Maduración postcosecha a temperatura ambiente, 26 °C

Si las pitahayas se cosechan cuando comienzan a cambiar de color (alrededor de 26 DDF) o después, durante su maduración postcosecha a temperatura ambiente, 26 ± 2 °C, son capaces de desarrollar y alcanzar las principales características de calidad de los frutos que maduran en la planta, lo que indica que sus procesos metabólicos

continúan de manera adecuada permitiendo a los frutos alcanzar sus características para el consumo, como son el color, sabor, dulzor, acidez, firmeza, sobre todo en los frutos en los que al menos han cambiado de color alrededor de la tercera parte de la piel.

Cuando las pitahayas *H. undatus* se cosechan al cambiar al color verde claro, cuatro días después de la cosecha cambian totalmente del color verde al rojo (varía de 116.6 a 41.8 °H*). Mientras más maduras se encuentren las frutas al momento de la cosecha, más rápido adquieren el color rojo. Las frutas cosechadas rojas y mantenidas a la temperatura ambiente, 8 días después de la cosecha comienzan a deteriorarse sensiblemente.

Una de las características de calidad de los frutos que no logra mejorar durante la postcosecha es el contenido de sólidos soluble totales (°Brix), que independientemente del grado de madurez al momento de la cosecha, van disminuyendo lentamente. Este comportamiento en la variación del contenido de SST de los frutos, indica que los °Brix de la pulpa dependen en gran medida del grado de desarrollo al momento de la cosecha. La disminución de los SST durante la postcosecha suele ser más común en frutos no climatéricos como la guayaba (Yusof y colaboradores, 1988) y la piña (Hansen, 1989).

El contenido de azúcares reductores, varía de forma diferente según el grado de madurez al momento de la cosecha, cuando las pitahayas se cosechan habiendo cambiado al color rojo en una amplia parte de su piel, (frutos cosechados con grado de madurez que llamaremos G-III) se incrementan significativamente, de 6 a 9%, durante los primeros seis días después de la cosecha (DDC) para luego disminuir ligeramente durante el almacenamiento, mientras que los frutos cosechados de color verde o con ligeros cambios en el color prácticamente no incrementan su contenido de azúcares reductores.

En lo que respecta a la aceptación de los frutos (tabla 3), al momento de la cosecha, los frutos con pequeñas zonas en la piel de color rojo (que llamaremos grado de madurez G-II) y los cosechados con grado de madurez G-III (amplias zonas de color rojo en la piel), tienen buenos niveles de aceptación ya que “gustan moderadamente” y “gustan mucho”, (calificaciones de 7.4/9 y 7.9/9, respectivamente), las cosechadas menos maduras, cosechadas con color verde claro, llamado grado de madurez G-I, son calificadas con baja aceptación, (calificación de 5.8/9), principalmente por tener sabor demasiado ácido.

Los frutos cosechados con grado de madurez G-II, mantienen buena aceptación sensorial de la pulpa durante 12 días, sin embargo, su apariencia externa comienza a deteriorarse de manera significativa después de 10 días.

Los cosechados con grado de madurez G-III mantienen una buena aceptación 8/9 (“gusta mucho”) durante los primeros seis días de almacenamiento, sin embargo,

dos días después su aceptación disminuye sensiblemente hasta un nivel mínimo de aceptación (calificación 6/9), por lo que se puede considerar que su vida útil a temperatura ambiente es de seis días.

Las brácteas son las estructuras de las pitahayas que comienzan a mostrar de manera más notable los signos de deterioro de la apariencia, ya que van perdiendo su color verde, el cual cambian por tonos amarillos, se secan y se van adhiriendo a la piel, así mismo, en algunas zonas de la piel aparecen reblandecimientos excesivos anormales.

Tabla 3. Variación de la aceptación de la pulpa durante el almacenamiento de los frutos

<i>Grado de madurez</i>	<i>Días después de la cosecha</i>						
	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>6</i>	<i>8</i>	<i>10</i>	<i>12</i>
G-I	5.8	6.0	5.9	6.1	6.3	5.8	5.4
G-II	7.4	8.4	8.3	7.9	7.7	7.7	6.9
G-III	7.9	8.1	8.1	8.1	6.4	6.2	ND

Fuente: elaboración propia. ND = No determinado.

Durante la maduración postcosecha independientemente del grado de madurez con el que se cosechen las pitahayas, van perdiendo peso, siendo ésta mayor en los frutos cosechados menos maduros, hasta 11.53 y 10.44% en las cosechadas verde claro y comenzando a cambiar de color (G-I y G-II). En las pitahayas cosechadas con amplias zonas de color rojo (G-III), la pérdida de peso es de 6.9 por ciento. Esto indica que mientras mayor sea el grado de madurez al momento de la cosecha, la pérdida de peso durante la maduración postcosecha es menor.

En general, se puede establecer que lo más adecuado, desde el punto de vista de calidad, es cosechar los frutos cuando hayan iniciado su cambio significativo de color de verde claro al rojo característico de la especie, y que las pitahayas cosechadas de color verde claro G-I, aunque el color de su piel cambia, durante la postcosecha, la pulpa no mejora sus características principales de calidad interna, por lo que no es conveniente cosecharlas con este grado de desarrollo.

Cambios fisiológicos, producción de CO₂ y etileno en frutos cosechados con diferentes estados de desarrollo

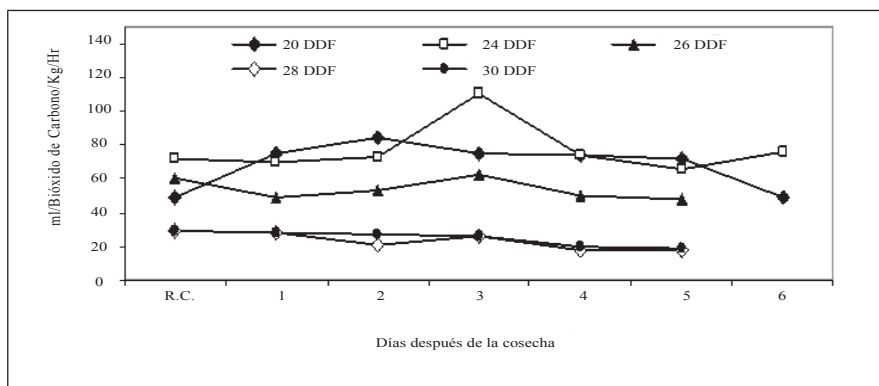
El comportamiento postcosecha de la pitahaya depende de su grado de madurez al momento de la cosecha, (figura 4). Las pitahayas que se cosechan de color verde (20 DDF), verde claro (24 DDF) y verde claro con pintas de color rosa (26 DDF) en la piel, presentaron velocidad de producción de bióxido de carbono más elevadas que los frutos cosechados con el color rojo característico (28 y 30 DDF).

Durante la postcosecha de estos frutos, se observan distintos comportamientos de su respiración, los cuales se relacionan con el grado de madurez o desarrollo al momento de la cosecha. Los frutos cosechados de color verde claro (24 DDF), a los tres DDC se presenta un aumento significativo de la velocidad de respiración, producción de CO₂, (de 72.01 hasta 110.23 ml/Kg/h) que disminuye posteriormente, comportamiento que no se observa en los frutos cosechados con los otros grados de desarrollo. Este incremento en la respiración que se observa en los frutos cosechados de color verde claro (24 DDF), es un pico semejante al de los frutos que tienen comportamiento climatérico.

Arévalo y Ortiz (1999), encontraron velocidad de producción de 47.5 y 30,9 ml., de CO₂/Kg/h en pitahayas de color verde claro con zonas rosa. Nerd y colaboradores (1999), en pitahaya (*H. Undatus*); Nerd y Mizrahi (1997, 1998), en pitahaya amarilla (*S. Megalantuhus*) encontraron comportamiento no climatérico de sus frutos.

La actividad respiratoria media de la pitahaya, se puede considerar relativamente alta, comparada con la de frutas climatéricas como el aguacate, el plátano, y la pera (62, 37, 25 ml/Kg/hr respectivamente) almacenadas a 15 °C, (Wills y colaboradores, 1998).

Figura 4. Velocidad de respiración de la pitahaya madurada a 20 °C



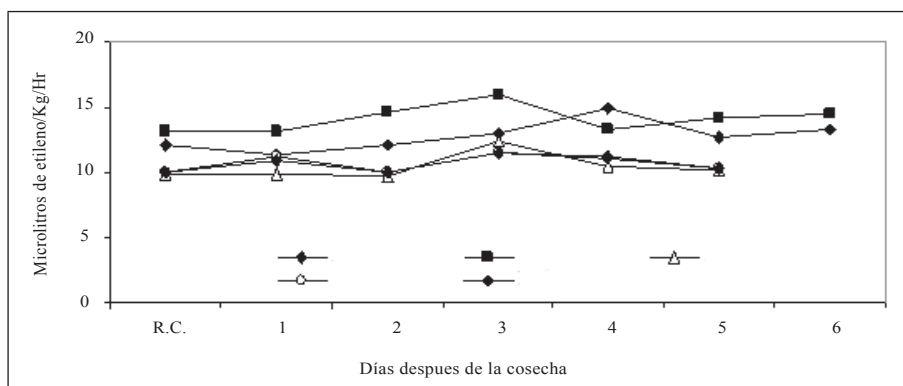
Fuente: elaboración propia.

En los frutos que presentan el incremento de respiración, de manera simultánea a éste se presenta el cambio de color de la piel de los frutos, apareciendo zonas de color rojo característico, las cuales incrementan su tamaño de manera rápida. Aunque los frutos cambian de color, las características más relevantes de calidad de la pulpa, como el contenido de sst, el porcentaje de azúcares reductores, el sabor y la aceptación, no logran alcanzar las características de calidad de los frutos que se cosechan más maduros, caracterizados por zonas de la piel con el color rojo característico, lo que indicaría que las pitahayas, aunque presenten aumento de respiración, al no ir acompañada ésta con mejora significativas de sus características internas, no se podrían considerar como los frutos clásicos climatéricos.

Con respecto a la producción de etileno (figura 5), es mayor en los frutos que se cosechan menos desarrollados o maduros, entre 12 y 13 $\mu\text{l/Kg/hr}$ en frutos de color verde, y alrededor de 10 $\mu\text{l/Kg/hr}$ en las de color rojo. Durante la maduración postcosecha, la producción de etileno se incrementa ligeramente en los frutos verdes y en los frutos con mayor grado de desarrollo ésta se mantiene prácticamente constante, tal y como se comportan los frutos no climatéricos (Saucedo, 1999).

La producción de etileno encontrada en las pitahayas cultivadas en Yucatán (entre 10 y 15 $\mu\text{l/Kg/hr}$), es mayor que la reportada por Nerd y colaboradores (1999), en pitahaya (0.025 a .091 $\mu\text{l/Kg/hr}$), pero menores que los encontrados reportados por Arévalo y Ortiz (1999) (22.18 y 16.20 $\mu\text{l/Kg/hr}$) para pitahaya (*H. undatus*).

Figura 5. Producción de etileno en frutos madurados a 20 °C



Fuente: elaboración propia.

Conservación de pitahayas en refrigeración

Como en otras frutas, la vida útil de la pitahaya se podría incrementar almacenándola en refrigeración. Sin embargo, su almacenamiento a temperaturas relativamente bajas, como 4 °C, después de tres semanas de refrigeración, y tres o cuatro días de posterior transferencia a 20 °C, produce un deterioro significativo de sus características de calidad, ya que se presentan de manera externa la alteración en el cambio de color de la piel en los frutos cosechados con menor madurez, así como hendiduras en gran parte de su piel, y resequedad de las brácteas, deterioros que se suelen conocer como daños provocados por el frío.

Cuando se almacenan a temperaturas intermedias de refrigeración, entre 8 y 13 °C, si el almacenamiento se prolonga durante cuatro semanas también se comienzan a presentar algunas alteraciones externas, principalmente resequedad de las brácteas y reblandecimiento de algunas zonas de la piel.

En general, la intensidad y severidad de los daños que se presentan en la apariencia de las pitahayas refrigeradas, se correlaciona con la duración del almacenamiento, (mientras más tiempo, mayor daño), con el grado de madurez, (mayor grado de madurez, menor daño) y la temperatura de conservación, (menor temperatura mayor daño) y suelen los daños suelen presentarse de manera importante después que los frutos son regresados a la temperatura ambiente.

Con relación a las principales características de calidad de la pulpa, durante el almacenamiento refrigerado a temperaturas intermedias, 8 y 13 °C, el cambio más relevante es la disminución de la acidez. Las demás características se mantienen con pequeños cambios.

Cuando los frutos se transfieren a la temperatura ambiente después de la refrigeración, tienen diferentes comportamientos en sus características de calidad, dependiendo del grado de madurez al momento de la cosecha, así como de la temperatura de conservación.

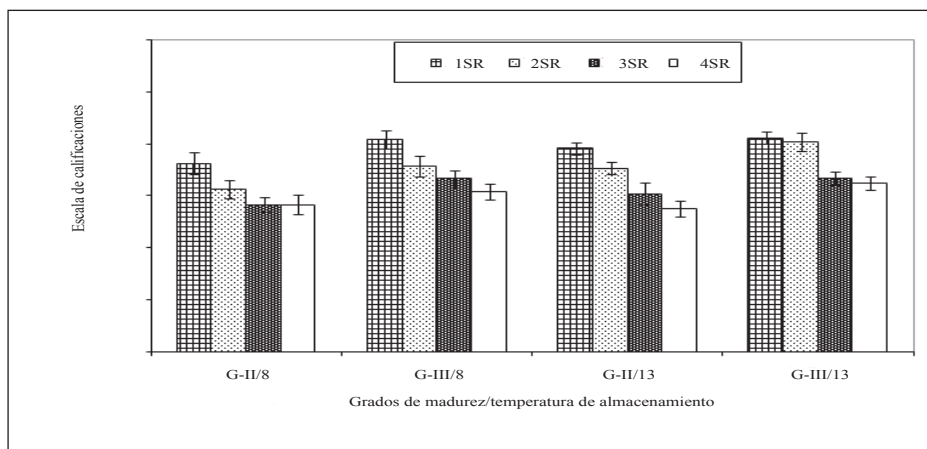
Mientras más baja sea la temperatura de refrigeración y menor sea grado de madurez de los frutos al inicio de su refrigeración, mayor es la pérdida de peso al ser transferidos a temperatura ambiente, sin embargo esta pérdida de peso no afecta la calidad, de los frutos.

Durante la refrigeración a bajas temperaturas se presenta una sensible disminución de la acidez de la pulpa de las pitahayas, mientras mayor sea el tiempo de permanencia en las cámaras de refrigeración, independientemente de la temperatura de almacenamiento y del grado de madurez al momento de la cosecha (figura 6), pero es mayor en los frutos refrigerados a 13 °C.

Los frutos refrigerados con el grado de madurez G-III, independientemente de la temperatura de refrigeración, logran mantener el sabor agridulce característico durante tres semanas, manteniendo este sabor de dos a cuatro días adicionales a 20 °C.

En general, durante el almacenamiento refrigerado a 8 y 13 °C, la aceptación sensorial de los frutos de pitahaya, independientemente de la temperatura, del grado de madurez y del tiempo que duró la refrigeración, la aceptación de los frutos disminuye al transcurrir el almacenamiento

Figura 6. Variación de la aceptación de la pitahaya durante su refrigeración



Fuente: elaboración propia.

Durante la maduración después del almacenamiento refrigerado durante 4 semanas a 8 y 13 °C, los frutos no presentan daños sensibles debido al frío al concluir la refrigeración, pero su calidad disminuye sensiblemente durante las primeras 24 horas después de ser puestas a 20 °C, aparece resequedad en las brácteas y reblandecimiento en diferentes partes de la piel, sin llegar a manifestar los daños por frío, como hendiduras o bloqueo en el cambio de color de la piel como presentan los frutos que se refrigeran a 4 °C.

En términos generales, se puede establecer que las pitahayas cosechadas con el grado de madurez G-II refrigeradas a 13 °C y los frutos con grado de madurez G-III refrigerados a 8 y 13 °C, logran conservar sus características generales de calidad durante tres semanas y dos o cuatro días adicionales a 20 °C, lo que indica que con la refrigeración a 13 °C se puede incrementar la vida útil de las pitahayas de 12 a 23

días en los frutos cosechados con el grado de madurez G-II refrigerados a 13 °C; y de 10 a 25 y 23 días en los refrigerados a 8 y 13 °C, respectivamente.

La refrigeración es una buena alternativa tecnológica para el manejo postcosecha de la pitahaya, que permite incrementar sensiblemente su vida útil al conservar las características de calidad, lo que facilita su comercialización, aunque el almacenamiento a temperaturas por debajo de 8 °C produce daños en los frutos y maduración inadecuada.

El almacenamiento refrigerado de pitahayas a 8 °C con al menos alrededor de 50% de su superficie con el color rojo característico, se puede incrementar disminuyendo la presencia de daños por el frío, si después de dos semanas de conservación se mantienen a 20 °C durante 24 horas, regresándolas después nuevamente a 8 °C y después de una semana adicional a 8 °C se vuelven a poner a 20 °C durante 24 horas, regresándolas posteriormente a la refrigeración. Este tipo de almacenamiento se suele conocer como almacenamiento refrigerado con calentamientos intermitentes. Este procedimiento permite alcanzar una vida útil de 30 días, sin disminución sensible de las características de calidad, con ligera pérdida de acidez, sin disminuir su aceptación sensorial.

Conclusiones

La pitaya es un fruto sabroso y nutritivo que a través de la refrigeración puede prolongar su vida útil al conservar las características de calidad. Las pitahayas cosechadas con zonas de color rosado en la piel (grado de madurez G-II) refrigeradas a 13 °C y las cosechadas con la piel roja (G-III) refrigeradas a 8 y 13 °C, conservan sus características generales de calidad durante tres semanas. Si se conservan a 20 °C sólo preservan sus características óptimas dos o cuatro días adicionales.

Referencias

- Arévalo, M. L. y Y. Ortiz (1999), “Cambios en el patrón respiratorio y fisiología de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en postcosecha”, in M. A., D. Vázquez (eds), II congreso Mexicano y I congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y otras plantas suculentas, Oaxaca, México, pp. 63-64.
- Becerra L., A. (1986), *El cultivo de la pitaya. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*, Bogotá, Colombia, p. 19.

- Bolaños, O. R. (1994), “Maduración del fruto y producción de pitahaya”, Memoria del Primer encuentro nacional del cultivo de la pitahaya, San Marcos, Carazo, Nicaragua.
- Bravo, H., H. (1978), *Las cactáceas de México*, UNAM-México, D.F. vol. I., p. 743.
- Britton, N. L., and N. J. Rose (1963), *The Cactaceae*, Dover Publications, Inc. New York, vol. II., pp. 81-103.
- Centurion-Yah, A. R. (2002), “Fisiología de la maduración y conservación de la pitahaya (*Hylocereus undatus*)”, tesis de Doctorado, Instituto Tecnológico de Mérida, México,
- Fouqué, A. (1972), “Espèces fruitière d’amerique tropicale”, *Fruits*, vol. 27 (3), pp. 200-218.
- Hansen, H. (1989), *Maduración de la Piña. Memorias de la III Reunión Técnica de la Red Latinoamericana de Frutas Tropicales. Manizales*, Colombia, pp. 157-168.
- Nerd, A. and Y. Mizrahi (1998), *Fruit development and ripening in yellow pitaya*, J. Am. Hort. Sci., vol. 123, pp. 560-562.
- Nerd, A., F. Gutman and Y. Mizrahi (1999), *Ripening and postharvest behavior of fruits of two Hylocereus species (Cactaceae)*, *Postharvest Biology and Technology*, vol. 17, pp. 39-45.
- Ortiz, H. Y. D. (1995), “Avances en el conocimiento ecofisiológico de la pitahaya (*Hylocereus undatus*)”, tesis de Doctorado, Programa de Fisiología Vegetal. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, pp. 173.
- Ortiz H., Y. (1999), *Pitahaya, un nuevo cultivo para México*, Colección Textos Politécnicos, Serie Biotecnologías.
- Ramirez M., F. J. (1999), “Caracterización y compatibilidad en pitahaya (*Hylocereus spp*)”, tesis Maestría, Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo Edo. De México, p. 108.
- Rodríguez, C. A. (1995), *El cultivo de la pitahaya, alternativa para Yucatán. En Cultivos y Tecnologías Agrícolas Alternativas para Yucatán*, Rodríguez C.A., Pérez R.G., Balam Q.M., compiladores. Universidad Autónoma de Chapingo. Banco de México-Fira.
- Rodríguez, C. A., A. J. García, S. M. González, R. C. Jiménez (1993), *El cultivo de pitahaya en Yucatán*, Universidad Autónoma de Chapingo, Gob. del Edo de Yucatán.
- Rodríguez, C. A. (2000), *Producción y comercialización de pitahayas en México*, *Claridades Agropecuarias*, vol.82, pp. 3-22.
- Saucedo Veloz, C. (1999), *Fisiología de la maduración y problemas de oscurecimiento interno en frutos de mamey (Pouteria sapota Jacq)*, Requerimientos de

- tratamientos cuarentenarios en frutas tropicales y subtropicales. CYTED. Editado por: Dr. Crescenciano Saucedo Veloz y Dr. Reginaldo Báez Sañudo.
- Yusof, S., S. Mohames and B. A. Abu (1988), *Effect of fruti on quality and acceptability of guava puree*, Food Chemistry, pp. 45-58.
- Weiss, J., A. Nerd, and Y. Mizrahi (1994), *Flowering and pollination requeriments in climbing cacti with fruti crop potential*, HortSciencie, vol. 29, pp. 1487-1492.
- Wills, R. H. H., T. H. Lee, W. B. McGlasson, D. Graham and D. Joyce (1998), *Introducción a la Fisiología y Manipulación Poscosecha de Frutas, Hortalizas y Plantas Ornamentales*, 2 da. edición, ed. Acribia.

Uso potencial de extractos vegetales, aceites esenciales y quitosano para reducir el daño causado por hongos poscosecha en productos hortofrutícolas

*Porfirio Gutiérrez Martínez,
Silvia Bautista Baños,
Laura L. Barrera Necha*

Resumen

Los productos hortofrutícolas tienen gran importancia en la economía del país, sin embargo en la mayoría de las ocasiones, su desarrollo se presenta en lugares de alta humedad y temperatura, condiciones propicias para el desarrollo de patógenos. Una demanda del consumidor en este tiempo es el consumo de frutas y hortalizas sin productos químicos, nocivos para la salud y el medio ambiente, una razón poderosa para desarrollar sistemas alternativos de control, sin la necesidad de utilizar fungicidas, entre ellos están las aplicaciones de extractos vegetales, aceites esenciales y quitosano. En este capítulo, se presentan resultados alentadores sobre la aplicación de los mismos en diversos productos hortofrutícolas que en un futuro cercano permitirá su aplicación para incidir en la reducción de pérdidas de postcosecha de productos hortofrutícolas.

Palabras Clave: Extractos vegetales, aceites esenciales, quitosano, postcosecha.

Introducción

El alto contenido de agua y nutrientes que caracteriza a los productos hortofrutícolas ocasiona que durante el manejo postcosecha, el transporte y el almacenamiento sean muy susceptibles de ser invadidos por hongos patógenos postcosecha (Snowdon, 1991). Estos son microorganismos que dependen principalmente de nutrientes exógenos para la germinación e inicio del proceso de infección, la cual se manifiesta la mayoría de los casos durante el almacenamiento del producto, coincidiendo con el proceso de maduración del producto hortofrutícola (Willis y colaboradores, 1998). Las enfermedades postcosecha han sido controladas con fungicidas sintéticos, sin embargo su uso indiscriminado ha ocasionado daños al medio ambiente y a la salud del hombre y diversos Fitopatógenos han desarrollado resistencia frente a los mismos. Debido a lo anterior es necesario explorar otras alternativas como el uso de compuestos que ocurren naturalmente en plantas y animales con características antifúngicas como los extractos vegetales, aceites esenciales y quitosano.

Extractos vegetales y aceites esenciales

Se sabe que las plantas producen compuestos constitutivos tóxicos a las plagas (Wilson y colaboradores, 1999). Las plantas y los patógenos han co-evolucionado a través de los siglos, produciendo diferentes y variados metabolitos secundarios para resistir la invasión de patógenos. Grainge y Ahmed (1988), reportan que aproximadamente dos mil 400 especies vegetales tienen propiedades fungicidas, bactericidas, nematocidas e insecticidas y de estas 400 especies vegetales presentan actividad fungicida contra 142 hongos diferentes. Los compuestos antimicrobianos pueden estar presentes en diferentes órganos de la planta, por ejemplo, en semillas, flores, tallos, raíces y hojas y su actividad depende de la concentración, método de extracción, edad de la planta y época de cosecha. Los estudios sobre la identificación de los compuestos activos han demostrado que pertenecen a una gran variedad de compuestos químicos como, fenoles, taninos, alcaloides, saponinas, terpenoides, cumarinas, glicósidos, glucosinolatos y esteroides. En cuanto a la eficacia y actividad fungicida de los aceites esenciales producidos por las plantas hay algunos reportes sobre el mejoramiento de la

vida de anaquel de frutos y vegetales (Awuah y Ellis, 2002; Bhaskara y colaboradores, 1998; Bishop y Reagan, 1998).

Control de enfermedades poscosecha

Pocos estudios respecto al uso de extractos vegetales como medios de control de enfermedades postcosecha de productos hortofrutícolas han sido publicados. En frutos de guayaba el desarrollo del hongo *Pestalotia psiddi* fue completamente inhibido con la aplicación de extractos de neem y *Ocimum sanctum* (Pandey y colaboradores, 1983). Resultados positivos fueron reportados por Ahmad y Prasad (1995), para reducir los daños del fruto de calabaza (*Luffa cylindrica*) causados por *Helminthosporium spiciferum* y *Fusarium scirpi* con extractos de varias plantas aromáticas/medicinales. Los resultados de este trabajo muestran que la mejor actividad pre y postfungicida se obtuvo con extractos acuosos de albahaca (*Ocimum sanctum*) y vinca rosa *Cataranthus roseus*. Estudios realizados por Ranasinghe y colaboradores, (2005), establecieron que los aceites esenciales de hoja y corteza de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) redujeron la severidad de la corona en plátanos “Embul” comparados con el control. En frutos de mango la aplicación de compuestos extraídos del pericarpio de nuez de areca (*Areca catechu*) mostraron ser más efectivos que el fungicida benomyl para controlar la antracnosis en este fruto (Yenjit y colaboradores, 2010). En nuestras investigaciones hemos evaluado varios fungicidas derivados de plantas para controlar hongos postcosecha en frutos. En general, el efecto fungicida fue con extractos vegetales obtenidos de hojas. Por ejemplo, las hojas de varias especies de la familia Annonacea, chirimolla (*Annona cherimola*) y anona blanca (*A. reticulata*) redujeron completamente el daño causado por *Alternaria* y *Rhizopus* en ciruelas rojas y amarillas (*Spondias purpurea*) durante el almacenamiento. Los extractos de hojas de papaya (*Carica papaya*) y zapote blanco (*Casimiroa edulis*) mostraron efecto fungicida sobre estos dos hongos y sobre *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de papaya. Otros extractos con efectos fungicidas prometedores fueron los extractos de hojas de tejocote *Crataegus mexicana*, mango (*Mangifera indica*) y ciruela (*Spondias purpurea*) (cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de extractos de hojas de ciruelas amarillas y rojas

<i>Especie vegetal</i>	<i>Alternaria</i>		<i>R. stolonifer</i>		<i>C. gloeosporioides</i>	
	<i>Ciruella amarilla</i>	<i>Ciruella roja</i>	<i>Ciruella amarilla</i>	<i>Ciruella roja</i>	<i>Mango</i>	<i>Papaya</i>
Control	100	90	30	80	80	89
<i>Achras sapota</i>	90	50	10	60	60	33
<i>Annona cherimola</i>	0	80	0	40	-	-
<i>A reticulata</i>	0	100	30	40	90	66
<i>A muricata</i>	40	70	30	40	-	-
<i>Arctostaphylos poliofolia</i>	30	80	20	50	-	-
<i>Bromelia hemisphaerica</i>	40	40	0	80	80	80
<i>Carica papaya</i>	0	70	0	100	50	80
<i>Casimiroa edulis</i>	0	100	10	0		0
Citrus limon	20	100	30	20	80	78
<i>Crataegus mexicana</i>	0	100	20	20	-	-
<i>Crhrysophyllum cainito</i>	80	40	20	40	70	44
<i>Dyospiros ebenaster</i>	20	100	40	30	20	89
<i>Inga jinicuil</i>	90	70	40	50	-	-
<i>Mangifera indica</i>	0	80	-	-	80	100
<i>Persea americana</i>	90	70	20	80	80	89
<i>Phytecellobium dulce</i>	90	100	30	50	-	-
<i>Pouteria sapota</i>	30	90	10	20	80	20
<i>Prunus capuli</i>	30	90	20	40	-	-
<i>Psidium guajava</i>	30	50	10	60	-	-
<i>Spondias purpurea</i>	0	40	20	50	50	78
<i>Tamarindus indicus</i>	30	90	-	-	70	50

Fuente: Material vegetal no disponible. (*Spondias purpurea*), mango (*Mangifera indica*) var. "Ataulfo" y papaya (*Carica papaya*) var. "Maradol roja" sobre el porcentaje de infección de *Alternaria* spp., *Rhizopus stolonifer* *letotrichum gloeosporioides*.

También hemos explorado el efecto fungicida o fungistático de la especie vegetal de acuerdo al órgano vegetal y la época de cosecha. Los resultados mostraron diferencias significativas, ya que los extractos acuosos preparados a partir de hojas de guamúchil (*Phytecellobium dulce*) cosechadas en Agosto y los polvos de hojas cosechadas en Febrero y Octubre redujeron en un 50% el daño de fresas (*Fragaria x*

ananassa) causado por *Botrytis cinérea* y *Rhizopus stolonifer* después del almacenamiento (Bautista-Baños y colaboradores, 2003).

En otro estudio hemos reportado que en frutos de papaya cosechados en el periodo de intensa precipitación, tratados con extractos acuosos y acetónicos de huele de noche (*Cestrum nocturnum*), el porcentaje de infección fue menor (0-6%), mientras que los frutos inoculados con *Fusarium*, tratados con extracto acetónico de esta especie al 1.5%, presentaron sólo 7% de infección (Ramos-García y colaboradores, 2007). La aplicación de los aceites de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y de clavo (*Syzygium aromaticum*) en frutos de papaya presentaron menores porcentajes de infección (13.2% y 3.3%) respectivamente comparados con el control (33.3%) después del almacenamiento a 14 °C (Barrera y Bautista 2008). En otro experimento frutos de papaya sumergidos en aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) o aceite de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) antes y después de la inoculación con *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, indicaron que ambos aceites redujeron el deterioro en 50% y 40%, respectivamente (Bozquez-Molina y colaboradores, 2010).

En nuestras investigaciones con extractos vegetales y aceites esenciales hemos encontrado que la calidad del fruto durante el almacenamiento no es alterado por el efecto de los mismos. En estos estudios los cambios en firmeza, pérdida de peso, y contenido de sólidos solubles del fruto está más asociado con la temperatura de almacenamiento que con los tratamientos de los extractos o aceites esenciales. El uso de aceites esenciales producidos por las plantas para el control de patógenos postcosecha constituye otra alternativa a los fungicidas sintéticos.

Quitosano

El quitosano, es un polisacárido, natural, biodegradable y no tóxico que se obtiene principalmente de la parte externa de crustáceos como cangrejos y camarones. Este biopolímero, se ha convertido rápidamente en una alternativa prometedora para el control de enfermedades en postcosecha. Esto gracias a sus diferentes propiedades entre las que una de las principales es ser un fungicida natural debido a su naturaleza policatiónica, que afecta el crecimiento micelial así como causar daños a nivel de membrana plasmática de las esporas, micelios e hifas. (Badawy y Rabea, 2009; Palma-Guerrero y colaboradores, 2008; 2009). Los efectos antifúngicos del quitosano sobre diferentes fitopatógenos se han relacionado con el nivel de desacetilación de la molécula, la concentración aplicada y la masa molecular del compuesto, entre otros factores (Bautista-Baños y colaboradores, 2006; Hernández-Lauzardo y colaboradores, 2008).

Otras posibles explicaciones de su actividad y efectividad antifúngica se relacionan con el efecto inhibitorio de la síntesis de enzimas hidrolíticas producidas por los hongos como la poligalacturonasa, pectin metil esterasa, pectato liasa y celulasa, así como la posible inducción de compuestos de defensa ante el ataque de patógenos como puede ser la producción de compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, ácido caféico y ciertas fitoalexinas como la risitina. Además de la formación de barreras estructurales (papilas, lignificación, tiolasa) que impiden la penetración del hongo en el hospedero (El Ghaouth, y colaboradores, 1994, 1997; Bhaskara Redy y colaboradores, 2000).

Control de enfermedades poscosecha

Se han reportado una gran cantidad de trabajos al respecto en productos de clima templado, sin embargo con relación al control de patógenos de postcosecha de productos hortofrutícolas tropicales y subtropicales son escasos los reportes. La actividad fungicida del quitosano se ha estudiado, tanto *in vitro* (El Ghaouth y colaboradores, 1992), como *in vivo* (Li y Yu, 2001; Yu y colaboradores, 2007). El quitosano inhibe multitud de especies de hongos, exceptuando, o siendo menos efectivo con aquellas que lo poseen en sus paredes celulares (Roller y Covill, 1999). Los hongos que poseen quitosano como componente de sus paredes celulares deberían ser menos sensibles a la aplicación de dosis razonables de éste por dos razones: (a) La presencia natural de quitosano en las paredes celulares no genera efectos adversos para el microorganismo. (b) Las interacciones electrostáticas del quitosano añadido (exógeno), cargado positivamente, deberían verse menos favorecidas con paredes celulares que poseen quitosano endógeno que cuando éstas poseen material con cargas negativas. Estos estudios han dejado claros los principales requerimientos que deben satisfacerse para lograr una mayor efectividad fungicida del biopolímero. Los más importantes son:

- Alta correlación entre la concentración de quitosano aplicada y la inhibición fúngica. Para una buena efectividad se deberá encontrar la dosis adecuada en cada situación.
- Existen evidencias de que la sensibilidad de los hongos patógenos hacia el quitosano puede cambiar en los diferentes estadios de su desarrollo. Por ejemplo, en el trabajo de Liu y colaboradores (2007), se reporta que el quitosano es mejor inhibidor de la germinación de *Penicillium expansum* que la de *Botrytis cinerea*, contrariamente a lo que se observó en el crecimiento micelial de estas especies. De manera similar, un estudio reciente ha mostrado que el quitosano es más efectivo sobre los conidios que sobre las hifas de algunos hongos fitopatógenos (Palma-Guerrero y colaboradores, 2008).

- También se ha encontrado una relación directa entre la actividad fungicida y el peso molecular del quitosano (Hirano y Nagano, 1989; Bautista- Baños y colaboradores, 2005; Xiao-Fang y colaboradores, 2008).

De igual modo, la actividad fungicida del quitosano se ha asociado desde hace mucho a su carácter catiónico. La interacción de los grupos amino libres, cargados positivamente en medio ácido, con los residuos negativos de las macromoléculas expuestas en la pared de los hongos, cambian la permeabilidad de la membrana plasmática, con la consecuente alteración de sus principales funciones (Palma-Guerrero y colaboradores, 2009).

Otras posibles explicaciones de la actividad fungicida del quitosano se relacionan con la inhibición de la síntesis de algunas enzimas presentes en los hongos (El-Ghaouth y colaboradores, 1992a) o la ocurrencia de alteraciones citológicas, como se ha reportado en el caso de *B. cinerea*, en la que se ha observado al microscopio la aparición de vesículas y/o células vacías carentes de citoplasma, después del tratamiento con soluciones acuosas a 1.75% (p/v) de quitosano (Barka y colaboradores, 2004).

En los estudios realizados en nuestro laboratorio, se observaron que las aplicaciones de quitosano a 1.0% a nivel *in vitro*, redujeron el crecimiento micelial de *Alternaria alternata* y *Colletotrichum sp.*, en más de 80 por ciento. La germinación fue inhibida en 100% y la esporulación se redujo notablemente a la concentración de quitosano antes mencionada (cuadro 2). Es importante mencionar que se observo a nivel microscópico alteraciones en la forma de las esporas de los patógenos, siendo muy evidente en *A. alternata*, no así en *Colletotrichum sp.* Estudios actuales analizan el efecto del quitosano por microscopia electrónica de transmisión y de barrido, con la intención de obtener más información del mecanismo de acción del quitosano en el control de *A. alternata*.

Cuadro 2. Efecto de quitosano en el crecimiento micelial, inhibición y esporulación de *Alternaria alternata* a los 12 días de aplicados los tratamientos

Concentración de quitosano (%)	Crecimiento micelial (mm)	Inhibición del crecimiento micelial (%)	Esporulación (Núm. de esporas ml ⁻¹)
0	68.00	0.0 e	1.43X10 ^{6b}
0.05	63.66	11.57 d	2.26 X10 ^{6a}
0.1	55.32	23.15 c	2.45 X10 ^{6a}
0.5	32.32	55.09 b	2.13 X10 ^{6a}
1.0	21.32	70.37 a	1.0 X10 ^{6c}

Fuente: Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey $P < 0.01$).

En investigaciones con quitosano a 1.0%, hemos encontrado que la calidad del fruto de mango (*Mangifera indica*, c.v. Tommy atkins) y platano (*Musa paradisiaca*, c.v. Enano gigante) durante el almacenamiento a bajas temperaturas, 12 y 15 °C respectivamente no es alterada por el Biopolímero. Además de analizar variables como sólidos solubles, firmeza, pérdida de peso, se han iniciado los estudios sobre el efecto del quitosano en la inducción de proteínas de defensa en los frutos antes mencionado y cabe mencionar que se evaluarán biopelículas de quitosano en combinación, con extractos vegetales, aceites esenciales y otros productos naturales con el fin de reducir la incidencia de patógenos y de mantener la calidad postcosecha de los productos hortofrutícolas.

El empleo de este polímero como película comestible para conservar frutos libre de patógenos, es una alternativa viable a los métodos de conservación de los productos agrícolas durante la fase postcosecha.

Referencias

- Ahmad, S. K. and J. S. Prasad (1995), "Efficacy of foliar extracts against pre and post-harvest diseases sponge-gourde fruits", *Letters Applied Microbiology*, vol. 21, pp. 373-375.
- Awuah, R.T. and W. O. Ellis (2002), *Effects of some groundnut packaging methods and protection with Ocimum and Syzygium powders on kernel infection by fungi*. *Micopathologia*, vol. 154, pp. 26-29.
- Badawy, M. E. I. and E. I. Rabea (2009), *Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit*, *Postharvest Biology and Technology*, vol. 51 (1), pp. 110-117.
- Barka, E. A., P. Eullaffroy, C. Climent and G. Climent (2004), *Chitosan improves development, and protects Vitis vinifera L. against Botrytis cinerea*, *Plant Cell Reports* 22, pp. 608-614.
- Barrera, N. L., B. S. Bautista, M. E. Flores and E. A. Rojas (2008), "Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya L.*)", *Plant Pathology Journal*, vol. 7, pp. 174-178.
- Bautista-Baños S., E. García-Domínguez; L. L. Barrera-Necha, R. Reyes-Chilpa, C. L. Wilson (2003), "Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamúchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 29, pp. 81-92.

- Bautista B. S., A. N. Hernández, M. G. Velázquez del Valle, M. E. Bosquez y D. D. Sánchez (2005), "Chitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas", *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 7, pp. 1-6.
- Bautista-Baños, S., A. N. Hernández-Lauzardo, M. G. Velázquez-del Valle, M. Hernández-López, E. Ait Barka, E. Bósquez-Molina and C. L. Wilson (2006), "Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities", *Crop Protection*, vol. 25, pp. 108-118.
- Bhaskara, M.V., P. Angers, A. Gosselin and J. Arul (1998), "Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits", *Phytochemistry*, vol. 47, pp. 1515-1520.
- Bhaskara, M. V., K. Belkacemi, F. C. Corcuff and J. Arul, P. Angers (2000a), "Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. Postharvest Biol", *Technol*, vol. 20, pp. 39-51.
- Bishop, C. D. and L. Reagan (1998), "Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on Dutch white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*", *J. Essential Oil Research*, vol. 10, pp. 57-60.
- Bosquez, M. E., J. E. Ronquillo, B. S. Bautista, C. J. R. Verde and L. J. Morales (2010), "Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 57, pp. 132-137.
- El-Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier and A. Asselin (1992a), "Effect of chitosan and other polyions on chitin deacetylase in *Rhizopus stolonifer*", *Experimental Mycology*, vol. 16, pp. 173-177.
- El Ghaouth, A., J. Arul, C. Wilson, N. Benhamou (1994), "Ultrastructural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit", *Physiol. Mol. Plant pathol*, vol. 44. pp. 41-432.
- El Ghaouth, A., J. Arul, C. Wilson, N. Benhamou (1997), "Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit", *Postharvest Biol. Technology*, vol. 12, pp. 183-194.
- Grainge, M. and S. Ahmed (1988), *Handbook of Plants with Pest-control Properties*, John Wiley & Sons, NY, pp. 470.
- Hernández-Lauzardo, A. N., S. Bautista-Baños, M. G. Velázquez-del Valle, M. G. Méndez-Montealvo, M. M. Sánchez-Rivera and L. A. Bello-Pérez (2008), "Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill", *Carbohydrate Polymers*, vol. 73, pp. 541-547.

- Hirano, A. and N. Nagano (1989), "Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens", *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 11, pp. 3065-3066.
- Liu, J., S. Tian, X. Meng and Y. Xu (2007), "Effects of chitosan on control of post-harvest diseases and physiological responses of tomato fruit", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 44, pp. 300-306.
- Palma-Guerrero, J. H. Jansson, J. Salinas and J. V. Lopez-Llorca (2008), "Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and bio-control fungi", *Journal of Applied Microbiology*, vol. 104, pp. 541-553.
- Palma-Guerrero, J., I. C. Huang, H. B. Jansson, J. Salinas, L. V. Llorca-López and N. D. Read (2009), "Chitosan permeabilizes the plasma membrane and kills cells of *Neurospora crassa* in an energy dependent manner", *Fungal Genetics and Biology*, vol. 46, pp. 585-594.
- Pandey, R.S., S. N. Bhargava, D. N. Shukla and D. K. Dwidevi (1983), "Control of Pestalotia fruit of guava by leaf extracts of two medicinal plants", *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 2, pp. 15-16.
- Ramos, G.M., C. S. Ortega, B. S. Bautista, T. I. Alia y S. D. Guillén (2007), *Actividad fungicida de extractos de Cestrum nocturnum L. y su efecto en la calidad postcosecha de frutos de papaya (Carica papaya). Bioplággidas y Control Biológico*, México, Monterrey, Centro de Investigación en Química Aplicada, pp 231.
- Ranasinghe L., B. Jayawardena and K. Abeywickrama (2005), "An integrated strategy to control post-harvest decay of Embul banana by combinig essential oils with modified atmosphere packaging", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 40, pp. 97-103.
- Roller, S. and N. Covill (1999), "The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice", *International Journal of Food Microbiology*, vol. 47, pp. 67-77.
- Snowdon, A. L. (1991), *A Colour Atlas of Postharvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables*, vol. 1, Fruits. CRC Press, London, p. 302.
- Willis, R., B. McGlasson, D. Graham and D. Joyce (1998), *Postharvest. An Introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals*, 4th edition, University of New South Wales, Press, Sydney Au.
- Wilson, C.L., A. El Gaouth and E. Winiewsky (1999), "Prospecting in nature's storehouse for biopesticides", *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 17, pp. 49-53.
- Xiao-Fang, L., F. Xiao-Qiang, Y. Sheng, W. Ting-Pu and S. Zhong-Xing (2008), "Effects of Molecular Weight and Concentration of Chitosan on Antifungal Activity against *Aspergillus Niger*", *Iranian Polymer Journal*, vol. 17, pp. 843-852.
- Yenjit, P., M. Issarakraisita, W. Intana, K. Chantrapromma (2010), "Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of Areca catechu against Col-

- letotrichum gloeosporioides in vitro and in mango fruit”, *Postharvest Biology and Technology*, vol. 55, pp. 129-132.
- Yu, T.; Li H. Y. and X. D. Zheng (2007), “Synergistic effect of chitosan and *Cryptococcus laurentii* on inhibition of *Penicillium expansum* infections”, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 114, pp. 261-266.

Incorporación de compuestos fenólicos a películas y recubrimientos comestibles

*Cesiah Jemimah Guillén-Román, Ramón Guevara-González,
Lorenzo Guevara-Olvera, Francisco Villaseñor-Ortega
y Cristina I. Pérez-Pérez*

Resumen

El uso de películas y recubrimientos comestibles es una técnica ampliamente utilizada para reducir el deterioro de los productos alimenticios, inhibiendo procesos fisiológicos, procesos físicos, aspectos microbiológicos o procesos químicos. En los recubrimientos pueden ser incorporadas sustancias con actividad antioxidante y antimicrobiana, sin embargo el uso de compuestos sintéticos pueden generar toxicidad en el alimento y como consecuencia en el consumidor. Esta problemática, ha acrecentado la búsqueda de nuevas sustancias con estas características, pero de origen natural. Hoy en día el interés por la incorporación de compuestos fenólicos se ha incrementado, debido a los resultados favorables en un sin número de investigaciones que comprueban su actividad antimicrobiana y antioxidante.

Palabras clave: Recubrimientos y películas comestibles, compuestos fenólicos, antioxidantes, antimicrobianos.

Introducción

Una película o recubrimiento comestible es definido como una capa delgada de material que puede ser ingerida por el consumidor. Éste puede aplicarse sobre o entre

los alimentos por inmersión, cepillado, rociado o asperjado (Wu y colaboradores, 2002), y al igual que los plásticos sintéticos, también puede funcionar como una barrera selectiva contra la transmisión de vapor de agua y gases tales como el CO₂ y el O₂, además de proporcionar integridad mecánica y facilitar el manejo de los alimentos (Gennadios y colaboradores, 1997; Wu y colaboradores, 2002). Otra característica importante de las películas es que pueden fungir como vehículo para la liberación de sabores, nutrientes y agentes antimicrobianos (Wu y colaboradores, 2002; Cha y colaboradores, 2003). La liberación de éstos compuestos activos o funcionales es característico de las nuevas tecnologías de empaqueo como lo son los llamados “empaques activos” (Suppakul y colaboradores, 2003).

Empaques activos

Los empaques activos e inteligentes pueden proveer diversos beneficios, tanto en calidad y propiedades sensoriales, como en el rubro de seguridad alimentaria del producto empacado inhibiendo procesos fisiológicos como la respiración en frutas y vegetales, procesos físicos como el envejecimiento del pan, aspectos microbiológicos como deterioro por microorganismos o procesos químicos como la oxidación lipídica (Kruijf y colaboradores, 2002). De ésta manera un empaque que contiene como sustancia activa compuestos absorbedores de oxígeno, ayudarán a prevenir la rancidez causada por la oxidación de grasas (De Jong y colaboradores, 2005).

En el empaque activo se presenta un dinamismo, por el incremento o disminución de diferentes variables, que van a interactuar para preservar el alimento. En este rubro los mas promisorios son los empaques con actividad antimicrobiana y antioxidante (Suppakul y colaboradores, 2003; Dutta y colaboradores, 2009).

Empaques con actividad antimicrobiana

Un empaque antimicrobiano es un sistema capaz de inhibir los microorganismos patógenos o causantes de deterioro que podrían contaminar a un alimento (Han, 2000; Güçbilmez y colaboradores, 2007). Han (2000), señala que su mecanismo de acción se basa en la extensión de la fase de latencia y la reducción de la velocidad de crecimiento de los microorganismos, lo que prolonga la vida de anaquel y mantienen la seguridad microbiológica de los alimentos. El uso de estos materiales de empaque no significa que pueden sustituir las buenas prácticas de higiene en los alimentos, no

obstante pueden ser una barrera adicional contra el crecimiento de microorganismos patógenos (Pérez-Pérez y colaboradores, 2006).

Empaques con actividad antioxidante

Al igual que los empaques con antimicrobianos, los empaques con antioxidantes es una categoría de los empaques activos con un prometedor crecimiento, gracias a su funcionalidad al incrementar la vida de anaquel de productos alimenticios. Algunas formas del deterioro de los alimentos pueden ser provocados por la oxidación como el desarrollo de malos sabores, cambios de coloración y pérdida de nutrientes (Byun y colaboradores, 2010; Siripatrawan & Harte, 2010).

Para prevenir la oxidación en los alimentos, muchos antioxidantes sintéticos o naturales han sido incorporados en empaques. El Butil-Hidroxi-Anisol (BHA) y Butil-Hidroxitolueno (BHT), son los antioxidantes sintéticos más utilizados en la prevención de la oxidación de los productos alimenticios, su uso ha disminuido por su presunta toxicidad y por ser agentes carcinogénicos (Gómez-Estaca y colaboradores, 2009; Byun y colaboradores, 2010). Thériault y colaboradores (2006), comenta que la alta actividad antioxidante de los compuestos fenólicos los hace sumamente atractivos para la industria alimentaria, promoviendo su utilización como sustitutos de antioxidantes sintéticos.

Algunos sistemas de empaques activos que se están desarrollando son liberadores de conservadores, llamados “BioSwitch”, término ya patentado que hace referencia a la liberación del conservador solo si ocurre crecimiento bacteriano, o detecta cambios como estímulos externos, respondiendo a ellos automáticamente. Estos estímulos pueden ser cambios en la temperatura, pH, humedad, UV, o la presencia de ciertos metabolitos (De Jong y colaboradores, 2005). Debido a lo anterior, es necesario tener en cuenta diversos factores en la elaboración de empaques, sin minimizar las interacciones que pudiesen presentarse en el sistema recubrimiento-sustancia activa-alimento.

Factores a considerar durante el desarrollo de empaques

De acuerdo con Han (2000), la mayor parte de los sistemas de empaque se encuentran representados por:

A) Sistemas empaque/alimento

En el que un alimento sólido o un líquido de baja viscosidad está en contacto con el material de empaque. Ejemplos de este tipo de empaques, son los productos cárnicos listos para consumirse empacados o envueltos individualmente, en los que los compuestos antibacterianos contenidos en el sistema migran hacia el alimento a través de la difusión entre el material de empaque y el alimento.

B) Sistemas empaque/espacio de cabeza/alimento

Se encuentra representado por alimentos empacados en empaques flexibles, botes, copas, latas y cartones. Aquí, la evaporación o la distribución equilibrada de una sustancia entre el espacio de cabeza y el material de empaque y/o el alimento son parte de los principales mecanismos de migración para estimular la distribución interfacial del agente antimicrobiano. Adicionalmente, existen sistemas en los que sustancias antimicrobianas activas de grado no alimentario pueden incorporarse en el empaque sin la transferencia de éstas hacia el alimento (Quintavalla y Vicini, 2002).

Otros factores de relevancia en el diseño de un empaque con actividad antimicrobiana, sobre los que se debe poner especial atención son: las condiciones de proceso de elaboración de los empaques, características de los compuestos antimicrobianos y de los alimentos, las interacciones entre los agentes antimicrobianos y las sustancias e ingredientes formadoras de películas, la temperatura de almacenamiento, los coeficientes de transferencia de masa, las propiedades químicas y físicas de los materiales de empaque; así como el costo e inocuidad de los agentes antimicrobianos (Suppakul y colaboradores, 2003).

La actividad antimicrobiana de los agentes antimicrobianos incorporados podría verse deteriorada durante el proceso de elaboración de los empaques ya sea por el empleo de extrusión, altas temperaturas, fuerza de cizalla y altas presiones.

Relaciones e interacciones entre las sustancias antimicrobianas, los recubrimientos y alimentos

Los componentes y propiedades fisicoquímicas del alimento afectan significativamente la efectividad de las sustancias antimicrobianas y su liberación prolongada (Greener y Fennema, 1994). De ésta manera el pH puede cambiar el grado de ionización y la

solubilidad de las sustancias antimicrobianas (Han, 2000; Quintavalla y Vicini, 2002; Suppakul y colaboradores, 2003).

Un incremento o disminución en las temperaturas de almacenamiento puede incrementar o disminuir la migración de los agentes activos contenidos en las películas (Quintavalla y Vicini, 2002). La adición de agentes con actividad antimicrobiana podría afectar de manera negativa al proceso de elaboración, maleabilidad, transparencia, permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno de los materiales de empaque (Quintavalla y Vicini, 2002; Suppakul y colaboradores, 2003).

Se ha observado que la transparencia de las películas plásticas puede disminuir con la adición de agentes activos (Quintavalla y Vicini, 2002). Otras propiedades que podrían afectarse por la adición de agentes antimicrobianos son la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno (Suppakul y colaboradores, 2003).

El control de la difusión y la velocidad de migración de los agentes antimicrobianos contenidos en los empaques, es muy importante. Se puede emplear un modelo matemático de transferencia de masa para predecir la concentración del agente en la película/recubrimiento en función de el tiempo (Suppakul y colaboradores, 2003). Han (2000) ha propuesto modelos que describen la migración de agentes antimicrobianos contenidos en sistema de empaque simples y de capas dobles o triples.

Con estos modelos de transferencia de masa es posible calcular la concentración del agente activo por arriba de la concentración efectiva crítica y, por lo tanto, la vida de anaquel del alimento (Quintavalla y Vicini, 2002; Suppakul y colaboradores, 2003). Aunque la incorporación de compuestos antimicrobianos puede realizarse en materiales sintéticos y naturales. La atención se ha enfocado más hacia la incorporación de compuestos antimicrobianos en biopolímeros, ya que éstos, además de funcionar como barreras selectivas contra la transmisión de gases, vapores, solutos, pueden proporcionar protección mecánica y funcionar como acarreadores de aditivos, antioxidantes, nutrientes y compuestos antimicrobianos, además de tener la ventaja adicional de ser sustratos biodegradables (Wu y colaboradores, 2002; Khwalidia y colaboradores, 2004). Los hidrogeles son los materiales más utilizados en la liberación de compuestos. Éstos están constituidos por redes hidrofílicas tridimensionales de cadenas poliméricas capaces de embeber grandes cantidades de agua en orden de miles de veces su peso seco (Farris y colaboradores, 2009).

Son empleados extensamente en el ámbito farmacéutico y biomédico como lentes de contacto suaves, vendajes para heridas, sistemas liberadores de drogas, biosensores e implantes en ingeniería de tejidos (Gao y colaboradores, 2009). Las propiedades mecánicas, permeabilidad a solventes, capacidad de hinchamiento y comportamiento hidrofílico/hidrofóbico, dependen del polímero en cuestión y de la síntesis del hidrogel, sin embargo cuando se ha formado el hidrogel su capacidad

de hinchamiento, permeabilidad y fuerza mecánica, pueden ser modificados en respuesta a estímulos externos como pequeños cambios en pH, fuerza iónica, temperatura y radiación electromagnética. Entre los biopolímeros formadores de hidrogeles se encuentran la quitosana, el colágeno y los alginatos (Kim y colaboradores, 2002; Bu y colaboradores, 2005).

Agentes antimicrobianos

La incorporación de agentes antimicrobianos naturales y sintéticos en empaques comestibles se ha desarrollado como una alternativa eficaz para controlar el crecimiento de microorganismos, los más utilizados son los ácidos orgánicos y sus sales, las bacteriocinas y extractos de plantas (Kim y colaboradores, 2002; Sivarooban y colaboradores, 2008; Janjarasskul y Krochta, 2009).

Numerosos estudios han demostrado que los compuestos antimicrobianos son más efectivos en reducir los patógenos en alimentos, cuando son incorporados en una película comestible y colocada en la superficie del alimento que cuando es aplicado directamente por aspersión sobre el producto (Kristo y colaboradores, 2008; Kim y colaboradores, 2002; Pyla y colaboradores, 2010).

Un número importante de productos obtenidos del reino vegetal, han mostrado su utilidad como antimicrobianos naturales, un ejemplo de ello es el aceite esencial de *Crysocoma ciliata*. Este aceite mostró actividad antimicrobiana ante *A. niger*, *A. flavus*, *P. notatum* y *C. albicans* (Afolayan y Ashafa, 2009; Oussalah y colaboradores, 2004).

De igual manera, los alcaloides y compuestos fenólicos, poseen efectos antimicrobianos y antioxidantes. Los más estudiados son los compuestos fenólicos, debido a su alto consumo y ubicuidad en plantas.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, que parecen tener un papel importante en la protección de las plantas contra ataque microbiológico (Miralai y colaboradores, 2008). Además fungen como atrayentes de polinizadores, agentes alelopáticos, protectores contra rayos ultravioleta y como moléculas de señalización en la formación de nitrógeno fijado en los nódulos de las raíces de leguminosas (Crozier y colaboradores, 2006; Petti y Scully, 2009).

Se encuentran en frutas, verduras, cereales, bebidas y especias, se caracterizan por tener por lo menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo anclados.

Cerca de 8000 estructuras han sido reportadas al igual que su extensa dispersión en el reino vegetal; éstas van desde simples con bajo peso molecular y compuestos con un solo anillo aromático, hasta taninos y polifenoles derivados (Crozier y colaboradores, 2006).

Ellos pueden clasificarse de acuerdo al número y estructura de sus átomos de carbono y comúnmente se encuentran conjugados con azúcares, proteínas y ácidos orgánicos. Diversos estudios han sugerido que estos compuestos podrían ser de gran utilidad para la prevención de una serie de enfermedades incluyendo: neurodegenerativas, del corazón, diabetes, cáncer (Veloz-García y colaboradores, 2004; Massella y colaboradores, 2005; Heimler y colaboradores, 2006; Ryan y Hynes, 2007; Lambert y colaboradores, 2007; Petti y Scully, 2009).

Compuestos fenólicos como antioxidantes naturales

Los compuestos fenólicos tienen propiedades multifuncionales, la más importante de éstas es su capacidad de actuar como antioxidantes, protegiendo al organismo contra especies reactivas del oxígeno (Heimler y colaboradores, 2006). El efecto antioxidante de estos compuestos puede producirse mediante diferentes mecanismos. El más importante depende de la estructura química del compuesto fenólico involucrado. La neutralización de los radicales libres puede ser mediante la donación de un átomo de hidrógeno o un electrón proveniente del anillo aromático del compuesto fenólico (Heimler y colaboradores, 2006; Petti y Scully, 2009).

Se ha demostrado la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos *in vitro*, aunque en ocasiones es difícil de alcanzar la prueba de la actividad *in vivo*, ya que presentan una sensación de astringencia al ser consumidos y por ello es necesario enmascarar el sabor, para su incorporación en los productos alimenticios, a manera de encapsulación.

El papel de los compuestos polifenólicos con relación a la astringencia no se ha establecido. Se cree que está asociada a la precipitación de glicoproteínas de la saliva y mucopolisacáridos en la lengua, lo que resulta en el desarrollo de la sensación de constricción, aspereza y sequedad en el paladar (Haslam, 1974; Kosaraju y colaboradores, 2008).

Existen diversas interacciones que pueden establecer los compuestos polifenólicos en sistemas biológicos, una de ellas son las interacciones de los flavonoides con las membranas celulares. Éstas interacciones surgen como un mecanismo importante, ya que, debido a las propiedades químicas de los flavonoides, éstos no pueden ser absorbidas por las células, y podrían seguir ejerciendo cierta acción biológica a este nivel (Fraga, 2010).

Interacción de flavonoides con proteínas y lípidos de membrana

Los flavonoides pueden interactuar con diferentes componentes de la membrana, como los lípidos y proteínas. Éstas interacciones, pueden desencadenar eventos perjudiciales como oxidación lipídica y disrupción de la membrana (Oteiza y colaboradores, 2005; Petti y Scully, 2009; Fraga, 2010).

Las interacciones de los flavonoides con proteínas de membrana, como aquellas que funcionan como receptores, transportadores, canales y enzimas, pueden afectar potencialmente su actividad biológica. Entre los transportadores de membrana, la super familia ABC es especialmente importante, debido a su participación en un sin número de movimientos transmembranales de compuestos orgánicos e inorgánicos, además en la absorción de nutrientes y en el flujo de metabolitos intracelulares (Yazaki, 2006; Passamonti y colaboradores, 2009; Fraga, 2010).

Las interacciones con lípidos de membrana están relacionadas con el tamaño de molécula, estructura tridimensional y su comportamiento hidrofílico o hidrofóbico. Éstos parámetros químicos determinan la naturaleza y extensión de las interacciones con la bicapa lipídica. Los flavonoides de carácter hidrofílico pueden unirse a las cabezas polares de los lípidos localizados en la interface agua-lípido de las membranas. Por otro lado, los flavonoides de carácter hidrofóbico, pueden llegar y cruzar la bicapa lipídica (Oteiza y colaboradores, 2005; Fraga, 2010).

Interacciones proteína-tanino

Se han atribuido a los taninos diversas actividades biológicas como antibacteriana, molusquicida, antihelmíntica, antihepatóxica, antiviral, antitumoral y citotóxica, inhibidora enzimática. Al menos tres propiedades de los taninos han sido responsables de esos comportamientos: habilidad quelante con metales, propiedad antioxidante y capacidad de atrapar radicales libres, habilidad de formar complejos con macromoléculas como proteínas incluyendo enzimas y polisacáridos (Naczki y colaboradores, 2011).

La interacción con proteínas es una de las más importantes y se conoce que los taninos tienen mayor afinidad con las proteínas ricas en prolina y de conformación flexible (enzimas de la saliva, caseína, colágeno-gelatina, siendo la última abundante en la piel, se aprovecha para curtir el cuero), pero no con las estructuras rígidas secundarias y terciarias. El uso terapéutico de los taninos podría aprovechar su capacidad para inactivar enzimas fisiológicamente importantes (Marcano y Hasegawa, 2002; Petti y Scully, 2009).

Los complejos tanino-proteína se forman normalmente por enlaces de hidrógeno entre los grupos fenólicos de los primeros y los grupos cetoamida de las segundas y por interacciones hidrofóbicas entre los anillos aromáticos de los taninos y las regiones hidrofóbicas de las proteínas. El proceso de formación del complejo es normalmente reversible y tanto las proteínas como los taninos pueden, en principio, ser recobrados intactos.

Los factores que determinan la relativa afinidad de las proteínas por los taninos son el tamaño de la molécula, su composición amino-acídica y el pH. Las proteínas más grandes tienden a enlazarse más fuertemente a los taninos, ya que se ha observado que la afinidad de los taninos por las proteínas se incrementa proporcionalmente con el peso molecular de estas últimas, esto deja de cumplirse cuando el tamaño de la molécula del tanino es tal que se insolubiliza y pierde totalmente la posibilidad de enlazarse (Kumar y Horigome, 1986).

El pH también tiene gran influencia en el proceso. Mientras más cercano está al punto isoeléctrico de la proteína, mayor será el grado de precipitación del complejo. Esto resulta ser de gran importancia para el rol de los taninos en la digestión, por cuanto el pH varía de una a otra región del tracto digestivo (Haslam, 1989; Hagerman, 1989).

Efecto antimicrobiano de los taninos

Diversos estudios han demostrado las interesantes propiedades antimicrobianas que presentan los taninos, esto se ha visto reflejado ante diversos hongos como *Merulius lacrymans*, *Penicillium ssp.*, *Crinipellis pernicioso*, *Colletotrichum graminicola* y *dermatophytes*. Las levaduras también son inhibidas por taninos. Chung y colaboradores, 1998, demostraron que el ácido tánico, taninos del quebracho y semillas del sorgo son antimicrobianos ante *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* (Guevara-González y colaboradores, 2006).

En el caso de las bacterias, el ácido tánico, extractos de taninos hidrolizables y condensables de diferentes plantas, muestran actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Shigella dysenteriae* (Guevara-González y colaboradores, 2006).

Polifenoles presentes en el té verde inhiben la acción de glucosiltransferasas de *Streptococcus sp.*, que interviene en la síntesis de glucanos a partir de la sacarosa, que es responsable de la producción de las caries dentales (Marcano y Hasegawa, 2002; Petti y Scully, 2009).

Además de hongos y bacterias, algunos polifenoles en especial, elagitaninos C-glucosídicos encontrados en *Cowania mexicana*, han demostrado exhibir un significativo efecto inhibitorio ante el virus Epstein-Barr, herpes simple tipo 1 y 2 (Freitas y Mateus, 2010).

Guevara González y colaboradores (2006), concluyen que la actividad antimicrobiana de los taninos puede ser un fenómeno multifactorial que depende del extracto del tanino y del microorganismo en cuestión.

Al igual que los taninos los flavonoides son buena fuente de agentes antimicrobianos, ya que *Tagetes patula* mostró buena actividad antibacterial particularmente en extractos obtenidos de las flores (Faizi y colaboradores, 2008), de la misma forma flavonoides contenidos en la cáscara de *Citrus bergamia* Risso mostró capacidad antibacterial ante bacterias gram (-) (Mandalari y colaboradores, 2007).

Extracción de compuestos fenólicos

El proceso de extracción de polifenoles es determinado por el tipo de compuestos fenólicos que serán extraídos y si el objetivo es cualitativo o cuantitativo. A menudo es utilizada la extracción asistida de ultrasonido para la recuperación de fenólicos en plantas mediante solventes. Éste proceso de extracción es más rápido y más completo en comparación con métodos tradicionales como maceración/agitación, debido a que el área de superficie en contacto de la fase sólida con la líquida es mucho mayor por la disrupción de las partículas generadas (Escribano-Bailon y Buelga, 2003).

Los solventes más empleados en la extracción de compuestos fenólicos son agua, metanol, etanol y acetona (Turkmen y colaboradores, 2006; Miralai y colaboradores, 2008). El metanol es el solvente más utilizado, principalmente en la extracción de flavononas, flavonas y flavan-glicósidos, metoxi-flavonas y dímeros de flavonas (Escribano-Bailon y Buelga, 2003; Chen y colaboradores, 2007).

La acetona es otro solvente utilizado considerablemente. Se han realizado diversos estudios comparativos para determinar la mayor eficiencia entre este solvente y el metanol, no obstante éstos tienen distinta especificidad en la extracción de sustancias polifenólicas, siendo el metanol el mejor solvente para la extracción de catequina, mientras que los mejores rendimientos para las procianidinas se obtienen con acetona a 70% (Escribano-Bailon y Buelga, 2003).

De igual manera se ha comprobado que mezclas acuosas de metanol, son eficientes para la extracción de polifenoles unidos a matrices fibrosas polares, mientras que mezclas acetona-agua, son más utilizadas para la extracción de polifenoles a partir de matrices proteínicas, ya que ellas parecen degradar complejos polifenol-proteína.

De acuerdo a Haslam (1989), sin importar el método utilizado, la cantidad de taninos extraídos, es mucho menor que los que no lo son (Escribano-Bailon y Buelga, 2003).

Películas con propiedades antioxidantes y antimicrobianas

Diversos extractos fenólicos con actividad antioxidante han sido integrados en materiales formadores de películas. Siripatrawan y Harte (2010), integraron extractos fenólicos de té verde a materiales filmogénicos a base de quitosana, aumentando hasta cerca de 15 veces la capacidad antioxidante de la quitosana, con la incorporación de 20% de extracto de té verde bajo el método de DPPH. La incorporación de estos extractos disminuyó la permeabilidad al vapor de agua, se incrementó el esfuerzo a la tensión y el porcentaje de deformación con el aumento de la concentración de extracto acuoso de té verde de 2% hasta 20% p/p.

Gómez-Guillén y colaboradores (2007), integraron compuestos fenólicos obtenidos de las hojas de dos diferentes ecotipos de murta (*Ugni molinae* Turcz), a películas a base de gelatina de atún, las hojas de murta proporcionaron una elevada capacidad antioxidante a los materiales filmogénicos, siendo los compuestos fenólicos ricos en derivados de ácido gálico, miricetina y quercetina. Al incorporar extractos de hojas de Soloyo chico y Soloyo grande (*Ugni molinae* Turcz) en películas de gelatina de atún, se observó un incremento en la permeabilidad al vapor de agua del material filmogénico con el Soloyo grande, mientras el Soloyo chico la disminuyó, a pesar de ello ambos disminuyeron las propiedades mecánicas del material.

Gómez-Estaca y colaboradores (2009), integraron extracto de borage en películas a base de gelatina de pescado comercial y gelatina a partir de *Solea spp*. Midieron su actividad antioxidante por el método FRAP, e hicieron una comparación con BHT en las mismas matrices poliméricas. Las películas con extracto de borage llegan a un porcentaje de inhibición de 61% en un tiempo de cuatro minutos, mientras el BHT sólo alcanza una inhibición de 24% en el mismo tiempo. Mostrando nuevamente la elevada actividad de los antioxidantes naturales frente a los antioxidantes comerciales, sin los riesgos de toxicidad que éstos exhiben. Gómez-Estaca y colaboradores (2009), comenta que la incorporación de extracto de borage en las películas de proteína de pescado, modifican ligeramente sus propiedades fisicoquímicas viéndose más afectado el esfuerzo a la tensión.

Norajit y colaboradores (2010), utilizaron, ginseng rojo y ginseng blanco en forma de extractos etanólicos (60%) y extruidos (115°C y 130°C), para ser incorporados en una matriz polimérica a base de alginato de sodio, incrementando el porcentaje de inhibición del alginato de 5% hasta 20%-30% con los extractos etanólicos y hasta 60% con el proceso de extrusión, la incorporación de los extractos mostraron un

incremento en la permeabilidad al vapor de agua y una disminución en las propiedades mecánicas.

Guillén-Román (2011), incorpora extractos fenólicos de *Acaciella angustissima* obtenidos con tres diferentes mezclas de solventes, en una matriz de alginato de sodio, incrementando las propiedades antioxidantes de la suspensión filmogénica de alginato de sodio de 46% hasta 89%-97% de inhibición del DPPH dependiendo del extracto utilizado. Los extractos de *A. angustissima* incrementaron la saturación de color en la película de alginato de sodio, disminuyeron la permeabilidad de los materiales filmogénicos y disminuyeron sus propiedades mecánicas.

Sivarooban y colaboradores (2008), integraron extractos de semilla de uva, nisina y EDTA en películas comestibles a base de proteína de soya, para evaluar su comportamiento antimicrobiano ante *L. monocytogenes*, *E. coli O157:H7* y *S. typhimurium*. Los extractos de semilla de uva redujeron 1 log UFC/ mL después de 1 h de incubación a 25 °C a *L. monocytogenes*. En *E. coli* y *S. typhimurium* sólo hubo una disminución de 0.1 y 0.2 log UFC/ mL, respectivamente. La combinación de los antimicrobianos utilizados redujo 2.9 log UFC/ mL a *L. Monocytogenes*, 2 log UFC/ mL, a *E. coli* y 1 log UFC/ mL, en *S. typhimurium*. La incorporación de los extractos de semilla de uva, incrementaron las propiedades mecánicas de la película a base de proteína de soya, al igual que su espesor e intensidad de color.

La actividad antimicrobiana de diversas especias está relacionada a su contenido de compuestos fenólicos. Kechichian y colaboradores (2010), incorporaron canela y clavo en películas a base de almidón de cassava para evaluar su actividad antimicrobiana ante hongos y levaduras, sin embargo no obtienen resultados favorables durante su análisis. La incorporación de estas especias disminuye las propiedades mecánicas e incrementa las propiedades barrera al vapor de agua de los materiales filmogénicos a base de almidón de cassava.

Pyla y colaboradores (2010), reportan en su trabajo experimental, la incorporación de ácido tánico térmicamente procesado para su incorporación en películas de almidón. Mostrando buena actividad antimicrobiana ante *L. monocytogenes* y *E. coli O157:H7*, además de proveer actividad antioxidante ante la oxidación lipídica de aceite vegetal de soya.

Extractos fenólicos provenientes de cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) y quebracho (*Schinopsis balansae*) incorporados en películas de caseinato de sodio y plastificadas con glicerol, inhibieron el crecimiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp.*, además duplicaron la vida de anaquel de hortalizas como zanahoria y papa (Barbosa-Rodriguez, 2006).

De igual manera, la incorporación de compuestos fenólicos en matrices poliméricas de proteínas, se ha realizado con el fin de mejorar las propiedades estructurales de estos materiales. Tal es el caso de la incorporación de extractos etanóli-

cos de canela, clavo y anís en materiales filmogénicos a base de gelatina de calamar (*Sepia pharaonis*), Hoque y colaboradores (2010), reporta un incremento en la fuerza de tensión de los materiales así como la disminución de la permeabilidad al vapor de agua, además que éstas propiedades son incrementadas aún más cuando los extractos incorporados son previamente oxidados.

Nuthong y colaboradores (2009), incorporaron ácido tánico, ácido caféico y ácido ferúlico en películas de proteína de plasma porcina, concluyendo que estos compuestos fenólicos proporcionan mejores propiedades mecánicas al material filmogénico. Sin embargo, no incrementan las propiedades barrera al vapor de agua. Nuthong y colaboradores (2009), señalan que una desventaja de emplear éstos compuestos, es la aportación de color amarillento o rojizo según el fenólico utilizado en los materiales elaborados.

Emmambux y colaboradores (2004), incorporaron taninos condensables e hidrolizables en películas de kafirina de sorgo, logrando con ello, el mejoramiento de sus propiedades mecánicas, sin presentar cambios en las propiedades barrera al vapor de agua y reportando un incremento en la temperatura de transición vítrea. Justificando este comportamiento por el incremento en el entrecruzamiento dentro del material filmogénico provocando la disminución de la movilidad dentro de éste material. No reportan cambios en la coloración del material debido a la incorporación de ácido tánico, sin embargo sí reportan el oscurecimiento a causa de la incorporación de taninos condensados.

Conclusiones

La incorporación de compuestos fenólicos en matrices biopoliméricas puede tener diversos objetivos, como: el incremento en la capacidad antioxidante de la película, así como la adición de propiedades antimicrobianas o un mejoramiento en la estructura de los materiales filmogénicos. Los compuestos fenólicos incorporados en películas comestibles, muestran mayor actividad antioxidante que la incorporación de antioxidantes sintéticos; que reducen las propiedades mecánicas y/o propiedades barrera al vapor de agua. Por otro lado, los compuestos fenólicos que incrementan las propiedades estructurales de películas y recubrimientos comestibles no muestran un incremento en la actividad antioxidante o antimicrobiana. El principal inconveniente de la incorporación de los extractos fenólicos es la intensificación de la coloración a éstos materiales.

Referencias

- Afolayan, A. and A. Ashafa (2009), “Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Chrysocoma ciliata* L. leaves”, *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 3 (5), pp. 390-394.
- Barbosa, R. (2006), “Propiedades antimicrobianas y antioxidantes de películas de Caseinato de Sodio y extractos fenólicos provenientes de plantas de cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) y quebracho (*Schinopsis balansae*)”, **tesis de maestría**, Instituto Tecnológico de Celaya, México.
- Bu, H., A. Kjoniksen and B. Nyström (2005), “Effects of pH on dynamics and rheology during association and gelation via the Ugi reaction of aqueous alginate”, *European Polymer Journal*, vol. 41 (8), pp. 1708-1717.
- Byun, Y., Y. T. Kim and S. Whiteside (2010), “Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder”, *Journal of Food Engineering*, vol. 100, pp. 239-244
- Cha, D., K. Cooksey, M. Chinnan and H. Park (2003), *Release of nisin from various heat pressed and cast films*, *Lebensm Wiss U Technol.*, vol. 36, pp. 209-213.
- Chen, L., L. Ding, A. Yu, R. Yang, X. Wang, J. Li, H. Jin and H. Zhang (2007), “Continuous determination of total flavonoids in *Platycladus orientalis* (L.) Franco by dynamic microwave-assisted extraction coupled with on-line derivatization and ultraviolet-visible detection”, *Analytica Chimica Acta*, vol. 596, pp. 164-170
- Chung, K. T., T. Y. Wong, C. I. Wei, Y. Huang and Lin (1998), “Tannins and human health”, *A review. CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, vol. 38, pp. 421-464.
- Crozier, A., I. B. Jaganath and M. N. Clifford (2006), “Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet”, en A. Crozier, M. N. Clifford, y H. Ashihara, *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, USA, Wiley-Blackwell, pp. 384.
- De Jong, A. R., H. Boumans, T. Slaghek, T. Van Veen, R. Rijk and M. Sandvoort (2005), *Active and intelligent packaging for food: Is it the future? Food Additives and Contaminants*, vol. 22 (10), pp. 975-979.
- Dutta, P. K., S. Tripathi, G. K. Mehrotra and J. Dutta (2009), *Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications*, *Food Chemistry*, vol. 114, pp. 1173-1182.
- Emmambux, M. N., M Stading and J. R. N. Taylor (2004), “Sorghum kafirin film property modification with hydrolysable and condensed tannins”, *Journal of Cereal Science*, vol. 40, pp. 127-135

- Escribano-Bailon, M. and C. Santos-Buelga (2003), *Polyphenol Extraction from Foods*. En C. Santos-Buelga y G. Williamson, *Methods in Polyphenol Analysis*, Cambridge: Royal Society of Chemistry, pp. 383.
- Faizi, S., H. Siddiqi, S. Bano, A. Naz, Lubana, K. Mazhar, S. Nasim, T. Riaz, S. Kamal, A. Ahmad, and S. H. Khan (2008), “Antibacterial and Antifungal Activities of Different Parts of *Tagetes patula*: Preparation of Patuletin Derivatives”, *Pharmaceutical Biology*, vol. 46 (5), pp. 309-320.
- Farris, S., K. Schaich, L. Liu, L. Piergiovanni and K. L. Yam (2009), “Development of polyion-complex hydrogeles as an alternative approach for the production of bio-based polymers for food packaging applications: a review”, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 20, pp. 316-332.
- Fraga, C. G. (2010), *Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology*, New Jersey, Wiley, p. 593.
- Freitas, V. A. and N. Mateus (2010), “Updating Wine Pigments”, en C. Santos-Buelga, M. T. Escribano-Bailon, y V. Lattanzio, *Recent Advances in Polyphenol Research*, Reino Unido: Wiley-Blackwell, pp. 352.
- Gao, C., M. Liuz, J. Chen and X. Zhang (2009), “Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel”, *Polymer Degradation and Stability*, vol. 94, pp. 1405-1410.
- Gennadios, A., M. A. Hanna and L. B. Kurth (1997), “Application of edible coating on meats, poultry and seafoods: a review”, *Lebensm. Wiss. Technol*, vol. 30 (4), pp. 337-350.
- Gómez-Estaca, J., B. Gimenez, P. Montero and M. C. Gómez-Guillén (2009), “Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a comercial fish gelatin”, *Journal of Food Engineering*, vol. 92 (1), pp. 78-85.
- Gómez-Guillén, M. C., M. Ihl, V. Bifani, A. Silva and P. Montero (2007), “Edible films from tuna-fish with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz)”, *Food Hydrocolloids*, vol. 21 (7), pp. 1133-1143.
- Greener, D. I. and O. Fennema (1994), “Edible Films and Coatings: Characteristics, Formation, Definitions and Testing Methods”, J. M. Krochta, E. A. Baldwin y M. Nisperos-Carriedo (eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality Technomic*, Lancaster, Pensilvania, EUA, pp. 1-21.
- Güçbilmez, C. M., A. Yemenicioflu and A. Arslanoflu (2007), “Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA”, *Food Research International*, vol. 40, pp. 80-91.
- Guevara-González, R. G., S. H. Guzmán-Maldonado, R. Veloz-Rodríguez, A. Cardador-Martínez, G. Loarca-Piña, R. A. Veloz-García, R. Marín-Martínez, L. Guevara-Olvera, I. Torres-Pacheco, R. Miranda-López, Villaseñor-Ortega and

- M. M. González-Chavira (2006), "Antimicrobial, antimutagenic and antioxidant properties of tannins from Mexican cascalote tree (*Caesalpinia cacalaco*)", *S. V. Govil J. N., Recent progress in medicinal plants. Biopharmaceuticals*, Houston Texas, Studium Press, LLC., pp. 13-30.
- Guillén-Román, C. J. (2011), "Efecto de los extractos fenólicos provenientes de *Acaciella angustissima* sobre las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y fisicoquímicas de alginato de sodio y su aplicación sobre mango (*Mangifera indica* L.) cv manila", tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya, México.
- Han, J. H. (2000), "Antimicrobial food packaging", *Food Technol*, vol. 54 (3), pp. 56-65.
- Haslam E. (1974), "Polyphenol-protein interactions", *Biochem. J*, vol. 139, pp. 285-288.
- Haslam, E. (1989), "Plant polyphenols, vegetable tannins revisited", Cambridge University Press, Cambridge, U.K. pp. 230.
- Hagerman, A. E. (1989), "Chemistry of tannin-protein complexation", en R. W. Hemingway and Karchesy (eds.), *Chemistry and significance of condensed tannins*, Plenum Press, New York, pp. 323-333.
- Heimler, D, P. Vignolini, A. G. Dini, F. F. Vincieri and A. Romani (2006), "Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties", *Food Chemistry*, vol. 99, pp. 464-469.
- Hoque, M. S., S. Benjakul and T. Prodpran (2010), "Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts", *Food Hydrocolloids*, xxx, pp. 1-13.
- Janjarasskul, T. and J. Krochta (2009), "Edible packaging materials", *Reviews in advance*, vol. 1, pp. 415-448.
- Kechichian, V., C. Ditchfield, P. Veiga-Santos and C. C. Tadini (2010), "Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch", *LWT-Food Science and Technology*, vol. 43, pp. 1088-1094.
- Khwaldia, K., C., Perez, S. Banon, S. Desobry and J. Hardy (2004), "Milk proteins for edible films and coatings", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 44, pp. 239-251.
- Kim, J. H., S. B. Lee, S. J. Kim and Y. M. Lee (2002), "Rapid temperature/pH response of porous alginate- g-poly (N-isopropylacrylamide) hydrogels", *Polymer*, vol. 43 (26), pp. 7549-7558.
- Kosaraju, S., D. Labbett, M. Emin, I. Konczak and L. Lundin (2008), "Delivering polyphenols for healthy ageing", *Nutrition & Dietetics*, vol. 65, pp. 48-52.
- Kristo, E., K. P. Koutsoumanis and C. G. Biliaderis (2008), "Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing anti-

- crobiales and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*”, *Food Hydrocolloids*, vol. 22, pp. 373-386.
- Kruijff, N., M. van Beest, R. Rijk, T. Spiläinen-Malm, P. Paseiro Losada and B. De Meulenaer (2002), “Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects”, *Taylor & Francis Journals*, vol. 19 (1), pp. 144-162.
- Kumar, R. and T. Horigome (1986), “Fractionation, Characterization, and Protein-Precipitating Capacity of the Condensed Tannins from *Rabinia pseudo acacia* L”, *Leaves. J. Agric. Food Chem*, vol. 34, pp. 487- 489.
- Lambert, J., S. Sang, A. Lu and C. S. Yang (2007), “Metabolism of Dietary Polyphenols and Possible Interactions with Drugs”, *Current Drug Metabolism*, vol. 8 (5), pp. 499-507.
- Mandalari, G., R. N. Bennett, G. Bisignano, D. trombetta, A. Saija, C. B. Faulds (2007), “Antimicrobial Activity of Flavonoids Extracted from Bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a by product of the essential oil industry”, *J. of App. Microb*, vol. 103 (6), pp. 2056-2064.
- Marcano, D. and M. Hasegawa (2002), *Fitoquímica Orgánica*, 2da edición, Torino, Caracas, p. 588.
- Masella, R. R., Di Benedetto, R. Vari, C. Filesi and C. Giovannini (2005), “Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes”, *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 16, pp. 577-586.
- Miralai, S., M. M. Khan and M. R. Islam (2008), “Replacing Artificial Additives whit natural Alternatives”, *M. R. Islam, Nature Science and Sustainable Technology Research Progress*, NY, Nova Science Publishers, p. 353.
- Naczka, M., R. Pegg and R. Amarowicz (2011), “Protein-precipitating capacity of bearberry-leaf (*Arctostaphylos uva-ursi* L. Sprengel) polyphenolics”, *Food Chemistry*, vol. 124, pp. 1507-1513.
- Norajit, K., K. M. Kim and G. H. Ryu (2010), “Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract”, *J Food Engineering*, vol. 98 (3), pp. 377-384.
- Nuthong, P., S. Benjakul and T. Prodpran (2009), “Effect of phenolic compounds on the properties of porcine plasma protein-based film”, *Food Hydrocolloids*, vol. 23, pp. 736-741.
- Oteiza, P. I., A. G. Erlejman, S. V. Verstraeten, C. L. Keen and C. G. Fraga (2005), “Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface?”, *Clinical & Developmental Immunology*, vol. 12 (1), pp. 19-25.
- Oussalah, M., S. Salmiéri, S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix (2004), “Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein based film containing essential oils

- for the preservation of whole beef muscle”, *J. Agric. Food Chem*, vol. 52 (18), pp. 5598-5605.
- Passamonti, S., M. Terdoslavich, F. Franca, A. Vanzo, F. Tramer, E. Braidot, E. Petrusa and A. Vianello (2009), “Bioavailability of Flavonoids: A Review of Their Membrane Transport and the Function of Bilitranslocase in Animal and Plant Organisms”, *Current Drug Metabolism*, vol. 10, pp. 369-394.
- Pérez-Pérez C., C. Regalado-González, C. A. Rodríguez-Rodríguez, J. R. Barbosa-Rodríguez and F. Villaseñor-Ortega (2006), “Incorporation of antimicrobial agents in food packaging films and coatings”, en R. G. Guevara-González & I. Torres-Pacheco, *Agricultural and food biotechnology*, Research Signpost. Kerala, India, pp. 193-216.
- Petti, S. and C. Scully (2009), *Polyphenols, oral health and disease: A review. Journal of dentistry*, vol. 37 (6), pp. 413-423.
- Pyla, R., T. J. Kim, J. L. Silva and Y. S. Jung (2010), “Enhanced antimicrobial activity of starch-based film impregnated with thermally processed tannic acid, a strong antioxidant”, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 137, pp. 154-160.
- Quintavalla, S. and L. Vicini (2002), “Antimicrobial food packaging in meat industry”, *Meat Science*, vol. 62, pp. 373-380.
- Ryan, P. and M. Hynes (2007), “The kinetics and mechanisms of the complex formation and antioxidant behaviour of the polyphenols EGCg and ECG with iron(III)”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 101, pp. 585-593.
- Siripatrawan, U. and B. R. Harte (2010), “Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract”, *Food Hydrocolloids*, vol. 24 (8), pp. 770-775.
- Sivaroban, T., N. S. Hettiarachchy and M.G. Johnson (2008), “Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films”, *Food Research International*, vol. 41, pp. 781-785.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S. Bigger (2003), “Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications”, *J food Sci*, vol. 68 (2), pp. 408-419.
- Thériault, M., S. Caillet, S. Kermasha and M. Lacroix (2006), “Antioxidant, anti-radical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products”, *Food Chemistry*, vol. 98 (3), pp. 490-501.
- Turkmen, N., F. Sari and Y. Velioglu (2006), “Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu”, *Food Chemistry*, vol. 99 (4), pp. 835-841.
- Velóz-García, R., R. Martín-Martínez, R. Veloz-Rodríguez, C. I. Muñoz-Sánchez, L. Guevara-Olvera, R. Miranda-López, M. M. González-Chavira, I. Torres-Pacheco,

- S. H. Guzmán-Maldonado, A. Cardador-Martínez, G. Loarca-Piña and R. G. Guevara-González (2004), “Antimutagenic and antioxidant activities of cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) phenolics”, *J. Sci Food Agric*, vol. 84, pp. 1632-1638.
- Wu, Y., J. Rhim, C. Weller, F. Hamouz, S. Cuppet and M. Schenepf (2002), “Development and application of multicomponent edible coatings and films: A review”, *Adv Food Nutr Researche*, vol. 44, pp. 347-394.
- Yazaki, K. (2006), *Minireview: ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites*, *FEBS Letters*, vol. 580, pp. 1183-1191.

Impacto del uso de los azoles: implicaciones agrícolas y daños a la salud

*Eber Addí Quintana Obregón, Maribel Plascencia Jatomea
y Mario Onofre Cortez Rocha*

Resumen

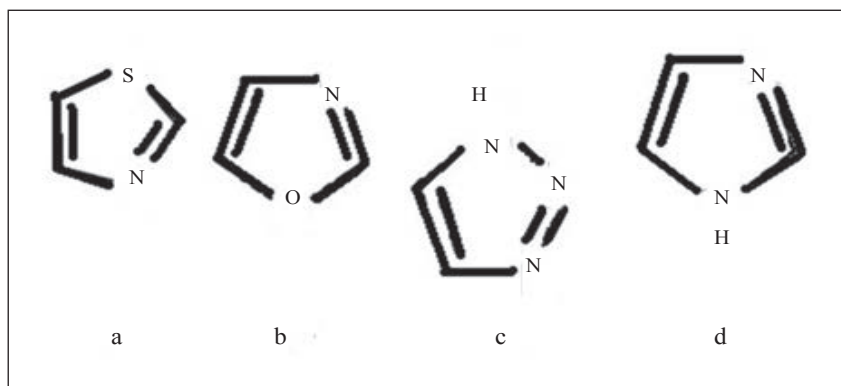
Los azoles son un grupo de compuestos químicos ampliamente utilizados en la agricultura para el control de hongos fitopatógenos. Sin embargo, al igual que cualquier producto químico, su uso indiscriminado causa severos problemas ambientales y daños a la salud, que deben ser considerados para planificar su aplicación en campo. El efecto de estos compuestos sobre el desarrollo de la resistencia de hongos fitopatógenos se ha documentado. No obstante, existen pocos reportes que relacionan su uso en campo y su asociación con problemas de salud en humanos, lo que incide en la necesidad de sustituir paulatinamente los químicos sintéticos por compuestos naturales bioactivos.

Palabras clave: Plaguicidas, Micosis, Fitopatógenos, Resistencia fúngica

Introducción

Los hongos deterioran alrededor del 10% de las cosechas anuales en el mundo y sin duda, la presencia de micotoxinas en alimentos ha tenido un gran impacto sobre la esperanza de vida en países desarrollados (Normille, 2010). Desde mediados de 1880 se han desarrollado estrategias de control químico para combatir infecciones causadas por hongos en plantas y seres humanos (Joseph-Horne y Hollomon, 1997). Los azoles son compuestos que poseen un anillo azólico central (Figura 1) (Azanza y colaboradores, 2007).

Figura 1. Estructuras químicas de azoles



Fuente: elaboración propia. a) tiazol, b) oxazol, c) triazol y d) diazol.

Actualmente, los azoles son el principal grupo de compuestos utilizados para la protección micótica en plantas debido a su estabilidad a factores ambientales, persistencia de sus residuos con actividad antimicrobiana y largo tiempo de vida. Pueden estar asociados o formar parte de formulaciones de algunos fungicidas como en el caso de los benzimidazoles. Es por ello que anualmente se aplican toneladas de estos compuestos en diversos cultivos como trigo, maíz y cebada (Hof, 2001).

Desde la década de los años sesenta estos productos estaban comercialmente disponibles y se considera que del total de los sistemas de control químico utilizados para inhibir el desarrollo de hongos en los cultivo agrícolas, 25% son derivados de los azoles (Joseph-Horne y Hollomon, 1997). Sin embargo, su uso es restringido en parte por el incremento de los costos en las prácticas agrícolas y los residuos generados (Fernández-Ortuño y colaboradores, 2008).

Los azoles son compuestos que también se utilizan en la práctica clínica en la que representan un importante avance terapéutico, dado que constituyen el principal grupo de agentes químicos para combatir infecciones micóticas (Bodey, 1992). A partir de la década de los sesenta se han aplicado principalmente en fórmulas orales, aunque ya se han desarrollado nuevas presentaciones para combatir infecciones causadas por hongos oportunistas como algunas especies del género *Aspergillus* (López-Ribot y Patterson, 2009; Stevens, 2004; Sheehan y colaboradores, 1999). Algunos azoles utilizados en prácticas clínicas para infecciones cutáneas e

invasivas son: miconazol, ketoconazol, fluconazol, itraconazol, voriconazol y posaconazol (Bodey, 1992; Azanza y colaboradores, 2007).

Debido a su importancia en prácticas agrícolas y clínicas, en este trabajo se presentan tres aspectos que moderan el uso de los azoles: 1) Resistencia que han adquirido hongos fitopatógenos. 2) Resistencia en hongos micóticos. 3) Efectos en humanos por exposiciones prolongadas o bioacumulación.

Mecanismos de acción de azoles

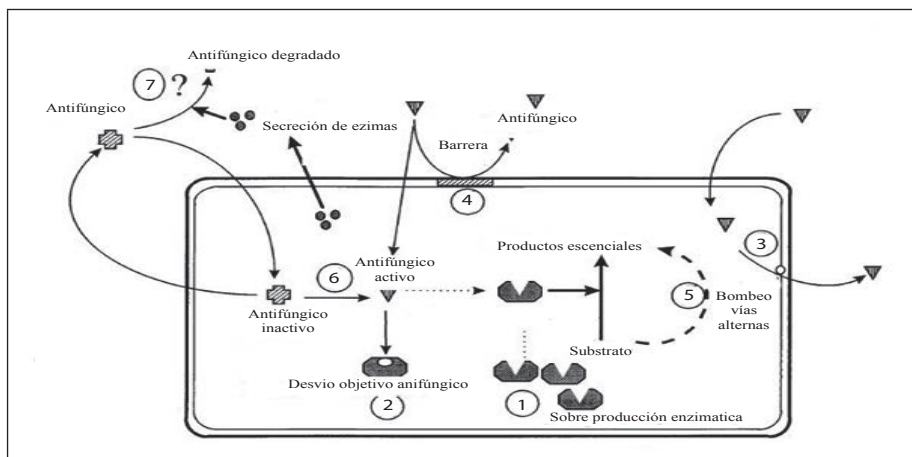
Se han propuesto algunos mecanismos de acción de los azoles. Los reportes obtenidos mediante estudios a nivel laboratorio, campo y muestras clínicas han demostrado que interfieren en diversos sistemas biológicos como la biosíntesis de ergosterol (Joseph-Horne y Hollomon, 1997). Se ha observado que el azol inhibe la producción de ergosterol, un componente importante de la membrana celular fúngica, dando como resultado la inhibición del crecimiento del hongo (Hof, 2001). Este mecanismo ha resultado ser efectivo para combatir infecciones ocasionadas por especies de *Candida* (de importancia clínica), hongos dimórficos y mohos (López-Ribot y Patterson, 2009). Otro mecanismo de acción involucra la inhibición de la respiración mitocondrial de la célula (Ishii, 2004).

Resistencia fúngica en actividades agrícolas

La preocupación por los posibles efectos de resistencia micótica por acción de la exposición prolongada a estos compuestos ha ido en aumento constante. En plantas, el riesgo de resistencia se ha considerado bajo, aunque existen informes de hongos fitopatógenos resistentes a los azoles (Hof, 2001), lo que dificulta su manejo y control (Ishii, 2004).

De acuerdo a Ghannoum y Rice (1999), los mecanismos propuestos de resistencia por parte de microorganismos a antimicrobianos, son: (1) Sobreproducción de enzimas para que el compuesto activo no inhiba completamente el mecanismo objetivo. (2) Alteración o desvío del antifúngico. (3) Desarrollo de bombas de expulsión. (4) Desarrollo de barreras en la pared celular. (5) Desarrollo de mecanismos alternativos para la producción de compuestos necesarios para la célula. (6) Bloqueo de la reacción de activación de la célula. (7) Secreción de enzimas degradadoras del antimicrobiano (figura 2).

Figura 2. Desarrollo de mecanismos de resistencia microbiana a compuestos de control



Fuente: Ghannoum y Rice (1999).

La resistencia de los hongos a diversos compuestos puede presentarse a nivel genético, debido principalmente a mutaciones inducidas por la presencia de antimicrobóticos. Algunos de los factores intrínsecos que promueven mutaciones son: cortos tiempos de generación, esporulación abundante y dispersión de esporas (Brent y Hollomon, 2007).

El desarrollo de resistencia a múltiples fungicidas en *Botrytis cinerea* demuestra la capacidad de adaptación de algunos hongos y enfatiza la necesidad del uso de nuevos químicos con diferentes mecanismos de acción y del manejo integrado de estrategias para el control de la infección (Kalamarakis y colaboradores, 2000).

En México, también se ha reportado la resistencia de *B. cinerea* y *Colletotrichum gloeosporioides* a azoles (Ponce-González y colaboradores, 2002; Gutiérrez-Alonso y colaboradores, 2003), así como en China, donde en un estudio realizado del 2003 al 2005, se observó resistencia de *B. cinerea* a benzimidazoles (Zhang y colaboradores, 2009). De manera similar, en Francia, entre 1997 y 1998 se encontraron aislados de *Mycosphaerella graminicola* resistentes a fungicidas, cuyo mecanismo de acción era la inhibición de la biosíntesis de esterol (Leroux y colaboradores, 2000). Joseph-Horne y colaboradores (1996), reportaron la resistencia a azoles del fitopatógeno de campo *Septoria tritici*, y propusieron un mecanismo de resistencia relacionado con la producción de un isómero de ergosterol no utilizable para la célula con la consecuente disminución de la acumulación del azol.

La producción de micotoxinas es un factor de respuesta a los azoles que puede estar asociado a cepas resistentes. Por ejemplo, en cepas de *Fusarium* y *Aspergillus* resistentes, la aplicación de miconazol favorece la producción de micotoxinas (D'Mello y colaboradores, 1998). La inhibición en la producción de tubulinas es otro factor de respuesta a la presencia de azoles, tal como se observó en *Ventura nashicola* resistente al cuantificar una menor concentración de tubulinas en presencia del antifúngico (Ishii, 2004). Yin y colaboradores (2009), trabajaron en la búsqueda de patrones genéticos que permitieran estudiar la resistencia de los hongos a los antifúngicos, encontrando cepas de *Fusarium asiaticum* y *Fusarium graminearum* (fitopatógenos del trigo) resistentes al benzimidazole y tebuconazole. También reportaron que las cepas resistentes a los benzimidazoles presentan diferente genotipo con respecto a los resistentes al tebuconazol y que existen genes que son expresados por la presencia del tebuconazol, lo que supone variabilidad genética como mecanismo de resistencia a diferentes antifúngicos.

En España, 34 de 71 cepas aisladas de *Penicillium expansum*, un fitopatógeno de manzana y pera, resultaron ser resistentes al thianbendazol. Algunas mostraron mutaciones en la posición 198 de la secuencia del gen β -tubulina, correspondiendo estas siempre a los aislados resistentes, aunque un alto porcentaje de aislados resistentes no presentó la mutación en la secuenciación del gen (Cabañas y colaboradores, 2009). En Japón se reportó la resistencia a benzimidazoles de *Ventura nashicola*, un fitopatógeno de pera con resistencia variable según el aislado obtenido. En éstos, la presencia del benzimidazol no alteró el desarrollo del túbulo germinal de la espora, por lo que el fungicida no afectó el proceso de mitosis del hongo (Ishii, 2004).

El sitio de acción de algunos fungicidas es inhibir la respiración mitocondrial de la célula, sin embargo, este mecanismo particular de control fúngico desarrolla resistencia disminuyendo su eficacia. Por ejemplo, en los hongos *Shaerotheca fuliginea*, *Pseudirenospora cubensis*, *Mycovellosiella natrass* y *Corynespora cassicola* resistentes, se encontraron puntos de mutación en fragmentos del gen citocromo b, en los que se sustituyó al aminoácido glicina por alanina en el codón 143 como un posible mecanismo molecular de resistencia. Este gen está relacionado con el sistema de transporte de electrones en la cadena de respiración mitocondrial (Ishii, 2004).

En estudios *in vitro* con *Cercospora beticola*, se observó que el mecanismo de resistencia utilizado contra los inhibidores *Qo* (sistema citocromo) es la modificación del sitio de acción del fungicida, cambiando un aminoácido de la cadena del gen citocromo b (Malandrakis y colaboradores 2006). El problema de resistencia fúngica a azoles se agudiza, ya que es posible que el hongo utilice la combinación de dos o más mecanismos de resistencia, lo cual dificulta el control de enfermedades debido a que al aumentar la resistencia del hongo disminuye la sensibilidad a los tratamientos antimicóticos (Joseph-Horne y Hollomon, 1997).

En el 2002, la Comisión Europea expuso el incremento de la resistencia de hongos antimicrobianos, no obstante, enfatizó la disminución de dicha tendencia debido a estrategias utilizadas en campo. Recomendó el uso de buenas prácticas agrícolas para reducir y evitar la resistencia fúngica a los antimicrobianos. Por lo tanto, la adaptación a los programas de aplicación de fungicidas que involucre fundamentalmente la alternancia de los compuestos utilizados, puede coadyuvar en la disminución de la presencia de aislados resistentes y ser una potencial alternativa de control.

Por otra parte, para diseñar estrategias para manejo integrado de plagas es evidente la necesidad de monitorear cepas resistentes como un factor determinante. En la tabla 1 se presentan algunas estrategias para el monitoreo y control de resistencia en actividades agrícolas.

El personal laboral de la actividad agrícola y poblaciones aledañas tienen contacto con los azoles utilizados para el control de hongos fitopatógenos, existiendo una posible relación entre en el desarrollo de resistencia entre hongos fitopatógenos y los de importancia clínica. Este riesgo se manifiesta considerando que algunos géneros micóticos como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Curvalaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Colletotrichum* causan infecciones en plantas y humanos (ATS, 1998; De Lucca, 2007; Panda y colaboradores, 1997; Edwards, 2004; Serfling y colaboradores, 2007; Cano y colaboradores, 2004).

Tabla 1. Estrategias recomendadas para el monitoreo y reducción de resistencia fúngica

<i>Recomendaciones</i>
Uso prudente y restringido de fungicidas en términos de rotación de productos, dosis y periodos de aplicación
Uso alternativo de fungicidas donde se ha detectado resistencia
Uso de diferentes azoles en la agricultura y prácticas clínicas

Fuente: Comisión Europea (2011).

Resistencia de hongos de importancia clínica y su posible relación con hongos fitopatógenos

El uso indiscriminado de azoles en campo constituye un factor de riesgo para el desarrollo y/o transmisión de resistencia a tratamientos médicos en humanos, esto por los posibles depósitos o acumulación de fungicidas en la cadena agroalimentaria (Bundesinstitut y Verbraucherschutz, 2001).

Se ha encontrado resistencia a azoles de cepas microbianas de importancia clínica, lo que dificulta el tratamiento de las infecciones en humanos. Son dos los mecanismos propuestos para el desarrollo de resistencia en humanos: el primario, que es inherente del hongo al ser expuesto por primera vez al antifúngico y, el secundario, que es la resistencia generada por exposiciones previas al compuesto químico (López-Ribot y Patterson, 2009). Estas exposiciones previas pudieran ser en entornos agrícolas, por residuos en el medio ambiente, o bien, por tratamientos previos inconclusos o inadecuada dosificación en infecciones micóticas en humanos. Por ejemplo, algunas especies de *Colletotrichum* causan micosis cutánea en humanos, adquiriendo así importancia clínica. Algunos de sus aislados presentan resistencia a los azoles y se ha especulado que ésta se debe a la exposición a entornos agrícolas, aunque no está clara la relación de la resistencia de los hongos de importancia en la agricultura y de importancia clínica. En Estados Unidos de América y la Unión Europea existen evidencias de resistencia en hongos de importancia clínica a los azoles relacionado con las prácticas agrícolas en el control de plagas de campo (Serfling y colaboradores, 2007; Comisión Europea, 2011).

La resistencia a azoles de *Aspergillus fumigatus* a tratamientos médicos en pacientes con Aspergilosis, se ha relacionado con cepas provenientes del medio ambiente exterior y en jardines. Por tal motivo, se ha propuesto que las cepas resistentes se han desarrollado principalmente por exposición a azoles presentes en el medioambiente (Snelders y colaboradores, 2009). Meneau y Sanglard (2005) reportaron un riesgo potencial de resistencia de *A. fumigatus* por su exposición no sólo a los azoles utilizados en prácticas clínicas, sino a aquellos que se encuentran en el medio ambiente, particularmente en entornos agrícolas.

Especies de *Aspergillus* y *Fusarium* obtenidas de muestras de aire del medio ambiente representan el mismo grado de patogenicidad para seres humanos con respecto a las obtenidas de muestras clínicas (Teixeira y colaboradores, 2005). Es de importancia considerar este aspecto, pues dichos géneros cuentan con especies fitopatógenas que están presentes principalmente en áreas de alta actividad agrícola.

Al comparar la eficacia entre los azoles utilizados en terapia clínica y los de uso agrícola, se ha encontrado una menor sensibilidad de *Cryptococcus neoformans* a los azoles agrícolas. Las concentraciones inhibitorias medias son mayores comparadas con los azoles de uso clínico que demostraron ser de menor toxicidad que los de uso agrícola, a los que se puede tener una exposición involuntaria (Drummond y colaboradores, 2007).

Es claro que puede existir una relación de la resistencia de hongos clínicos con ambientes agrícolas, e inclusive, que hongos fitopatógenos expuestos en campo a los tratamientos fungicidas generen resistencia y causen infecciones difíciles de controlar

en humanos. Si bien es cierto, se ha estado trabajando en la utilización de nuevos azoles para combatir hongos resistentes de importancia clínica (Hof, 2006), no obstante, son de la misma familia química y es posible que con el tiempo también se presente resistencia para estas nuevas formulaciones, más aún, si se empiezan a utilizar en campo.

Efectos por exposición o bioacumulación

La vía de contacto de humanos con azoles ocurre principalmente por prescripción médica para combatir infecciones micóticas. La probabilidad de contacto puede incrementarse en entornos agrícolas y por consumo de alimentos (frutas y vegetales) que han bioacumulado azoles, ya sea por la aplicación directa en campo o por la presencia de residuos recalcitrantes en suelos. Este aspecto ha sido considerado por entidades reguladoras de la seguridad alimentaria y existen normas que establecen los límites máximos permitidos de azoles en alimentos (tabla 2).

Una vez en el organismo, los azoles pueden llegar a eliminarse de la misma manera que se metabolizan los compuestos de prescripción médica, esto es por intervención de isoenzimas del sistema mitocondrial CYP450, mediante excreción renal, aunque el tiempo de eliminación depende de la dosis ingerida (Azanza y colaboradores, 2007).

Con respecto a investigaciones en campo y en laboratorio, Kastanias y colaboradores (2006), reportaron la capacidad residual del tebuconazol utilizado en prácticas agrícolas, encontrando un tiempo de vida media en suelo de 45 días y residuos en productos de consumo humano, aunque observaron un riesgo de toxicidad crónica aceptable para el ser humano.

En España se evaluó la persistencia del difenoconazole en muestras de suelo para cultivos de *Beta vulgaris* L., tratados con azoles (a dosis de 75 g/ha) para combatir infecciones causadas por *Cercospora* spp., detectando residuos cuantificables del fungicida, sin embargo después de un año no se detectaron residuos del químico (Lucini y colaboradores, 2009). En otros cultivos y derivados como en la uva se han detectado residuos de azoles, aunque también se ha catalogado un bajo riesgo acumulativo del compuesto (Cabras y Angioni, 2000). Por otra parte, las interacciones con el suelo y formación de complejos de fungicidas-azoles pueden contribuir a su persistencia y acumulación (Kim y colaboradores, 2003).

Es importante señalar que a mayores dosis aplicadas, es posible un mayor residuo de los compuestos en alimentos. Además, hay que considerar que la degradación de los pesticidas en el suelo depende de diversos factores como el clima, el pH del suelo, materia orgánica y su actividad biológica (Sastre-Conde y colaboradores, 2007).

Esto en función de posibles efectos tóxicos por contacto directo en humanos o bioacumulación.

Tabla 2. Límites de azoles en alimentos emitidos por el *Codex Alimentarius*

<i>Azol</i>	<i>Referencia</i>	<i>Límite máximo permitido</i>	<i>Alimento</i>
Difenoconazol	Codex Alimentarius, 2008	0.02 mg/Kg	Trigo
		0.02 mg/Kg	Semilla de girasol
Fenbuconazol	Codex Alimentarius, 2001	0.05 mg/Kg	Leche de vaca
	Codex Alimentarius, 1999	0.05 mg/Kg	Carne vacuno
		0.10 mg/kg	Trigo
Penconazol	Codex Alimentarius, 1997	0.20 mg/Kg	Tomate
		0.05 mg/Kg	Carne de pollo
	Codex Alimentarius, 1995	0.01 mg/Kg	Leche de vaca
Tebuconazol	Codex Alimentarius, 1997	0.05 mg/Kg	Trigo

Fuente: elaboración propia.

Con respecto a los efectos tóxicos de la acumulación crónica de azoles al combatir infecciones fúngicas, algunas investigaciones han demostrado que la exposición perinatal de ratas al tebuconazol causa déficit neuroconductual y neuropatologías (Stevens, 2004). Este mismo compuesto y el epoxiconazol afectan el sistema endócrino en ratas por exposición prolongada durante el periodo gestacional y la lactancia, afectando enzimas que participan en la síntesis de hormonas (Muser y colaboradores, 2001; Taxvig y colaboradores, 2007). Se ha asociado la exposición ocupacional a estos compuestos con un incremento en el riesgo de contraer la enfermedad de Hodgkin's, un tipo de linfoma maligno (Orsi y colaboradores, 2009).

Estudios en animales y células humanas han demostrado que altas dosis de azoles afectan el desarrollo de órganos reproductores, así como su fertilidad y desarrollo. Además, afectan enzimas esteroideas tanto *in vitro* como *in vivo*, que son aquellas que sintetizan hormonas esteroides sexuales (Goetz y colaboradores, 2009; Zarn y colaboradores, 2003). Existen reportes sobre alteraciones en la hormona tiroidea en ratas y consecuentemente su efecto encadenado con el metabolismo (Wolf y colaboradores, 2006). Azanza y colaboradores (2007), mencionan que los azoles son el grupo de compuestos utilizados en prácticas clínicas que presentan mayor capaci-

dad inhibitoria sobre el metabolismo de otros fármacos, dando como resultado la ineficacia para el tratamiento de otras enfermedades y sus posible bioacumulación.

Son varios los factores que tienen que considerarse para cualificar o cuantificar riesgos en humanos. Por ejemplo, el tipo de alimento, si es un tubérculo este está expuesto a azoles acumulados en suelo. El tratamiento que se dio previo a la venta al consumidor, como lavados superficiales que pudieran arrastrar azoles residuales. El tiempo entre la cosecha y el consumo, es posible que ese tiempo permita la degradación del azol. Así como muchos otros aspectos o factores que se podrían especular sobre los riesgos de consumo de residuos de azoles.

Conclusiones

El uso de los compuestos de la familia de los azoles representa el riesgo de generar resistencia de hongos fitopatógenos, lo que puede dar como resultado un incremento en los costos al requerirse mayores dosis para su control, o en su caso, la ineficiencia de estos para controlar al hongo en el futuro. Además, se debe considerar el riesgo de resistencia de hongos de importancia clínica, que aunque no se ha cuantificado, está presente y hay reportes de resistencia generada de hongos por contacto con ambientes expuestos a los azoles. Con base a lo anterior, es necesario realizar un estudio que permita evaluar una posible correlación entre las dosis aplicadas a productos agrícolas específicos, el incremento de las concentraciones residuales en alimentos, así como la tolerancia y efectos al ser humano. Asimismo, existe la necesidad de utilizar compuestos antifúngicos no dañinos al medio ambiente y al ser humano, eficientes en el control de hongos y a costos rentables para el agricultor. Esto puede lograrse mediante la sustitución parcial o total de los agentes químicos sintéticos (la gran mayoría recalcitrantes) por compuestos de origen natural.

Referencias

- ATS, (American Thoracic Society) (1998), "Respiratory health hazard in agriculture", *American Journal Respiratory Critical Care Medical*, vol. 158, pp. S1-S76.
- Azanza, J. R., E. García-Quetglas and B. Sádaba (2007), "Farmacología de los azoles", *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 24, pp. 223-227.
- Bodey, G. P. (1992), "Focus on fungal infections: an update on diagnosis and treatment", *Clinical Infectious Diseases*, vol. 14, pp. S161-S169.

- Brent, K.J., and D. W. Hollomon (2007), "Fungicide resistance: the assessment of risk", *FRAC Monograph No 2 Global Crop Protection Federation*, Brussels, Belgium, pp. 3-17.
- Bundesinstitut für gesundheitlichen & Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. Problematik der Entwicklung von Resistenzen humaner Mykosen gegenüber Azol-Antimykotika und eventueller Wechselwirkungen mit den als Fungizid eingesetzten Pflanzenschutzmitteln. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, disponible en http://www.bfr.bund.de/cm/218/problematik_der_entwicklung_von_resistenzen_humaner_mykosen_gegenueber_azol_antimykotika.pdf/.
- Cabañas, R., G. Castellá, M. L. Abarca, M. R. Bragulat, and F. J. Cabañes (2009), Thiabendazole resistance and mutations in the β -tubulin gene of *Penicillium expansum* strains isolated from apples and pears with blue mold decay, posting date, Berlin, *FEMS Microbiology Letters*, vol. 297, pp. 189-195.
- Cabras, P. and A. Angioni (2000), "Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 967-973.
- Cano, J., J. Guarro and J. Gené (2004), "Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 42, pp. 2450-2454.
- Comisión Europea (2011), disponible http://ec.europa.eu/index_es.htm.
- D'Mello, J. P. F., A. M. C. Macdonald, D. Postel, W. T. P. Dijkema, A. Dujardin and C. M. Placinta (1998), "Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus phytopathogens*", *European Journal of Plant Pathology*, vol. 104, pp. 741-751.
- De Lucca, A. J. (2007), "Harmful fungi in both agriculture and medicine", *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 24, pp. 3-13.
- Drummond, E. D., J. Q. Reimão, A. L. T. Dias and A. M. de Siqueira, (2007), "Comportamento de amostras ambientais e clínicas de *Cryptococcus neoformans* frente a fungicidas de uso agrônômico e ao fluconazol", *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 4, pp. 209-211.
- Edwards, S. G. (2004), Influence of agricultural practices on *Fusarium infectum* of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene. *Toxicology Letters*, vol. 153, pp. 29-35.
- Fernández-Ortuño, D., J. A. Torés, A. de Vicente and A. Pérez-García (2008), Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology*, vol. 11, pp. 1-9.
- Ghannoum, M.A., and L. B. Rice (1999), "Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistance", *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, pp. 501-517.

- Goetz, A.K., J. C. Rockett, H. Ren, I. Thillainadarajah and D. J. Dix (2009), Inhibition of rat and human steroidogenesis by triazole antifungals. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, vol. 5, pp. 214-226.
- Gutiérrez-Alonso, A.G., O. Gutiérrez-Alonso, D. Nieto-Ángel, D. Téliz-Ortiz, E. Zavaleta-Mejía, F. Delgadillo-Sanchez and H. Vaquera-Huerta (2003), “Resistencia a benomil y tiabendazol en aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.) PENZ. y SACC. Obtenidos de mango (*Mangifera indica* L.) en cinco regiones de México”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 21, pp. 260-266.
- Hof, H. (2001), Critical annotations to the use of azole antifungals for plant protection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 45, pp. 2987-2990.
- Hof, H. (2006), “A new, broad-spectrum azole antifungal: posaconazole-mechanisms of action and resistance, spectrum of activity”, *Mycoses*, vol. 49, pp. 2-6.
- Ishii, H. (2004). “Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi”, *Journal Genetic Plant Pathology*, vol. 70, pp. 379-381.
- Joseph-Horne, T., and D. W. Hollomon (1997), “Molecular mechanisms of azole resistance in fungi”, *FEMS Microbiology Letters*, vol. 149, pp. 141-149.
- Joseph-Horne, T., D. W. Hollomon, N. Manning and S. L. Kelly (1996), “Investigation of the sterol composition and azole resistance in field isolates of *Septoria tritici*”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 62, pp. 184-190.
- Kalamarakis, A. E., N. Petsikos-Panagiotarou, B. Mavroidis and B. N. Ziogas (2000), “Activity of fluazinam against strains of *Botrytis cinerea* resistant to benzimidazoles and/or bicarboximides and to a benzimidazole-phenylcarbamate mixture”, *Journal Phytopathology*, vol. 148, pp. 449-455.
- Kastanias, M. A., M. Chrysayi-Tokousbalides, S. Coward, A. Philippoussis and P. Diamantopoulou (2006), “Residue evaluation of the azole fungicides prochloraz and tebuconazole in the white mushroom *Agaricus bisporus*”, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 77, pp. 149-154.
- Kim, I. S., J. H. Shim and Y. T. Suh (2003), “Laboratory studies on formation of bound residues and degradation of propiconazole in soils”, *Pest Management Science*, vol. 59, pp. 324-330.
- Leroux P., F. Chapeland, A. Arnold and M. Gredt (2000), “New cases of negative cross-resistance between fungicides, including sterol biosynthesis inhibitors”, *Journal Genetic Plant Pathology*, vol. 66, pp. 75-81.
- López-Ribot, J. L., and T. F. Patterson (2009), “Fungal drug resistance: azoles”, *Antimicrobial Drug Resistance*, vol. 1, cap. 26, Mayers DL. (ed.), Humana Press, a part of Springer Science Business Media, LLC.

- Lucini, L., P. Magistrati and G.P. Molinari (2009), "Residues of a triazole fungicide in soil after 4 years of application to sugar Beet". *Water, Air, and Soil Pollution*, vol. 202, pp. 13-18.
- Malandrakis, A. A., A. N. Markoglou, D. C. Nikou, J. G. Vontas and B. N. Ziogas (2006), "Biological and molecular characterization of laboratory mutants of *Cercospora beticola* resistant to Qo inhibitors", *European Journal of Plant Pathology*, vol. 116, pp. 155-166.
- Meneau, I. and D. Sanglard (2005), "Azole and fungicide resistance in clinical and environmental *Aspergillus fumigates* isolates", *Medical Mycology*, vol. 43, pp. 307-311.
- Muser, V.C., S. Barone, R. J. Smialowicz, M. W. Harris, B. J. Davis, M. M. Overstieet and R. E. Chain (2001), "The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult. Neurological, immunological and reproductive function in rats", *Toxicological Sciences*, vol. 62, pp. 339-352.
- Normille, D. (2010), "Spoiling for a fight with mold", *Science*, vol. 327, pp. 807.
- Orsi, L., L. A. Delabre, P. Monnereau¹, Delval, C. Berthou, P. Fenaux, G. Marit, P. Soubeyran, F. Huguet, N. Milpied, M. Leporrier, D. Hemon, X. Troussard and J. Clavel (2009), "Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms among men: results of a French case-control study". *Occupation Environmental Medical*, vol. 66, pp. 291-298.
- Panda, A., N. Sharman, G. Das, N. Kumar and G. Satpathy (1997), "Mycotic keratitis in children: epidemiologic and microbiology evaluation". *Cornea*, vol. 16, pp. 295-299.
- Ponce-González, F., M. G. García-Aguirre, H. Lozoya-Saldaña and T. Herrera-Suarez (2002), "Resistencia de *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr., a dos fungicidas benzimidazoles utilizados en la floricultura", *Revista Chapingo Serie Horticultura*, vol. 8, pp. 95-105.
- Sastre-Conde, I., J. G. Cabezas, A. Guerrero, M. A. Vicente and M. del Carmen-Lobo (2007), "Evaluation of the soil biological activity in a remediation soil assay using organic amendments and vegetal cover. The Science of the Total Environment", in L. Licini, P. Magistrati and G. P. Molinari (2009), .vol. 378, pp. 205-208, *Residues of a triazole fungicide in soil after 4 years of application to sugar beet. Water Air Soil Pollution*, vol. 202, pp. 13-18.
- Serfling, A., J. Wohlrab and H. B. Deising (2007), "Treatment of a clinically relevant plant pathogenic fungus with an agricultural azole causes cross-resistance to medical azoles and potentiates caspofungin efficacy", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 51, pp. 3672-3676.
- Sheehan, D.J., C. A. Hitchcock and C. M. Sibley (1999), "Current emergining azole antifungal agents", *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, pp. 40-79.

- Snelders, E., Huis, R. A. G. in'tVeld, A. J. M. M. Rijs, G. H. J. Kema, W. J. G. Melchers and P. E. Verweid (2009), "Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 75, pp. 4053-4057.
- Stevens, D. A. (2004), *Azoles in the management of systemic fungal. Infectious Diseases in Clinical Practice*, vol. 12, pp. 81-92.
- Taxvig, C., U. Hass, M. Axelstad, M. Dalgaard, J. Boberg, H. R. Anderson and A. M. Vinggaard (2007), "Endocrine-disrupting activities in vivo of the fungicides tebuconazoles and epoxiconazole", *Toxicological Sciences*, vol. 100, pp. 464-473.
- Teixeira, A. B. A., M. Silva, L. Lyra, E. A. Luz, J. Uno, H. Takada, M. Miyaji, K. Nishimura and A. Z. Schreiber (2005), "Antifungal susceptibility and pathogenic potential of environmental isolated filamentous fungi compared with colonizing agents in immunocompromised patients", *Mycopathologia*, vol. 160, pp. 129-135.
- Wolf, D. C., J. W. Allen, M. H. George, S. D. Hester, G. Sun, T. Moore, S-F. Thai, D. Delker, E. Winkfield, S. Learitt, G. Nelson, B. C. Roop, C. Jones, J. Thibudeaux and S. Nesnow (2006), "Toxicity profiles in rats treated with tumorigenic and nontumorigenic triazole conazole fungicides: propiconazole, triadimefon, and myclobutanil", *Toxicologic Pathology*, vol. 34, pp. 895-902.
- Yin, Y., X. Liu, B. Li and Z. Ma (2009), "Characterization of sterol demethylation inhibitor-resistant isolates of *Fusarium asiaticum* and *F. graminearum* collected from wheat in China", *Phytopathology*, vol. 99, pp. 487-497.
- Zarn, J.A., B. J. Brüsweiler and J. R. Schlatter (2003), "Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 α -demethylase and aromatase", *Environmental Health Perspectives*, vol. 111, pp. 255-261.
- Zhang, Chuan-qing., Hu, Jia-li., Wei, Fang-ling and Zhu, Guo-nian (2009), "Evolution of resistance to different classes of fungicides in *Botrytis cinerea* from greenhouse vegetables in eastern China", *Phytoparasitica*, vol. 37, pp. 351-359.

Aplicaciones de control biológico para la obtención de alimentos orgánicos

Alejandro Sánchez Varela e Isabel Cristina Rodríguez Luna

Resumen

Mundialmente la agricultura orgánica ha conquistado el mercado de los alimentos, teniendo ventas, en años recientes de millones de dólares. Este tipo de agricultura se caracteriza por utilizar técnicas agronómicas, biológicas y mecánicas, como: la rotación de cultivos, composteo, acolchado, combinación de agricultura y ganadería en el mismo predio, reducción de plaguicidas y fertilizantes químicos, aplicación de bioinsecticidas a partir de bacterias y hongos entomopatógenos, extractos de plantas, liberación de insectos benéficos. Para la certificación orgánica existen organismos que son reconocidos mundialmente, como la IFOAM (*International Federation of Organic Agriculture Movements*) y el IOAS (*International Organic Accreditation System*) que se encargan de verificar la calidad de la Producción, Procesado, Etiquetado y Comercialización de Alimentos Producidos Orgánicamente. En México, varios estados como Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Chihuahua y Guerrero producen alimentos orgánicos. Se cultivan alrededor de 45 alimentos orgánicos, destacando el café, el maíz azul y el blanco, y el ajonjolí. En menor proporción, las hortalizas, agave, hierbas, mango, naranja, frijol, manzana, papaya y aguacate. En México, el poder introducirse en nuevos mercados, y la obtención de mayor ingreso, motiva cada día más a la incursión de los productores mexicanos a la agricultura orgánica. Esto favorece a comunidades rurales pobres, grupos indígenas, productores de bajos recursos, a la producción sustentable de alimentos, a

la recuperación y conservación ecológica de los recursos naturales, al mejoramiento de los ingresos y a la calidad de vida de los productores.

Palabras Clave: Orgánica, Control, Biológico, plagas.

Agricultura Orgánica en el mundo

A nivel mundial desde la década pasada, la agricultura orgánica ha venido a conquistar las estructuras del mercado de los alimentos, debido a altas tasas de crecimiento de ventas de frutas y verduras orgánicas durante los últimos años, oscilando en un rango de 20 y 30%. De manera global las ventas de estos productos alcanzaron 23 mil millones de dólares, superando los 19 mil millones de dólares alcanzados en el 2001 (Sahota, 2004).

En el 2000 de los alimentos orgánicos certificados en Japón, fueron tan sólo alrededor de 350 millones de dólares. Para Estados Unidos, el mercado de los alimentos orgánicos se mantuvo a la cabeza con ventas de 11.75 mil millones de dólares en el 2002. En segundo lugar, en Alemania se reportaron ventas de 3.06 mil millones de dólares, y el mercado de Inglaterra en tercer lugar con ventas de 1.5 mil millones de dólares.

Recientemente se han observado tasas de crecimiento especialmente altas en el Reino Unido y en Italia (Willer y Yussefi, 2004).

Por otro lado, se ha manifestado que en la mayoría de los mercados, los consumidores orgánicos demuestran escepticismo con la autenticidad de los productos importados como orgánicos. En países como Estados Unidos, Japón y Austria, su predilección es consumir productos orgánicos internos, los que son producidos localmente, lo que se considera ya una tendencia mundial y no necesariamente que estos productos sean exclusivamente para exportación (Sahota, 2004).

Agricultura Orgánica

La agricultura orgánica es un sistema global de gestión de la producción que fomenta y se enfoca a la salud del agro ecosistema, incluyendo a la diversidad biológica, los ciclos biológicos, así como la actividad biológica del suelo que se obtiene empleando técnicas agronómicas, biológicas y mecánicas, en contraparte al empleo de materiales sintéticos, para satisfacer cualquier función en el sistema. La mayoría de las técnicas aplicadas por la agricultura orgánica, como la rotación de cultivos, el mulching o acolchado, la combinación entre agricultura y ganadería, son practicadas en otros tipos de agricultura, incluyendo la convencional (FIDA-RUTA-CATIE-FAO, 2003).

La IFOAM aporta otra definición como agricultura orgánica o ecológica a aquella forma de producción agrícola, en la que se obtengan alimentos y productos textiles sanos y seguros, proporcionando un bienestar desde el punto de vista ambiental, social y económico. Estos sistemas parten de la fertilidad del suelo como base para una buena producción, tomando en consideración los requerimientos y capacidades naturales de las plantas, animales y el ambiente. Este tipo de agricultura reduce la utilización de abonos químicos, plaguicidas u otros productos de síntesis. Así también, la fertilización orgánica, consiste en la utilización de residuos provenientes de la descomposición de productos vegetales y animales. Para la preparación del suelo se recomienda sólo el arado de cincel o algo similar, para no romper el equilibrio del agro ecosistema (IFOAM, 2005).

En cuanto al control de plagas y enfermedades, se puede utilizar la misma maquinaria e implementos que en la agricultura tradicional, pero sin residuos químicos; y se deben utilizar productos de origen orgánico como: compostas, extractos de plantas y árboles como eucaliptus (*Eucalyptus globulus*), ají (*Capsicum annum*), ortiga (*Urtica urens*), neem (*Azadirachta indica*), crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) (Campbell, 1989). El empleo de formulaciones a base de microorganismos patógenos de insectos, como la bacteria *Bacillus thuringiensis*, de las cepas variedad *kurstaki* y *aizawai* para el control de larvas de lepidópteros, pueden ser muy útiles. También el empleo de hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, resultan ser muy efectivos para combatir algunas plagas de interés (Lamas-Nolasco y colaboradores, 2003). Por otro lado, el favorecer el crecimiento de plantas nativas donde se ocultan los enemigos naturales de las diferentes plagas y la diseminación de patógenos o sus productos que causan enfermedades a las plagas, ayuda al restablecimiento del equilibrio natural de un ecosistema. Empleando criterios similares, para el control de malezas se considera la rotación de cultivos y la importancia de utilizar los espacios en distintas actividades, como el aprovechamiento de los potreros, donde sean sembrados en esa misma superficie, periodo tras periodo, con varios tipos distintos de cultivos, e incluso incorporando ganado pequeño y aves de corral (Codex Alimentarius, 1999; Gómez, 2000). En contraparte con la agricultura tradicional en la que normalmente se explotan los predios con monocultivos.

Una práctica importante en los cultivos orgánicos, es la rotación de multicultivos en su sistema como estrategias básicas de protección vegetal (Guzmán y colaboradores, 2000; Loya-Ramírez y colaboradores, 2003; García-Hernández y colaboradores, 2003a) y la recuperación de todos los desechos orgánicos de las cosechas y estiércol, para la fabricación de composta, y utilización en la fertilización del suelo y foliares futuras (Nieto-Garibay y colaboradores, 2001; 2002). La principal distinción de la

agricultura orgánica en términos del mercado es, que está reglamentada en virtud de diferentes normas y programas de certificación. Estas normas y reglamentos, además de establecer guías generales de producción, restringen y/o prohíben la mayor parte de los insumos sintéticos, tanto para fertilizar, como para controlar plagas y enfermedades (Riddle y Ford, 2000) (DOF, 2006).

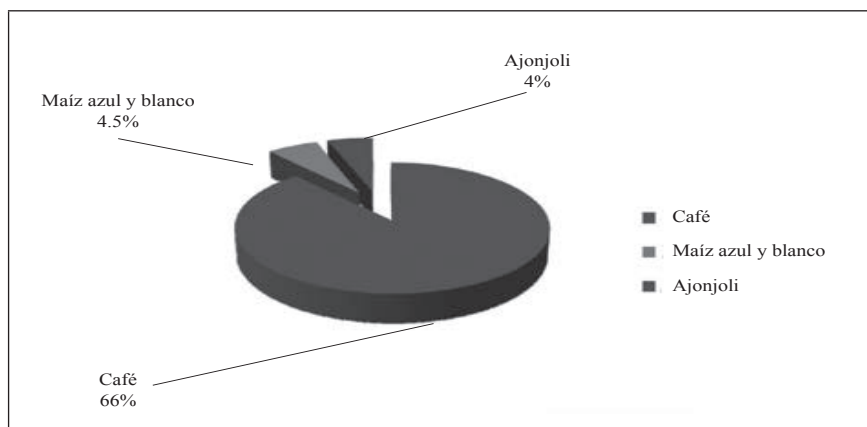
Agricultura Orgánica en México

La agricultura orgánica es un sistema de producción basado en la utilización de los insumos disponibles, preferentemente dándole gran importancia a la fertilidad del suelo, la actividad biológica, empleando materiales reciclables, reduciendo o eliminando el empleo de fertilizantes y plaguicidas sintéticos, protegiendo al medio ambiente, así como al hombre (SAGARPA, 2009).

- I. Este tipo de agricultura posee características de gran importancia.
- II. Fomentar y mantener empleo fijo en el área rural.
- III. Cesar el empleo de fertilizantes, plaguicidas, fungicidas, así como otros productos sintéticos.
- IV. Favorecer la salud de los agricultores y consumidores, así como la protección del medio ambiente, eliminando los riesgos asociados a la acumulación de compuestos tóxicos.
- V. Fomentar el conocimiento y manejo del equilibrio natural, enfocado hacia la prevención y la obtención de cultivos sanos.
- VI. Comprender y respetar las leyes de la naturaleza.
- VII. Protección y manejo de los recursos renovables y los no renovables.
- VIII. Incremento de la materia orgánica en el suelo y una disminución de minerales lixiviados.
- IX. Uso de insumos y recursos locales, empleando tecnologías adecuadas.

En el país, los estados que principalmente producen alimentos orgánicos son Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Chihuahua y Guerrero, lo que corresponde a 82.8% de la superficie de cultivo total, siendo los de mayor superficie de cultivo; con 70% Chiapas y Oaxaca (Gómez, 2000). En México, se cultivan alrededor de 45 alimentos orgánicos, siendo el café el de mayor importancia con 66% de superficie total cultivada (70,838 ha), con 47 mil 461 toneladas de producción. El maíz azul y blanco se encuentra en segundo lugar con 4.5% de la superficie cultivada (4,670 ha) y una producción de 7 mil 800 toneladas y en tercer lugar se encuentra el ajonjolí con 4% de la superficie (4,124 ha) y una producción de 2 mil 433 toneladas, figura 1.

Figura 1. Principales Alimentos orgánicos cultivados en México



Fuente: elaboración propia (Gómez, 2000).

Otros productos de importancia que se producen, aunque en menor proporción, son las hortalizas con tres mil 831 ha, el agave con tres mil 047 ha, las hierbas con dos mil 510 ha, el mango con dos mil 075 ha, la naranja con mil 849 ha, el frijol con mil 597 ha, la manzana con mil 444 ha, la papaya con mil 171 ha, y el aguacate con 911 ha. Así como, en menor proporción de superficie, se produce soya, plátano, cacao, vainilla, cacahuete, piña, jamaica, limón, coco, nuez, lichi, garbanzo, maracuyá y durazno. Otros productos obtenidos por medio de prácticas orgánicas son: miel, leche, queso, pan, yogurt, dulces y cosméticos (Gómez, 2000).

La SAGARPA y el gobierno del estado de Chiapas, recibiendo apoyo técnico del Proyecto Estratégico de Seguridad Alimentaria (PESA) de la FAO, apoyan la reconversión de sistemas de producción convencional de maíz de autoconsumo a sistemas de producción orgánica, asociados con otras especies como calabaza, frijol y chile en 50 mil hectáreas (FAO, 2009).

La certificación de productos orgánicos

Para garantizar la calidad de los productos exigida por los consumidores, se establecieron sistemas de certificación orgánica que son ampliamente regulados. Europa estableció en 1991 la ley núm. 2092/91 para la regulación de la producción orgánica (Schmidt y Haccius, 1998). Una legislación similar fue establecida en Estados Unidos

en 1991. Sin embargo, su reglamento no fue publicado, sino hasta febrero 2001, para entrar en vigencia en octubre del 2002.

Otro esfuerzo internacional, ha sido el desarrollo de la guía para la Producción Procesado, Etiquetado y Comercialización de Alimentos Producidos Orgánicamente, desarrollado por el Comité de Etiquetado de Alimentos del *Codex Alimentarius* que fue aceptado en 1999. Muchos productores organizados conformaron en 1972 una Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica, llamada IFOAM, con sede en Alemania. Esta federación afilia actualmente 750 organizaciones de 104 países. Una de las tareas prioritarias del IFOAM ha sido el establecimiento de normas de producción orgánica, adaptadas por muchas otras agencias de certificación y gobiernos del mundo. Además del IFOAM, se creó en 1992 una oficina para la acreditación de agencias de certificación, el IOAS (*International Organic Accreditation System*). Esta gestión no sólo garantiza una estandarización de los servicios de certificación, sino permite que, mediante la unión de las agencias, se pueda mantener el proceso de certificación en las manos de la sociedad civil organizada. Como primer paso en Centroamérica, en Costa Rica se estableció en 1995 la legislación sobre agricultura orgánica en la ley orgánica del Ambiente núm. 7554 en 1995 y la ley de protección fitosanitaria núm. 7664 en 1998 y su respectivo reglamento, modificado recientemente en el reglamento de agricultura orgánica núm. 29782 (Riddle and Ford, 2000).

La certificación es un procedimiento en el que una tercera parte garantiza por escrito que un producto, proceso o servicio se ajuste a determinada norma. Los productos alimentarios orgánicos certificados, son productos, cuya producción esta conforme a determinadas normas de producción y elaboración, mismos que han sido verificados.

Las normas de producción orgánica son documentos que contienen especificaciones, técnicas u otros criterios específicos, que deben utilizarse como guías, directrices o dogmas para garantizar que los materiales, productos, procesos y servicios sean ideales para su factibilidad (Codex Alimentarius, 1999).

Las normas relativas a los productos alimentarios orgánicos son normas de producción y/o elaboración que describen, prescriben, permiten o prohíben procedimientos y materiales, así como normas sobre la certificación y el etiquetado. La certificación es una medida necesaria para exportar frutas y verduras como orgánicas. Los costos de certificación generalmente son altos, aunque varían dependiendo del tamaño de la granja, el volumen de la producción y el organismo de certificación elegido. Cada país cuenta con una norma de producción que varía en sus exigencias, las más conocidas son la de la Unión Europea, Estados Unidos y Japón. Además de los requisitos exigidos por cada normatividad, según el país, las frutas y verduras orgánicas destinadas a la exportación deben cumplir con los requisitos normales concernientes a todas las frutas y verduras frescas, sean orgánicas o convencionales (IFOAM, 2000).

México se introdujo al cultivo de alimentos orgánicos en los años ochenta a partir de la crisis del café, convirtiéndose en el primer productor y exportador de café orgánico. No obstante, a la fecha, no cuenta con la normativa propia que favorezca a los productores mexicanos. Existe una propuesta de ley de producción de alimentos orgánicos en México que se discute en el senado. En América Latina, México representa el quinto lugar de producción de orgánicos, después de Argentina, Brasil, Chile, Uruguay, con una superficie de aproximadamente 125 mil has, y unos 40 mil productores dispersos por todo el país (Gómez, 2000).

Control biológico

El término de control biológico, fue empleado por primera vez por Smith H. S. en 1919, refiriéndose a la utilización de enemigos naturales (ya sea introducidos o manipulados) para el control de insectos plaga. A la fecha ha tenido un gran alcance, sin embargo, ha habido algunas controversias para definirlo correctamente por algunos autores, ya que el termino incluye aspectos académicos y aplicados (Wilson y Huffaker, 1976; García y colaboradores, 1988; Eilenberg y colaboradores, 2001). Algunos otros lo describen como el empleo de organismos vivos como agentes para el control de plagas (Greathead y Waage, 1983). Eilenberg y colaboradores, 2001, mencionan que dentro de los organismos vivos incorporan a los virus, pero no a genes o fragmentos de genes y a metabolitos obtenidos, sin los organismos que los producen. Huffaker (1985), menciona que los principios del control biológico están basados, en que bajo ciertas circunstancias, muchos insectos plaga son llevados a bajas densidades por medio de sus enemigos naturales.

A casi un milenio, uno de los casos más antiguos del empleo de enemigos naturales para el control de plagas, fue el uso de hormigas por agricultores Chinos. A finales del siglo XIX, el control biológico nace como un método científico, a partir de la introducción desde Australia a California de *Rodolia cardinalis* contra escama algodonosa de los cítricos, *Icerya purchasi*, en 1888. Por lo tanto, el método científico es relativamente moderno (Simmonds y colaboradores, 1976).

En América Latina los principales logros de Control Biológico, han sido contra la mosca prieta de los cítricos, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, en Mesoamérica; el barrenador de la caña de azúcar, *Diatrea saccharalis* (F.), en Cuba, Perú, Brasil y el Caribe; la escama harinosa, *I. purchasi*, en casi todos los países; el pulgón lanífero de la manzana, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann), en Uruguay, Chile y Argentina; la escama negra, *Saissetia oleae* (Olivier), en Chile y Perú (Altieri y colaboradores, 1989).

En México, desde el siglo pasado se despertó el interés de los expertos en el control biológico de plagas de insectos; pero fue hasta 1942 cuando se hicieron estudios más formalmente con la introducción de *Aphelinus mali* (Haldeman), para el control del pulgón lanífero del manzano, *Eriosoma lanigerum*, en Coahuila. En 1938 se realizó el primer intento para el control de la mosca prieta de los cítricos *A. woglumi*, pero fue hasta 1949 y 1950, cuando en conjunto con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y la antigua Dirección de Defensa Agrícola de México, realizaron un programa para introducir enemigos naturales desde la India y Pakistán con muy buenos resultados para el control de esta plaga (Jiménez, 1958; Smith y colaboradores, 1964; Carrillo-Sánchez, 1985).

Con el concomitante surgimiento de varios proyectos de introducción de enemigos naturales, previa introducción a los Estados Unidos, los principales enemigos naturales contra sus respectivas plagas fueron: *R. cardinalis*, contra la escama algodonosa de los cítricos *I. purchasi*; el parasitoide *Aphytis lepidosaphes* (Compere), contra la escama purpurea *Lepidosaphes beckii* (Newm); el parasitoide *Aphytis holoxantus* DeBach, contra la escama roja de Florida *Crysomphalus aonidium* (L.); los parasitoides *Anagyrus antoninae* Timb y *Neodusmetia sangwani* (Rao), contra la escama algodonosa de los pastos *Antonina graminis* Mask; los parasitoides *Diacasmimorpha longicaudatus* (Ashmead), *Syntomosphyrum indicum* Silv y *Pachycrepoides vindemmiae* (Rondani), contra las moscas de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) y *Anastrepha striata* Schiner; las especies *Praon palitans* Muesebeck, *Aphelinus semiflavus* Howard y *Trioxys utilis* Muesebeck, contra el pulgón manchado de la alfalfa *Therioaphis maculata* (Buckton) (Carrillo-Sánchez, 1985).

Actualmente y desde 1963, en Centros especializados de varios estados de México se cría de forma extensiva el parasitoide *Trichograma* spp. Existen aproximadamente 60 laboratorios, cuya producción y distribución, incluyen a 35 especies de agentes de control biológico, siendo 20% de depredadores, 48.5% de parasitoides y 31.5% de patógenos (Arredondo y Hernández, 2002). Recientemente se han realizado algunas aplicaciones de control biológico sobre las siguientes plagas: la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Barrera y colaboradores, 2000), las moscas de la fruta *Anastrepa* spp. (Liedo y Cancino, 2000), la cochinilla rosada del hibisco *Maconelli-coccus hirsutus* (Green) (García y colaboradores, 2007), el lirio acuático *Eichhorniae crassipes*, el pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) y la langosta *Schistocerca piceifrons* (Walker) (Arredondo, 2006).

Tipos de enemigos naturales

El control biológico está fundamentado en la utilización de organismos vivos para combatir a otros, tal es el caso del empleo de insectos entomófagos para el control de

insectos plaga. Las aplicaciones del control biológico se han extendido con el empleo de una gran diversidad de organismos para el control de insectos, ácaros, caracoles, algunos vertebrados y plantas tan distintas como algas, hongos, hierbas, arbustos y árboles. Dentro de los organismos empleados como agentes de control se encuentran virus, bacterias y sus toxinas, hongos y otros microorganismos patógenos, nematodos, caracoles, insectos, ácaros y vertebrados de varias clases (Wilson y Huffaker, 1976).

El mecanismo de acción de los organismos empleados como agentes de control, es provocar la muerte de los organismos que combaten, otros actúan de distinta manera, tal como lo hacen algunos hongos antagonistas, evitando que otros microorganismos prosperen, liberando algunos metabolitos (antibióticos) o el de algunos nematodos que provocan la esterilización de las hembras de los organismos que atacan o algunos otros que disminuyen la capacidad reproductiva o competitiva de algunas plantas (Wilson y Huffaker, 1976).

Dentro de los tipos de agentes de control biológico, estos autores: Stehr, 1975; Van Den Bosch, y colaboradores, 1982; y Greathead y Waage, 1983, los ordenan como:

Depredadores

Son organismos que consumen a otros organismos de manera activa durante toda su vida. Al organismo que consume un depredador se le denomina presa, generalmente, ésta es más pequeña que el depredador. Algunos son polífagos, cuando consumen un amplio rango de especies presa, otros son oligófagos, los que consumen un rango más estrecho y otros son monófagos, que son altamente específicos. Considerándose los dos últimos, los mejores agentes de control biológico. Normalmente los depredadores consumen un sólo tipo de presa, ya sea estadios inmaduros o adultos. Ejemplos de depredadores: las mantis, arañas y distintas especies de catarinas (Coccinellidae).

Parasitoides

Estos organismos son considerados como parásitos. Un parasitoide es una clase especial de depredador, normalmente del mismo tamaño que la presa, desarrollándose dentro o sobre de ésta, la cual la mayoría de las veces muere al ser atacada. El parasitoide en su estado larvario, es parasítico y los adultos son de vida libre y activos, buscando organismos para parasitar (huéspedes). Cada parasitoide consume un sólo huésped, por lo que se les considera principalmente monófagos. Ejemplo de parasitoides: las avispas parasíticas, como de la familia Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea).

Patógenos

Estos son microorganismos parasíticos que generalmente matan a su huésped. Los cadáveres de los huéspedes liberan millones de microbios individuales que se dispersan por el viento y la lluvia. De acuerdo a su tamaño y rápida multiplicación, los microorganismos son más fáciles de producir masivamente que los parasitoides, y pueden ser aplicados sobre cultivos con plagas, con los equipos desarrollados para la aplicación de plaguicidas químicos. Una gran variedad de microorganismos han sido empleados en control biológico, como bacterias, virus, hongos y protozoarios. A los nematodos que combaten artrópodos se les considera dentro de este grupo. Al empleo de patógenos para el manejo de poblaciones de plagas se le denomina control microbiológico, y está considerado como una subdivisión del control biológico.

Dentro de los enemigos naturales, *Bacillus thuringiensis* es el entomopatógeno más conocido, estudiado y ampliamente utilizado como agente de control microbiano. En el mercado alrededor de 90% de los bioinsecticidas están elaborados a base de esta bacteria *B. thuringiensis* (Bt), que es una bacteria Gram positiva, aeróbica, que forma esporas subterminales, sus células vegetativas tienen forma de bastón y presentan flagelos peritricos. Es un microorganismo ubicuo del suelo, del que se aísla con mucha frecuencia, y presenta una distribución cosmopolita (Lamas-Nolasco y colaboradores, 2003).

La principal característica de *Bt* es que, de manera simultánea a la formación de su espora, produce un cuerpo de naturaleza proteica llamado cristal. Al romperse la pared de la célula (autólisis) se liberan las proteínas cristalinas y la espora, al final de la esporulación. El cristal representa 30% del peso seco del esporangio (Hofte y Whiteley, 1989; Lambert y Peferoen, 1992).

Existe diferencia en cuanto a la toxicidad, dependiendo del tipo de δ -endotoxina presente en la cepa de *Bt*, se conocen a la fecha más de 380 δ -endotoxinas diferentes, de las que se han clasificado como proteínas *Cry* de la 1 a la 53, y estas su vez se dividen en subgrupos (Hofte y Whiteley, 1989; Crickmore y colaboradores, 1998; Crickmore y colaboradores, 2007). Cada grupo de proteínas presentan distintos grados de homología a nivel de secuencia de aminoácidos y la especificidad también es compartida con los *Cry* del mismo grupo. Algunas cepas de *Bt* producen varias proteínas distintas *Cry*, lo que amplía el rango de actividad. De tal modo, alguna especie de insecto puede ser susceptible a varias proteínas *Cry* (principalmente lepidópteros), sin embargo, puede mostrar diferente susceptibilidad a cada una de ellas (Schnepf y colaboradores, 1998; Hofte y Whiteley, 1989). *Bt* muestra actividad contra un gran número de larvas de lepidópteros, contra larvas de mosquitos y jejenes,

y contra algunas especies de coleópteros. La especificidad que muestra contra estos insectos representa una de las grandes ventajas de este bioinsecticida, ya que es completamente inocuo a otro tipo de insectos, especialmente los benéficos. De tal modo que su eficiencia en el Manejo Integrado de Plagas es alta. Por lo tanto, existen una gran cantidad de evidencias que certifica su inocuidad hacia vertebrados, entre ellos el hombre, lo que hace de *Bt*, junto con su inocuidad al medio ambiente, una de las alternativas ecológicas más atractivas (Entwistle y colaboradores, 1993).

Por otro lado, los micoinsecticidas son productos formulados con hongos entomopatógenos y constituyen una pequeña fracción de los biopesticidas. Debido al incremento en el costo de producción de los pesticidas químicos, la resistencia desarrollada por las plagas y la presión que existe por reducir la contaminación en el ambiente, ha surgido el interés de buscar alternativas para el manejo de plagas incluyendo hongos entomopatógenos (Thomas, 1997; Butt y colaboradores, 2001).

Las micosis (enfermedades causadas por hongos) son comunes y ampliamente distribuidas en poblaciones de insectos plaga, pueden regular o causar una alta mortalidad en poblaciones de insectos huéspedes, mediante grandes epizootias. Existen más de 700 especies de hongos entomopatógenos en aproximadamente 100 géneros que se presentan con una distribución mundial, sin embargo, solamente unos pocos son estudiados en forma intensiva (Roberts y Humber, 1981; Roberts, 1989; Roberts y colaboradores, 1991). Los hongos se encuentran asociados con insectos que viven en distintos hábitats, como el agua, suelo y partes aéreas (Carruthers y Hural, 1990). Por su peculiar forma de infectar, los hongos son los principales microorganismos que infectan a insectos chupadores como áfidos, mosquita blanca, escamas, chicharritas y chinches.

Para la aplicación de productos provenientes de hongos, las condiciones favorables (alta humedad, temperatura) pueden ocurrir temprano por la mañana o durante la tarde, por lo que se recomienda aplicar durante estos periodos del día. El insecto debe encontrarse en estado susceptible (los estadios juveniles son los más susceptibles y más fáciles de controlar). La forma de aplicación del micoinsecticida depende de la naturaleza del inoculo y del hábitat del insecto plaga. Puede ser como conidias o blastosporas (producidas por fermentación sumergida) de *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium* o *Metarhizium*, entre otros, los preparados pueden ser suspensiones líquidas o mezclados con polvos y asperjados con equipos convencionales (Chapple y colaboradores, 1996).

Otros organismos para el control de malezas

Insectos fitófagos de malezas, que son muy similares en muchos aspectos a las plagas de los cultivos, presentan una gran especificidad por su planta hospedera, lo que

garantiza que ataquen sólo a la maleza y no a un cultivo. Ejemplo de agentes de control de malezas: nematodos, hongos, y otros microorganismos como protozoarios, bacterias, rickettsias y virus.

Parásitos

Estos agentes de control a menudo debilitan sin matar a sus huéspedes, son normalmente más pequeños que éstos. Los parásitos viven a expensas del huésped durante toda su vida, a excepción de cuando se encuentran en estado de huevo o espora. A excepción de algunos nematodos parásitos de insectos, los parásitos no son considerados buenos agentes de control.

Antagonistas

Hay agentes de control biológico que tienen un efecto sobre la abundancia de las plagas, sin consumirla propiamente, es decir, que afecta a la plaga de manera excluyente y competitiva, lo que puede ser de forma física (competencia por un espacio) o mediante la excreción de sustancias inhibitorias (antibióticos) que excretan los antagonistas. Estos agentes tienen una gran importancia en el control de biológico de fitopatógenos.

Estrategias de control biológico

Los agentes de control biológico pueden ser empleados de distintas formas para el control de plagas agrícolas. Dependiendo las características biológicas del agente de control, se emplea determinada estrategia (Greathead y Waage, 1983). Se pueden emplear entre tres formas o estrategias de control biológico: por conservación, por introducción y por incremento (Anónimo, 1990).

Control biológico por conservación

Uno de los primeros puntos a cubrir en control biológico consiste en utilizar prácticas agroecológicas como, la conservación de enemigos naturales presentes o nativos del cultivo, supervisando su actividad, supervivencia y reproducción, para promover

y aumentar su efecto sobre las plagas (Anónimo, 1990). La preservación de los entomófagos se enfoca principalmente para controlar plagas endémicas, mejorar que se establezcan las especies introducidas para en control de plagas exóticas, así mismo, aumentar la eficiencia de las especies criadas masivamente en laboratorios (Trujillo, 1991). Es importante para establecer un buen control, observar cuáles especies de entomófagos se encuentran presentes, saber que plagas atacan, cuáles se desempeñan mejor y en qué circunstancias se encuentran. De acuerdo a esto, se decide por la especie más adecuada (Anónimo, 1990). En América Latina debido a que las plagas son endémicas, esta estrategia es la más empleada y su aplicación suele ser la más económica (Trujillo, 1991).

Control biológico por introducción

Si al monitorear el cultivo se observa la ausencia de enemigos naturales que controlen efectivamente una plaga, entonces se podría elegir el incluir y establecer alguna especie de manera fija en ese cultivo (Anónimo, 1990). Este tipo de estrategia es llamada control biológico clásico y es el más empleado para plagas exóticas, mismas que normalmente ingresan a un cultivo sin factores naturales para su control (Greathead y Waage, 1983). Al control de plagas nativas que no tienen enemigos naturales efectivos se le llama control biológico neoclásico o control biológico clásico de nueva asociación (Stehr, 1975; Greathead y Waage, 1983). Extraordinariamente este tipo de control permite disminuir a la plaga a densidades poblacionales bajas por tiempo indefinido (Greathead y Waage, 1983; Anónimo, 1990).

Control biológico por incremento

Si bien los enemigos naturales son biológicamente efectivos para controlar una plaga, en ocasiones fallan, aun manteniendo el empeño en la conservación o introducción de especies naturales benéficas, entonces se podría aumentar su población por medio de la cría masiva y liberación. Dado que este tipo de estrategia de control biológico resulta más costosa, sólo se utilizará si las otras estrategias resultaran incapaces de controlar la plaga (DeBach y Hagen, 1968; Anónimo, 1990). Para la aplicación de esta estrategia por los productores es necesario que sea más económica en comparación con el control químico (Greathead y Waage, 1983).

Ventajas y desventajas del control biológico

Ventajas

Este posee una gran variedad de ventajas: muy poco o incipiente efecto adverso, existen casos raros de resistencia, proporciona control a largo plazo, elimina por completo el empleo de insecticidas químicos, en cuanto al costo y las bondades que se obtienen resulta factible, evita que surjan plagas secundarias, se puede utilizar como parte del Manejo Integral de Plagas (MIP) y resulta inocuo para el hombre, así como para el medio ambiente.

Económicamente los beneficios del control biológico han sido muy satisfactorios. Por ejemplo, se ha calculado un retorno aproximado por cada dólar invertido de 30 a 1, mientras que para el control químico la relación ha sido de 5 a 1 (DeBach, 1977; Hokkanen, 1985). Greathead y Waage, 1983, mencionan que en California en los años 1923-1959, se ahorraron \$115.3 millones de dólares en cinco proyectos para controlar cinco plagas con una inversión de \$4.3 millones, por cada dólar de inversión se obtuvieron \$26.8 dólar. En Australia, se obtuvieron \$392 millones de dólares para el control de cuatro plagas, mientras que los costos de investigación fueron \$13.6 millones con una relación de 28.8 por 1. Algunos proyectos del *International Institute of Biological Control* (Inglaterra) muestran ganancias de hasta \$346.5 dólares por cada dólar invertido.

Desventajas

Desconocimiento de los principios del método, existe corto presupuesto destinado al control biológico, existen pocos expertos en el área, existe baja disponibilidad, problemas al emplearlo en complejos de plagas, presentan susceptibilidad a los plaguicidas, los enemigos naturales se desarrollan de forma lenta con respecto a la plaga que atacan, en contraparte con la inhibición rápida que provocan los insecticidas, el control biológico no presenta un efecto drástico a corto plazo como el observado con los insecticidas químicos, por lo cual los agricultores demuestran cierta desconfianza.

Conclusiones

En la agricultura orgánica, el manejo de las plagas puede ser el reto más difícil de resolver, existen plagas que se presentan en grandes poblaciones como algunas especies de lepidópteros entre ellos: *Spodoptera frugiperda* y *Spodoptera exigua*. Es importante

conocer el comportamiento de una plaga y establecer estrategias adecuadas, actuar en forma y tiempo, resolviendo ciertas incidencias, ya que los daños producidos por los insectos, resulta en pérdidas económicas cuantiosas.

Es primordial la investigación en esta área, es de gran valor para identificar las causas de éxito o fracaso en algún programa de control biológico, así como para su desarrollo. Es necesario aprender a administrar los recursos disponibles en bienestar de la generación presente y de las futuras. Se deben valorar y aprovechar las innumerables especies vegetales con potencial repelente o insecticida, aprovechar la guerra interna que se desarrolla en la clase insecta, encontrar y desarrollar los enemigos naturales de las plagas que amenazan los cultivos, crear estrategias de control biológico adecuadas para cada caso. Actualmente, en México existen centros especializados donde se cría de forma masiva a insectos. Existen aproximadamente 60 laboratorios cuya producción y distribución, incluyen a 35 especies de agentes de control biológico, 20% son depredadores, 48.5% son parasitoides y 31.5% son patógenos.

El favorecer a sectores rurales de México, a los grupos indígenas, a los productores de bajos recursos, a una producción sustentable de alimentos, a la recuperación y conservación ecológica de los recursos naturales, al mejoramiento de los ingresos y a la calidad de vida de los productores, fomentando un desarrollo rural más amigable con nuestro medio ambiente y el hombre.

Agradecimientos

A los Editores de este libro a la Dra. María Lourdes Aldana, a la Dra. Rocío M. Urestí Marín, al Dr. José Alberto Ramírez de León y a la Dra. María Guadalupe Flavia Loarca por considerarnos en participar, así como el reconocer su entusiasmo de siempre y su gran interés en dar a conocer los avances que se han tenido en el área de Ciencia y Tecnología de los Alimentos en nuestro país, México.

A la Secretaría de Investigación y Postgrado del IPN y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN.

Referencias

Altieri, M. A., J. Trujillo, L. Campos, C. Klein Koch, C. S. Gold, J. R. Quezada (1989), *El control biológico clásico en América Latina en su contexto histórico. Manejo Integrado de Plagas*, vol. 12, pp. 82-107.

- Anónimo (1990), *Manual de capacitación en control biológico*, Cenicafé/CIBC. Colombia, pp. 174.
- Arredondo Bernal, H. C. y V. M. Hernández (2002), “Sinopsis: Situación actual del control biológico de plagas en México”, in XIII Memoria del curso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico, México, pp. 175-186.
- Arredondo Bernal, H. C. (2006), “Aportaciones del control biológico en México”, XVII Curso Nacional de Control Biológico. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Sociedad Mexicana de Control Biológico, ED. Ángel Sahagun, C. A., pp. 218-232.
- Barrera, J. F., F. Infante, W. De la Rosa, A. Castillo y J. Gómez (2000), “Control Biológico de la broca del café”, in Badii, M. H., A. E. Flores and W., L. J. Galan, *Fundamentos y perspectivas de control biológico*, México, Universidad Autónoma de Nuevo León, pp. 211-229.
- Butt Tariq, M., C. Jackson and N. Magan (2001), *Introduction Fungal biological control Agents: progress, Problems and Potential, Fungi as Biocontrol Agents*, Butt, T. M., Jackson, C. & Magan, N., pp. 1-8.
- Campbell, W. C. (1989), *Ivermectin and Abamectin*, New York, Springer-Verlag, pp. 363.
- Chapple, A. C., R. A. Downer, T. M. Wolf, R. A. Taylor and F. R. Hall (1996), “The application of biological pesticides: Limitations and practical solution”, *Entomophaga*, vol. 41, pp. 465-474.
- Carrillo Sánchez, J. L. (1985), *Evolución del control biológico de insectos en México*, México, Folia, Entomol, vol. 65, pp. 139-146.
- Carruther, I. R. and K. Hural (1990), *Fungi as natural occurring entomopathogens, In: new Directions in biological control: Alternatives for suppressing agricultural pest and diseases*, Liss, A. R., Inc. pp. 115-138.
- Crickmore, N., D. R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum and D. H. Dean (1998), “Revision of the Nomenclature for the Bacillus thuringiensis Pesticidal Crystal Proteins”, *Microbiol, Mol. Biol. R.*, vol. 62, pp. 807-813.
- Crickmore, N., D. R. Zeigler, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, A. Bravo, and D. H. Dean (2007), “Bacillus thuringiensis toxins nomenclature”, disponible en http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/
- Codex Alimentarius (1999), *Guidelines for the production, processing, labeling and marketing of organic produced products*, GL-32-1999, Rev. 2001.
- DeBach, P. and K. S. Hagen (1968), *Manipulación de especies entomófagas*, pp. 515-546.
- Debach, P. (1977), *Lucha biológica contra los enemigos de las plantas*, Madrid, Mundi-Prensa, pp. 339.

- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2006). “Ley de Productos Orgánicos”, Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. Centro de Documentación, Información y Análisis.
- Entwistle, F., J. S. Cory, M. J. Bailey and S. Higg (1993), *Bacillus thuringiensis, An Environmental Biopesticide: Theory and Practice*, London, John W. and Sons, Ltd.
- Eilenberg, J. A. Hajek and C. Lomer (2001), “Suggestion for unifying the terminology in biological control”, *Biocontrol*, vol. 46, pp. 387-400.
- FAO. (2009), *La administración de empresas agrícolas: un programa para capacitación de extensionistas*, América Latina. Material de capacitación para gestión, comercialización y Finanzas Agrícolas.
- FIDA-RUTA-CATIE-FAO. (2003), *Agricultura Orgánica: Una herramienta para el Desarrollo Rural Sostenible y la Reducción de la Pobreza Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA)-Unidad Regional de Asistencia Técnica (RUTA)-Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)-Organización de las naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)*, Costa Rica, Turrialba, pp. 111.
- García, R., L. E. Caltagirone and A. P. Gutiérrez (1988), “Comments on a redefinition of biological control”, *Biosciencie*, vol. 38, pp. 692-694.
- García Hernández, J. L., J. G. Ioya, E. Troyo Diéguez, B. Murillo Amador (2003^a), “Actividad de insectos entomófagos en algodónero con cultivos promotores intercalados”, in J. Romero Nápoles, E. G. Estrada y A. Equihua Martínez, *Entomología Mexicana*, vol. 2, Sociedad Mexicana de Entomología, pp. 450-455.
- García Valente, F. L., D. Ortega Arenas, H. Hernández González, J. A. Villanueva Jiménez, J. López Collado, A. González Hernández y H. C. Arredondo Bernal (2007), “Control biológico de la cochinilla rosada del hibisco *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) en frutales de Bahía de Bandejas”, *Entomología Mexicana*, Nayarit, vol. 6 (1), pp. 488-492.
- Greathead D. J. and J. K. Waage (1983), *Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries*, The World Bank, Washington, D. C., World Bank Technical Paper Number 11, pp. 44.
- Gómez, A. (2000), “Agricultura Orgánica en el Codex Alimentarius, Seminario Protección del consumidor desde las ONGs y el Codex Alimentarius”, CEADU. Montevideo, disponible <http://internet.com.uy/rusinektf/04agroecologia/agr01.htm>
- Guzmán, A., González, M., Sevilla, E. (2000), *Introducción a la Agroecológica como Desarrollo rural sostenible*, Madrid, España, Mundi prensa, pp. 535.
- Hofte, H. and H. R. Whiteley (1989), “Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*”, *Microbiol. Rev.*, vol. 53, pp. 242-255.

- Hokkanen, H. M T. (1985), "Success in classical biological control, C. R. C. Crit", *Rev. Plant. Sci.*, vol. 3, pp. 35-72.
- Huffaker, C. B. (1985), *Biological control in integrated pest management an entomological perspective*, In Hoy, M. A. & Herzog, D. C., *biological control in agriculture IPM systems*, N.Y., Academic Press, pp. 13-23.
- IFOAM. (2005), *The World of Organic Agriculture, Statistics and Emerging Trends*, Bonn, Germany, International Federation of Organic Agriculture Movements IFOAM & Research Institute of Organic Agriculture. FiBL.
- Jiménez, E. J. (1958), "El empleo de enemigos naturales para el control de insectos que constituyen plagas agrícolas en la República Mexicana", *Fitofilo*, vol. 21, pp. 5-24.
- Lambert, B. and M. Peferoen (1992), "Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*", *BioScience*, vol. 42, pp. 112-122.
- Lamas Nolasco, M. A., O. Neri Flores, G. Sánchez Rodríguez, J. R. Galavíz Rivas, (2003), "Agricultura Orgánica, Una Oportunidad Sustentable de Negocios para el sector Agroalimentario Mexicano", *FIRA Boletín Informativo*, núm. 322, volumen XXXV, p. 123.
- Liedo, P., Cancino J. (2000), "Control biológico de moscas de la fruta", in M. H. Badii, A. E. Flores and W. L. J. Galan, *Fundamentos y perspectivas de control biológico*, Universidad Autónoma de Nuevo León, pp. 231-242.
- Loya Ramírez, J. G., J. L. García Hernández, J. J. Ellington, D. V. Thompson (2003), "Impacto de la asociación de cultivos en la densidad de insectos Hemípteros entomófagos", *Interciencia*, vol. 28, pp. 415-420.
- Nieto Garibay, A., B. Murillo Amador, E. Troyo Diéguez (2001), "Evaluación de variables ecofisiológicas en plantas de ají (*Capsicum frutescens*) bajo tratamiento de composta y fertilizante químico", *Phyton international Journal Experimental Botany*, 2001, pp. 25-34.
- Nieto Garibay, A., B. Murillo Amador, E. Troyo Diéguez, J. Larrinaga, J. L. García Hernández (2002), "El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annum* L.) en zonas áridas", *Interciencia*, vol. 27, pp. 417-421.
- Riddle, J. A., J. E. Ford (2000), *Manual Internacional de Inspección Orgánica. International Federation of Organic Agriculture Movements*, Estados Unidos de Norteamérica, Tholey-Theley, Alemania Independent Organic inspectors Association, Broadus, MT, pp. 295.
- Roberts, D. W. and R. A. Humber (1981), "Entomogenous fungi, Biology of conidial fungi", in G. T. Cole & B. Kendrick, Academic Press, New York.
- Roberts, D. W. (1989), "Word picture of biological control of insects by fungi", *Memoorias del Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 84, supl. III, Rio de Janeiro, Brasil, pp. 89-100.

- Roberts, D. W., J. R. Fuxa, R. Gaugler, M. Goettel, R. Jaques and J. Maddox (1991), "Use of pathogens in insect control", in D. Pimentel (ed.), *Handbook of pests management in agriculture*, Boca Raton, FL, 2nd, vol. 2, CRC Press, pp. 243-278.
- SAGARPA (2009), Secretaría de Energía: Energías Renovables para el Desarrollo Sustentable en México.
- Sahota, Amarjit (2004), "Overview of the global market for organic food and drink", *The World of Organic Agriculture Statistics and Emerging Trends 2004*, SOL, Alemania, IFOAM, FIBL, pp. 21-26.
- Schmidt, H., M. Haccius (1998), *EU Regulation on organic farming. A legal and Agro-Ecological Commentary on the UE council regulation (EEC)*, No. 2092/91. Margraf Verlag. Alemania, pp. 417.
- Schnepf, E., N. Crikmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D. R. Zeigler and D. H. Dean (1998), "Bacillus thuringiensis and Its Pesticidal Crystal Proteins", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 62, pp. 775-806.
- Simmonds, F. J., J. M. Franz and R. I. Sailer (1976), "History of biological control, Theory and practice of biological control", in Huffaker, C. B. and P. S. Messenger, Academic Press, pp. 17-39.
- Smith, H. D., H. L. Maltby and E. Jimenez (1964), "Biological control of the citrus blackfly in Mexico", Technical bulletin, num. 1311, US Dept. Of Agriculture, pp. 30.
- Stehr, F. W. (1975), *Parasitoids and predators in pest management, Introduction to pest management*, in Metcalf, R. L. and W. H. Luckmann, W. John and Sons, New York, pp. 147-188.
- Thomas, M. B. (1997), "Fungal Ecology and its application to the practical use of mycoinsecticides", BCPC Symposium Proceedings No 68, Microbial.
- Trujillo, J. (1991), "Metodología del control biológico", in Rodríguez del Bosque and R. Alatorre, Memorias del II Curso de Control Biológico, Saltillo, Coah., México, SMCB-UAAAN, Buenavista, pp. 43-46.
- Van den Bosh, R., P. S. Messenger and A. P. Gutierrez (1982), *An introduction to biological control*, N. Y., Plenum Press, pp. 247.
- Willer y Yussefi (2004), *The Word of organic agriculture, Statistics and emerging trends*, SOL, Alemania, IFOAM, FIBL, pp. 16.
- Wilson, F. and C. B. Huffaker (1976), *The philosophy, scope, and importance of biological control, Theory and practice of biological control*, in Huffaker, C. B. and P. S. Messenger, New York, Academic press, pp. 3-15.

Producción de transglutaminasa microbiana y sus aplicaciones potenciales en México

Guadalupe Concepción Rodríguez Castillejos, Simón Josías Téllez Luis, Manuel Vázquez Vázquez, Jorge Lois Correa, José Alberto Ramírez de León

Resumen

La industria alimentaria en México enfrenta grandes retos, los consumidores piden productos de buena calidad y a precio accesible. Existen en el mercado una gran variedad de aditivos alimentarios capaces de mejorar el aspecto, textura, sabor e incluso aumentar la vida de anaquel de los productos, sin embargo, el uso de éstos aumenta el costo del producto. La enzima transglutaminasa de origen microbiano *mTGasa* es utilizada para mejorar las propiedades mecánicas y de textura de los alimentos, principalmente en carnes y yogur. Mediante la formación de enlaces covalentes entre aminoácidos, la enzima logra mejorar la textura de la carne, además permite aprovechar pedazos de carne formando un reestructurado con mejores propiedades. La producción de la enzima es un proceso costoso ya que el medio de fermentación incluye materias primas caras, por lo que representa aproximadamente 30% del costo total del proceso. En México se han llevado a cabo estudios para aminorar los costos utilizando materias primas baratas, principalmente desechos industriales y granos de bajo costo, con la finalidad de obtener azúcares fermentables que sirvan como fuente de carbono para la bacteria. Además se han estudiado la adición de enzima con otros aditivos para obtener un mejor producto.

Palabras clave: Transglutaminasa, aplicaciones, proteína, producción biotecnológica.

Introducción

Las enzimas son bien conocidas por su papel como catalizadores esenciales para todas las reacciones bioquímicas de los organismos vivos. Existe una gran variedad de enzimas y por ello para unificar la clasificación y los nombres, la Unión Internacional de Bioquímica creó una Comisión de Enzimas (EC por sus siglas en inglés) en 1961. Las enzimas se clasifican de acuerdo a la reacción que cataliza sin tomar en cuenta composición de aminoácidos, secuencia o estructura. Se agruparon seis clases de enzimas: las oxireductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Las oxidoreductasas (*EC 1*) catalizan la transferencia de átomos oxígeno o hidrógeno de un sustrato a otro. El siguiente grupo, las transferasas (*EC 2*) catalizan la transferencia de grupos, entre ellos los grupos amino, carboxilo, carbonilo y metilo. Mientras que las hidrolasas (*EC 3*) son enzimas que catalizan reacciones que producen rotura por adición de agua. Las liasas (*EC 4*), catalizan reacciones de eliminación de grupos con la consecuente formación de un doble enlace o bien la adición de grupos a dobles enlaces. En el quinto grupo se encuentran las isomerasas (*EC 5*) que catalizan reacciones de isomerización, incluyendo racemización e isomerización cis-tran. Por último, las ligasas (*EC 6*) catalizan la síntesis de enlaces entre dos moléculas usando ATP (adenosin trifosfato) como fuente de energía. Cada uno de los seis grupos de enzimas tiene subclases, también clasificadas de acuerdo a la reacción (McKee y McKee, 2006).

Las transglutaminasas (*TGasas*; *EC 2.3.2.13*), son una familia de enzimas clasificadas en el grupo dos. Están presentes en la mayoría de tejidos y fluidos extracelulares de los vertebrados (Wilhelm y colaboradores, 1996; Griffin y colaboradores, 2002); fueron identificadas por Clarke y colaboradores (1959), como enzimas presentes en el hígado de cobayo que eran capaces de incorporar aminos dentro de las proteínas y están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Las transglutaminasas se han encontrado en mamíferos, peces, plantas y microorganismos (Jaros y colaboradores, 2006), y tienen una gran variedad de funciones biológicas. En humanos el factor XIII de coagulación que permite la formación de coágulos de fibrina mediante entrecruzamiento de estas moléculas es una *TGasa* (Griffin y colaboradores, 2002; Kashiwagi y colaboradores, 2002; Kikuchi y colaboradores, 2003). Las *TGasas* catalizan una reacción de acil transferencia. Los grupos *g-carboxamida* de un péptido con residuos de glutamina son los donadores del grupo acilo y los residuos de lisina funcionan como aceptores. Esto da como resultado la formación de un enlace cruzado entre glutamina y lisina (*ε-g-glutamina*). Las *TGasas* también catalizan reacciones de desamidación e incorporación de aminos (Özrenk, 2006):

a) Reacción de entrecruzamiento



b) Reacción de acil transferencia



c) Reacción de desamidación



A principios de 1980 se llevaron a cabo los primeros estudios para modificar el comportamiento de proteínas de la leche y la soya utilizando transglutaminasa extraída de hígado de cobayo y de plasma bovino (Ikura y colaboradores, 1980). Los enlaces cruzados formados con esta enzima mejoraban algunas propiedades funcionales de las proteínas como la solubilidad, capacidad emulsionante y gelificación, pero el costo y la poca disponibilidad de enzimas limitaban el uso en la industria alimentaria (Motoki y Seguro, 1998). Además esta transglutaminasa es dependiente de calcio, lo que era un obstáculo para usarse en alimentos que no contenían niveles suficientes del *ión*. Durante varios años la única fuente de enzima comercial fue la de hígado de cobayo, hasta que se logró el aislamiento y purificación de una enzima secretada por *Streptomyces mobarense* (Washizu y colaboradores, 1994). A esta enzima se le denominó transglutaminasa microbiana (*mTGasa*). La *mTGasa* es capaz de incorporar aminoácidos o péptidos a sustratos de proteínas, lo cual puede aumentar el valor nutricional de los alimentos. Además la *mTGasa* derivada de *Streptomyces mobarense* no es alergénica (Pedersen y colaboradores, 2004). La estructura y propiedades de la *mTGasa* le confieren importantes características para su utilización en la industria alimentaria como: amplio intervalo de pH y temperatura de actividad baja y media, alta velocidad de reacción, bajo peso molecular e independencia de calcio. Actualmente se utiliza para mejorar las propiedades físicas de muchos alimentos ricos en proteínas como pescado, carne, lácteos, soya (Motoki y Seguro 1998; Kuraishi y colaboradores, 2001). Se ha observado que la eficiencia de la enzima varía con la especie animal en la que se utilice (Carballo y colaboradores, 2006). Mediante la adición de *mTGasa* se mejora la estabilidad de las emulsiones proteicas tipo aceite en agua, se incrementa la capacidad emulsionante de los homogeneizados de pollo y se mejora el color y la textura (Ruiz-Carrascal y Regenstein, 2002).

Transglutaminasa microbiana

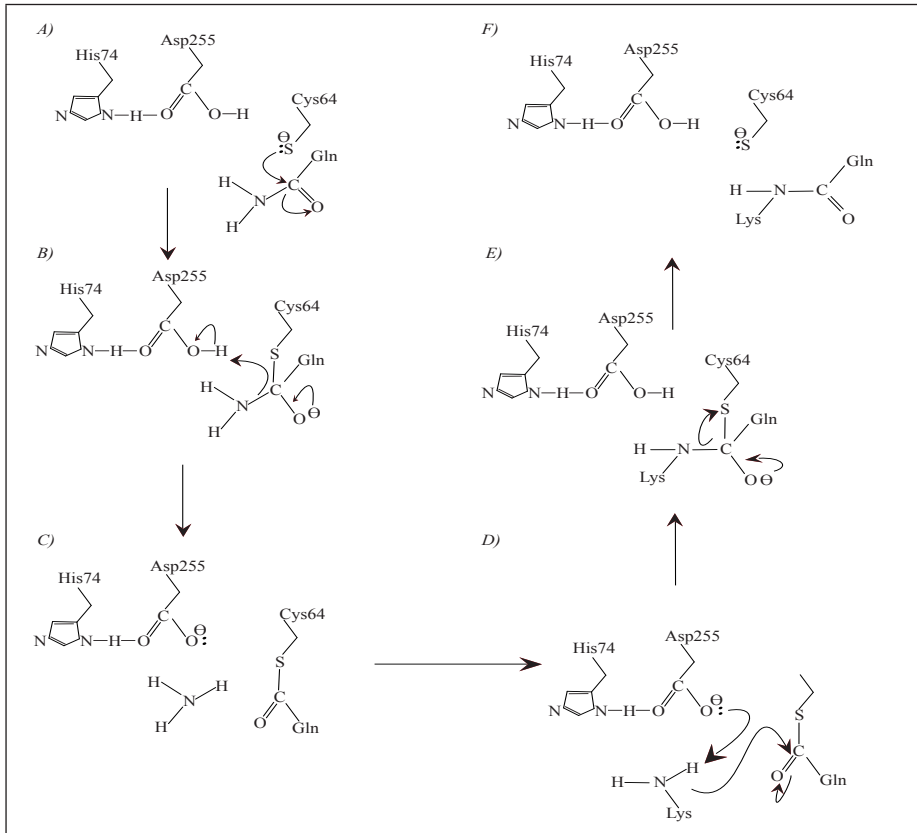
La *TGasa* extraída del hígado de cobayos fue la única comercializada hasta finales de la década de los ochenta. Esta enzima tenía un alto precio de extracción y purificación (Zhu y colaboradores, 1999; Motoki y Kumazawa, 2000). Se hicieron una serie de investigaciones para obtener la enzima mediante manipulación genética, la aceptación para usarse en alimentos fue muy baja. Después de analizar cinco mil cepas obtenidos de suelos, Ando y colaboradores (1989), lograron aislar enzima excretada por *Streptoverticillium S-8112*. Esta enzima microbiana no necesitaba la destrucción de la célula y la purificación era más fácil que la de la *TGasa* obtenida del hígado de cobayo (Yokoyama y colaboradores, 2004). La *mTGasa* es un polipéptido de una sola cadena con un peso molecular de 37.863 KDa (37.863 ± 8.8) formado por 331 residuos de aminoácidos (Kanaji y colaboradores, 1993) y punto isoeléctrico de 8.9, el pH óptimo es de 6-7, conservando actividad entre 4 y 9 (Ando y colaboradores, 1989; Schorsch y colaboradores, 2000; Yokoyama y colaboradores, 2004). Esta enzima contiene un sólo residuo de cisteína en la posición 64, que es esencial para su actividad catalítica. La estructura secundaria consiste en ocho láminas beta rodeadas por 11 alfa hélices (figura 2). La estructura de la *mTGasa* es muy diferente a la *TGasa* de mamíferos, la *mTGasa* adopta una forma parecida a un disco con una hendidura profunda en el borde del disco, en donde se encuentra el residuo de cisteína⁶⁴ (Kashiwagi y colaboradores, 2002; Tagami y colaboradores, 2009). A diferencia de la *TGasa* de mamíferos, la *mTGasa* es estable a altas presiones lo que la hace más útil en la industria alimentaria, ya que ofrece la posibilidad de modificar proteínas que no son accesibles bajo presión ambiental (Lauber y colaboradores, 2001). La *TGasa* microbiana no necesita de calcio como co-factor lo que la hace más útil en la industria alimentaria. La *mTGasa*, al igual que las otras *TGasas*, introduce un enlace covalente en sistemas proteicos mediante la transferencia de grupos acilo entre residuos de glutamina y una amina primaria. En ausencia de aminos primarios el agua puede ser el receptor del grupo acilo dando como resultado la desaminación del residuo de glutamina y la consecuente formación de ácido glutámico (Jaros y colaboradores, 2006). Debido a la propiedad de la *mTGasa* de incorporar aminoácidos como metionina y lisina, esta enzima es una herramienta valiosa para aumentar el contenido nutricional de los alimentos (Motoki y Kumazawa, 2000). Además de esta propiedad, la reacción de entrecruzamiento permite modificar ciertas propiedades funcionales de las proteínas como solubilidad, capacidad emulsificante y formación de geles.

Isopéptidos formados por *mTGasa*

En 2002, Kashiwagi y colaboradores, propusieron un mecanismo catalítico de la *mTGasa*. De acuerdo con este modelo de manera inicial el ión tiolato de la Cisteína⁶⁴ ataca de manera nucleofílica el lado de la cadena donde se encuentra el residuo de glutamina (donador de grupos acilo), que trae como consecuencia la formación de un complejo binario (denominado intermediario oxianion) entre la proteína que dona la glutamina y la *mTGasa*. En este momento la afinidad por el sustrato está determinada por la secuencia de aminoácidos adyacente a la glutamina y la conformación. Posteriormente el residuo de ácido aspártico²⁵⁵ dona un protón al oxianion, se libera una molécula de amonio y se forma el intermediario acil/enzima. Posteriormente el ácido aspártico²⁵⁵ cargado negativamente ataca nucleofílicamente un protón de un residuo de lisina (receptor de acilo) que reacciona con el intermediario acil/enzima. La reacción se completa con la liberación del producto del intermediario oxianion (figura 1).

El uso de la *mTGasa* en la industria alimentaria trajo consigo una serie de interrogantes relacionadas con la digestibilidad de los isopéptidos y la biodisponibilidad de la lisina incorporada. En 1972, Waibel y Carpenter alimentaron animales con productos reestructurados encontrando que el isopéptido ϵ -(*g*-glutamina) lisina reemplazaba la L-lisina. La prueba más contundente fue reportada por Finot y colaboradores (1978), en este estudio realizado en pollos, se marcó el isopéptido con ¹⁴C y se encontró *in vivo* que la lisina derivada es absorbida e hidrolizada en el intestino. Esta absorción es posible gracias a las enzimas γ -glutamil ciclotransferasa y γ -glutamil transpeptidasa. La γ -glutamil ciclotransferasa se encuentra en el riñón y cataliza la transferencia de un grupo glutamilo y convierte al isopéptido en lisina y 5-oxo-prolina, este último es metabolizado a glutamato por acción de la 5-oxo-prolinasa (Motoki y Kumazawa 2000; Jaros y colaboradores, 2006). Por otro lado la γ -glutamil transpeptidasa, localizada en riñón, sangre y en el borde en cepillo del intestino, es capaz de metabolizar directamente al isopéptido en lisina y glutamato (Seguro y colaboradores, 1995). La lisina liberada del isopéptido es aprovechada por el organismo de la misma manera que la lisina nativa de los alimentos (Jaros y colaboradores, 2006).

Figura 1. Mecanismo hipotético de procesamiento catalítico por la *mTGasa*



Fuente: tomado de Kashiwagi y colaboradores (2002). Los residuos Cisteína⁶⁴ y ácido aspartico²⁵⁵ son fundamentales para la reacción de acil transferencia. A diferencia de la *rgasa* de humanos, en la *mTGasa* el residuo de histidina no es importante para este proceso.

Aplicación de la *mTGasa* en la industria alimentaria

La *mTGasa* tiene acción directa sobre las proteínas de los alimentos, dado que las proteínas son parte importante en una gran variedad de propiedades de los alimentos, su modificación trae cambios fisicoquímicos notables. La introducción de enlaces covalentes adicionales por la enzima es una herramienta para mejorar las propiedades

funcionales de los alimentos, como, viscosidad, solubilidad, elasticidad, capacidad emulsificante, retención de agua, formación de geles y espumas (Jaros y colaboradores, 2006). En alimentos se prefiere la modificación enzimática al uso de productos químicos con los que la probabilidad de formar compuestos tóxicos es más alta. El uso de *mTGasa* en la industria alimentaria inició con la producción de productos de surimi en Japón (Jaros y colaboradores, 2006). La reestructuración de la carne fresca ha sido una de las principales aplicaciones de la enzima. La *mTGasa* puede reestructurar cortes de carne de bajo costo, de diferentes especies, y mejorar su valor en el mercado de productos procesados (Lee y Park, 2002).

Además de la industria de los cárnicos, la *mTGasa* se utiliza en la producción de yogur, con el objetivo principal de unir covalentemente las proteínas de la leche y mejorar la textura y propiedades funcionales del producto final sin reducir materia seca enriquecida (Jaros y colaboradores, 2006). En la tabla 1 se muestran algunas aplicaciones de la *mTGasa* en alimentos.

Tabla 1. Aplicación de *mTGasa* en alimentos procesados

Fuente	Producto	Efecto
Carne	Geles de carne de res	Mejora de la capacidad de retención de agua y textura
	Geles de puerco	Efecto en las retención de agua y color
	Productos varios	Mejora de textura, apariencia, estructura y unión de proteínas
Pescado	Surimi	Mejora de la calidad y formación de geles
	Filete	Mejora de propiedades funcionales y mecánicas
Trigo	Hojaldres	Mejora la elevación
	Croissant	Mejora la vida útil del producto
	Pasteles	Mejora de la calidad sensorial
Soja	Polímeros	Incremento en la solubilidad e hidrofobicidad
	Tofu	Mejora de la textura
Proteínas	Entrecruzamiento de proteínas	Mejora la composición de aminoácidos
Lana	Entrecruzamiento de proteínas	Incrementa en los hilos y fuerza de fabricación
Vegetales y frutas	Apio	Preservación de alimentos

Fuente: Modificado de Ozkrenz (2006).

Aplicación de *mTGasa* en productos lácteos

Los productos lácteos representan un importante sector en el mercado de alimentos. Se han llevado a cabo un gran número investigaciones con la finalidad de mejorar sus características y propiedades. El uso de la *mTGasa* en los productos lácteos ha tenido gran importancia sobre todo en el yogur, en donde se busca que con el uso de esta enzima se entrecrucen las proteínas de la leche y se mejoren las propiedades funcionales del producto final. Debido al uso de la *mTGasa* para mejorar la calidad del yogur, fue necesario establecer las condiciones de temperatura, tiempo de incubación y otras variables relacionadas con el proceso a escala de laboratorio. Lorenzen y colaboradores (2002), investigaron el efecto del tratamiento con *mTGasa* en propiedades seleccionadas de la leche. La leche incubada por dos horas a 40 °C con *mTGasa*, seguida de la inactivación de la misma (1 min a 80 °C) resultó en un tiempo de fermentación prolongado comparado con el control. Como se sabe las bacterias ácido lácticas usadas en la producción del yogur necesitan para crecer de la presencia de aminoácidos libres de las proteínas de la leche para crecer, y dado que la *mTGasa* es capaz de entrecruzar los aminoácidos, Neve y colaboradores (2001), estudiaron el crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii sp.* en leche tratada con la enzima. Encontrando que el crecimiento disminuyó, pero de manera muy ligera, comparado con leche no tratada. La mejor manera de medir la capacidad de entrecruzamiento de la *mTGasa* en un sustrato es mediante la identificación de isopéptido ϵ -(*g*-glutamil)lisina. En un estudio realizado por Sharma y colaboradores (2001), se encontró que en la leche la mayor proporción de entrecruzamiento se encuentra en los primeros 30 min de la reacción de la *mTGasa*. Esto fue comprobado mediante análisis en geles de sds, en los que se demostró que aunque la reacción de entrecruzamiento permanecía todo el tiempo, era mayor en la primera media hora.

También se encontró que tanto en leche precalentada, como en leche sin calentar, había una reducción de las formas monoméricas de caseínas β y κ durante la reacción con la enzima, lo que sugirió que estas proteínas son altamente susceptibles al entrecruzamiento por *mTGasa*. Además, solamente la β -lactoglobulina de leche no precalentada fue susceptible a la enzima, mientras que la α -lactalbumina fue entrecruzada en la leche calentada y no calentada. En este mismo sentido, O'sullivan y colaboradores (2002), investigaron la influencia de la *mTGasa* en algunas propiedades fisico-químicas de la leche y encontraron que la leche tratada con la enzima no se coaguló con cuajo y la disociación de las micelas de caseína por urea, citrato de sodio o fosfato de calcio se redujo, probablemente por el entrecruzamiento entre las moléculas de caseína. Además, las micelas resistieron un tratamiento con alta presión y la

hidrólisis por plasmina, lo que sugiere que la *mTGasa* modifica las proteínas de la leche y permite su aplicación en la manufactura de proteínas funcionales como ingredientes de los alimentos.

Las micelas de caseína son partículas formadas por cuatro diferentes caseínas y fosfato de calcio. La distribución de las caseínas y el calcio entre el suero y la fase micelar dependen de la temperatura y el pH. Se sabe que la *mTGasa* es capaz de entrecruzar estas moléculas de caseína, pero se desconocía el efecto del pH y la temperatura en el entrecruzamiento de la leche. Vasbinder y colaboradores (2003), estudiaron dos métodos de inducir gelificación ácida en la leche. Uno consistió en acidificar a temperaturas de 20 a 50°C y, el otro en disminuir el pH con una temperatura de 20 °C hasta el pH de gelificación y, posteriormente, se incrementó. Los geles de leche a pH alto y bajas temperaturas fueron fuertes y mostraron poca susceptibilidad a la sinéresis. Bajo estas mismas condiciones pero usando micelas de caseína entrecruzadas intra-molecularmente para prevenir la caseína del suero, se encontró que los geles no fueron firmes. Se demuestra que la caseína es esencial para la formación del gel en la leche. La importancia de estos estudios deriva en que los resultados pueden ser usados para optimizar y controlar las variables en la industria de lácteos que incluyen el tratamiento con *mTGasa*.

Productos cárnicos de res y pollo reestructurados con *mTGasa*

Uno de los retos en la industria alimentaria es mejorar no sólo el contenido nutricional de los alimentos, sino también su apariencia. Esto lo hace más atractivo a la vista del consumidor y aumenta su valor en el mercado. Por otro lado, en la industria de cárnicos, principalmente los provenientes de res y puerco, los retazos de carne pierden valor comercial, por ello se han buscado varios métodos para reestructurar estos cortes y mejorar su apariencia. Anteriormente se usaba la sal y tratamiento térmico para reestructurar (Huffman y colaboradores, 1981). Estos productos reestructurados debían ser congelados o pre-cocidos para conservarse más tiempo. Para evitar esto, se usaba una *TGasa* extraída del plasma, aunque era un proceso caro por la dificultad de purificar esta enzima. En 1997, Kuraishi y colaboradores, evaluaron el uso de la *mTGasa* para reestructurar retazos de carne sin necesidad de calentar o congelar durante el proceso. La capacidad reestructurante de la enzima fue probada en cubos de carne de puerco. Se añadió *mTGasa* durante dos horas a 5 °C y se analizó la fuerza de los productos reestructurados sin cocinar. La enzima resultó eficaz

uniendo los cubos de carne. Después se hizo el mismo tratamiento, pero sin la adición de *NaCl*, y se encontraron resultados muy parecidos, lo que sugirió que la enzima era un buen método para reestructurar carne sin necesidad de adicionar sal. Castro-Briónes y colaboradores (2007), utilizaron un gel, que semeja las condiciones de un producto cárnico reestructurado cocido, con la finalidad de determinar las condiciones óptimas de reestructuración de productos cárnicos de res cuando se adiciona *mTGasa*. Determinaron que el aumento en la adición de la *mTGasa*, así como la modificación de las condiciones de incubación incrementaron significativamente las propiedades mecánicas de los geles cárnicos reestructurados. Lo anterior se logró incubando a 50 °C por 30 minutos.

Varios grupos de investigación han estudiado el efecto de la concentración de la enzima, sal y fosfatos en las características de los productos cárnicos. Pietrasik y Li-Chan (2002), estudiaron el efecto de la concentración de *mTGasa* y sal sobre el color y textura de los geles de carne de cerdo producidos por calor y encontraron un mayor número de enlaces cruzados al aumentar las concentraciones de *mTGasa* en presencia de polifosfatos y un bajo nivel de sal en geles de carne. Posteriormente, Muguruma y colaboradores (2003), observaron una mejor textura en salchichas de pollo mediante la adición de *MTGasa*, soya y proteínas séricas, inclusive a niveles muy bajos de fosfatos. Se ha utilizado una variedad de ingredientes no cárnicos en combinación con la *MTGasa* para modificar las características de textura y retención de agua en diversos productos como caseinatos, carragenatos, soya, albúmina de huevo (Kilic, 2003; Pietrasik y Jarmoluk 2003; Carballo y colaboradores, 2006; Pietrasik y Li-Chan, 2002; Pietrasik, 2003). En el 2002, Kilic evaluó el efecto de la *mTGasa* y la caseína de sodio en la calidad del “*döner kebab*” (lo que en México se conoce como carnes al pastor) de pollo. La adición de la enzima con o sin caseína, produce el entrecruzamiento de proteínas de la carne. Aunque la textura mejoró cuando se usó caseína. Además, la adición de caseína ha dado como resultado un aumento en la fuerza del gel y una mejor masticabilidad (Carballo y colaboradores, 2006). También con la finalidad de mejorar las propiedades de textura de geles de carne de vaca con la adición de *mTGasa* y otros aditivos, se probó la combinación de la enzima con *k-carragenina* y albúmina de huevo o colágeno aislado de proteínas no musculares (NMP) a 2 por ciento. Se usó 0.5% de *mTGasa* y se hicieron tratamientos a la carne con o sin enzima, pero sí con el resto de los compuestos. De la carne que se trató con NMP y sin enzima se obtuvo un producto poco elástico y con pobre unión de proteínas. A estos geles se les agregó *mTGasa*, pero esta no fue capaz de reestructurar la textura. La *k-carragenina* ayudó a las propiedades de hidratación y estabilidad térmica (Pietrasik y Li-Chan, 2002).

Reestructuración de productos pesqueros con *mTGasa*

La *mTGasa* también ha sido utilizada, más recientemente, en pescado y pastas de pescado. El músculo de pescado contiene *TGasa*, y la actividad varía según la especie (Tsukamasa y colaboradores, 2002). Sin embargo, Seki y colaboradores (1990), observaron que la *TGasa* endógena causa endurecimiento del surimi a baja temperatura, debido a la formación de enlaces cruzados. La *mTGasa*, junto con otras enzimas, es adicionada a las pasta de pescado, principalmente surimi, para obtener productos reestructurados o para mejorar el aspecto y minimizar las pérdidas de materia prima en el tratamiento de filetes de pescado (Ramírez y colaboradores, 2002; Téllez-Luis y colaboradores, 2004b). Los productos pesqueros reestructurados surgieron por la necesidad de utilizar especies de pescado subvaloradas y para aprovechar los recortes del fileteado de las especies comerciales (Borderías y Pérez-Mateos, 1996). La principal aplicación de la *mTGasa* en los productos pesqueros ha sido en la elaboración de surimi, ahora se sabe que la *TGasa* endógena de las diferentes especies de pescado usadas para la producción de surimi era la responsable del fenómeno conocido como *setting*, que no es más que la formación de geles elásticos de pescado a temperaturas inferiores a 40 °C, después del tratamiento de cortado o desmenuzado y solubilizado con sal (Lee y colaboradores, 1997). Una vez que se logró aislar la *mTGasa* se pensó en usar esta enzima para mejorar los geles de pescado y aumentar la calidad del surimi.

Un factor determinante para la formación de geles o *setting* es la temperatura a la que se lleva a cabo, por eso varios grupos de investigación han estudiado la fuerza y textura de los geles formados con la adición de *mTGasa* a diferentes temperaturas. Tammatinna y colaboradores (2007), evaluaron las características de geles de pescado blanco (*Penaeus vannamei*) obtenidos a diferentes temperaturas y con adición de *mTGasa*. Se utilizó una temperatura de gelificación de 25 °C, durante dos horas y 40° C por 30 min, posteriormente los geles se calentaron por 20 min a 90 °C evaluándose la fuerza de los geles. Los geles obtenidos a 25 °C mostraron mayor fuerza de rompimiento. Se corrieron geles de poliacrilamida y se observó polimerización de la cadena pesada de miosina en las pastas a las que se adicionó *mTGasa*. La fuerza del gel dependió principalmente de la temperatura de gelificación.

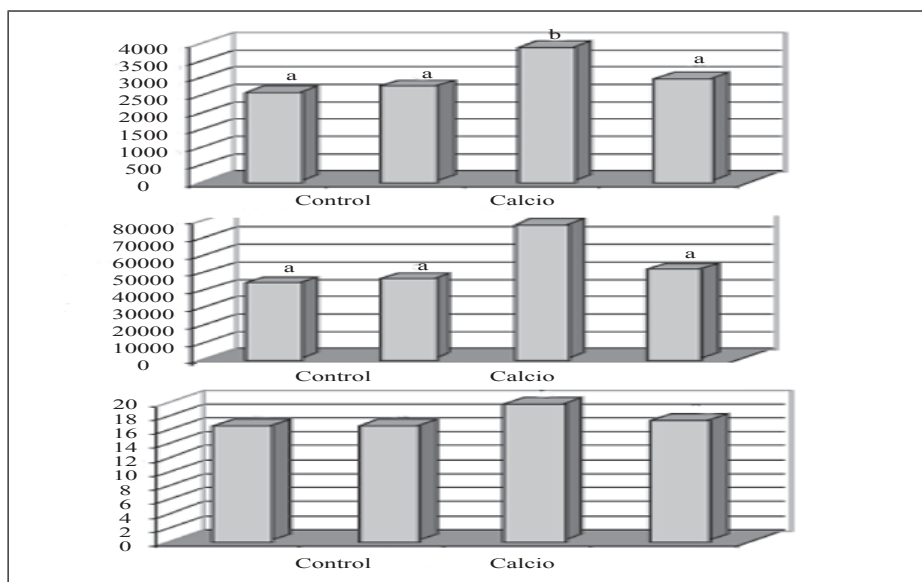
Aplicación de la *MTGasa* en México

La producción de *MTGasa* es un proceso costoso, principalmente por los componentes del medio de fermentación, diversos grupos han hecho estudios dirigidos a encontrar la reducción de costos en el medio de crecimiento de la bacteria. En México se ha

trabajado con melaza de caña de azúcar, paja de sorgo, papá, sorgo y maíz. La transglutaminasa obtenida ha sido utilizada principalmente para la elaboración de reestructurados de especies acuáticas de bajo valor comercial. Portilla Rivera y colaboradores (2009), utilizaron melaza de caña de azúcar como fuente de carbono para el crecimiento de *S. ladakanum*; siendo la melaza un subproducto de la industria azucarera, es una materia prima barata. La melaza contiene altas concentraciones de monosacáridos y disacáridos que no cristalizan durante el proceso de producción de azúcar comercial. La melaza de caña de azúcar ya ha sido estudiada para la obtención de otros metabolitos y el estudio de Portilla-Rivera y colaboradores (2009), fue el primero en usarla para la producción de transglutaminasa. En dicho estudio se utilizó una concentración de 60 g/L de azúcares totales, de los que aproximadamente 12 g/L eran glucosa. Además analizaron tres diferentes velocidades de agitación (200, 300 y 400 rpm). Se encontró que a 200 rpm se obtenía actividad de *mTGasa* hasta las 120 h de fermentación y esta era muy baja (0.40 U/mL). Al aumentarse la velocidad de agitación disminuía el tiempo de fermentación y aumentaba la actividad enzimática. A 300 rpm se encontró una actividad máxima de 0.19 U/mL a 72 horas de fermentación, mientras que a 400 rpm se obtuvo esta misma actividad a 48 horas de cultivo. La actividad máxima de *mTGasa* se obtuvo a las 96 h y 400 rpm (0.24 U/mL). Estos resultados mostraron que la melaza de caña de azúcar puede ser una fuente de carbono alterna para el crecimiento de *S. ladakanum* y la producción de *mTGasa*. También se ha estudiado el uso de xilosa obtenida de hidrólisis ácida de paja de sorgo (Tellez-Luis y colaboradores, 2004a), siendo la paja de sorgo un residuo agrícola, resulta más económica la producción de la enzima. Se utilizó una concentración de xilosa entre 10 y 30 g/L. Los medios de cultivo se incubaron a 26 °C, por 120 horas y a una velocidad de agitación de 250 rpm. En este estudio el hidrolizado se esterilizó en autoclave a 121 °C por 20 minutos y también se realizó una esterilización por filtración. Con el hidrolizado esterilizado por calor se obtuvo una actividad máxima de *mTGasa* (0.16 u/mL) a las 96 h de cultivo con 30 g/L de xilosa. Mientras que con el hidrolizado esterilizado por filtración, la actividad máxima fue de 0.35 U/mL a las 72 h de fermentación con 20 g/L de xilosa. Se concluyó que esta diferencia podría deberse a que al esterilizar por calor se pierden algunos factores de crecimiento presentes en el hidrolizado y por ello la actividad de enzima resulta más baja aún con más tiempo de fermentación. Posteriormente, se evaluó el uso de esta *MTGasa* obtenida en el incremento de las propiedades mecánicas de productos reestructurados de pescado (Telléz-Luis y colaboradores, 2004b). Se hicieron geles de lenguado (*Cyclopsetta chittendenni*), se adicionó 0.3 unidades de *MTGasa*/g de carne, para comparar también se hicieron geles con enzima comercial. En otro tratamiento se agregó cloruro de calcio para activar la enzima endógena. El pescado fue previamente lavado, eviscerado y fileteado; a todos los reestructurados se les hicieron

mediciones de textura, deformación, fuerza de rompimiento, capacidad de retención de agua y color. No se encontraron diferencias en los parámetros de textura entre los reestructurados preparados con la *mTGasa* extraída usando hidrolizados de paja de sorgo y *mTGasa* comercial. Los valores de fuerza de rompimiento de gel entre los reestructurados hechos con enzima comercial, cloruro de calcio y enzima endógena no mostraron diferencia significativa (figura 2). Los geles hechos con *mTGasa* obtenida usando el hidrolizado tuvieron valores más altos. Se encontraron resultados similares en los parámetros de deformación y resistencia del gel. Las *TGasas* estudiadas incrementaron las propiedades mecánicas de los geles de pescado, pero la *mTGasa* de los medios con hidrolizado no afectó la capacidad de retención de agua y color. Con ello, se logra además reducir costos en la producción de la enzima y en los geles. Existen varias especies acuáticas que aunque son abundantes no son comercialmente atractivas; un ejemplo es la carpa plateada, una especie no muy consumida debido a la gran cantidad de espinas y es usada principalmente por su capacidad de limpiar el agua. Por ello se ha buscado crear productos con un potencial valor comercial. Ramírez y colaboradores (2000), reportaron las condiciones óptimas para obtención de surimi de carpa plateada usando *mTGasa*.

Figura 2. Efecto de los aditivos en los parámetros de punción de reestructurados de pescado



Fuente: elaboración propia. Las letras arriba de las barras indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos. *SMGT: *mTGasa* de medios hechos con xilosa de hidrolizados; CMTG: *mTGasa* comercial. Control: *TGasa* endógena.

En este estudio de analizaron diferentes concentraciones de enzima, temperatura y tiempo de reacción. Las condiciones óptimas obtenidas fueron 8.8 g de *mTGasa* por kilogramo de surimi, con un tiempo de reacción de 1 hora a 39.6 °C. Además del surimi, también se ha propuesto jamón de carpa plateada. Para lograr este producto se propuso el uso de sal y *mTGasa* como agentes ligantes empleándose la técnica de masaje (15 °C por 1 h). Se hicieron pruebas usando únicamente la enzima (0.3% de *mTGasa*), pero se observó que las propiedades mecánicas eran mejores si también se agregaba 2.0% de sal (Ramírez y colaboradores, 2002). Téllez-Luis y colaboradores (2002), usando *mTGasa* y *NaCl*, también lo hicieron para reestructurar carne de carpa plateada. Se manejaron tres diferentes concentraciones de sal (0, 10 y 20 g/kg) y de enzima (0, 3 y 6 g/kg). Al analizar por geles de SDS-PAGE las proteínas de la carpa después del tratamiento con la enzima, encontraron una disminución de la solubilidad proteica y de las bandas de miosina. También se observó que al aumentar la concentración de sal se incrementó la retención de agua. Los productos con las mejores propiedades mecánicas se obtuvo con la combinación de 3 g/Kg de enzima y 10 g/kg de sal.

La lisa (*Mugil cephalus*) es otra especie abundante. Debido a los componentes grasos que posee y que pueden absorber olores indeseables de su dieta la carne es considerada un subproducto, siendo sus huevos el producto principal que se comercializa (Ramírez y colaboradores, 2007a). Por ello se ha buscado un proceso adecuado para obtener productos de lisa de buena calidad y sabor. Se ha demostrado que no es posible obtener productos reestructurados sin el uso de sal. También se ha estudiado la posibilidad de disminuir la concentración de la misma. Ramírez y colaboradores (2007a), estudiaron la posibilidad del uso de *MTGasa* o Concentrado Proteico de Suero (CPS) para preparar reestructurados de lisa usando una baja concentración de sal. Se utilizó lisa obtenida en la costa de Tamaulipas, al igual que en estudios previos, se quitaron las vísceras y se fileteó. Se utilizaron dos concentraciones de sal, 10 g/kg y 20 g/kg de carne; se preparó un control sin aditivos. Los reestructurados de pescado mostraron propiedades mecánicas apropiadas con 10 y 20 g de *NaCl*/kg. La fuerza de fracturabilidad usando 20 g/kg de sal se incrementó al agregar *MTGasa* o CPS. No se encontró diferencia entre las dos concentraciones de sal en los reestructurados con *MTGasa*. Con CPS la fracturabilidad mejoró sólo cuando se agregó 20 g/kg de sal. La concentración de sal no afectó los atributos de color de los geles, los reestructurados obtenidos con 20 g/kg de *NaCl* y *mTGasa* fueron ligeramente más oscuros comparados con los geles en los que se usó 10 g/kg de *NaCl*. Otra especie utilizada para producir reestructurados con baja concentración de sal ha sido el lenguado; los productos reestructurados de ambas especies mostraron propieda-

des mecánicas similares con 10 g/kg de *NaCl*, en ambas concentraciones de sal la mezcla de carne de lisa y lenguado dio como resultado geles de pescado con bajas propiedades mecánicas comparado con los geles hechos con una sola especie. En dicho estudio fue posible obtener geles de pescado en los que se mejoraron las propiedades mecánicas usando una baja concentración de sal (10 g/kg) y *mTGasa* (Ramírez y colaboradores, 2007b).

El uso de *mTGasa* y sal no son los únicos métodos usados para el mejoramiento de las propiedades de los geles de pescado. Una de las técnicas más útiles en la industria alimentaria es el procesamiento con alta presión, esto permite romper los enlaces no covalentes de las macromoléculas provocando desnaturalización, agregación y gelificación, pero no tiene efecto significativo sobre el color, sabor o contenido nutritivo de los alimentos. El tratamiento con alta presión elimina bacterias y esporas y aumenta la vida de anaquel de los productos, por ello esta técnica ha sido usada en alimentos, principalmente en productos lácteos pero también se ha aplicado en productos de pescado (Dattan y Deeth, 1999). Con la finalidad de mejorar los productos de pescado Uresti y colaboradores (2006), evaluaron la combinación del uso de *mTGasa* y la alta presión sobre las propiedades mecánicas y la formación de geles del fletán del pacífico (*Atheresthes stomias*). La adición de *mTGasa* se evaluó antes o después de presurizar (600 MPa por 5 min). Los análisis de textura mostraron que la presurización mejoró las propiedades mecánicas de las pastas de pescado tratadas con *mTGasa* a 25 °C (2 h). Al aumentar la temperatura (40 °C, 30 min) se obtuvieron resultados desfavorables y se sugiere que a esta temperatura se induce la degradación proteolítica de las proteínas miofibrilares.

Además de la combinación *mTGasa-NaCl* existen compuestos que se han estudiado en la reestructuración de pescado a bajas temperaturas. La adición de alginatos es un método usado para inducir la gelificación de pescado en frío. La combinación *mTGasa*-alginato ha sido investigada en la gelificación de algunas especies marinas como el músculo de merluza del cabo (*Merluccius capensis*). Se estudió la mejor combinación de estos dos aditivos sobre las características físicas y propiedades mecánicas de los geles. Moreno y colaboradores, 2008 lograron geles con buena calidad a 10 °C usando 1 g/kg de alginato de sodio y 1 g/kg de $CaCl_2$ en combinación con la enzima. La carragenina es otro aditivo que se usa generalmente para reestructurar carne de merluza con o sin adición de fibra ya que aumenta la fuerza de las pastas. Por ello, la combinación *mTGasa*-carragenina también ha sido evaluada y se encontrándose que una combinación de 0.5% (p/p) de *mTGasa* y 0.1% (p/p) de carragenina daban como resultado geles de merluza con mejor textura y mayor fuerza, comparados con la adición

sólo de carragenina (Cardoso y colaboradores, 2007). En general, la adición de *mTGasa* a los productos pesqueros dio como resultado la mejora de las propiedades de textura, fuerza y deformación de los geles obtenidos.

Conclusiones

La enzima *mTGasa* es un aditivo con amplio potencial para el desarrollo de nuevos productos y procesos en la industria alimentaria. Sin embargo su costo puede ser un factor limitante a la hora de seleccionarla como aditivo. Es por ello que se requiere desarrollar procesos biotecnológicos que permitan reducir sus costos de producción. El uso de desechos agropecuarios podría ser una alternativa viable.

Referencias

- Ando, H., M. Adachi, K. Umeda, A. Matsuura, M. Nonaka, R. Uchio, H. Tanaka, M. Motoki (1989), "Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms", *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 53, pp. 2613-2617.
- Borderías A. J., M. Pérez-Mateos (1996), "Productos pesqueros reestructurados", *Alimentaria*, vol. 269, pp. 53-62.
- Carballo, J., J. Ayo, F. Jiménez-Colmenero (2006), "Microbial transglutaminase and caseinate as cold set binders: Influence of meat species and chilling storage", *LWT- Food Science and Technoogy*, vol. 39, pp. 692-699.
- Cardoso, C., R. Mendes, M. L. Nunes (2007), "Effect of transglutaminase and carrageenan on restructured fish products containing dietary fibres", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 42, pp. 1257-1264.
- Castro-Briones, M., G. N. Calderón, G. Velázquez, M. Salud-Rubio, M. Vázquez, J. A. Ramírez (2007), "Effect of setting conditions using microbial transglutaminase during obtention of beef gels", *Journal of food process engineering*, vol. 32, pp. 221-234.
- Clarke, D. D., M. J. Mycek, A. Neidle, H. Waelsch (1959), "The incorporation of amines into proteins", *Archives of biochemistry and biophysics*, vol. 79, pp. 338-354.
- Dattan, N., H. C. Deeth (1999), "High pressure processing of milk and dairy products", *Australian Journal Dairy Technology*, vol. 54, pp. 41-48.

- Finot, P. A., F. Mottu, E. Bujard, J. Mauron (1978), "N-substituted lysines as sources of lysine in nutrition", *Advances in experimental medicine and biology*, vol. 105, pp. 549-570.
- Griffin, M, R. Casadio, C. M. Bergamini (2002), "Transglutaminases: Nature's biological glues", *Biochemical Journal*, vol. 368, pp. 377-396
- Huffman, D. L. L. y A. M., J. C. Cordray (1981), "Effect of salt concentration on quality of restructured pork chops", *Journal of Food Science*, vol. 46, pp. 1563-1565.
- Ikura, K., T. Kometani, M. Yoshikawa, R. Sasaki, H. Chib (1980), "Cross-linking of casein components by transglutaminase", *Agricultural and biological chemistry*, vol. 44, pp. 1567-1573.
- Jaros, D., C. Partschefeld, T. Henle, H. Roh (2006), "Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, applications", *Journal of Texture Study*, vol. 37, pp. 113-155.
- Kanaji, T., H. Ozaki, T. Takao, H. Kawajiri, H. Ide, M. Motoki, Y. Shimonishi (1993), "Primary structure of microbial transglutaminasa from *Streptovorticillum* sp. strain s-8112", *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 268, pp. 11565-11572.
- Kashiwagi, T., K. Yokoyama, K. Ishikawa, K. Ono, D. Ejima, H. Matsui, E. Suzuki, (2002), "Crystal structure of microbial transglutaminasa from *Streptovorticillum mobaraense*", *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, pp. 44252-44260.
- Kikuchi, Y., M. Date, K. Yokoyama, Y. Umezawa, H. Matsui (2003), "Secretion of active-form *Streptovorticillum mobaraense* transglutaminase by *Corynebacterium glutamicum*: processing of the pro-transglutaminase by a cosecreted subtilisin-Like protease from *Streptomyces albogriseolus*", *Applied and environmental microbiology*, vol. 69, pp. 358-66.
- Kilic, B. (2002), "Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab", *Meat Science*, vol. 63, pp. 417-421.
- Kilic, B. (2003), "Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab", *Meat Science*, vol. 63, pp. 417-421.
- Kuraishi, C., J. Sakamoto, K. Yamazaki, Y. Susa, C. Kuhara, T. Soeda (1997), "Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking", *Journal of Food Science*, vol. 3, pp. 488-515.
- Kuraishi, C., K. Yamazaki Y. Susa (2001), "Transglutaminase: Its utilization in the food industry", *Food Reviews International*, vol. 17, pp. 221-246.

- Lauber, S, I. Noack, H. Klostermeyer, T. Henle (2001), "Stability of microbial transglutaminase to high pressure treatment", *European food research and technology*, vol. 213, pp. 273-276.
- Lee, E. Y., J. Park (2002), "Pressure Inactivation Kinetics of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*", *Journal of Food Science*, vol. 67, pp. 1103-1007.
- Lee, H. G., T. C. Lanier, D. D. Hamann, J. A. Knop (1997), "Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols", *Journal of Food Science*, vol. 62, pp. 20-24.
- Lorenzen, P. C., H. Neve, A. Mautner, E. Schlimme (2002), "Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yogurt", *International journal of dairy technology*, vol. 55, pp. 152-157.
- Mckee, T., J. R. Mckee (2006), *Bioquímica, la Base molecular de la vida*, McGraw-Hill Interamericana, 3ª edición.
- Moreno, H. M., J. Carballo, A. J. Bordería (2008), "Influence of alginate and microbial transglutaminase as binding ingredients on restructured fish muscle processed at low temperature", *Journal of the science of food and agriculture*, vol. 88, pp. 1529-1536.
- Motoki, M., K. Seguro (1998), "Transglutaminase and its use for food processing", *Trends in Food Science Technology*, vol. 9, pp. 204-210.
- Motoki, M., Y. Kumazawa (2000), "Recent research trends in transglutaminase technology for food processing", *Food Science and Technology Research*, vol. 6, pp. 151-160.
- Muguruma, M., K. Tsuruoka, K. Katayama, Y. Erwanto, S. Kawahara, K. Yamachi, S. Sathe, T. Soeda (2003), "Soybean and milk proteins modified by transglutaminase improve chicken sausage texture even at reduced levels of phosphate", *Meat Science*, vol. 63, pp. 191-197.
- Neve, H., P. C. Lorenzen, A. Mautner, E. Schlimme, K. H. Heller (2001), "Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt: Microbiological aspects", *Kieler Milchwirtsch. Forschungsber*, vol. 53, pp. 347-361.
- O'Sullivan, M. M., A. L. Kelly, F. Fox (2002), "Influence of transglutaminase treatment on some physico-chemical properties of milk", *The Journal of Dairy Research*, vol. 69, pp. 433-442.
- Özren, E. (2006), "The use of transglutaminase in dairy products", *International Journal of Dairy Technology*, vol. 59, pp. 1-7.
- Pedersen, M. H., T. K. Hansen, E. Sten, K. Seguro, T. Ohtsuka, A. Morita, C. Bindslev-Jensen, L. K. Poulsen (2004), "Evaluation of potential allergenicity of

- the enzyme microbial transglutaminase using the 2001 FAO/WHO decision tree”, *Molecular nutrition and food research*, vol. 48, pp. 434-440.
- Pietrasik, Z., A. Jarmoluk (2003), “Effect of sodium caseinate and k-carrageenan on the binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition”, *Food Research International*, vol. 36, pp. 285-294.
- Pietrasik, Z., E. C. Y. Li-Cha (2002), “Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, κ -carrageenan and microbial transglutaminase addition”, *Food Research International*, vol. 35, pp. 91-98.
- Pietrasik, Z. (2003), “Binding and textural properties of beef gels processed with k-carrageenan, egg albumin and microbial transglutaminase”, *Meat Science*, vol. 63, pp. 317-324.
- Portilla-Rivera, O. M., S. J. Telléz-Luis, J. A. Ramírez, M. Vázquez (2009), “Production of microbial transglutaminase on medio made from sugar cane molasses and glycerol”, *Food Technology Biotechnology*, vol. 47, pp. 19-26.
- Ramírez, J. A., R. Uresti, S. Téllez-Luis, M. Vázquez (2002), “Using salt and microbial transglutaminase as binding agents in restructured fish products resembling hams”, *Journal of Food Science*, vol. 67, pp. 1768-1784.
- Ramírez, J. A., A. del Ángel, R. M. Uresti, G. Velazquez, M. Vazquez (2007a), “Low salt restructured products from striped mullet (*mugil cephalus*) using microbial transglutaminasa or whey protein concentrate as additives”, *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 243-249.
- Ramírez, J. A., A. del Ángel, R. M. Uresti, G. Velazquez, M. Vazquez (2007b), “Low salt restructured fish products using low-value fish species from the gulf of Mexico”, *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 42, pp. 1039-1045.
- Ruiz-Carrascal, J., J. Regenstein (2002), “Emulsion stability and water uptake ability of chicken breast muscle proteins as affected by microbial transglutaminase”, *Journal Food Science*, vol. 67, pp. 734-739.
- Schorsch, C., H. Carrie, I. T. Norton (2000), “Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation”, *International Dairy Journal*, vol. 10, pp. 529-539.
- Seguro, K., Y. Kumazawa, T. Ohtsuka, H. Ide, N. Nio, M. Motoki, K. Kubota (1995), “ ϵ -(g-Glutamyl)lysine: Hydrolysis by g-glutamyltransferase of different origins, when free or protein bound”, *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 43, pp. 1977-1981.

- Seki, N., H. Uno, N. Lee, I. Kimura, K. Toyoda, T. Fujita, K. Arai (1990), *Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin B*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, vol. 56, pp. 125-132.
- Sharma, R., Lorenzen, P., Qvist, K. B. (2001). "Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(**g-glutamyl**)lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking", *International Dairy Journal*, vol. 11, pp. 785-793.
- Tagami, U., N. Shimba, M. Nakamura, K. Yokoyama, E. Suzuki, T. Hirokawa (2009), "Substrate specificity of microbial transglutaminase as revealed by three-dimensional docking simulation and mutagenesis", *Protein Engineering Design and Selection*, 1-6 doi:10.1093/protein/gzp061.
- Tammatinna, A., S. Benjakul, W. Visessanguan, M. Takana (2007), "Gelling properties of white shrimp (*Panaeus vannamei*) meat as influenced by setting condition and microbial transglutaminase", *LTW-Food Science and Technology*, vol. 40, pp. 1489-1497.
- Téllez-Luis, S. J., J. J. González-Cabriales, J. A. Ramírez, M. Vázquez (2004a), "Production of transglutaminase by *Streptovorticillium ladakanum* NRLL-3191 grown on media made from hydrolysates of sorghum straw", *Food Technology and Biotechnology*, vol. 42, pp. 1-4.
- Téllez-Luis, S. J., J. A. Ramírez, M. Vázquez (2004b), "Application in restructured fish products of transglutaminase obtained by *Streptovorticillium ladakanum* in media made from hydrolysates of sorghum straw", *Journal of Food Science*, vol. 69, pp. 1-5.
- Téllez-Luis, S. J., R. M. Uresti, J. A. Ramírez, M. Vázquez (2002), "Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase as binding agent", *Journal of the science of food and agriculture*, vol. 82, pp. 953-959.
- Tsukamasa, Y., Y. Miyake, M. Ando, Y. Makinodan (2002), "Total activity of transglutaminase at various temperatures in several fish meats", *Fisheries Science*, vol. 68, pp. 929-933.
- Uresti, R. M., G. Velázquez, M. Vázquez, J. A. Ramírez, J. A. Torres (2006), "Effects of combining microbial transglutaminase and high pressure processing treatments on the mechanical properties of heat-induced gels prepared from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*)", *Food Chemical*, vol. 94, pp. 202-209.
- Vasbinder, A. J., H. S. Rollema, A. Bot, C. G. Kruif (2003), "Gelation mechanism of milk as influenced by temperature and pH; studied by the use of transglutaminase cross-linked casein micelles", *Journal of Dairy Science*, vol. 86, pp. 1556-1563.

- Waibel, P. E., K. J. Carpenter (1972), "Mechanisms of heat damage in proteins. 3. Studies with ϵ -(g-l-glutamyl)-l-lysine", *The British Journal of Nutrition*, vol. 27, pp. 509-515.
- Washizu, K., K. Ando, S. Koikeda, S. Hirose, A. Matsuura, H. Takagi, M. Motoki, K. Takeuch (1994), "Molecular cloning of the gene for microbial transglutaminase from *Streptoverticillium* and its expression in *Streptomyces lividans*", *Bioscience biotechnology and biochemistry*, vol. 58, pp. 82-7.
- Wilhelm, B., A. Meinhardt, J. Seitz (1996), "Transglutaminases: purification and activity assays", *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications*, vol. 84, pp. 163-77.
- Yokoyama, K., N. Nio, Y. Kikuchi (2004), "Properties and applications of microbial transglutaminase", *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 64, pp. 447-454.
- Zhu, Y., J. Bol, A. Rinzema, J. Tramper, G. Wijngaards (1999), "Transglutaminase as a potential tool in developing novel protein foods", *Agro Food Industrial Hi Tech*, vol. 10, pp. 8-10.

Identificación biológica animal para la sanidad y seguridad alimentaria

Ana María Sifuentes Rincón, Gaspar Manuel Parra Bracamonte, Xóchitl Fabiola de la Rosa Reyna y Williams Arellano Vera

Resumen

Actualmente, muchos países poseen esquemas de comercialización internacional que requieren de la certificación de origen de animales vivos, sus productos y subproductos. Esto ha promovido el establecimiento de programas nacionales e internacionales enfocados a la identificación y trazabilidad durante el proceso de producción y procesamiento, con lo que se pretende asegurar la inocuidad, seguridad y salud pública, e incentivar la producción animal mediante sofisticados sistemas que incluyen microchips y sistemas de identificación por ADN. El origen de esta organización globalizada en los sistemas de comercialización se reduce específicamente a la ocurrencia, en las últimas décadas, de eventos de zoonosis muy importantes que promovieron la reevaluación de los sistemas de bioseguridad alimentaria. En los últimos años se han desarrollado y perfeccionado técnicas y biotecnologías que coadyuvan dinámicamente el proceso de identificación biológica y trazabilidad animal. En este capítulo se presentan los conceptos básicos de los sistemas de identificación animal y trazabilidad haciendo énfasis en la identificación biológica y su importancia en los sistemas de producción animal.

Palabras clave: identificación animal, marcadores moleculares, microsátélites, trazabilidad

Identificación animal y trazabilidad

La identificación de animales vivos por medio del registro de rasgos naturales (lunares, color de capa, forma de la cornamenta) o por marcas hechas en el cuerpo (a base de fuego, muescas en las orejas, tatuajes), se ha llevado a cabo por casi tres mil 800 años. El tatuaje de los animales así como el registro de sus características ha sido una práctica empleada por las civilizaciones más antiguas. Esta técnica era utilizada principalmente en animales de valor, en particular los caballos, en los cuales se mantenía además un registro escrito de sus particularidades. La identificación de los animales con fines sanitarios se empezó a realizar después de que se presentaron diversos brotes epidémicos. Actualmente, diferentes países basan sus sistemas de calidad y de control sanitario en las técnicas de identificación. Algunos animales y sus productos pueden ser comercializados internacionalmente, sólo si cuentan con un certificado de origen que garantice su identidad.

La identificación animal se define como el marcaje individual de animales de granja o el marcaje de un grupo o lote de animales de tal forma que pueda ser seguido desde su nacimiento hasta su sacrificio (FAO/WHO, 2004). Cubriendo este concepto hoy en día, en la identificación animal se sigue utilizando el marcaje a base de fuego, etiquetados con aretes, tatuajes, y se han incorporado algunas prácticas como el uso de microchips de radio frecuencia y la identificación biológica a través del análisis del ADN. Muchos productores han hecho uso de sistemas de identificación particulares que les permiten llevar un registro sobre la identidad de cada animal y muchos animales adquieren más de una identidad como parte de los programas de control y erradicación de enfermedades implementados en los diferentes países.

La identificación animal, ha sido sólo un componente de otro proceso ampliamente aplicado como estrategia para evitar riesgos sanitarios y la seguridad alimentaria: la trazabilidad. A diferencia de la identificación animal, el concepto de trazabilidad es más amplio e incluye el seguimiento de un animal en sus diferentes etapas desde que nace, crece, se engorda, se sacrifica, se procesa y se distribuye hasta llegar a un punto de venta o consumo. El ejemplo más claro de trazabilidad

es el de la trazabilidad de la carne. La trazabilidad es por definición retrospectiva, hasta que el tiempo del rastreo sea requerido la única acción que puede ser considerada es la guía del producto.

La identificación animal y la trazabilidad nos son conceptos aislados ni representan individualmente la posibilidad de lograr la seguridad alimentaria, o la prevención de enfermedades animales, más bien ambos son importantes componentes de esos programas (Ammendrup y Barco, 2006), por lo tanto es prioritario que su implementación contemple los objetivos a los que se quiere llegar que pueden ir desde hacer censos de los animales que permitan la identificación animal hasta el establecimiento de sistemas más complejos de trazabilidad. En muchos casos, los programas de Identificación Animal son implementados para facilitar el control y manejo de los programas de sanidad animal, sin embargo el beneficio de su implementación como estrategia de seguridad alimentaria y sanidad depende del apoyo tanto gubernamental como de la iniciativa privada, así como de la correcta concepción y conceptualización de los pasos que están involucrados para lograr un programa de identificación animal exitoso que fundamente el diseño de programas de trazabilidad (Ortega, 2010).

Programas de identificación animal y trazabilidad

Los riesgos sanitarios y la seguridad alimentaria en los mercados locales e internacionales han llevado a que muchos países implementen sistemas de identificación animal. Varios países poseen en medida obligatoria o voluntaria, programas de trazabilidad en las principales especies animales domésticas, como bovinos y porcinos (cuadro 1).

En México, el principal programa de iniciativa gubernamental enfocado a la trazabilidad de los productos en la cadena alimentaria es el *SINIIGA* (Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado), cuyos objetivos giran en torno al fortalecimiento de los programas de control sanitario, la movilización de los animales, la planeación y evaluación de los programas de apoyo en el sector pecuario y la salud pública. El programa está programado para ser obligatorio en todos los sistemas productivos, pero aún no es operativo al 100%, excepto para fines de exportación de animales vivos (Smith y colaboradores, 2008).

Cuadro 1. Comparación de los programas de trazabilidad en diferentes países en especies, bovina y porcina

<i>País o Comunidad</i>	<i>Especie</i>	<i>Estado del programa de trazabilidad</i>	<i>Población de ganado¹</i>	<i>Valor comercial de exportación²</i>
Unión Europea	Bovinos	Obligatoria. Nacimiento a venta en cortes.	90,355	3,424,361
Australia		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio.		167,922
Nueva Zelanda		Dos sistemas. Uno voluntario en la granja para ganadería lechera. Otro obligatorio de la granja a la determinación de control para Tuberculosis.	9,652	115,672
Namibia		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio para exportación a UE.	2,384	ND
Botsuana		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio para exportación a UE.	3,100	ND
Japón		Obligatoria. Nacimiento a venta en cortes.	4,391	24
Corea del Sur		Obligatoria. Nacimiento a venta en cortes.	2,484	1
Brasil		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio para exportación a UE.	207,157	2,049
Uruguay		Obligatorio. Desde los 6 meses de edad (o salida de granja) al sacrificio.	11,956	ND
Canadá		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio.	14,830	2,049
México		Obligatoria. Nacimiento a sacrificio, en implementación. Obligatoria de nacimiento a exportación de ganado vivo.	28,649	30,204
China		Será obligatoria. De nacimiento a venta en cortes.	117,767	2,234
Estados Unidos		Voluntario. Mucho ganado es identificado para control sanitario, carne de marca y programas orgánicos sin huso hormonal.	96,702	43,446
Unión Europea		Porcinos	Obligatoria. Nacimiento a venta en cortes.	159,331
Reino Unido	Igual que en la UE, pero tiene un esquema voluntario		4,933	98,220
Dinamarca	Igual que en la UE, pero hay también un programa danés obligatorio.		12,604	3,093,808
Nueva Zelanda	Obligatoria. Nacimiento a sacrificio.		341	148
Japón	Voluntario. Nacimiento a venta en cortes.		9,620	50
Argentina	Voluntario, promoviéndose a un Programa obligatorio de trazabilidad		1,490	ND
Bolivia	Voluntario, promoviéndose a un Programa obligatorio de trazabilidad		2,488	ND
Chile	Voluntario. Tienen un componente de cumplimiento a normas de la UE para propósitos de exportación.		3,450	20,646
Brasil	Voluntario. Administrado por la Cadena de Exportación de Carne de Cerdo Brasileña.		34,064	286,959

IDENTIFICACIÓN BIOLÓGICA ANIMAL PARA LA SANIDAD

Australia	Porcinos	Voluntario. Un programa más completo está en desarrollo.	2,470	100,603
Canadá		Voluntario hacia Obligatorio. La provincia de Quebec posee un esquema obligatorio de nacimiento a sacrificio.	14,690	242,935
Estados Unidos		Voluntaria. Productores quieren un programa obligatorio (diciembre de 2008).	61,449	2,063,282

Fuente: Smith y colaboradores (2008). ¹Miles de cabezas en 2006. ²Miles de dólares en 2005. ND: Dato no disponible.

De acuerdo a Ortega y Peel, 2010, el SIINIGA ha fallado en crear un sistema de Identificación Animal que sea útil para rastrear a los animales. Aunque muchos animales se han etiquetado, no hay bases de datos que puedan accederse para ningún propósito. La operación del SIINIGA enfrenta problemas ante la falta de vinculación de tal forma que el sistema actual no tiene ningún valor para los programas de salud.

Fuera de los incentivos económicos que proporciona el SIINIGA, para los productores el sistema no representa ninguna ventaja operativa aun cuando lo perciben como un sistema conceptualmente correcto, razón por la que se deberían hacer esfuerzos por fomentar su eficiente implementación y uso a fin de que sea la plataforma para la propuesta de programas de trazabilidad más efectivos.

Identificación biológica animal

Uno de los problemas más importantes que presentan los sistemas de identificación animal (y por ende los de trazabilidad) basados en el uso de tatuajes o aretes, es que hay la posibilidad de que se cambien o pierdan en cualquiera de las etapas de la vida del animal. El uso de patrones electrónicos del ojo y la nariz, se han propuesto como alternativas pero después del sacrificio, estos sistemas son inviables.

La tecnología de identificación basada en el análisis del ADN (Identificación Biológica), ofrece un medio muy poderoso para la autenticación y control de los sistemas tradicionales de identificación de animales. El código genético es inalterable y está presente en todas y cada una de las células de un animal. Si bien, esta tecnología presenta la desventaja de que se requiere tiempo para su aplicación en campo, se han propuesto diversas estrategias que permitan su establecimiento como medida de control del sistema de identificación. Una de ellas consiste en tomar una muestra del animal (pelo, mancha de sangre), en el momento en que se pone el arete y mantenerla en un banco de muestras adicional a la base de datos. Con esta muestra, se podría verificar, si la identificación convencional (arete) ha sido alterada en algún periodo de la vida del animal desde que se realizó el primer registro. Este tipo de estrategia

tiene la ventaja de poder confirmar la identidad de cada uno de los animales y podría operar de manera independiente al esquema de identificación basado en el arete. Esta es apenas una de las aplicaciones de la tecnología del DNA. En países de la Unión Europea, la principal aplicación se ha visto en la trazabilidad de los productos derivados de los animales: la carne. El registro que lleva un animal vivo se logra mantener hasta que se obtiene su canal. Después de que ésta es procesada, se puede separar hasta en 500 partes independientes, lo que dificulta el mantenimiento de su identidad y en caso de tenerlo resulta demasiado costoso. Las técnicas moleculares en este sentido ofrecen la ventaja de que a partir de cualquier trozo de carne se puede establecer su origen. Si se encuentran discrepancias en los perfiles de DNA obtenidos a partir del corte de carne y el animal del cual se cree proviene, indica que el producto ha sido identificado incorrectamente. En Nueva Zelanda, la tecnología de huella de DNA es usada mediante el método de muestreo de lotes (p.e. al menos un lote de 50 muestras son necesarias para facilitar la rastreabilidad de un corte de carne de la canal de un individuo).

Las pruebas de identificación biológica

Como se ha mencionado, el DNA es una huella genética única para cada individuo, pero también permite caracterizar a los individuos dentro de las especies y las razas.

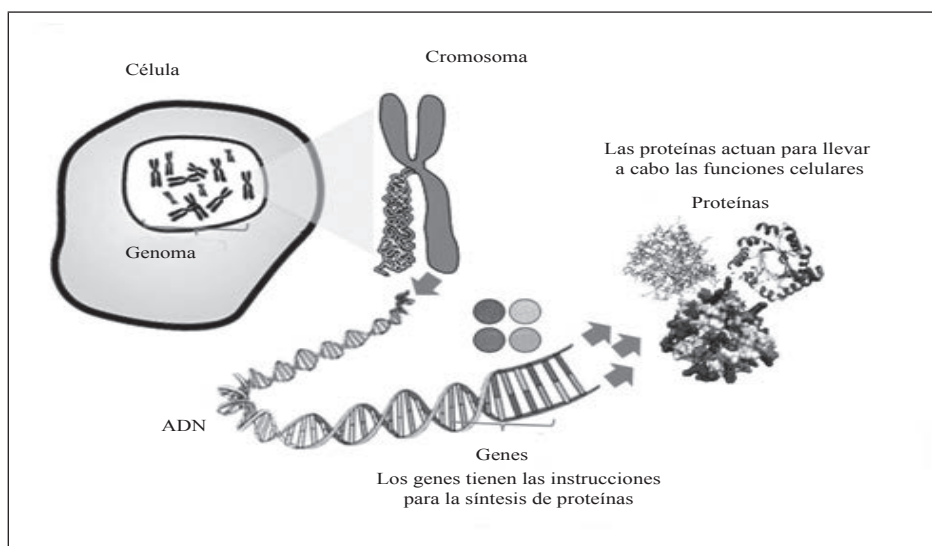
Todos los organismos vivos poseen un genoma, que se define como la unidad funcional de la que depende la herencia. La mayoría de los genomas están constituidos de DNA, el cual está formado por cadenas de nucleótidos (guanina, adenina, timina, citosina) (figura 1). El arreglo de los nucleótidos dentro de la molécula de ADN de un individuo constituye su genoma y a cada región específica del genoma se le llama *locus o loci* para más de un *locus*. Los *loci* de los genomas que codifican para proteínas son llamados genes y existen en organismos diploides dos copias para cada gen a las que se les denomina alelos. La transmisión combinación y de los genes de los padres a su descendencia es lo que permite a un organismo poseer características visibles (fenotipo) y un genoma único (genotipo) (Snustad y Simmons, 2006; Shackell y Dodds, 2008).

En la actualidad, el estudio de la diversidad en los genomas de los individuos, se ha enfocado en la determinación de los cambios o polimorfismos entre las secuencias de ADN de los individuos haciendo uso de los marcadores moleculares, que son segmentos del ADN que indican las diferencias específicas que presenta cada individuo en esa región del genoma (Jeffreys y colaboradores, 1985; Cunningham y Meghan, 2001; Shackell y Dodds, 2008).

El desarrollo y/o estandarización de marcadores moleculares altamente informativos ha sido un paso esencial para su aplicación en los diferentes campos de la identificación biológica.

Por sus características, los microsatélites se han convertido en los marcadores de elección para llevar a cabo estudios tanto de genética básica como de identificación biológica. Los microsatélites han sido utilizados para una gran variedad de aplicaciones que requieren sistemas de especificidad de *locus* y alto polimorfismo. Por ejemplo, análisis de ligamiento, pruebas de paternidad, genética de poblaciones y genética evolutiva (Cheng y Crittenden, 1994; Goldstein y Schlotterer, 2000; Cunningham y Meghen, 2001). Estructuralmente, estos marcadores consisten en repeticiones de secuencias que van de uno a siete nucleótidos, dispuestos en *tándem* y, por lo general, se encuentran distribuidos de manera uniforme por todo el genoma como *loci*.

Figura 1. Organización del genoma



Fuente: elaboración propia.

Los marcadores microsatélites se han convertido actualmente en la herramienta molecular de elección para realizar análisis genéticos y para estudios de identificación animal ya que poseen características fundamentales versus otros (Minisatélites, RFLP, RAPD); presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos, son muy polimórficos y son cien-

to por ciento fiables, repetitivos y automatizables (Tauz, 1989; Peelman y colaboradores, 1998; Blott y colaboradores, 1999; Visscher y colaboradores, 2002). Aunque la implementación de la identificación biológica basada en el uso de los microsatélites, requiere de tiempo y costo existe la posibilidad de usar los mismos primers en más de una especie, debido a que existe un grado de conservación de los microsatélites entre genomas de especies de mamíferos (Becerra y Paredes, 2000).

Características como las mencionadas con anterioridad, posicionan a los microsatélites como la más poderosa herramienta de discriminación genética entre animales. Cabe mencionar que, la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG) ha recopilado y recomendado a aquellos microsatélites que proporcionan la mayor información y que sirven como marcadores estándares para la comparación y discriminación entre distintas especies e individuos. El análisis con un panel de microsatélites altamente polimórficos proporciona los siguientes valores: Identificación; la probabilidad de encontrar dos genotipos iguales entre animales no emparentados es de uno en cuatro mil millones, esta probabilidad entre animales estrechamente emparentados (hermanos) es de uno en seis mil 250. La elección de 11 *loci* microsatélites, con un elevado grado de polimorfismo ha demostrado una capacidad de exclusión “a priori” de 99.99% (Osta, 1993; FAO, 1998; Datagene, 2002).

Trazabilidad intra e interracial de un producto mediante la identificación biológica

Para dar seguimiento a la cadena de producción animal, los marcadores moleculares se han retomado como una herramienta no sólo para la asignación de paternidad/maternidad ya que eventualmente se está expandiendo su utilidad en un nivel poblacional. Tradicionalmente, las pruebas de paternidad/maternidad, la identificación filial se realizan en los núcleos familiares (padre, madre, hijos) aunque también tiene utilidad en grupos pequeños de individuos (varios padres candidatos y posibles hijos). Básicamente, en este tipo de prueba, se estima la probabilidad de asignación/exclusión de un individuo, de acuerdo al número de alelos compartidos entre los progenitores respecto a la progenie. Esta extrapolación de familias a poblaciones, ocurre cuando los métodos de asignación son robustecidos con avanzados procedimientos estadísticos. Esta metodología, aunque depende de diversos factores y tiene cierta probabilidad de error, sigue difundiendo debido a que la identificación de alelos específicos a cada raza bovina es complicada. Principalmente, la constante mezcla de razas y los periodos cortos de diferenciación entre las mismas, impide

frecuentemente la identificación de alelos raza específica. Usualmente para las pruebas de asignación/exclusión de una misma población o raza, los marcadores moleculares más utilizados son los Polimorfismos en Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLP), las repeticiones cortas en *tándem* (STR, microsátélites) y los polimorfismos de un sólo Nucleótido (SNP). Estas etiquetas, tienen ventajas técnicas por la reproducibilidad y la alta variabilidad que exhiben, lo que los hace valiosamente informativos. Con marcadores del tipo microsátélites, la trazabilidad de productos cárnicos y la identificación de razas bovinas ha dejado de manifiesto su utilidad. Incluso en especies silvestres, la identificación de poblaciones de origen se ha usado para exponer distintos casos de fraude en especies de importancia comercial.

Para llevar a cabo la identificación, verificación o asignación de un animal a su población de origen se usan dos estrategias, el enfoque determinista y el probabilístico. El método de determinista, sustenta la identificación animal sobre las variantes génicas exclusivas de cada raza bovina. Entre estos genes ya identificados, se conocen los involucrados en la expresión de color, como los genes Extensión (E), *Agouti* (A), *White Spotting* (sw), *Roan* (R), *Slaty*, *Albino*(c), *Brown* (B), *Dilute* (D) y *Silver* (PMEL17) (Dalvit, 2007). El segundo enfoque para la asignación de individuos es el probabilísticos, con este método la identificación de individuos está basada en el análisis de genotipos multilocus bajo el fundamento de que un individuo tiene una mayor probabilidad de presentar similitud genotípica respecto a los miembros de su población de origen. El objetivo en este tipo de pruebas es encontrar la población de origen de acuerdo al genotipo que exhibe un individuo en un panel de marcadores. Esta prueba consiste en asignar con un método de distancia genética o un método basado en frecuencias alélicas el genotipo en cuestión. Algunos de los métodos de distancia genética implementado para la asignación de individuos son los propuestos por Nei (1972, 1987, 1983) como la distancia genética estándar, distancia genética mínima, distancia D_a , no obstante también se utiliza la distancia genética de Cavalli-Sforza and Edwards (1967). Aunque los métodos basados en distancias genéticas son utilizados, por las características de las poblaciones bovinas donde la mezcla de individuos es común, se opta por otros métodos de análisis como el de probabilidad (Maximum likelihood) y los métodos Bayesianos. Por ejemplo, en algunos programas de cómputo como *STRUCTURE* (Pritchard, 2000), los individuos son asignados probabilísticamente a una, a dos o más poblaciones dependiendo de si los genotipos provienen de poblaciones mezcladas. Esta asignación se lleva a cabo bajo el supuesto de que las poblaciones satisfacen la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y que no existe ligamiento genético entre los marcadores. Otros programas como *GENE-CLASS 2* (Piry, 2004), utilizan métodos de re-muestreo para identificar el umbral de asignación/exclusión de un genotipo, a una población de referencia en particular.

Con la finalidad de mejorar el poder estadístico de la asignación, pero además de reducir el costo de la prueba también se ha considerado como prioritario la selección precisa de marcadores moleculares. Por tal motivo y debido a la facilidad técnica que muestran los microsateles, además de su amplia difusión a nivel mundial, estos marcadores son ampliamente utilizados, para la identificación de razas y en la trazabilidad genética de la carne (Davitt 2008). El uso de paneles de microsateles permitirá en un momento determinado hacer comparable la información genética entre las razas bovinas del mundo. El avance respecto a la homogenización de la información molecular, se debe en gran medida a los esfuerzos realizados por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG) que ha propuesto un panel general de marcadores microsateles, que en un principio fue utilizado para describir la variabilidad genética de razas bovinas y con fines de conservación de razas autóctonas.

En México, también se cuenta con paneles conformados por microsateles recomendados por la ISAG. En ganado para pié de cría (de registro), como el ganado de lidia o las diferentes razas cárnicas mexicanas como la *Beefmaster*, *Bradford* y *Charolais* (Sifuentes y colaboradores, 2006) se cuenta con evaluaciones de paneles de microsateles comerciales como el *STOCKMARK*®, y también se cuenta con paneles optimizados para la asignación de paternidad/maternidad. Adicionalmente también se dispone de paneles informativos utilizados en la evaluación de la diversidad genética (Puentes, 2008; Arellano y colaboradores, 2010). A partir de la incorporación de los marcadores moleculares, la trazabilidad genética individual se ha transformado en una herramienta que puede contribuir a garantizar la seguridad alimentaria, a través de la identificación individual.

Identificación biológica de los productos alimentarios

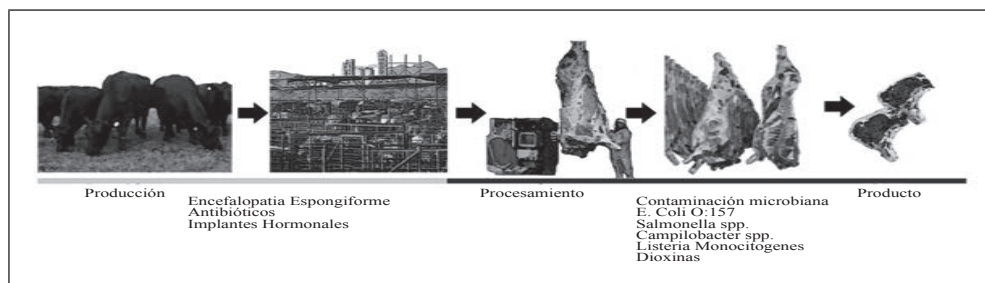
La “*crisis alimentaria*” generada entre otras por la aparición y difusión de la fiebre de las vacas locas en la Unión Europea a finales de la década de los noventa y principios del 2000, así como del descubrimiento de contaminantes y adulterantes en la cadena alimentaria y la aparición de enfermedades (brote de *E. coli* O157:H7, ocurrido en Seattle en 1993) relacionadas con el consumo de alimentos (Pettitt, 2001; Vitiello y Thaler, 2001; Smith y colaboradores, 2004) demeritó la confianza hacia el consumo de productos de origen animal y generó en los consumidores, la desaprobación de algunas prácticas implementadas en el sector agropecuario. Los consumidores europeos demandaron productos animales de alta calidad y procesos socialmente aceptables en la producción de alimentos (Gibon y colaboradores, 1999a). Mientras esto sucede en países desarrollados, en la mayoría de los países en vías de desarrollo se ha mostrado poco interés en estas

prácticas de calidad. Una escasa minoría de consumidores con cierto nivel educativo y económico empiezan a exigir el etiquetado de los productos de origen animal, así como las metodologías de crianza y producción de los mismos (Issanchow, 1996).

El *codex alimentarius* define trazabilidad como la habilidad de seguir el movimiento de un alimento a través de etapas específicas de producción, procesamiento y distribución (CAC/GL, 2006). La norma ISO9000, indica que la trazabilidad se refiere a la capacidad para seguir la historia, la aplicación o la localización de un producto, la trazabilidad puede estar relacionada con el origen de los materiales y las partes, la historia del procesamiento, la distribución y localización del producto después de su entrega (ISO, 2005).

La trazabilidad de los productos, por ejemplo, de los productos cárnicos, es el mayor problema en la industria alimenticia siendo los dos promotores principales el manejo de seguridad y riesgos en los alimentos y su autenticación (Shackell, 2008). La trazabilidad también está relacionada con la percepción de calidad de los productos. Mundialmente, un sinónimo de calidad de los productos es la higiene e inocuidad. En los países del norte europeo, la percepción de la calidad se enfoca en aspectos relacionados con la seguridad e higiene en los productos alimenticios. Seguridad y sanidad son las expectativas más importantes para los consumidores en países desarrollados (Hocquete y Gigli, 2005). De manera general, la calidad puede definirse como el grado en el que un conjunto de rasgos diferenciadores inherentes al producto cumple con la necesidad o expectativa establecida, y por ende deben poseer un sistema eficiente de rastreo. Antes de que los productos lleguen al consumidor hay una serie de factores de riesgo, que pueden individual o colectivamente, devaluar el producto, y sin duda estos han sido un foco de atención fundamental (figura 2) (Shackell, 2008).

Figura 2. Cadena de trazabilidad de la carne bovina y los riesgos sanitarios para la salud humana



Fuente: elaboración propia.

Tipos de identificación biológica en alimentos

La identificación de algunas especies de animales y plantas basada en la detección de proteínas, puede realizarse en muestras de alimentos frescos o procesados siempre y cuando el procesamiento no haya afectado a las proteínas de la muestra y se disponga de muestras con un contenido proteico en cantidad suficiente y con la calidad adecuada, a continuación se mencionarán tres de las tecnologías más utilizadas en el análisis de proteínas para la trazabilidad alimentaria.

Prueba ELISA

Los análisis ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay* o *ensayo ligado a enzima*) otorgan la versatilidad para detectar o medir la concentración de proteína de interés en una muestra que puede contener proteínas de origen distinto. Fue necesario desarrollar previamente anticuerpos que reconozcan específicamente la proteína blanco que se desee identificar. La técnica ELISA está limitada a alimentos no procesados, es decir, no sometidos a tratamientos que hayan podido alterar la proteína diana. Frente a las técnicas basadas en la detección y comparación de ADN, los análisis ELISA presentan menor sensibilidad y fiabilidad (Voller y colaboradores, 1977; Engvall y colaboradores, 1980).

Western Blot

Consiste en la detección de proteínas insolubles, éste es un método altamente específico que proporciona información cualitativa necesaria para determinar si una muestra contiene una cantidad de proteína por debajo o por encima de un nivel predeterminado, dichas características hacen del Western Blot un método útil en la identificación de especies de interés (Corley, 2005).

Isoelectroenfoque

Es una técnica basada en la comparación de perfiles de proteínas de interés con perfiles procedentes de especies auténticas, el isoelectroenfoque permite la identificación de especies con distinto valor comercial.

Estos métodos de identificación de proteínas, están siendo reemplazados por técnicas basadas en el análisis de ADN (ver sección 2 de este capítulo), debido principalmente a la degradación que sufren las proteínas tras la muerte del animal, y a que su presencia y características dependen del tipo celular, y a que muchas de ellas son termolábiles. Una desventaja adicional es que estas técnicas no son capaces de detectar suficientes polimorfismos entre variedades o especies cercanas filogenéticamente (Díaz, 2006).

Los métodos de identificación de productos alimentarios basados en la detección de ADN suelen emplearse cuando el alimento ha sido procesado o bien, tratado fisicoquímicamente, ya que la proteína puede haberse desnaturalizado o degradado en el proceso, por lo tanto los métodos analíticos de identificación basados en proteínas pueden verse afectados debido a dichos cambios. Mientras que el ADN, puede conservarse con cierto grado de estabilidad después del procesado de los alimentos, el ADN es más termoestable que la mayoría de las proteínas, por lo que es menos susceptible a ser degradado y aún parcialmente degradado permite identificar diferencias entre individuos, además de que el ADN no cambia independientemente del tejido donde sea colectado.

La trazabilidad e identificación biológica como un medio de control sanitario

Los sistemas de trazabilidad se han implementado con propósitos de sanidad animal, como parte de los programas de vigilancia y para proveer la información requerida para la implementación de medidas de control contra las enfermedades así como en la demarcación de cinturones zoonosarios (Caporale y colaboradores, 2001).

Durante la última década, algunos eventos sanitarios fueron determinantes para el establecimiento de medidas concretas de control en la cadena productiva y alimentaria. El surgimiento de la zoonosis Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), coloquialmente conocida como enfermedad de las Vacas Locas, ha sido el evento mundial más serio de seguridad que ha causado una reducción drástica del consumo de carne en Europa y América (Caporale y colaboradores, 2001; Dalvit, 2007). La EEB forma parte del grupo de las llamadas encefalopatías espongiformes transmisibles, causadas por la acumulación de proteínas del prión anormales en el cerebro y el sistema nervioso central y su versión humana es la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (DGSPC/CE, 2005).

Subsecuentemente, otro evento emergente que redujo significativamente el consumo de productos animales fue la influenza aviar (HPAI) (Dalvit, 2007). El problema más dominante que ha afectado la industria avícola ha sido esta enfermedad con las cepas del virus patogénico *H5N1* (en Asia) y *H1N7* (en Europa), que

poseen la capacidad de infectar a la especie humana mediante el contacto directo de las membranas mucosas o excretas de las aves enfermas o por productos avícolas contaminados. Las pérdidas económicas multimillonarias asociadas a estos eventos estuvieron relacionadas a las medidas de sacrificio y eliminación de millones de aves domésticas, a los programas de prevención y diagnóstico, a las restricciones comerciales entre países productores y consumidores, y al miedo por contraer la enfermedad que condujo a la reducción drástica del consumo de productos avícolas (Doyle y Erickson, 2006).

Otros riesgos contaminantes durante el procesamiento de los productos alimenticios, aunque propiamente no representan un riesgo originado por la higiene o salud del animal, sí lo son por su origen durante la cadena de producción y procesamiento. Doyle y Erickson (2006) describieron algunos riesgos importantes asociados a microorganismos que pueden contaminar los productos alimenticios. *Echerichia coli* (O157:H7), *Campilobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocitogenes* y *Clostridium perfringens*, son sólo algunos microorganismos que han sido encontrados en diferentes productos animales, algunos se han relacionado a la contaminación por excretas (Smith y Perdeck, 2004).

Las medidas establecidas para contrarrestar el efecto y la propagación de los riesgos para la salud humana han sido muchas y muy variadas. Entre ellos el surgimiento de empresas que ofrecen los servicios de trazabilidad e identificación biológica. Comercialmente, las empresas IdentiGEN™ y ProSampler™ ofrecen sistemas de trazabilidad con 100% de precisión, sin embargo, sólo la última especifica que el uso de la trazabilidad debe realizarse bajo condiciones necesarias, por ejemplo cuando. 1) Haya la necesidad de una auditoría de trazabilidad. 2) Para ayudar a identificar problemas específicos en el proceso. 3) para dar una respuesta rápida a eventos sanitarios. 4) Para validar reclamos de mercadeo (Smith y colaboradores, 2008).

Sin duda la factibilidad de un programa de identificación biológica requiere ser evaluada e implementado sólo en casos particulares, pues a pesar de la confiabilidad que posee la identificación biológica por medio del ADN, sigue siendo imperativamente dependiente de la organización y registro preciso que vincule la muestra con su origen inicial.

Finalmente, es claro reconocer que la globalización de las economías ha sido sin duda el detonante de la intensificación en los sistemas de producción, lo que a su vez condiciona el aumento de los riesgos sanitarios. En este sentido es claro que la sociedad que posea la mayor organización y prevención en su cadena alimentaria podrá sobrellevar las problemáticas futuras con mayor eficiencia y prontitud.

Referencias

- Ammendrup S. and L. O. Barcos (2006), “The implementation of traceability systems”, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, vol. 25 (2), pp. 763-773
- Arana, A., B. Soret, I. Lasa and L. Alfonso (2002), “Meat traceability using ADN markers: Application to the beef industry”, *Meat Science*, vol. 6, pp. 367-737.
- Arellano Vera, W., A. M. Sifuentes Rincón, R. Garcidueñas Piña and G. M. Parra Bracamonte (2010), “Importancia de la verificación de progenitores en sistemas extensivos de pie de cría”, *Revista Científica*, vol. 20, pp. 53-60.
- Becerra, V. V. and C. M. Paredes (2000), “Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética”, *Agricultura Técnica*, Chile, vol. 60, pp. 270-281.
- Blott, S., J. Williams and C. Haley (1999), “Discriminating among cattle breeds using genetic markers”, *Heredity*, vol. 82, pp. 613-619.
- Caporale, V., A. Giovannini, C. Di Francesco and P. Calistri (2001), “Importance of the traceability of animals and animal products in epidemiology”, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, vol. 20 (2), pp. 372-378
- Corley, R. B. (2005), *A guide to Methods in the Biomedical Sciences*, Springer. p. 11
- Cunningham, E. and C. Meghen (2001), “Biological identification systems: genetic markers”, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, vol. 20, pp. 491-499.
- Cheng, H. and L. B. Crittenden (1994), “Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken”, *Poultry Science*, vol. 73, pp. 539-546.
- Datagene (2002), “Acreditación de linajes en ganado bovino”, disponible en http://www.datagene.es/DATAGENE/Castellano/Servicios/Pruebas_de_ADN_en_animales/bovino.htm; consultado en abril 24 del 2011.
- Dalvit, C., M. De Marchi and M. Cassandro (2007), “Genetic traceability of livestock products: A review”, *Meat Science*, vol. 7, pp. 437-449.
- Dalvit, C., M. De Marchi, C. Targhetta, M. Gervaso and M. Cassandro (2008), “Genetic traceability of meat using microsatellite markers”, *Food Research International*, vol. 41, pp. 301-307.
- Díaz, M.G.C. (2006), “Marcadores moleculares: Qué son, como se obtienen y para qué valen”, Dpto. de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga, disponible en <http://www.encuentros.uma.es/encuentros49/marcadores.html>; consultado el 24 de mayo del 2011.
- Dirección General Sanidad y Protección de los Consumidores/Comisión Europea (2005), *Informe Sobre Subproductos Animales*, Bruselas, Bélgica, p 32.
- Doyle, M. P. and Erickson, M. C. (2006), “Emerging microbiological food safety issues related to meat”, *Meat Science*, vol. 74, pp. 98-112.

- Engvall, E. (1980), "Enzyme Immunoassay ELISA and EMIT", in Vunakis Helen V., J. Langone John, *Immunochemical Techniques. Methodos in Enzymology*, A.P. Academic Press, vol. 70, pp. 419-439
- FAO/World Health Organization (2004), *Draft code of hygienic practice for meat. IN Report of the 10th session of the Codex Comitte of Meat Hygiene*, Rome, Alinorm 04/27/16.
- FAO/UNEP/IDAD (1998), *Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans. Measurement of Domestic Animal Diversity: recommended microsatellite markers*, FAO, Rome.
- Goldstein, BD., C. Schlotterer (2000), *Microsatellites, Evolution and Applications. Mictrosatellites and other simple sequence: genomic context and mutational mechanism*, ed. Oxford University Press, Oxford New York, pp. 1-273.
- ISO, 2005. Norma internacional ISO (9000), *Sistemas de gestión de la calidad-Fundamentos y vocabulario*, Suiza, Traducción certificada.
- Jeffreys, A. J., J. Hillel, N. Hartley, G. Bulfield, D. Morton, V. Wilson, Z. Wong, S. Harris (1987), "The implications for hypervariable DNA-regions for animal identification: hypervariable DNA and genetic fingerprints", *Animal Genetics*, vol. 18 (1), pp. 141-142.
- Ortega, and D. S. Peel (2010), "The Mexican Animal Identification System: Current Situation, Problems, and Potential", *Journal of Agricultural and Applied Economics*, vol. 42 (3), pp. 551-557.
- Osta, R., M. E. García, P. Zaragoza, C. Rodellar and I. Zaragoza (1993), "Milk protein genotyping in bovine embryous using PCR", 9na Reunion AETE-Lyon, pp. 10-11.
- Peelman, L. J., F. Mortiaux, A. Van Zeveren, A. Dansercoer, G. Mommns, F. Coopman and Y. Bouquet (1998), "Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatelite markers in four Belgain cattle breeds", *Animal Genetics*, vol. 29, pp. 161-167.
- Pettitt, R. G. (2001), "Traceability in the food animal industry and supermarket chains", *Rev Sci Tech*, vol. 20, pp. 584-597.
- Piry S., A. Alapetite, J.-M. Cournet, D. Paetkau, L. Baudouin, and A. Estoup (2004), "GENECLASS2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection", *Journal of Heredity*, vol. 95, pp. 536-539.
- Pritchard J. K., M. Stephens and P. Donnelly (2000), "Inference of population structure using multilocus genotype data", *Genetics*, vol. 155, pp. 945-959.
- Sifuentes Rincón A. M., G. M. Parra Bracamontes, X. F. De La Rosa Reyna Sánchez A. Varela, F. Serrano Medina and J. Rosales Alday (2006), "Importancia de las pruebas de paternidad basadas en microsatelites para la evaluación genética en ganado de carne en empadre múltiple", *Técnica Pecuaria en México*, vol. 44, pp. 389-398.

- Shackell, G. H. (2008), "Traceability in the meat industry – the farm to plate continuum", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 43, pp. 2134-2142
- Shackell, G.H., y K. G. Dodds (2008), *DNA-Based traceability of meat. Meat biotechnology*, Springer, pp. 61-88.
- Smith, JE. Jr. and J. M. Perdek (2004), "Assessment and management of watershed microbial contaminants, Critical Review Environmental", *Science and Technology*, vol. 34, pp. 109-139.
- Smith G.C., J. D. Tatum, K. E. Belk, J. A. Scanga, T. Grandin and J. N. Sofos (2005), "Traceability from a US perspective", *Meat Science*, vol. 71, pp. 174-193.
- Smith G.C., D. L. Pendell, J. D. Tatum, K. E. Belk and J. N. Sofos (2008), "Post-slaughter traceability", *Meat Science*, vol. 80, pp. 66-74
- Snustad, P.D., y J. M. Simmons (2006), *Principles of Genetics*, Fourth Edition, pp. 1-844.
- Smith, P.G., S. N. Cousins, D' Huillard, J. N. Aignaux, H. J. T. Ward and R. G. Will, (2004), "The epidemiology of variant Creutzfeldt-Jakob Disease", *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol. 284, pp. 161-191.
- Tautz, D. (1989), "Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers", *Nucleic Acids Research*, vol. 17, pp. 6463-6471.
- Vázquez, F., T. Pérez, F. Ureña, E., Gudín, J. Albornoz and A. Domínguez (2004), *Practical application of DNA fingerprinting to trace beef. J. Food Prot*, vol. 67, pp. 972-979.
- Vitiello, D. J. and A. M. Thaler (2001), "Animal identification: links to food safety", *Rev. Sci. tech. Off int. Epiz*, vol. 20, pp. 598-604.
- Visscher, P.M., J. Woolliams, D. Smith, and J. Williams (2002), "Estimation of pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the impact on selection", *J. Dairy Sci*, vol. 85, pp. 2368-75.
- Voller, A., D. E. Bidwell and A. Bartlett (1977), *The Enzyme linked Immunosorbent Assay*, ELISA, Flowline publications, pp 3-21.

Marcadores de ADN como promotores de alimentos funcionales

Gaspar Manuel Parra-Bracamonte y Ana María Sifuentes-Rincón

Resumen

Aquellos alimentos que además de sus propiedades nutricionales ofrecen un efecto benéfico sobre la salud humana se les conoce como alimentos funcionales. En la última década, este tipo de alimentos ha sido el foco de atención e investigación sobre todo para los productos cárnicos y lácteos derivados de los animales. Los ácidos grasos son constituyentes fundamentales de estos productos, y su importancia como fuente principal de energía ha estado ligada desde siempre a aspectos nocivos sobre la salud de los consumidores. En particular, ciertos tipos de ácidos grasos han sido propuestos en la composición de alimentos funcionales, lo que ha permitido su revaloración como elementos esenciales en la dieta, ya que se les ha asociado con propiedades benéficas para la salud humana. Las tecnologías actuales basadas en ADN, como los marcadores genéticos han permitido vislumbrar un nuevo enfoque en la promoción de variantes moleculares que positiva y significativamente pueden fomentar la deposición de este tipo de componentes colocando a la carne y leche potencialmente dentro de los apreciados alimentos funcionales. Se presenta una revisión de la composición de ácidos grasos en dos productos de origen animal, carne y leche desde el enfoque de alimentos funcionales y la evidencia científica de su estudio mediante las biotecnologías moleculares.

Palabras clave: Alimento funcional, ácidos grasos, carne, leche, bovinos.

Los alimentos funcionales

En la última década, la intensificación en la investigación y disponibilidad de información ha llevado a un mejor entendimiento de los que han sido propuestos como alimentos funcionales. Un alimento funcional puede ser considerado como tal si se demuestra satisfactoriamente que aporta una acción benéfica en una o más funciones del organismo, más allá de sus efectos nutrimentales, de forma que resulte relevante ya sea para mejorar el estado de salud y bienestar o para reducir el riesgo de enfermedades (Hasler, 2002).

El interés por productos saludables se ha convertido en un aspecto prioritario para la competitividad de la ganadería en el mundo (Angulo y colaboradores, 2009). El conocimiento de que ciertos componentes de la dieta como los ácidos grasos, y algunas variantes proteicas de la leche tienen efecto sobre la salud humana ha permitido el desarrollo de nuevas estrategias para determinar el efecto de la variación genética de los animales en, por ejemplo, la composición de grasas y proteínas de los alimentos que de ellos se derivan, como la carne y sus subproductos, o la leche y los productos lácteos. Este nuevo enfoque pretende llevar a la obtención de productos que además de nutritivos no representen un peligro para la salud humana, por lo que deberían ser considerados como alimentos funcionales.

En el caso particular de los ácidos grasos, en la última década se ha incrementado el interés en estudiar y comprender su metabolismo, así como el papel que juegan en la salud y bienestar de los humanos. Los lípidos como grasas simples, son la fuente más concentrada de energía en la dieta y hasta hace poco este único hecho los hacía un componente importante de los alimentos. Sin embargo factores como el desequilibrio calórico y la obesidad han subestimado el papel de los lípidos en la nutrición. Una vez ingeridos, los lípidos tienen un amplio rango de funciones y acciones en las células y tejidos más allá de la simple energía. Los ácidos grasos se requieren para la síntesis de membrana, la modificación de proteínas y carbohidratos, la obtención de diferentes elementos estructurales de células y tejidos, la producción de compuestos de señalización y como combustible oxidante (German y Dillard, 2010).

Gran parte de la investigación sobre los ácidos grasos que se consumen en la dieta se ha enfocado principalmente en determinar su papel en el metabolismo de las lipoproteínas. Los ácidos grasos son categorizados de acuerdo a su longitud la cual está determinada por el número de átomos de carbono y también por su grado de saturación que está dado por el número de dobles enlaces. Los ácidos grasos sin dobles enlaces son llamados saturados, los que tienen un doble enlace se llaman monoinsaturados y los que tienen dos o más dobles enlaces poliinsaturados. Puesto que los dobles enlaces son estructuras rígidas, las moléculas que los contienen pueden presentarse en dos formas: *cis* y *trans*.

El consumo de ácidos grasos saturados incrementa los niveles de colesterol LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad), mientras que el consumo de los ácidos grasos poliinsaturados los disminuye. Se ha reportado que existe asociación entre el consumo de ácidos grasos *trans* y el riesgo de enfermedades coronarias y otras enfermedades en el humano, lo que ha fomentado el estudio de este efecto tanto desde el punto de vista de salud como el de su biosíntesis, presencia en los tejidos y en los productos alimenticios derivados de los rumiantes.

Marcadores moleculares para la promoción de la carne y leche como alimentos funcionales

El efecto que podría representar para la salud humana la composición de los ácidos grasos derivados de alimentos, ha llevado a la implementación de estrategias enfocadas a tratar de lograr combinaciones benéficas de estos nutrientes. La expresión de las características productivas económicamente importantes en los animales, es producto de dos componentes en interacción, la genética y el ambiente. El componente genético está conformado por la fracción del genoma que codifica y regula la expresión génica. La mayor parte de las características productivas son consideradas como poligénicas debido a que son el resultado de la participación e interacción de más de un gen. El genoma o material genético de los animales contiene una extensa colección de variaciones genéticas a las cuales poco a poco se les está dando significado biológico y aplicado. Actualmente todas las variaciones del genoma (inserciones, deleciones, cambios nucleotídicos en un sólo nucleótido, minisatélites, microsatélites) son estudiadas poblacionalmente para determinar si su presencia es benéfica o dañina para la salud y/o productividad de un animal. Una vez evaluado su efecto estas variaciones se convierten en marcadores ADN o marcadores genéticos, los cuales por definición son regiones específicas del ADN donde se ha encontrado variación que se asocia positiva o negativamente con un rasgo de interés. Estos marcadores genéticos pueden ser de diferentes tipos, sin embargo los polimorfismos de un sólo nucleótido o *snips* han sido los más usados para el diagnóstico de rasgos productivos y de enfermedades genéticas (Sifuentes y Parra, 2011).

Puesto que estos marcadores han sido evaluados y validados para explicar el fenotipo productivo de un animal, pueden ser empleados como herramientas en la selección artificial durante el mejoramiento genético. Al ser identificados funcionan teóricamente como indicadores para la característica de interés por lo que pueden sin mayor dificultad ser fijados en la población.

Además de la fracción genética, el ambiente es fundamental para la expresión de un fenotipo y este incluye todos los componentes que no son genéticos, como la alimentación, manejo y salud.

A continuación se presenta un resumen de las investigaciones que se están realizando con el fin de lograr la obtención de carne y leche con contenido de ácidos grasos que beneficien la salud humana. La estrategia planteada es determinar el efecto de las variaciones genéticas de los animales sobre el contenido de los ácidos grasos y aplicar la selección asistida por marcadores en las poblaciones de bovinos con el objetivo de manipular de manera favorable la composición de los ácidos grasos en la carne, leche y sus derivados lácteos, es decir en producir alimentos funcionales.

La carne bovina como alimento funcional

Los ácidos grasos de la carne bovina

La carne bovina es un alimento nutritivamente rico, excelente fuente de proteína de alto valor biológico, vitamina B12, niacina, vitamina B6, hierro, zinc y fósforo, es considerada una fuente importante de grasas poliinsaturadas *omega 3*, riboflavina, ácido pantoténico y selenio. Adicionalmente, ha sido fuente de una serie de antioxidantes endógenos y otras sustancias bioactivas como taurina, carnitina, carnosina, ubiquinona, glutatión y creatina (Williams, 2007).

Sin duda las propiedades nutricionales de la carne bovina predominan, pero la mayor parte de la discusión sobre sus propiedades desfavorables en la nutrición se centra principalmente en los reportes que asocian la percepción negativa en el papel que juega el consumo de la carne roja sobre la salud, particularmente como precursor de cáncer de colon y enfermedades cardiovasculares (McAfee y colaboradores, 2010). Esta percepción es principalmente promovida por su contenido de grasas saturadas (Williams, 2007).

La carne bovina posee una gran variedad de grasas o ácidos grasos con diferentes características y propiedades de acuerdo a su naturaleza bioquímica. Las grasas que pueden encontrarse pueden ser saturadas (AGS), monoinsaturadas (AGMI) y poliinsaturadas (AGPI). El cuadro 1 muestra la proporción aproximada de ácidos grasos en composición de la carne bovina. Los AGS, en promedio conforman 40% de los ácidos grasos totales en el componente magro de la carne y 48% del componente graso de la carne. Aproximadamente, la mitad de los AGS se conforman de ácido palmítico ($C_{16:0}$) y un tercio de ácido esteárico ($C_{18:0}$). Los AGPI fluctúan entre el 11 y 29% del total de ácidos grasos (Williams, 2007).

La composición lipídica de los forrajes consiste grandemente en lipoproteínas y fosfolípidos y los principales ácidos grasos son los insaturados, linoleico ($C_{18:2}$) y linoleico ($C_{19:2}$). En contraste, la composición lipídica de las semillas oleaginosas utilizadas en los concentrados alimenticios es especialmente rica en triglicéridos que contienen predominantemente los ácidos, linoleico y oleico (*cis-9* $C_{18:1}$). Cuando son consumidos

por los rumiantes, suceden dos transformaciones importantes en el rumen. La transformación inicial es la hidrólisis de los enlaces esteraricos catalizadas por las lipasas microbianas. Este paso es fundamental para la siguiente transformación, la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados (Bauman y colaboradores, 1999).

De esta manera, es importante distinguir que existen tres factores principales que determinan la composición de ácidos grasos en la carne bovina, la edad del animal, la dieta y la raza del animal. Mientras que la dieta es la única fuente de ácidos grasos esenciales, linoleico y α -linolenico, la edad y la raza del animal específicamente afectan la concentración de los ácidos grasos monoinsaturados por actividad enzimática promovida por la Estearoil CoA desaturasa (Smith y colaboradores, 2009).

Cuadro 1. Perfil de ácidos grasos de carne bovina cruda

<i>Ácido graso</i>	<i>Nombre común</i>	<i>g/100g de porción comestible</i>
C14:0	Mirístico	0.096
C15:0	Pendadecanoico	0.012
C16:0	Palmítico	0.607
C17:0	Heptadecanoico	0.028
C18:0	Esteárico	0.356
Total saturados		1.149
C14:1	Miristoléico	0.025
C16:1	Palmitoléico	0.082
C18:1	Oléico/Vaccenico	1.103
C20:1	Gadoléico	0.015
Total monoinsaturados		1.205
C18:2 ω -6	Linoléico	0.204
C18:3 ω -3	α -linoléico	0.048
C20:3 ω -6	Eicosatrinoico	0.020
C20:4 ω -6	Araquidónico	0.076
C20:5 ω -3 (EPA)	Eicosapentaenoico	0.031
C22:5 ω -3 (DPA)	Docosapentaenoico	0.051
C22:6 ω -3 (DHA)	Docosahexaenoico	0.006
Total poliinsaturados		0.045
Total ω -3		0.136
Total ω -6		0.300
Tasa ω -3/ ω -6		0.45

Fuente: adaptado de Williams (2007).

A nivel endógeno, existen tres desaturasas de ácidos grasos en el tejido animal, la $\Delta 5$, $\Delta 6$ y $\Delta 9$. De estas, solamente la última actúa sobre los ácidos grasos saturados (responsables principal de la “grasa dura”) para convertirlos en su respectivo ácido graso monoinsaturado.

El ácido graso más abundante en la carne bovina es el oleico, producido por la $\Delta 9$ desaturación del ácido esteárico. La $\Delta 9$ desaturasa que es codificada por el gen de la Esteroil CoA Desaturasa, también convierte el ácido trans-Vaccenico (ATV, $C_{18:1}$ *trans-11*) a su correspondiente isómero ácido linoléico conjugado, *cis-9, trans-11* (ALC). Aproximadamente el 5% de los ácidos grasos totales están conformados por AGPI, de los cuales el más abundante es el ácido linoléico. Como en el caso de las AGMI y el CLA *cis-9, trans-11*, los AGPI contienen una doble ligadura en la posición $\Delta 9$, sin embargo, esta es introducida a la estructura del ácido graso por el origen vegetal de la cual se deriva y no es producida por Δ desaturación (Smith y colaboradores, 2009).

En este sentido, las dietas altas en concentrados estimulan la actividad de la enzima ECD del tejido adiposo que es responsable de la desaturación de las AGS a sus contrapartes $\Delta 9$ desaturadas. Las dietas altas en concentrados causan una depresión en el pH ruminal el cual promueve la disminución de la flora de microorganismos ruminales responsables de la isomerización e hidrogenación de los AGPI de la dieta (Van Soest, 1994). El resultado neto del incremento de la actividad de la ECD en el tejido adiposo intramuscular y de la disminución de la isomerización-hidrogenación de los AGPI de la dieta es el incremento significativo de los AGMI a través del tiempo. En contraste, la alimentación a base de pasto reduce ambos, la acumulación de marmoleo en la carne y la actividad de la ECD, y aunque la alimentación en pastoreo incrementa la concentración relativa de AGPI en la carne, también aumenta la concentración de AGS a expensas de los AGMI (Smith y colaboradores, 2009).

Las propiedades nutricionales de la carne bovina son fundamentales como fuente de nutrientes esenciales y de excelente proteína de origen animal para la alimentación humana, pero desafortunadamente los consumidores frecuentemente asocian la carne y sus productos con enfermedades cardiovasculares crónicas, algunos tipos de cáncer, y obesidad (Arihara y Ohata, 2008; Doyle, 2004).

El consumo diario de grasa en la dieta provee alrededor de 15 a 30% de la energía dietética total. Menos de 10% de la energía debería provenir de los AGS, 6-10% y 10-15% de los AGPI y AGMI, respectivamente, y el consumo de colesterol debería estar limitado a 300 mg por día (Arihara y Ohata, 2008).

La grasa de la carne bovina está conformada de menos de 50% de AGS y entre 65 a 70% de grasas insaturadas, obviamente las proporciones pueden variar de acuerdo a diferentes factores, particularmente relacionados con el manejo alimenticio en la

formulación de la dieta de los animales (concentrados vs. pasto) y a la raza (Smith y colaboradores, 2009).

Dentro de la limitación en la percepción del consumidor por las propiedades que se les han atribuido a las grasas animales, surgió la revaloración de ciertos ácidos grasos que particularmente sólo se encuentran en la carne bovina y sus productos y que han sido señalados positivamente por sus propiedades benéficas para la salud de quienes la consumen, estos ácidos grasos están conformados por el ácido linoléico conjugado (ALC) y sus diferentes isómeros (Fritsche y Fritsche, 1998).

Los ALC describen a una mezcla de isómeros posicionales y geométricos de ácidos grasos octadecadienoicos (cuadro 2) que contienen dos dobles ligaduras conjugadas en varias posiciones de los carbonos de la cadena del ácido graso (Fritsche y Fritsche, 1998; Khanal y Dhiman, 2004). Cada doble ligadura en el ácido graso puede ser *cis* o *trans*, pero sólo los que poseen la doble ligadura *trans* son bioactivos (Khanal y Dhiman, 2004).

Cuadro 2. Cantidades de isómeros de Ácido Linoléico conjugado Δ^9 , Δ^{11} y de ácido Linoléico

<i>Acido graso</i>	<i>Novillos (n=7)</i>	<i>Toros (n=6)</i>
18:2 c-9, t-11	0.859 ± 0.146	0.762 ± 0.151
18:2 t-9, c-11	0.027 ± 0.014	0.026 ± 0.014
18:2 c-9, c-11	0.015 ± 0.005	0.015 ± 0.008
18:2 t-9, t-11	0.030 ± 0.007	0.029 ± 0.003
18:2 c-9, c-12	1.113 ± 0.126	1.363 ± 0.309

Fuente: adaptado de Fritsche y Fritsche (1998). Conjugado en tejido graso de novillos y toros bajo alimentación no especificada (media ± desviación típica)¹. ¹% del total de los metilesteres de ácido graso.

En un principio, se creía que el ALC, era únicamente sintetizado en el rumen por efecto de los microorganismos, sin embargo, estudios posteriores demostraron que la cantidad producida a nivel ruminal no correspondía al total encontrado en productos como leche o carne (Bauman y colaboradores, 1999; Schmid y colaboradores, 2006). La vía endógena propuesta de síntesis fue la desaturación del precursor ATV mediante la Δ^9 desaturasa (Schmid y colaboradores, 2006).

La importancia del ALC, ha sido ampliamente revisada debido a sus efectos positivos sobre el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y resistencia a la insulina, síndrome metabólico composición corporal, regulación del metabolismo lipídico,

enfermedades renales, sistema inmune y densidad ósea (McGuire y McGuire, 2000; Angel, 2003; Schmid y colaboradores, 2006).

Por lo tanto, y aunque definitivamente la concentración de este ácido graso en la carne y en los productos cárnicos esta positivamente relacionado al tipo de dieta del animal, los efectos atribuidos sobre la salud humana aun no son consistentes (Schmid y colaboradores, 2006; McAfee y colaboradores, 2010), sin embargo, la posibilidad de identificar variabilidad genética endógena que asegure la deposición de este tipo de grasas en los productos cárnicos es una posibilidad que se ha evaluado desde el punto de vista genético-molecular.

Marcadores genéticos para la promoción de “ácidos grasos funcionales” en carne bovina

La deposición grasa es una característica económicamente importante, debido a que está íntimamente relacionada con la satisfacción del consumidor de la carne bovina. De manera determinante, la identificación de variabilidad genética en las diferentes razas bovinas relacionadas con la deposición grasa y el efecto de la dieta sobre su composición, han sido fundamentales en el entendimiento de la actividad endógena para la síntesis de ácidos grasos de acción específica (Mir y colaboradores, 2004; Smith y colaboradores, 2009).

Toda vez que la concentración de AGPI se ha asociado exclusivamente al tipo de dieta (p.e. forrajes, concentrados, oleaginosas, granos), la atención se ha centrado en la búsqueda de variantes genéticas (variabilidad en sistemas fisiológicos endógenos) que promuevan la mayor deposición de AGMI a expensas de los AGS y particularmente con énfasis a ALC.

Como se mencionó anteriormente, las vías propuestas de análisis involucran los genes de vías enzimáticas naturales de hidrogenación, entre las cuales se han propuesto efectivamente la *Estearoil CoA desaturasa* (ECD) que posee dos isoformas caracterizadas en ganado bovino, una localizada en el cromosoma 26 y la otra localizada en el cromosoma 6 (Barton y colaboradores, 2010), la Ácido Graso Sintasa (AGS) (Zhang y colaboradores, 2008), la Proteína ligadora de elementos reguladora de esterol 1 (SREBP1), la hormona de crecimiento (GH) (Matsushashi y colaboradores, 2011), entre otras (cuadro 3). De esta forma la gran variación observada de animal en animal en la concentración de estos nutrientes ha permitido el estudio de estos genes y su caracterización (Reecy y colaboradores, 2010).

El estudio de Taniguchi y colaboradores (2004), fue el primero en reportar el efecto que sostenían algunos polimorfismos encontrados en el gen de la ECD en ganado Negro Japonés. Utilizando ADN complementario, encontraron tres cambios (SNPs) en el marco abierto de lectura, de los cuales uno (878T>C) putativamente ejerce un cambio aminoacídico entre Valina y Alanina (Tipos V y A, respectivamente). Los genotipos generados indicaron que el tipo A contribuye significativamente al incremento en el porcentaje de los AGMI.

Posteriormente, Jiang y colaboradores (2008), estudiaron el mismo gen e identificaron tres nuevos SNPs en la región 3' no traducible en una población de referencia de las razas Wagyu x Limousin y encontraron una asociación significativa sobre la deposición de ALC en dos de ellos, g.4706 C>T y g.7864 C>T, teniendo ambos un efecto dominante del alelo C sobre el T.

Como fue propuesto previamente por Taniguchi y colaboradores (2004), la SREBP1 fue retomada y estudiada por Barton y colaboradores, 2010, adicionalmente al gen de ECD. Ellos tipificaron el polimorfismo 878T>C, y el polimorfismo de 84 pb en el intron 5 del gen SREBP1 en dos tipos de tejidos (grasa intramuscular y grasa subcutánea) de bovinos Felckvieh. Ninguno de los polimorfismos de ambos genes se asoció a la concentración de ALC, pero la variante AA del SNP en ECD, estuvo relacionado significativamente a un menor contenido de ácido oleico ($C_{18:0}$) y miristoléico ($C_{14:1,cis-9}$) en ambos tejidos. En adición se observó que los genotipos AA y AV tuvieron menor contenido de AGS, mayores concentraciones de AGMI y de la relación AGMI:AGS. En contraste, el polimorfismo en SREBP1 solamente mostró efecto significativo en la concentración de ácido miristoleico ($C_{14:1,cis-9}$) de la grasa subcutánea.

Milanesi y colaboradores (2008), en otro estudio caracterizaron polimorfismos en el exon 5 del gen ECD en once razas italianas con diferente fin zootécnico (carne y leche), hallando tres nuevos haplotipos y demostrando la relación estrecha entre estos y el fin productivo de las razas estudiadas, sugiriendo una fuerte relación con la presión de selección.

Zhang y colaboradores (2008), analizaron el dominio tioesterasa (TE) del gen bovino (AGS) para detectar SNPs y cuantificar su efecto sobre la composición de ácidos grasos en carne de ganado Angus. Secuenciando los cuatro exones en el gen, que codifica el dominio TE identificaron tres SNPs (g.17924A>G; g.18663T>C y g.18727C>T). A obtener efectos significativos de la composición de los ácidos grasos y observar desequilibrio de ligamiento entre g.17924A>G y g.18663T>C, sus resultados concluyentemente indican que no sólo las variaciones en ECD, sino también las de AGS contribuyen en la variabilidad en la deposición de AGMI.

Recientemente, un estudio realizado por Matsushashi y colaboradores (2011), en una población comercial de ganado Wagyu, demostró efectos significativos en los polimorfismos de los genes AGS, ECD y GH sobre la composición grasa. Particularmente, el polimorfismo A293V en ECD se asoció a los niveles de ácido mirístico ($C_{14:0}$), miristoléico ($C_{14:1}$), esteárico ($C_{18:0}$) y oléico ($C_{18:1}$), así como también al nivel de AGMI. Un resultado sin duda interesante fue que los tres genes explicaron más del 20% de la varianza genética en el nivel de ácido oléico.

En los últimos años, el uso de los microchips de SNPs ha abierto la posibilidad a la llamada asociación de genoma amplio (genome wide), Reecy y colaboradores (2010), utilizando un chip BovineSNP50 en la tipificación de dos mil 285 bovinos Angus, que permite encontrar hasta 54 mil 001 SNPs. Ellos encontraron considerable variación en el cromosoma 19 para las características de composición de ácidos grasos, y este estudio les permitió identificar algunos SNPs que explicaban considerable variación en la deposición de ALC.

La gran cantidad de estudios generados a la fecha (cuadro 3) han demostrado que existe una gran variabilidad endógena genética que puede ser utilizada para promover variantes génicas que ayuden a revalorar a la carne bovina catalogándola como un alimento funcional, capaz de promover efectos benéficos en la salud humana más allá de sus virtudes nutricionales intrínsecas. Aunque los resultados hasta ahora no son concluyentes y sólo algunos se asociación específicamente al incremento positivo del ALC, la búsqueda más profunda de vías fisiológicas relacionadas con la síntesis de ácidos grasos, aunada a la gran disponibilidad de tecnologías del estudio del genoma ofrecen un futuro con resultados prometedores.

Cuadro 3. Genes y sus polimorfismos asociados a características de deposición y composición de ácidos grasos en diferentes razas de ganado bovino

<i>Gen</i>	<i>Polimorfismo</i>	<i>Raza</i>	<i>Efecto</i>	<i>Referencia</i>
SCD	c.878T>C	Negro Japonés	% AGMI↑ Punto de fusión graso↓	Taniguchi y colaboradores, 2004
	878 C>T	Fleckvieh	Composición de A.G.AGMI↑ AGMI:AGS↑	Barton y colaboradores, 2008
	A702G C762T T878C	Razas Italianas	Relación con fin productivo (Leche/Carne)	Milanesi y colaboradores, 2008
	g.4706C>T* g.7534G>A g.7864C>T*	Wagyu x Limousin	Deposición grasa Composición grasa en musculo esquelético Marmoleo AGMI↑ *CLA (mg/100g)†	Jiang y colaboradores, 2008
	c.878T>C, A293V	Negro Japonés	Composición de A.G	Matsuhashi y colaboradores, 2011
AGS	QTL C.19 Indel17250-17251AT T16907C C15531A G15603A A17924G	Jersey x Limousin	Composición de A.G. AGS↓	Morris y colaboradores, 2007
	g.17924A>G g.18663T>C	Angus	Composición de A.G. AGMI↑	Zhang y colaboradores, 2008
	g.16024A>G g.16039T>C	F2 Negro Japonés x Limousin	Estearico (C18:0) y oléico (C18:1)† AGMI:AGS↑ Mirístico(C14:0), Miristoléico (C14:1), Palmítico (C16:0), y palmitoléico (C16:1) ↓	Abe, 2009
	16024A>G (T1950A) 16039T>C (W1955R)	Negro Japonés		Matsuhashi y colaboradores, 2011
SREBP1	84pbIns/Del LS Intron 5	Fleckvieh	Contenido de ácido Miristoleico en grasa subcutánea (C14:1 cis9)	Barton y colaboradores, 2008
	84pbIns/Del LS Intron 5	Negro Japonés	Composición de A.G.AGMI↑	Matsuhashi y colaboradores, 2011
FABP4	220 bpA/G (I74V)	Negro Japonés	Proporción de ácido palmitoleico en grasa intramuscular	Hoashi y colaboradores, 2008
LXRα	397 bpG/A (V133I)	Negro Japonés	Proporción ácido linoleico en grasa intramuscular	Hoashi y colaboradores, 2008
GH	L127V Exon 5 T172M Exon 5	Negro Japonés	Composición de A.G. AGMI↑	Matsuhashi y colaboradores, 2011

Fuente: SCD: Estearoil CoA desaturasa. AGS: Ácido graso sintasa. SREBP1: Proteína ligadora de elementos reguladora de esterol 1. GH: Hormona de crecimiento. AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados.

La leche bovina como alimento funcional

Los ácidos grasos de la leche bovina

La leche es un fluido secretado por las glándulas mamarias de las hembras de mamíferos y es considerada su principal fuente de nutrientes durante las primeras etapas de su desarrollo. Ésta, contiene proteínas, minerales, carbohidratos, ácidos grasos, factores de crecimiento, inmuno moduladores. (Capuco y Akers, 2009). La leche además de ser considerada como alimento, es la materia prima principal para la elaboración de una gran cantidad de derivados lácteos. La calidad de los productos derivados de bovinos depende de la integración de factores entre los que se encuentran la seguridad, rasgos sensoriales, nutricionales y características de su producción (Hocquette y Gigli, 2005).

Aunque las proteínas son uno de los principales componentes de la leche, los ácidos grasos son también importantes. Se ha reportado que en Europa, la leche y sus derivados (como queso y mantequilla) son la principal fuente de ácidos grasos saturados ya que su consumo aporta de 27 a 58% de los ácidos grasos saturados que se obtienen por la dieta.

La grasa de la leche bovina es considerada como una de las más complejas. En ella se han identificado más de 400 ácidos grasos, la mayoría se encuentran en muy pequeñas cantidades. La grasa de la leche es relativamente alta en ácidos grasos saturados especialmente *C14:0* y *C16:0*, y relativamente baja en poliinsaturados (Shennink, y colaboradores, 2009). Los ácidos grasos *C14:0* y *C16:0* se consideran no deseables debido al efecto negativo que producen en la salud humana a diferencia de los ácidos grasos de cadenas largas (de más de 18 carbonos), cuyos efectos se consideran neutrales o positivos. De los ácidos grasos de cadena larga, los más estudiados es el ácido linoleico ya que en líneas animales y en modelos animales, se ha demostrado que este juega un papel importante en la modulación de las concentraciones plasmáticas de lípidos, así como efectos anti carcinogénicos y antiinflamatorios (Bauman, 2003).

El 98% de las grasas totales en la leche están presentes en la forma de triacilglicérols. Los triacilglicérols están formados de una molécula de glicerol combinada con tres ácidos grasos. Además en la leche se encuentran diacilglicérols, monoacilglicérols, ácidos grasos libres o no esterificados y fosfolípidos. Los triacilglicérols tienen un gran efecto en las propiedades químicas de los ácidos grasos y por lo tanto también afectan las propiedades funcionales de un gran número de productos lácteos.

Los ácidos grasos de la leche provienen de dos fuentes: la síntesis de *novo* en las glándulas mamarias y los lípidos plasmáticos. Por la primer vía son sintetizados los

ácidos grasos de cadenas cortas (*C4:0* a *C16:0*), los ácidos grasos con más de 18 carbonos provienen del plasma de los animales. Los ácidos grasos de cadenas largas en la glándula mamaria provienen de los del plasma, los que a su vez se obtienen de la dieta, por la síntesis de los ácidos grasos en el rumen. Los lípidos que llegan al rumen son inicialmente lipolizados por las lipasas microbianas causando la liberación de ácidos grasos. Después de la lipólisis, los ácidos grasos insaturados son isomerizados e hidrogenados por los microbios ruminales. A este proceso se le conoce como biohidrogenación (German, 2010).

Es bien conocido que ciertos tipos de dietas como las que son bajas en fibra o las basadas en forraje pelletizado, causan una marcada reducción en la secreción de grasa en la leche, lo que se conoce como depresión de grasa de la leche (MDF, por sus siglas en inglés). La MDF inducida por las dietas produce un incremento de los ácidos *trans*, los mecanismos de MDF han sido ampliamente estudiados y se sabe que los mecanismos que la inducen se centran en la glándula mamaria del animal e involucran la reducción en la expresión de los mensajeros de enzimas claves en la síntesis de la grasa de la leche (Bauman, 2003).

Los estudios para cambiar las proporciones de ácidos grasos de la leche para contribuir a mejorar la salud humana han ido en incremento en los últimos años. Para los ácidos grasos de cadenas medias y cortas el objetivo ha sido disminuir las proporciones relativas de los ácidos grasos no deseados como el *C14:0* y *C16:0*. Se ha demostrado que existe suficiente variación genética para la presencia en leche de ácidos grasos saturados de 4 a 16 carbonos con heredabilidades que van de 0.43 a 0.71 (Stoop y colaboradores, 2009). Se han realizado una gran cantidad de estudios enfocados a determinar los genes responsables de esta variación genética que permitan entender las vías de síntesis de ácidos grasos para que de esta manera sentar las bases para el desarrollo de estrategias enfocadas a la selección asistida por marcadores con el objetivo de obtener leche y productos lácteos funcionales.

Marcadores de ADN asociados a la composición de grasa de la leche

Como se ha mencionado existe una predisposición genética de las vacas para el contenido de la grasa en leche. Se han realizado muchos estudios sobre el tema, pero sólo algunos han asociado la variación genética con la composición y tipos de ácidos grasos de la leche, entre ellos se encuentran algunas mutaciones en los genes de la Diacilglicerol transferasa 1 (*DGTA1*) y la Esteroil CoA desaturasa (SCD). *DGTA1* afecta

principalmente cadenas irregulares de ácidos grasos y los índices de saturación de *C14:0*, *C16:0* y *C16:1*, así como algunos otros ácidos grasos de cadenas largas. SCD1 afecta todos los AGMI de cadenas medias así como sus índices de saturación (Schennink, y colaboradores, 2008). Los animales son capaces de convertir ácidos grasos saturados a ácidos grasos insaturados $\Delta 9$, por medio de la SCD, que cataliza la inserción de un doble enlace entre los átomos de carbono 9 y 10 del ácido graso (Pereira y colaboradores, 2003). Se han identificado dos isoformas de la SCD en bovinos que tienen expresión tejida específica: la SCD1 se expresa en tejido adiposo y mamario, mientras que la SCD5 se expresa principalmente en el cerebro (Chung y colaboradores, 2000; Lengi and Corl, 2007). Como se ha descrito hay reportes de asociación un SNP no sinónimo en el exón 5 del gen SCD1 que causa la sustitución de Valina por Alanina en ganado negro japonés, este mismo polimorfismo se ha asociado con la composición de las grasas en leche en razas como Holstein, Piedmontesa y Valdostana (Mele y colaboradores, 2007; Moiola y colaboradores, 2007). El alelo *A* se ha asociado con un mayor contenido de AGMI.

En el caso de DGTA1, se ha reportado que tiene efectos sobre la instauración de los ácidos grasos. La enzima DGTA1 es clave en la síntesis de triacilglicerol catalizando la acilación en posición *sn3* del diacilglicerol. Se ha reportado un polimorfismo en el gen DGTA1 que produce un cambio de lisina a alanina (K232A), que explica 50% de la variación genética en la composición de los ácidos grasos de la leche (Schennink y colaboradores, 2007). El Alelo κ se ha asociado con una mayor proporción de *C16:0* y menores de *C14:0*, y los insaturados *C18*. Aunque estos son los dos principales genes que se han estudiado, estos genes sólo explican parte de la variación genética de la composición de la grasa de la leche. Se han reportado otros genes candidatos para composición de ácidos grasos, especialmente aquellos asociados a la síntesis como el gen del coactivador-del receptor activado de proliferación de los peroxisomas- γ (PPARGC1A), *FAM13A1* (Cohen y colaboradores, 2004), la osteopontina (OPN), la hormona de crecimiento (GH, Viitala y colaboradores, 2006), la ácido graso sintasa (FASN, Roy y colaboradores, 2006b; Morris y colaboradores 2007) el transductor de señales y activador de la transcripción 5A (STAT5A, Shenink y colaboradores, 2009). Aunque la mayoría de estos estudios reportan los efectos sobre el porcentaje de grasa muy pocos evalúan la composición de la grasa, de hecho este tipo de estudios se han realizado principalmente en la grasa de ganado de carne.

Adicionalmente, se han realizado análisis masivos tratando de encontrar QTLs asociados a la composición de ácidos grasos. Stoop y colaboradores (2009), detectaron cuatro QTLs uno en el autosoma BTA6 con efecto en los ácidos grasos *C6:0* y *C8:0*, en el BTA14 se detectó otro con efecto en el porcentaje de grasa, cadenas impares de ácidos grasos, índices de insaturación, en el BTA 29 uno con efecto en *C14:0* y en el

BTA 26 se encontró otro con efecto en los ácidos grasos monoinsaturados y sus índices de saturación. Los *QTLs* encontrados explicaron de 3 a 19% de la varianza fenotípica. Schennink y colaboradores (2009), detectaron otros *QTLs* en los cromosomas BTA14, BTA15 y BTA16 que tienen efecto sobre la composición de ácidos grasos trans *C18:1* (BTA15), los índices de *C18:2cis9,trans11* (BTA 16) y sobre la relación *C18:1 cis-9, C18:1 cis-12, C18:2 cis-9,12, CLA cis-9,trans-11, C18:3 cis-9,12,15, the C18*, índices de ácidos grasos totales saturados e insaturados.

Las investigaciones en el campo siguen con el objetivo de llegar a comprender los procesos fisiológicos que regulan la síntesis de ácidos grasos específicos. Sin duda, dos de las fuentes proteínicas animales de las cuales no puede prescindir la humanidad son la carne y la leche, y el mayor entendimiento en su composición y su fisiología permitirá aprovechar la variación genética y su manipulación dentro de las estrategias de selección y mejoramiento genético para la obtención de productos animales favorables para la salud del ser humano.

Referencias

- Abe, T., J. Saburi, H. Hasebe, T. Nakagawa, S. Misumi, T. Nade, H. Nakajima, N. Shoji, M. Kobayashi and E. Kobayashi (2009), “Novel Mutations of the FASN Gene and Their Effect on Fatty Acid Composition in Japanese Black Beef”, *Biochemical Genetics*, 47, pp. 397-411.
- Angel, A. (2003), “Summary report of a Workshop on the Role of Conjugated Linoleic Acid in Human Health”, In proceedings of a Workshop on the Role of Conjugated Linoleic Acid in Human Health, Winnipeg, Canada, March 13-15, p. 18.
- Angulo, A. J., L. L. Mahecha and A. M. Olivera (2009), “Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: un nutriente valioso para la salud humana”, *Revista de Medicina Veterinaria Zootecnia de Córdoba*, vol. 14 (3), pp. 1856-1866.
- Arihara, K., and M. Ohata (2008), *Bioactive compounds in meat*. *Meat Biotechnology*, Fidel Toldra (ed.), Springer, pp. 231-249.
- Barton, L., T. Kott, D. Bures, D. Rehák, R. Zahrádková and B. Kottová (2010), “The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls”, *Meat Science*, vol. 85 (1), pp- 15-20.
- Bauman, D. E., L.H. Baumgard, B.A. Corl and J. M. Griinari (1999), *Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants*. Proceedings of the American Society of Animal Science.

- Bauman, D.E., and J. M. Griinari (2001), “Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome”, *Livestock Production Science*, vol. 70, pp. 15-29.
- Bauman, D.E., and J. M. Griinari (2003), “Nutritional regulation of milk fat synthesis”, *Annual Review of Nutrition*, vol. 23, pp. 203-227.
- Capuco, A.V. and R. M. Akers (2009), “The origin and evolution of lactation”, *Journal of Biology*, vol. 8, p. 37.
- Cohen, M., M. Reichenstein, A. Everts-Van der Wind, J. Heon-Lee, M. Shani, H. A. Lewin, J. I. Weller, M. Ron and E. Seroussia (2004), “Cloning and characterization of FAM13A1—a gene near a milk protein QTL on BTA6: evidence for population-wide linkage disequilibrium in Israeli Holsteins”, *Genomics*, vol. 84, pp. 374-383.
- Doyle, E. M. (2004), *Saturated Fat and Beef Fat as Related to Human Health: A Review of the Scientific Literature*, Food Research Institute, UW–Madison, February, p. 39.
- Espinoza-Villavicencio, J. L., A. Palacios-Espinosa and N. Ávila-Serrano (2007), “La ganadería orgánica, una alternativa de desarrollo pecuario para algunas regiones de México: Una revisión”, *Interciencia*, vol. 32 (6), pp. 385-390.
- Fritsche, S. & Fritsche, J. (1998). “Occurrence of conjugated linoleic acid isomers in beef”, *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol. 75 (10), pp. 1449-1451.
- German, J. B. and C. J. Dillard (2010), “Saturated Fats: A Perspective from Lactation and Milk Composition”, *Lipids*, vol. 45, pp. 915-923
- German, J. B. (2011), “Dietary lipids from an evolutionary perspective: sources, structures and functions”, *Maternal and Child Nutrition*, vol. 7 (2), pp. 2-16.
- Hasler, C. M. (2002), “Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges-A Position Paper from the American Council on Science and Health”, *Journal of Nutrition*, vol. 132, pp. 3772-3781.
- Hoashi, S., T. Hinenoya, A. Tanaka, H. Ohsaki, S. Sasazaki, M. Taniguchi, K. Oyama, F. Mukai and H. Mannen (2008), “Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese Black cattle”, *BMC Genetics*, vol. 9, p. 84.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI (2008), Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares, ENIGH, p. 532.
- Jiang, Z., J. J. Michal, D. J. Tobey, T. F. Daniels, D. C. Rule and M. D. MacNeil (2008), “Significant associations of stearyl-CoA desaturase (SCD1) gene with fat deposition and composition in skeletal muscle”, *International Journal of Biological Science*, vol. 4, pp. 345-351
- Jones, J. J. M., O. R. F. Ochoa, C. P. Sherwell, F. C. Cruz, R. D. Knutson and P. C. Westhoff (2009), *Proyecciones para el Sector Agropecuario de México: Escena-*

- rio Base 09-18*, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, FAPRI, AFPC, p. 63.
- Martínez, J. I., and B. C. A. Villezca (2003), “La alimentación en México: un estudio a partir de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares”, *Revista de Información y Análisis*, vol. 21, pp. 26-37.
- Matsuhashi, T., S. Maruyama, Y. Uemoto, N. Kobayashi, H. Mannen, T. Abe, S. Sakaguchi and E. Kobayashi (2011), “Effects of bovine fatty acid synthase, stearyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle”, *Journal of Animal Science* 89, 12–22.
- McAfee, A.J., E. M. McSorney, G. J. Cuskelly, B. W. Moss, J. M. W. Wallace, M. P. Bonham and A. M. Fearon (2010), “Red meat consumption: An overview of the risks and benefits”, *Meat Science*, vol. 84 (1), pp. 1-13.
- Milanesi, E., L. Nicoloso and P. Crepaldi (2008), “Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds”, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, vol. 125 (1), pp. 63-67.
- Mir, P.S., T. A. Mcallister, S. Scott, J. Alhus, V. Baron, D. McCartney, E. Charmley, L. Goonewardene, J. Basarab, E. Okine, R. J. Weselake and Z. Mir (2004), “Conjugated linoleic acid enriched beef production”, *American Journal of Clinical Nutrition*, num. 79 (suppl.), pp. 1207S-1211S.
- McGuire, M. A. and M. K. McGuire (2000), “Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health”, *Journal of Animal Science*, vol. 77, pp. 1-8.
- Morris, C.A., N. G. Cullen, B. C. Glass, D. L. Hyndman, T. R. Manley, S. M. Hickey, J. C. McEwan, W. S. Pitchford, C. D. K. Bottema and M. A. H. Lee (2007), “Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat”, *Mammalian Genome*, vol. 18 (1), pp. 64-74.
- Khanal, R. C. and T. R. Dhiman (2004), “Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid (CLA): A review”, *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 3 (2), pp. 72-81.
- Krause, D.O., S. E. Denman, R. I. Mackie, M. Morrison, A. L. Rae, G. T. Attwood and C. S. McSweeney (2003), “Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics”, *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 27, pp. 663-693.
- Reecy, J., R. Tait, D. Van Overbeke, A. Garmyn, R. Mateescu, A. Van Eenennaam, Q. Duan, Q. Liu, J. Schoonmaker, M. Drewnoski, D. Beitz, K. Kizilkaya, R. Fernando, D. Garrick (2010), *Use of Genomics to Improve Healthfulness and Quality of Meat. In Proceedings of World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany, August 1-6.

- Schennink, A., W. M. Stoop, M. H. P. W. Visker, J. M. L. Heck, H. Bovenhuis, J. J. Van der Poel, H. J. F. Van Valenberg and J. A. M. Van Arendonk (2007), “DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows”, *Animal Genetics*, vol. 38, pp. 467-473.
- Schennink, A., J. M. L. Heck, H. Bovenhuis, M. H. P. W. Visker, H. J. F. Van Valenberg and J. A. M. Arendonk (2008), “Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) and acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1)”, *Journal of Dairy Science*, vol. 91, pp. 2135-2143.
- ^aSchennink, A., W. M. Stoop, M. H. P. W. Visker, J. J. Van der Poel, H. Bovenhuis and J. A. M. Van Arendonk (2009), “Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. II. Quantitative trait loci for long-chain fatty acids”, *Journal of Dairy Science*, vol. 92 (9), pp. 4676-4682.
- ^bSchennink, A., H. Bovenhuis, K. M. Léon-Kloosterziel, J. A. M. Van Arendonk and M. H. P. W. Visker (2009), “Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL, and STAT5A genes on bovine milk-fat composition”, *Animal Genetics*, vol. 40 (6), pp. 909-916.
- Schmid, A., M. Collomb, R. Sieber and G. Bee (2006), “Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review”, *Meat Science*, vol. 73, pp. 29-41.
- Sifuentes R. A. M., and B. G. M. Parra (2011), ¿Cuál es el valor de las Pruebas de ADN para la ganadería de carne en México? *Simmental-Simbrah: Las verdaderas razas de doble propósito*, vol. 21 (febrero), pp. 16-18.
- Smith, S.B., C. A. Gill, D. K. Lunt and M. Brooks (2009), “Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle”, *The Asian Australasian Journal of Animal Science*, vol. 22 (9), pp. 1225-1233.
- Stoop, W. M., A. Schennink, M. H. P. W. Visker, E. Mullaart, J. A. M. Van Arendonk and H. Bovenhuis (2009), “Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. I. Quantitative trait loci for short- and medium-chain fatty acids”, *Journal of Dairy Science*, vol. 92 (9), pp. 4664-4675.
- Taniguchi, M., T. Utsugi, K. Oyama, H. Mannen, M. Kobayashi, Y. Tanabe, A. Ogino, S. Tsuji (2004), “Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle”, *Mammalian Genome*, vol. 14, pp. 142-148.
- USDA/FAS (2010), *Livestock and poultry, world markets and trade report*, United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service October, p. 34.
- Van Soest, P. J. (1994), *Nutritional ecology of the ruminant*, New York, 2nd edition, Cornell University Press, Ithaca.
- Williams, P. G. (2007), “Nutritional composition of red meat”, disponible en Research On line, University of Wollongong, <http://ro.uow.edu.au/hbspapers/48>.

Zhang, S., T. J. Knight, J. M. Reecy and D. C. Beitz (2008), “DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition”, *Animal Genetics*, vol. 39 (1), pp. 62-70.

Biotecnología y enzimas de interés en alimentos: glucosa oxidasa, mecanismo de acción, importancia industrial y aplicaciones

*María del Rosario González González, Virgilio Bocanegra García,
Gildardo Rivera, Isaías Balderas Rentería*

Resumen

El gran número de reacciones bioquímicas que se lleva a cabo en los seres vivos dependen de las enzimas que son catalizadores altamente específicos. Sin embargo, fuera del ambiente fisiológico, su eficiencia se ve limitada debido a varios factores, por lo cual surgen dos principales necesidades: fuentes nuevas de obtención de enzimas y, modificación y mejora de las ya existentes, con potencial aplicación en procesos industriales y, para esto, la ingeniería genética junto con herramientas como la evolución dirigida ha proporcionado instrumentos importantes para el desarrollo de nuevas enzimas con propiedades mejoradas. En esta revisión se exponen de manera general algunos ejemplos de la obtención de enzimas de fuentes naturales, analizando como enzima modelo la glucosa oxidasa, sus propiedades, mecanismo de acción y obtención a partir de microorganismos nativos y modificados genéticamente.

Palabras clave: biotecnología, glucosa oxidasa, Tecnología de alimentos, evolución dirigida

Mejoramiento de enzimas

Una enzima es una proteína catalizadora (biocatalizador), que con frecuencia contiene o requiere de uno o varios iones metálicos y co-factores para llevar a cabo su función en una ruta metabólica. En general, cada enzima cataliza sólo un tipo de reacción (especificidad de reacción) y funciona sólo sobre una gama muy estrecha de sustratos muy relacionados estructuralmente (especificidad de sustrato). Las moléculas de sustrato son atacadas en un mismo sitio (estero-especificidad) y las enzimas son selectivas para los enantiómeros de sustratos quirales o de mezclas racémicas (enantio-especificidad) (de Bolster, 1997).

El gran número de reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en los seres vivos dependen de las enzimas, y en su ausencia el metabolismo celular sería extremadamente lento e incluso algunas reacciones no procederían. Sin embargo, su eficiencia se puede ver limitada debido a su baja estabilidad a altas temperaturas, presencia de solventes orgánicos y el pH.

Las enzimas en diversos procesos industriales y en tecnología de alimentos son generalmente utilizadas bajo condiciones fisicoquímicas diferentes a las fisiológicas y de ahí surge la necesidad de obtener enzimas modificadas que nos permitan una potencial aplicación en varias áreas: empleo en la síntesis orgánica, para modificaciones del mecanismo de reacción, mejorar la especificidad hacia el sustrato y la enantio-selectividad (Hult K y Berlung 2003; Eggert, 2004); o el descubrimiento de nuevas enzimas hiper-termofílicas a partir de arqueobacterias que son activas a temperaturas extremas, (Renugopalakrishnan y colaboradores, 2005). Las proteínas identificadas por estas técnicas juegan papeles importantes en una variedad de usos industriales, alimentarios y farmacéuticos (Antikainen y Martin 2005; Kirk y colaboradores, 2002).

El uso de las enzimas en procesos industriales presenta como ventaja la reducción de costos, mayor seguridad en su aplicación y en requerimientos ambientales comparados con los procesos de la industria química tradicional (Wohlgemuth, 2010). En la actualidad, se conocen más de tres mil tipos de reacciones catalizadas por enzimas y muchas de estas enzimas ya han sido aisladas, purificadas y cristalizadas. Ejemplos de la aplicación tecnología enzimática actual se enlistan a continuación:

- Aplicación de enzimas en medios no acuosos para la producción de compuestos quirales y para la síntesis de polímeros especiales (Hult y Berlung, 2003).
- Conversión enzimática de insulina porcina en insulina humana. (Lombard y colaboradores, 2005).

- La síntesis enzimática de edulcorantes bajos en calorías, como el aspartato, empleando proteasas (Erbeldinger y colaboradores, 2000).
- La producción de ciclodextrinas a partir de almidón, mediante amilasas. (Guzmán y Paredes, 1995).
- La producción a gran escala de enzimas por medios de ingeniería genética. La quimosina recombinante fue pionera en ésta área. (Mohanty y colaboradores, 1999).
- La aplicación de enzimas en la producción de materias primas de aplicación en alimentos, como en la producción de jarabes fructosados (BeMiller, 2009), en la mejora de características organolépticas como incremento en aroma de vinos, mostos, zumos de fruta y otras bebidas alcohólicas (Caldini, 1994; Spagna y colaboradores, 2000); reducción de sabor amargo de jugos cítricos mediante enzimas inmovilizadas en las películas de empaque (Soares y Hotchkiss, 1998).
- Aplicaciones de bio-catálisis en la preparación de sabores y fragancias (Serra y colaboradores, 2005).

El empleo de cultivos bacterianos para producir enzimas tuvo su mayor auge alrededor de 1960, cuando proteasas obtenidas del género *Bacillus* fueron adicionadas a los detergentes para ayudar a eliminar manchas en la ropa (Joshi y Pandey, 1999; Ito y colaboradores, 1998). Así la producción enzimática en general mostró un importante incremento para diversas aplicaciones (cuadro 1).

Desde principios del siglo xx, el estudio de las enzimas y las tecnologías dependientes de ellas han tenido aplicaciones muy importantes, sin embargo, su uso empírico en la producción de alimentos se remonta a muchos siglos atrás. La producción del vino, la utilización de hojas de ciertas plantas para el ablandamiento de carne, así como la coagulación de leche para elaborar queso, son prácticas de pueblos antiguos. Actualmente, la tecnología enzimática ocupa un lugar importante dentro de la biotecnología y especialmente dentro del sector alimentario, ya que aproximadamente 65% de las enzimas que se producen industrialmente se relacionan con éste sector (Badui, 2006; García y colaboradores, 2002).

Con todo esto, el área alimentaria se ha beneficiado del empleo de enzimas en sus procesos para cumplir con varios objetivos, como el incremento de la calidad sensorial, mejora en los procesos de conservación, uso más eficiente de materias primas y la producción de alimentos bajos en calorías. Los microorganismos que se utilizan tradicionalmente para producir enzimas con aplicación en el procesamiento de alimentos son un grupo extenso (García y colaboradores, 2002; Wiseman, 1991), como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Microorganismos utilizados en producción enzimática; organismos GRAS (seguros para su utilización en alimentos)

<i>Nombre</i>	<i>Producción enzimática</i>	<i>Referencia</i>
Aspergillus niger	Glucosa oxidasa Glucoamilasa β -glucanasas Esterasa Pectinasas Lipasas Catalasa β -xylosidasa	Hellmuth y colaboradores (1995). Wang y colaboradores (2010). Shumiao y colaboradores (2010). Tsuchiyama y colaboradores (2006). Debing y colaboradores (2006). Edwinoliver y colaboradores (2009). Bucková y colaboradores (2005). Amaro y colaboradores (2010).
Aspergillus oryzae	α -Amilasa Proteasas Aminocilasas	Vongsangnak y colaboradores (2010). Vishwanatha y colaboradores (2010). Gentzen y colaboradores (1980).
Bacillus subtilis	α -Amilasa Proteasas β -glucanasas	Grauwet y colaboradores (2009). Duman y Löwe (2010). Jung y colaboradores (2010).
Bacillus cereus	α -Amilasa	Oyama y colaboradores (1999).
Bacillus macerans	Ciclodextrina glucosil transferasa	Jeang y colaboradores (2005).
Kluyveromyces fragilis	Lactasa	Mahoney y colaboradores (1975).
Mortierella vinacea	β -Galactosidasa	Shibuya y colaboradores (1997).
Rhizopus oryzae	Lipasas	Salah y colaboradores (2006).
Saccharomyces cerevisiae	Invertasa	Herwing y colaboradores (2001).

Fuente: elaboración propia.

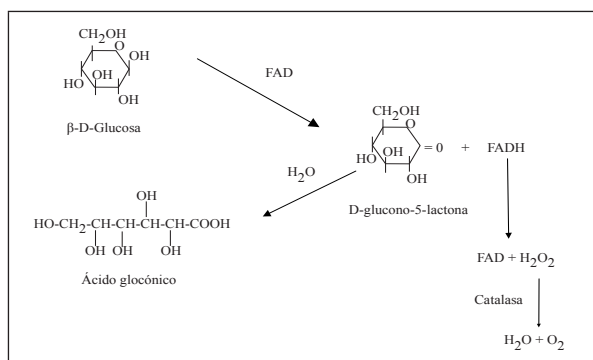
Aplicación de la Glucosa oxidasa en el área de alimentos

Un problema que con frecuencia origina pérdidas en el valor nutritivo y calidad organoléptica de un producto alimenticio y favorece la formación de toxinas, es la oxidación espontánea de los alimentos. Por ejemplo la oxidación de los lípidos insaturados, problema común en alimentos ricos en este tipo de grasas que pasan por un proceso de freído (frituras), también los cacahuates, nueces y almendras, así como productos de panadería y pastelería que en su composición contienen aceites o margarinas. Para paliar este problema las enzimas se pueden emplear como antioxidantes, donde la glucosa oxidasa (β -D-glucosa: oxígeno 1-oxidoreductasa, EC 1.1.3.4) (Wong y colaboradores, 2008), la superóxido dismutasa (Francis y colaboradores, 1999), la superóxido reductasa (Molina y colaboradores, 2006) y la

catalasa (Chelikani y colaboradores, 2004) son agentes que eliminan el oxígeno y otras especies reactivas.

La glucosa oxidasa muestra gran especificidad por la β -D-glucosa y otras hexosas, pentosas o disacáridos que no son oxidados o lo son en proporciones insignificantes. La glucosa oxidasa es una flavoproteína homodimérica que cataliza la oxidación de D-glucosa a ácido glucónico, utilizando el oxígeno como aceptor de electrones y produciendo además peróxido de hidrógeno (figura 1), (Bankar y colaboradores, 2009). La enzima madura consta de 583 residuos de aminoácidos con una pre-secuencia de 22 aminoácidos. Contiene ocho sitios potenciales para *N*-glicosilación y tres residuos de cisteína, con un peso molecular mayor a 150 mil daltons. (Frederick y colaboradores, 1990).

Figura 1. Reacción catalizada por la Glucosa oxidasa



Fuente: Furia (1980).

Esta enzima es utilizada como antioxidante la que previene cambios en el color, aroma y sabor de los alimentos ya sea en la etapa de procesado, transporte y/o almacenamiento, aumentando así la vida media útil de los productos. Por ejemplo, disminuye la oxidación lipídica en mayonesas y otros aderezos altos en grasa (Isakson y Adler-Nissen 1997), elimina la glucosa residual de los huevos y la clara batida (Sankaran y colaboradores, 1989; Sisak y colaboradores, 2006), evitando reacciones de pardeamiento (Maillard) y el desarrollo de sabores y olores desagradables.

Además la glucosa oxidasa permite obtener vino reducido en alcohol (Pickering y colaboradores, 1998, Malherbe y colaboradores, 2003). Se utiliza también en la producción de ácido glucónico a partir de glucosa, especie de gran demanda en las industrias farmacéutica, y de alimentos ya sea en su forma ácida o como su sal sódica

(gluconato) (Martins y Vitolo, 2007; Anastassiadis y Morgunov, 2007). En la industria del pan también ha tenido aplicación como estabilizante de masas (Gujral y Rosell, 2004; Joye y colaboradores, 2009; Steffolani y colaboradores, 2010) sustituyendo así al bromato de potasio (Kurokawa y colaboradores, 1990), el que es tóxico.

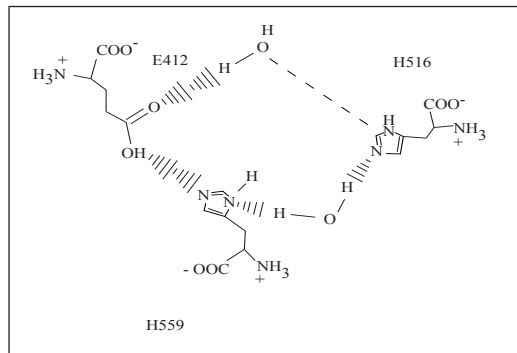
Aplicaciones adicionales de esta enzima, son junto a la peroxidasa y un reactivo cromógeno, forma parte de un juego de reactivos para la cuantificación de la glucosa, muy utilizado en clínica para la determinación de glucosa en los fluidos corporales y de excreción. También ha sido empleada en biosensores, basados en la inmovilización de la enzima (Foulds y Lowe, 1988) y han sido probadas desde entonces diferentes matrices (Mislovicová y Michálková, 2007; Wu y colaboradores, 2009).

Debido al interés comercial de esta enzima se siguen probando diferentes condiciones de cultivo (variación de nutrientes, pH, sales, agitación, aireación) para mejorar la producción de la enzima en organismo nativos (Zoghbi y colaboradores, 2008), buscando aumentar los niveles de producción. Estos aspectos han sido abordados también por grupos de investigadores mexicanos, que buscan cubrir la demanda nacional y conseguir la autosuficiencia de producción de glucosa oxidasa.

Mecanismo de acción de la glucosa oxidasa

Estudios de la estructura terciaria de la glucosa oxidasa mediante cristalografía (Wohlfahrt y colaboradores, 2004), indican que el acceso al sistema Flavina por el sitio activo es proporcionado por un “espacio” profundo; la coenzima FAD^+ , es localizada en el fondo de este espacio, figura 2.

Figura 2. Sitio activo de la Glucosa oxidasa (GOX)



Fuente: Wohlfahrt y colaboradores (2004).

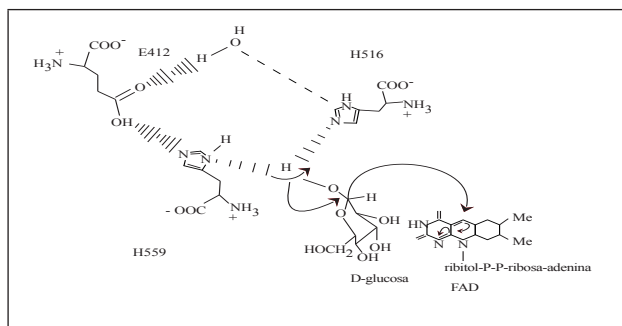
El anillo de isoaloxacina, en el N5 del FAD⁺ es el centro de la reacción catalítica. Hay sólo tres cadenas laterales de aminoácidos en la proximidad a este centro de reacción, la cadena lateral del ácido glutámico, *Glu412*, y las cadenas laterales de dos residuos de histidina, *His516* y *His559*. La histidina (*His559*) es fuertemente anclada por enlace de hidrógeno entre su *Nε* y *Oε* de *Glu412*. El ácido glutámico (*Glu412*) se encuentra parcialmente sumergido dentro de la molécula de enzima, mientras la cadena lateral de *His516* es más flexible y está más expuesta al solvente.

La oxidación de la β -*D*-glucosa por acción de la glucosa oxidasa, se explica por medio de un mecanismo (figura 3) que describe la remoción del protón del grupo hidroxilo del *C1* de la glucosa por el *Nε2* de *His516* o *Nδ1* de *His559*, enseguida se da la transferencia de hidruro de la posición *C1* en la glucosa a la posición *N5* en FAD⁺. La β -*D*-glucosa se fija fuertemente en el sitio activo de la enzima y es favorecido por ésta transferencia simultánea y concertada del protón del hidroxilo en *C1* en la glucosa hacia el *N* de cualquiera de los dos restos de histidina. De esta forma el retiro de una carga positiva de la glucosa facilita la subsiguiente transferencia de hidruro, desde *C1* de la glucosa a el anillo de Isoaloxacina, creando una carga negativa en *N1*.

La presencia de carga negativa en el *N1* que se deslocaliza en el *C2* y *O2* del FADH+H⁺ se explican mediante estudios de resonancia magnética nuclear de glucosa oxidasa a pH 5.6, en ausencia del oxígeno. Con ésta evidencia se confirma la transferencia de hidruro al *N5* y no al *N1*.

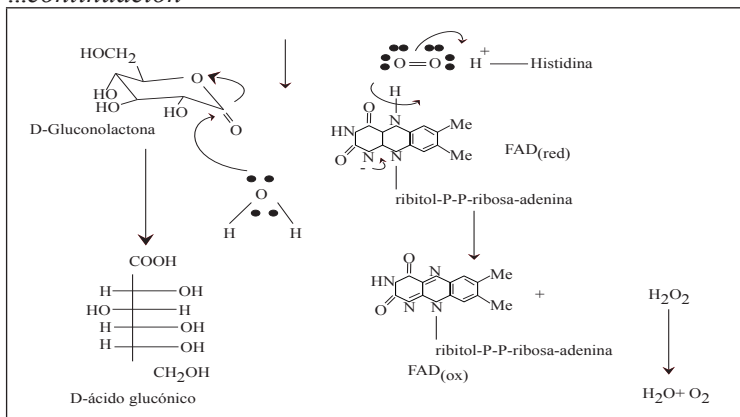
La glucosa se convierte en gluconolactona, una vez que ha perdido protón e hidruro, y se hidroliza para formar ácido gluconico, mientras que el FAD⁺ en su forma reducida reacciona transfiriendo un hidruro a uno de los átomos de oxígeno del *O*₂, concentrando carga negativa en el siguiente oxígeno, éste acepta un protón de la histidina produciendo peróxido de hidrógeno.

Figura 3. Mecanismo de acción de GOX



Continúa...

...continuación



Fuente: Wohlfahrt y colaboradores (2004). a) Estabilización de la glucosa en el sitio activo. Pérdida de protón de grupo hidroxilo de C1 y transferencia de hidruro del C1 al N5 del anillo de isoaloxacina produciendo. b) Forma reducida del dinucleótido de flavina adenina y gluconolactona que en presencia de O₂ y H₂O producen ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.

Obtención de glucosa oxidasa a partir de organismos nativos

La glucosa oxidasa comúnmente es obtenida a partir de algunos hongos mohos, sin embargo, éstos no son los únicos organismos que la producen como se muestra en el cuadro 2-A. Tradicionalmente *Aspergillus niger* ha sido la fuente principal de la glucosa oxidasa (Hellmuth y colaboradores, 1995), y otros metabolitos de interés industrial (Adav y colaboradores, 2010; Rodríguez y colaboradores, 2006; Fiedurek y colaboradores, 1995; Benedetto y colaboradores, 1988). Otros hongos también productores de glucosa oxidasa son *Mucor circinelloides* (Bredenkam y colaboradores, 2010) y *Trichoderma reesei* (Mu y colaboradores, 2006).

Producción de glucosa oxidasa por organismos recombinantes

Además de la exploración y explotación de organismos nativos para la producción de glucosa oxidasa, se ha reportado el incremento en la producción de la glucosa oxidasa extracelular a partir de modificaciones genéticas en organismos como levaduras y otros hongos mohos.

En 1997 Kopetzki y Lenhart reportaron la obtención de Glucosa oxidasa hipoglicosilada activa a partir de un gen mutante de *Saccharomyces cerevisiae* de N-glicosilación reducida. Witt y colaboradores (1998), reportó un trabajo en el que lograron la expresión de glucosa oxidasa no glicosilada de *Penicillium amagasakiense* en *E. coli* obteniendo la enzima inactiva, que posteriormente fue reactivada mediante un tratamiento fisicoquímico.

También se ha reportado la optimización de la producción de glucosa oxidasa en *Saccharomyces cerevisiae* recombinante (Park y colaboradores, 2000; Kapat y colaboradores, 2001) (Malherbe y colaboradores, 2003), lograron la expresión del gen de ésta enzima también en *Saccharomyces cerevisiae* obteniendo una cepa que permite producir vino con niveles bajos de alcohol. El gen de la glucosa oxidasa también ha sido clonado en otras especies de *Aspergillus* como en *A. nidulans* (Luque y colaboradores, 2004). Se ha conseguido la expresión y secreción en otras levaduras como *Hansenula polymorpha* (Kim y colaboradores, 2004) y *Pichia pastoris* (Yamaguchi y colaboradores, 2007) (cuadro 2-B).

Cuadro 2. Organismos productores de Glucosa oxidasa:
A) Nativos. B) Modificados genéticamente

<i>Organismo productor</i>	<i>Tipo de organismo</i>	<i>Referencia</i>
<i>A) Especies portadoras del gen de glucosa oxidasa</i>		
<i>Apis mellifera</i> L.	Abeja	Ohashi y colaboradores (1999)
<i>Helicoverpa zea</i>	Gusano (plaga de cultivos)	Peiffer y Felton (2005)
<i>Helicoverpa armigera</i>	Gusano (plaga de algodón)	Hu y colaboradores (2008)
<i>Penicillium amagasakiense</i>	Hongo moho	Kiess y colaboradores (1998)
<i>Penicillium adametzii</i>	Hongo moho	Efremín y colaboradores (2006)
<i>Penicillium variabile</i>	Hongo moho	Pulci y colaboradores (2004)
<i>Talaromyces flavus</i>	Hongo moho	Murray y colaboradores (1997)
<i>B) Organismos recombinantes productores de glucosa oxidasa</i>		
<i>Aspergillus nidulans</i>	Hongo moho	Luque y colaboradores (2004)
<i>Pichia pastoris</i>	Levadura	Yamaguchi y colaboradores (2007)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Lervadura	Park y colaboradores (2000)
<i>Escherichia coli</i>	Bacteria	Witt y colaboradores (1998)
<i>Mucor circinelloides</i>	Hongo moho	Bredenkam y colaboradores (2010)
<i>Trichoderma reesei</i>	Hongo moho	Mu y colaboradores (2006).
<i>Hansenula polymorpha</i>	Levadura	Kim y colaboradores (2004)

Fuente: elaboración propia.

Biotecnología: perspectivas actuales

La recombinación natural de ácidos nucleicos y la selección natural, son los mecanismos biológicos más importantes en la producción de diversidad genética. Sin embargo, el proceso natural es lento y limitado, acorde al desarrollo de las diversas especies. La ingeniería genética mediante diseño racional permite acelerar estos procesos a través de técnicas de DNA recombinante y mediante manipulación de fragmentos de genes de interés y genomas microbianos que favorecen la generación de nuevas enzimas (Hult y Berlung, 2003) y permite la combinación funcional de información genética de diversos orígenes y su expresión en diferentes organismos hospederos con mayores ventajas económicas (Mohanty y colaboradores, 1999).

En el campo de la investigación se llevan a cabo modificaciones a nivel genético buscando obtener organismos con características deseables incrementadas y que represente la solución de una problemática o la generación de un bien, que llevado a una escala mayor y encontrando las condiciones óptimas de producción se puede traducir en grandes beneficios, no sólo a un pequeño sector de la población, sino a nivel nacional. Mediante la aplicación de la biotecnología se han logrado una serie de avances que impactan en la industria mediante el ahorro de energía (Kitamoto y colaboradores, 2002), eliminación de residuos contaminantes (Brisson y Chazarenc, 2009), y sustitución de productos (Röttig y colaboradores, 2010).

Referencias

- Adav, S. S., A. A. Li, A. Manavalan, P. Punt, S. K. Sze (2010), "Quantitative iTRAQ secretome analysis of *Aspergillus niger* reveals novel hydrolytic enzymes", *Journal of Proteome Research*, vol. 6;9 (8), pp. 3932-40.
- Amaro, A., B. E. García, D. G. Vázquez, E. Castaño, R. G. Guevara, O. Loera, C. Regalado (2010), "Homologue expresión of a β -xylosidase from native *Aspergillus niger*", *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*.
- Anastassiadis, S., I. G. Morgunov (2007), "Gluconic acid production", *Recent Patents in Biotechnology*, vol. 1 (2), pp. 167-80.
- Antikainen, N. M., S. F. Martin (2005), "Altering protein specificity: techniques and applications", *Bioorganic Medicinal Chemistry*, vol. 13 (8), pp. 270-16.
- Benedetto, N., P. Sabatini, C. Sellitto, C. C. Romano (1988), "Interleukin-2 and increased natural killer activity in mice experimentally infected with *Aspergillus niger*", *Microbiologica*, vol. 11 (4), pp. 339-45.

- Bredenkam, A., H. Velankar, W. H. van Zyl and J. F. Görgens (2010), "Effect of dimorphic regulation on heterologous glucose oxidase production by *Mucor circinelloides*", *Yeast*, vol. 27 (10), pp. 849-60
- Brisson, J., F. Chazarenc (2009), "Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection?" *Science of the Total Environment*, vol. 407 (13), pp. 3923-3930
- Badui-Dergal, S. (2006), *Química de los alimentos*, México, 4ª edición, Pearson Education, ISBN: 970-26-0670-5, pp. 301-302-310.
- Bankar, S. B., M. V. Bule, R. S., Singhal, L. Ananthanarayan (2009), "Glucose oxidase-an overview", *Biotechnology*, vol. 27 (4), pp. 489-501.
- BeMiller, J. N. (2009), "One hundred years of commercial food carbohydrates in the United States", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57 (18), pp. 8125-9.
- Bucková, M., J. Godocíková, A. Simonovicová, B. Polek (2005), "Production of catalases by *Aspergillus niger* isolates as a response to pollutant stress by heavy metals", *Current Microbiology*, vol. 50 (4), pp. 175-9.
- Caldini, C. (1994), "Kinetic and immobilization studies on fungal glycosidases for aroma enhancement in wine", *Enzyme Microbiology and Technology*, vol. 16, pp. 286-291.
- Chelikani, P., I. Fita, P. C. Loewen (2004), "Diversity of structures and properties among catalases", *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 61 (2), pp. 192-208.
- de Bolster, M. W. G. (1997), "Glossary of Terms Used in Bioinorganic Chemistry: Cofactor", *International Union of Pure and Applied Chemistry*.
- Debing, J., L. Peijun, F. Stagnitti, X. Xianzhe, L. Li (2006), "Perctinase production by solid fermentation from *Aspergillus niger* by a new prescription experiment", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 64 (2), pp. 244-50.
- Duman, R. E., J. Löwe (2010), "Cristal structures of *Bacillus subtilis* protease", *Journal of Molecular Biology*, vol. 401 (4), pp. 653-70
- Edwinoliver, N. G., K. Thijunavukarasu, S. Purushothaman, C. Rose, M. K. Gowthaman, N. R. Kaminj (2009), "Corn steep liquor as a nutrition adjunct for the production of *Aspergillus niger* lipase and hydrolysis of oils thereof", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57 (22), pp. 10658-63.
- Efremin, A. N., M. V. Makarenko, L. A. Zhukovskaia, R.V. Mikhailova (2006), "Isolation and characterization of extracellular glucose oxidase from *Penicillium adametzii*", *Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiia*, vol. 42 (3), pp. 345-42
- Eggert, T. K. E. (2004), "Enantioselective biocatalysis optimized by directed evolution", *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 15 (4), pp. 305-313.
- Erbeldinger, M., A. J. Mesiano, A. J. Russell (2000), "Enzymatic catalysis of formation of Z-aspartame in ionic liquid—An alternative to enzymatic catalysis in organic solvents", *Biotechnology Progress*, vol. 16 (6), pp. 1129-31.

- Fiedurek, J., J. Szczodrak, J. Rogalski (1995), "Seeds as natural matrices for immobilization of *Aspergillus niger* mycelium producing pectinases", *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 78 (4), pp. 409-12.
- Francis, E., Jr. Jenney, F. J. M. Marc, X. Verhagen, W. W. Michael Adams (1999), "Anaerobic Microbes: Oxygen detoxification without superoxide dismutase", *Science*, vol. 286 (5438), pp. 306-309.
- Frederick, K. R., J. Tung, R. S. Emerick, F. R. Maziarz, S. H. Chamberlain, A. Vasavada, S. Rosenberg, S. Chakraborty, L. M. Schopfer, V. Massey (1990), "Glucose Oxidase from *Aspergillus niger*. cloning, gene sequence, secretion from *Saccharomyces cerevisiae* and kinetic analysis of a yeast-derived enzyme", *Journal of Biological Chemistry*, vol. 265, pp. 3793-3802.
- Foulds, N. C., C. R. Lowe (1988), "Immobilization of glucose oxidase in ferrocene-modified pyrrole polymers", *Analytical Chemistry*, vol. 60 (22), pp. 2473-8.
- Furia, T. E. (1980), *Handbook of Food Additives*, 2ª edición, CRC Press Inc., USA., ISBN: 0-8493-0543-8, p. 107.
- García-Garibay, M., R. Quintero-Ramírez, A. López-Munguía Canales (2002), *Biotecnología Alimentaria*, 1ª edición, Limusa, México, ISBN: 968-18-4522-6, pp. 103-104-153.
- Gentzen, I., H. G. Löffler, F. Schneider (1980), *Aminoacylase form Aspergillus oryzae. Comparison with the pig kidney enzyme*, *Z Naturforsch C.*, pp. 357-89;544;50.
- Grauwet, T., I. Van der Plancken, L. Vervoort, M. E. Hendrickx, A. Van Loey (2009), "Investigating the potential of *Bacillus subtilis* alpha-amylase as a pressure-temperature-time indicator for high hydrostatic pressure pasteurization processes", *Biotechnology Progress*, vol. 25 (4), pp. 1184-93.
- Gujral, H. S., C. M. Rosell (2004), "Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase", *Food Research International*, vol. 37 (1), pp. 75-81.
- Guzmán, M. H., L. O. Paredes (1995), "Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 35 (5), pp. 373-402.
- Hellmuth, K., S. Pluschkell, J. K. Jung, E. Ruttkowski, U. Rinas (1995), "Optimization of glucose oxidase production by *Aspergillus niger* using genetic and process engineering techniques", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 43, pp. 978-984.
- Herwing, C., C. Doerries, I. Marison, U. von Stockar (2001), "Quantitative analysis of the regulation scheme of invertase expression in *Saccharomyces cerevisiae*", *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 76 (3), pp. 247-58.
- Hult, K., P. Berlung (2003), "Engineered enzymes for improved organic synthesis", *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 14 (4), pp. 395-400.

- Hu, Y. H., D. W. Leung, L. Kang, C. Z. Wang (2008), "Diet factors responsible for the change of the glucose oxidase activity in labial salivary glands of *Helicoverpa armigera*", *Archives of Insects Biochemistry and Physiology*, vol. 68 (2), pp. 113-21.
- Isaksen, A., J. Adler-Nissen (1997), "Antioxidative effect of Glucose oxidase and catalase in Mayonnaises of different oxidative susceptibility. II. Mathematical modeling", *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, vol. 30 (8), pp. 847-852.
- Ito, S., T. Kobayashi, K. Ara, K. Ozaki, S. Kawai, Y. Hatada (1998), *Alkaline detergent enzymes from alkaliphiles: enzymatic properties, genetics, and structures Extremophiles*, vol. 2 (3), pp. 185-90.
- Jeang, C. L., D. G. Lin, S. H. Hsieh (2005), "Characterization of cyclodextrin glycosyltransferase of the same gene expressed from *Bacillus macerans*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*", *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 53 (16), pp. 6301-4.
- Joshi, V. K., A. Pandey (1999), *Biotechnology: Food Fermentation (Microbiology, Biochemistry and Technology)*, Educational Publishers & Distributors, India, ISBN: 81-87198-05-2, p. 1080.
- Joye, I. J., B. Lagrain, J. A. Delcour (2009), "Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking-A review", *Journal of Cereal Science*, vol. 50 (1), pp. 11-21.
- Jung, Y. J., Lee, Y. S., I. H. Park, M. S. Chandra, K. K. Kim, Y. L. Choi (2010), "Molecular cloning, purification and characterization of thermostable beta-1,3-1,4-glucanase from *Bacillus subtilis* A8-8", *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, vol. 47 (4), pp. 203-10.
- Kapat, A., J. K. Jung, Y. H. Park (2001), "Enhancement of glucose oxidase production in batch cultivation of recombinant *Saccharomyces cerevisiae*: optimization of oxygen transfer condition", *Journal of Applied Microbiology*, vol. 90, pp. 216-222.
- Kiess, M., H. J. Hecht, H. M. Kalisz (1998), "Glucose oxidase from *Penicillium amagasakiense*. Primary structure and comparison with other glucose-methanolcholine (GMC) oxidoreductases", *European Journal of Biochemistry*, vol. 252 (1), pp. 90-9.
- Kim, M. W., S. K. Rhee, J. Y. Kim, Y. Shimma, Y. Jigami, H. A. Kang (2004), "Characterization of N-linked oligosaccharides assembled on secretory recombinant glucose oxidase and cell wall mannoproteins from the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*", *Glycobiology*, vol. 14 (3), pp. 243-51.
- Kirk, O., T. V. Borchert, C. C. Fuglsang (2002), "Industrial enzymes applications", *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 13, pp. 345-351.

- Kitamoto, D., H. Isoda, T. Nakahara (2002), "Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants from energy-saving materials to gene delivery carriers", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 94 (3), pp. 187-201.
- Kopetzki, E., K. Lehnert (1997), *Hypoglicosilated recombinant Glucose oxidase*, United States Patent, 11/02/1997, No. patent 5,602,018.
- Kurokawa, Y., M. Maekawa, M. Takahashi, Y. Hayashi (1990), "Toxicity and carcinogenicity of potassium bromated, a new renal carcinogen", *Environmental Health Perspectives*, vol. 87, pp. 309-335.
- Lombard C., J. Saulnier, J. M. Wallach (2005), "Recent trends in protease-catalyzed peptide synthesis", *Protein and Peptide Letters*, vol. 12 (7), pp. 621-9.
- Luque, R., M. Orejas, N. I. Perotti, D. Ramón, M. E. Lucca (2004), "pH Control of the production of recombinant glucose oxidase in *Aspergillus nidulans*", *Journal of Applied Microbiology*, vol. 97, pp. 332-337.
- Malherbe, D. F., M. du Toit, R. R. Cordero Otero, P. van Rensburg, I. S. Pretorius (2003), "Expression of the *Aspergillus niger* glucose oxidase gene in *Saccharomyces cerevisiae* and its potential applications in wine production", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 61 (5-6), pp. 502-511.
- Mahoney, R. R., T. A. Nickerson, J. R. Whitaker (1975), "Selection of strain, growth conditions, and extraction procedures for optimum production of lactase from *Kluyveromyces fragilis*", *Journal of Dairy Science*, vol. 58 (11), pp. 1620-9.
- Martins, L. C., M. Vitolo (2007), "Use of Glucose Oxidase in a Membrane Reactor for Gluconic Acid production", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, pp. 136-161-170.
- Mislovicová, D., E. Micháľková (2007), "Immobilized glucose oxidase on different supports for biotransformation removal of glucose from oligosaccharide mixtures. Short communication", *Process Biochemistry*, vol. 42 (4), pp. 704-709.
- Mohanty, A. K., U. K. Mukhopadhyay, S. Grover, V. K. Batish (1999), "Bovine chymosin: production by rDNA technology and application in cheese manufacture", *Biotechnol Advances*, vol. 17 (2-3), pp. 205-17.
- Molina, F., C. Houée, C. Berthomieu, D. Touati, E. Tremey, V. Favaudon, V. Adam, V. Nivière (2006), *Detoxification of superoxide without production of H₂O₂: Antioxidant activity of superoxide reductase complexed with ferrocyanide Proceedings of the National Academy of Sciences*, pp. 14750-14755.
- Mu, J. Y., Q. Wang, D. Yang, E. S. Wang, Q. Wang, Y. Huang (2006), "Recombinant *Aspergillus niger* glucose oxidase expressed in *Trichoderma reesei*", *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, vol. 22 (1), pp. 82-6.

- Murray, F. R., D. J. Llewellyn, W. J. Peacock, E. S. Dennis (1997), "Isolation of the glucose oxidase gene from *Talaromyces flavus* and characterisation of its role in the biocontrol of *Verticillium dahliae*", *Current Genetics*, vol. 32 (5), pp. 367-375.
- Ohashi, K., S. Natori, T. Kubo (1999), "Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.)", *European Journal of Biochemistry*, vol. 265 (1), pp. 127-133.
- Oyama, T., M. Kusunoki, Y. Kishimoto, Y. Takasaki, Y. Nitta (1999), "Crystal structure of beta-amylase from *Bacillus cereus* var. *mycoides* at 2.2 Å resolution", *Journal of Biochemistry*, vol. 125 (6), pp. 1120-30.
- Park, E. H., Y. M. Shin, Y. Y. Lim, T. H. Kwon, D. H. Kim, M. S. Yang (2000), "Expression of glucose oxidase by using recombinant yeast", *Journal of Biotechnology*, vol. 81 (1), pp. 35-44.
- Peiffer, M., G. W. Felton (2005), "The host plant as a factor in the synthesis and secretion of salivary glucose oxidase in larval *Helicoverpa zea*", *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, vol. 58 (2), pp. 106-13.
- Pickering, G. J., D. A. Heatherbell, M. F. Barnes (1998), "Optimising glucose conversion in the production of reduced alcohol wine using glucose oxidase", *Food Research International*, vol. 31 (10), pp. 685-692.
- Pulci, V., R. D'Ovidio, M. Petruccioli, F. Federici (2004), "The glucose oxidase of *Penicillium variabile* P16: gene cloning, sequencing and expression", *Letters in Applied Microbiology*, vol. 38 (3), pp. 233-238.
- Renugopalakrishnan, V., R. Garduno-Juarez, G. Narasimhan, C. S. Verma, X. Wei, P. Li (2005), "Rational design of thermally stable proteins: relevance to bionanotechnology", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 5 (11), pp. 1759-1767.
- Rodríguez, A. P., R. F. Leiro, M. C. Trillo, M. E. Cerdán, M. I. Siso, M. Becerra, (2006), "Secretion and properties of a hybrid *Kluyveromyces lactis*-*Aspergillus niger* beta-galactosidase", *Microbial Cell Factories*, vol. 18 (5), pp. 41.
- Röttig, A., L. Wenning, D. Bröker, A. Steinbüchel (2010), "Fatty acid alkyl esters: perspectives for production of alternative biofuels", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85 (6), pp. 1713-33.
- Salah, R. B., H. Mosbah, A. Fendri, A. Gargouri, H. Mejdoud (2006), "Biochemical and molecular characterization of a lipase produced by *Rhizopus oryzae*", *FEMS Microbiology Letters*, vol. 260 (2), pp. 241-8.
- Sankaran, K., S. S. Godbole, S. F. D'Souza (1989), "Preparation of spray-dried, sugar-free egg powder using glucose oxidase and catalase coimmobilized on cotton cloth", *Enzyme and Microbial Technology*, disponible en 11(9):617-619 http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TG1-47DM40H-CX&_user=2700775&_coverDate=09%2F30%2F1989&_alid=1636199768&_

- rdoc=6&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5241&_sort=r&_st=13&_docanchor=&view=c&_ct=14158&_acct=C000058584&_version=1&_urlVersion=0&_userid=2700775&md5=d060f5b39042e97a3c512129958e71a8&searchtype=a - implicit0#implicit0
- Serra, S., C. Fuganti, E. Brennam (2005), “Biocatalytic preparation of natural flavours and fragrances”, *Trends in Biotechnology*, vol. 23 (4), pp. 193-8.
- Shumiao, Z., Huang, J., Zhang, C., Deng, L., Hu, N., Liang, Y. (2010), “High-level expression of an *Aspergillus niger* endo-beta-1,4-glucanase in *Pichia pastoris* through gene codon optimization and synthesis”, *Journal Microbiology and Biotechnology*, vol. 20 (3), pp. 467-73.
- Shibuya, H., H. Kobayashi, T. Sato, W. S. Kim, S. Yoshida, S. Kaneko, K. Kasamo, I. Kusakabe (1997), “Purification, characterization and cDNA cloning of a novel alpha-galactosidase from *Mortierella vinacea*”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 61 (4), pp. 592-8.
- Sisak, C., Z. Csanádi, E. Rónay, B. Szajáni (2006), “Elimination of glucose in egg white using immobilized glucose oxidase”, *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 39 (5), pp. 1002-1007.
- Soares, N. F. F., J. H. Hotchkiss (1998), “Naringinase immobilization in packaging films for reducing naringin concentration in grapefruit juice”, *Journal of Food Science*, vol. 63 (1), pp. 61-65.
- Spagna, G., R. N. Barbagallo, A. Martino, P. G. Pifferi (2000), “A simple method for purifying glycosidases: α -L-rhamnopyranosidase from *Aspergillus niger* to increase the aroma of Moscato wine”, *Enzyme Microbial Technology*, vol. 27, pp. 522-530.
- Steffolani, E., G. T. Ribotta, A. E. León (2010), “Effect of glucose oxidase, transglutaminase and pentosanase on wheat proteins: Relationship with dough properties and bread-making quality”, *Journal of Cereal Science*, vol. 51 (3), pp. 366-373.
- Tsuchiyama, M., T. Sakamoto, S. Murata, H. Kawasaki (2006), “Esterification of ferulic acid with polyols using a ferulic acid esterase from *Aspergillus niger*”, *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 34 (7), pp. 1071-9.
- Vishwanatha, K. S., A. G. Rao, S. A. Singh (2010), “Acid protease production by solid-state fermentation using *Aspergillus oryzae* MTCC5341: optimization of process parameters”, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 37 (2), pp. 129-38.
- Vongsangnak, W., K. Hansen, J. Nielsen (2010), “Integrated analysis of the global transcriptional response to α -amylase over-production by *Aspergillus oryzae*”, *Biotechnology and Bioengineering*, en prensa.
- Wiseman, A. (1991), *Manual de Biotecnología de los Enzimas*, 1a edición, Acirbia S. A., España, 349,350 ISBN: 84-200-0705-6, pp. 286.

- Witt, S., M. Singh, H. M. Kalisz (1998), "Structural and Kinetic Properties of nonglycosylated recombinant *Penicillium amagasakiense* Glucose Oxidase Expressed in *Escherichia coli*", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, pp. 1405-1411.
- Wohlgemuth, R. (2010), "Biocatalysis key to sustainable industrial chemistry", *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 21 (6), pp. 713-24.
- Wohlfahrt, G., S. Trivi, J. Zeremski, D. Pericv, V. Leskovac (2004), "The chemical mechanism of action of glucose oxidase from *Aspergillus niger*", *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 260, pp. 69-83.
- Wu, H., J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin (2009), "Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film", *Talanta*, vol. 80 (1), pp. 403-6.
- Wang, X. Q., Q. H. Wang, Y. Y. Liu, H. Z. Ma (2010), "On site production of crude glucoamylase for kitchen waste hydrolysis", *Waste Management and Research*, vol. 28 (6), pp. 539-44.
- Wong, C. M., K. H. Wong, X. D. Chen (2008), "Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 78 (6), pp. 927-38.
- Yamaguchi, M., Y. Tahara, A. Nakano, T. Taniyama (2007), "Secretory and continuous expression of *Aspergillus niger* glucose oxidase gene in *Pichia pastoris*", *Protein Expression and Purification*, vol. 55 (2), pp. 273-8.
- Zoghbi, N., N. Ojeda, N. Noguera, A. Yépez, H. Camargo, F. Triana-Alonso (2008), "Extracción y purificación de glucosa oxidasa para fines diagnósticos producida en medios a base de fertilizantes y azúcar industrial", *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2008*, núm. 28, pp. 31-37.

Modelo para la transferencia científica y tecnológica. Universidad-gobierno-empresa: caso del cuerpo académico de alimentos y nutrición de la Universidad Autónoma de Tamaulipas

*Frida Carmina Caballero Rico, Rocío M. Uresti Marín,
José Alberto Ramírez de León, Manuel Vázquez Vázquez,
Gonzalo Velazquez de la Cruz*

Resumen

La vinculación Universidad-Gobierno-Empresa para la generación y transferencia del conocimiento es una actividad importante para el desarrollo de un país, pero puede ser compleja por las diversas actividades que involucra. El proceso implica satisfacer las expectativas, necesidades y requerimientos de cada una de las tres instancias participantes. El objetivo final es generar conocimiento necesario para ofrecer al sector productivo una ventaja competitiva. Sin embargo en las universidades e instituciones de educación superior mexicanas, generalmente son los Profesores de Tiempo Completo (PTC) los responsables de desarrollar actividades de investigación. La complejidad para las instituciones educativas consiste en que el PTC generalmente debe participar, además de la generación de conocimiento, en actividades de gestión administrativa, docencia y tutoría. Se espera adicionalmente su integración en un cuerpo académico y que apoye a través de su producción científica en su consolidación. También que obtenga su certificación como profesor Perfil PROMEP y que dirija tesis de licenciatura. Adicional a esto se espera que participe en programas de posgrado y, que a través de su trabajo, ayude a su incorporación en el Padrón Nacional

de Posgrado (PNP), integrándose a un Núcleo Académico Básico y obteniendo el reconocimiento del Sistema Nacional de Investigadores, buscando alcanzar el nivel 2 o 3 que sólo se logra a través de una alta producción de artículos científicos y la dirección de tesis de Doctorado.

Este proceso académico es lento, laborioso, burocrático, complicado por los mecanismos de control y auditoría internos y externos y generalmente costoso, y aunque cuenta con fuentes de financiamiento, suelen ser insuficientes. La empresa requiere procesos ágiles, preferentemente económicos, que le den una respuesta a sus necesidades de crecimiento y desarrollo para no dejar de ser competitiva.

La vinculación de las universidades con el sector productivo requiere de un financiamiento proveniente de una fuente externa, ya que el presupuesto de la institución no es suficiente para sostener la educación y el desarrollo empresarial. Las instituciones educativas procuran desarrollar una estructura administrativa para apoyar a sus PTC en la generación de conocimiento y la administración de los recursos económicos obtenidos.

El proceso de aprendizaje e integración de un Cuerpo Académico con capacidad de vinculación al sector productivo es complejo y prolongado debido a que las instancias participantes Universidad-Gobierno-Empresa suelen desconocer los procesos administrativos de las contrapartes. Por otro lado, la experiencia generada se pierde con la salida de integrantes clave del proceso de vinculación, especialmente si esta no se realiza a través de un modelo de transferencia que cuente con apoyo institucional.

El objetivo del presente capítulo es compartir la experiencia del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición en su primera etapa de existencia, anterior a la salida de algunos de sus integrantes que hoy integran el Cuerpo Académico de Gestión y Transferencia del Conocimiento y comparten sus experiencias, apoyados por la autora principal de este capítulo, quien vio nacer al grupo, apoyó en su conceptualización e integración y hoy documenta su trayectoria.

Palabras clave: Cuerpo académico, vinculación, transferencia del conocimiento

La gestión y la transferencia del conocimiento

La interacción entre la investigación realizada en las instituciones de educación superior y centros de investigación pública con el sector empresarial se ha incrementado significativamente en los últimos años cubriendo un amplio espectro que va desde la investigación por contrato hasta la investigación realizada en colaboración. Estas interacciones conllevan generalmente la transferencia de conocimientos entre

los participantes, logrando con esto, que la investigación, financiada con fondos públicos, tenga un impacto efectivo en el desarrollo económico y social de una región. El desarrollo puede manifestarse de diferentes formas: ya sea mediante el incremento de la competitividad de las empresas existentes, un mayor desarrollo tecnológico, la generación de empleos con mayor remuneración o la creación de empresas con un componente mayor de investigación o tecnología.

Las instituciones de educación superior públicas, en la última década del siglo xx y principios del xxi, han dado mayor importancia a la gestión y transferencia del conocimiento, ya que se considera como un indicador del desarrollo que se constituye en el elemento básico de la llamada *tercera misión*, que abarca todas aquellas actividades relacionadas con la generación, uso, aplicación y explotación del conocimiento y de otras capacidades de las que disponen las universidades (Molas-Gallart, 2002) y que complementa las funciones sustantivas de docencia, tutoría, gestión e investigación de las instituciones educativas.

Para alcanzar la tercera misión, las universidades han dinamizado y generado mecanismos específicos de vinculación que les permita atender demandas sociales y económicas establecidas por diversos actores de su entorno, convirtiéndose así en un actor participativo y decisivo del proceso de desarrollo (Castro Martínez y Vega Jurado, 2009). Este modelo de universidad requiere el diseño de estructuras que fortalezcan de forma permanente las actividades de transferencia del conocimiento y la generación de una nueva cultura en los diversos actores de la actividad universitaria.

En la sociedad del conocimiento, la armonización de la interacción entre los diversos actores del sistema de innovación Universidad-Empresa-Gobierno permiten la atención de demandas reales de diversos sectores de la economía, la optimización de los escasos recursos financieros, la incorporación de estudiantes al ámbito laboral y la construcción de políticas públicas acordes a las necesidades (Etzkowitz y Klofsten 2005; Etzkowitz, 2002). La generación de nuevos conocimientos, innovación y competitividad para el desarrollo regional se consideran el logro más preciado (Etzkowitz y Klofsten, 2005).

De acuerdo con Feria Patiño (2009), la generación de conocimiento, como resultado de la investigación y el desarrollo tecnológico, es el fundamento del proceso de innovación, lo mismo que la difusión y el aprendizaje. Lo que obliga a la universidad, tradicionalmente alejada de la economía, a participar de forma activa en los procesos de innovación. Las universidades son importantes protagonistas en la cadena de gestión y transferencia del conocimiento: descubrir, transferir, formar.

Cristina Garmendia Mendizábal, Ministra de Ciencia e Innovación de España (CRUE: 2010), señala que: *La cooperación entre el sistema universitario y el sector productivo y, más en concreto, la transferencia efectiva de conocimiento entre*

universidades y empresas, es citada con frecuencia como una de las debilidades de nuestra I+D: un problema mil veces diagnosticado y en apariencia, todavía pendiente de solución.

La transferencia de conocimiento realizada desde las instituciones de educación superior a las empresas como señalan Siegel y Waldman (2004), resulta particularmente compleja, debido a que su origen, naturaleza, objetivos, intereses y cultura, son distintas. La limitada comprensión que tienen las empresas de las universidades y viceversa, reduce sus posibilidades de interacción y por ende de colaboración.

Desde nuestra óptica, la transferencia de conocimiento debe verse como un *proceso de intervención*, que permite por un lado, el desarrollo y la innovación a partir de la incorporación de nuevos conocimientos en un área o proceso específico y, por el otro lado, conlleva a realizar cambios en elementos organizacionales, estructurales, tecnológicos y humanos, así como el requerimiento de nuevas capacidades organizacionales. Con respecto a la política de innovación, la Comisión Europea (*EUROPEAN COMMISSION*, 2006) establece que el concepto de innovación va mucho más allá de la innovación tecnológica, abarcando otras áreas como la innovación organizativa, gestión de recursos humanos o la gestión de todas las capacidades de la empresa, coincidiendo con la nueva edición del Manual de Oslo (OCDE, 2005) que añade al concepto de innovación tecnológica los conceptos de innovación organizativa e innovación en *marketing*.

La gestión y la transferencia del conocimiento en Latinoamérica

En Iberoamérica las actividades orientadas a la transferencia del conocimiento son relativamente recientes, por lo que existen escasos espacios para el intercambio de experiencias relacionadas con la interacción universidad-empresa-gobierno, así como un reducido número de profesionistas en el área. Aunque en los discursos está cada vez más presente el concepto de transferencia de conocimientos, existen factores propios de la cultura y la organización universitaria que dificultan su desarrollo. Una de las razones importantes es que tanto los programas como el personal asignado a esta actividad son reemplazados cada vez que cambian las autoridades universitarias, interrumpiendo la continuidad y los conocimientos y experiencia adquiridos en este ámbito.

La dificultad de armonizar las relaciones entre la universidad y su entorno socioeconómico, deriva también de la ausencia de capacidades organizacionales, legales, estructurales y humanas necesarias para el diseño e implementación de estrategias que incorporen a los diversos actores del sistema de innovación en el que

se encuentran inmersas. Además, como señalan algunos investigadores del área (Thomas y colaboradores, 1997; Fernández de Lucio y colaboradores, 2000; Vega y colaboradores, 2008; citados por Castro Martínez y Vega Jurado, 2009), existe una tendencia general en los países latinoamericanos a adoptar esquemas y modelos de vinculación generados en países desarrollados donde se vive una realidad muy distinta a los países en desarrollo.

En el contexto actual, la investigación ha dejado de ser una tarea de académicos, ya que cada vez con mayor frecuencia se realiza en diferentes lugares y contextos. En el caso de Europa, región con un importante fomento de la investigación y desarrollo, la proporción de investigadores y tecnólogos que trabajan en la universidad era de 37% en el 2007, mientras que los investigadores en empresas representaban 50% y los adscritos en organismos públicos no universitarios era de 13% (RICYT 2007). En los países iberoamericanos la mayor parte de la investigación aún es realizada por investigadores universitarios.

El desarrollo de una economía basada en el conocimiento está sustentado en la capacidad de generar y usar conocimiento, así como en la calidad de sus recursos humanos. En este proceso se requiere una alta capacidad empresarial, en un marco institucional que haga frente a diversas situaciones, como los cambios del mercado de trabajo y del entorno afectado por la rapidez del desarrollo científico y tecnológico, la distancia entre el conocimiento generado y su aplicación en distintos ámbitos de la actividad humana.

Tipos de universidades de investigación

De acuerdo con Steven Brint (2005), la importancia del conocimiento para la creación de valor en las sociedades modernas, ha favorecido el surgimiento de dos tipos de universidades de investigación. Las “universidades tradicionales de investigación” que tienen como propósito fundamental la creación de conocimiento y “nuevas universidades de investigación” que han diseñado como eje central de sus actividades, el contribuir a generar innovaciones (tecnológicas y no tecnológicas), así como a la creación de conocimiento, la apropiación del social del mismo y el desarrollo socioeconómico de su comunidad (Schwartzman, 2008). Las universidades tienen un compromiso con su entorno y con su región, por lo que, en su evaluación deberá integrar, además de los indicadores cuantitativos, los indicadores de su impacto en su entorno como la propuesta de Abello (2007).

Estos dos modelos no son excluyentes, ni predominan en forma exclusiva en una universidad o en otra. Han sido alternativas que pueden coexistir en una misma

universidad y su orientación puede variar dentro de la misma facultad, de un grupo a otro, de una facultad a otra, o puede existir variación entre diversos campos de la ciencia. Las orientaciones se basan desde decisiones estratégicas de los investigadores, hasta imposiciones arbitrarias de funcionarios académicos. Su clasificación se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características de las universidades tradicionales de investigación y de las nuevas universidades de investigación

<i>Variable</i>	<i>Universidades tradicionales de investigación</i>	<i>Nuevas universidades de investigación</i>
Agentes	Individuos y grupos pequeños	Grupos interdisciplinarios grandes
Medios	Subsidios para investigación y becas dominan estructura de financiación	Movilización de mayores recursos financieros y apoyo por parte de usuarios del conocimiento
Orientación de los agentes	Disciplinario y subdisciplinario	Interdisciplinario /transdisciplinario
Dinámica dominante	Acumulación de conocimiento en áreas formales de la ciencia	Contribución a procesos de innovación constante en la economía y en la sociedad
Criterios de éxito	Posicionamiento en rankings nacionales e internacionales	Contribución a procesos de innovación en la economía y en la sociedad
Contexto normativo relevante	Plazas fijas y promoción en el escalafón; privilegios obtenidos por los profesores	Leyes que regulan propiedad intelectual y transferencia de tecnología; mecanismos que facilitan interacción con usuarios conocimiento
Ideología dominante	Creación del conocimiento	Creación del futuro

Fuente: Brint (2005).

En ambos modelos de universidades, su capacidad de formar recursos humanos altamente calificados dependerá, en gran medida, de su capacidad de crear conocimiento de alta calidad, lo que las compromete a difundir de los resultados de sus investigaciones, a través de publicaciones científicas indexadas y en revistas con alto impacto considerando que las publicaciones científicas en revistas indexadas son un indicador utilizado para medir este aspecto.

El concepto de conocimiento que se busca generar es el planteado por Nonaka y Takeuchi (1995), el cual hace referencia al proceso de “darle sentido a las cosas, desa-

rollando creatividad y una capacidad para actuar”. Este concepto se vincula tanto con la ciencia, la tecnología y los procesos productivos como con la cultura, la identidad, la ciudadanía. Así mismo, requiere del compromiso e involucramiento de autoridades regionales y locales, próximas a los organismos de investigación y empresas.

La interacción entre las universidades y los sectores socioeconómicos depende tanto de sus características como de las del entorno en el que se encuentran. Por lo que los elementos de interacción deberán diseñarse considerando estas características. Por ejemplo, una universidad con nivel medio de investigación, en un entorno con bajo nivel de desarrollo científico y tecnológico, deberá definir instrumentos que permitan fortalecer y dinamizar ambos actores, establecer un programa colaborativo universidad–empresa–gobierno. Pensar en establecer una empresa Spin-off de base tecnológica, sería prácticamente llevarla al fracaso.

Estrategia nacional para el fomento a la investigación científica, tecnología e innovación

En la década de los noventa y derivado del análisis sobre la situación que prevalecía dentro del Sistema Nacional de Educación Superior, realizado por la Secretaría de Educación Pública (SEP), la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt), se encontró que un alto porcentaje de profesores de carrera de las universidades públicas estatales no contaba con el nivel académico adecuado (doctorado), ni articulado en las tareas de investigación (cuerpos académicos).

Este análisis dio como resultado que a finales de 1996 surgiera el Programa del Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), que fue diseñado para mejorar el nivel de habilitación del personal académico de tiempo completo. Los profesores de tiempo completo que cumplen con las cuatro actividades sustantivas obtienen como reconocimiento el nombramiento de perfil deseable PROMEP, que puede ser grado preferente (si tiene grado de doctor) o grado mínimo (si tiene nivel de maestría). Este programa también define que la generación y aplicación del conocimiento debe realizarse a través de los Cuerpos Académicos (CA).

En 1996, PROMEP abrió la convocatoria a 39 universidades públicas estatales y en el cuadro 2 se muestra su evolución. Actualmente, PROMEP atiende a 588 IES de 8 subsistemas (PROMEP, 2011). En Tamaulipas atiende a 21 IES de los cinco subsistemas existentes en el Estado.

Cuadro 2. Evolución de la incorporación de instituciones de educación superior a PROMEP

<i>Año</i>	<i>Subsistema</i>
1996	Universidades Públicas Estatales
2002	Universidades Públicas afines
	Universidades Politécnicas
	Universidades Tecnológicas
2008	Institutos Tecnológicos Federales
2009	Escuelas Normales
	Institutos Tecnológicos Descentralizados
2010	Universidades Interculturales

Fuente: Programa de Mejoramiento del Profesorado-PROMEP-Informe Ejecutivo; consultado el 3 de agosto 2011.

Para dar cumplimiento a los objetivos generales y específicos definidos, PROMEP se ha planteado:

Contribuir a elevar la calidad de la educación mediante el desarrollo de profesionistas competentes a través de un profesorado de tiempo completo que eleva permanentemente su nivel de habilitación con base en los perfiles adecuados para cada subsistema de educación superior.

Que los Profesores de Tiempo Completo (PTC) de instituciones públicas de educación superior con capacidades para realizar investigación-docencia se profesionalicen, se articulen y consoliden en cuerpos académicos propiciando la integración de redes temáticas de colaboración.

El fortalecimiento de los CA es un objetivo primordial para el PROMEP, el cual considera que la investigación colegiada fomenta la capacidad institucional para generar o aplicar el conocimiento de manera innovadora al identificar, integrar y coordinar los recursos intelectuales institucionales en beneficio tanto para los estudiantes como para los programas educativos, articulando esta actividad con las necesidades del desarrollo social, la ciencia y la tecnología del país.

Los CA se categorizan por grados de Consolidación en Cuerpo Académico consolidado (CAC), cuerpo académico en consolidación (CAEC) y cuerpo académico en formación (CAEF) determinados por los productos de las líneas generales de aplica-

ción del conocimiento, líneas de innovadoras de investigación aplicada y desarrollo tecnológico ó líneas de investigación en lenguas, cultura y desarrollo

LGAC/LIADT/LILCD que desarrollan de manera conjunta los integrantes. PROMEP ha definido variantes de cada uno de los grados de desarrollo dependiendo del subsistema que se trate, pero mantiene un núcleo básico. La evidencia más sólida del trabajo colegiado y complementario, el cual es necesario para determinar el grado de consolidación de un CA, son los productos académicos que éste genera. La pertenencia al Sistema Nacional de Investigadores (SNI) se toma como referencia en la evaluación del grado de consolidación de los CA dado que con ello se reconoce que un profesor es también un investigador activo.

Con el objetivo de incrementar el nivel de formación del personal académico de tiempo completo adscrito a las Instituciones de Educación Superior (IES), la SEP, en el marco del PROMEP, estableció convocatorias de carácter individual, para fortalecer el trabajo de docencia, así como apoyos orientados a grupos o equipos que generen o apliquen innovadoramente el conocimiento, como un medio indispensable para su actualización permanente y para la mejor formación de los profesionales.

Los resultados obtenidos se cuestionan y son debatidos. Ibarra Colado (2009) señala: “No podemos ser muy optimistas, pues la planeación ha mostrado ampliamente su incapacidad para traducirse en acciones y hechos; ello ha dado lugar a un conjunto de esfuerzos fallidos basados en modelos importados de escasa aplicabilidad y alto costo”, orillando a las universidades que deseen obtener más recursos federales a la evaluación de sus PTC para obtener perfil PROMEP e integrar y registrar CA, ésta última labor nada fácil, como explícitamente reconoce PROMEP.

Evaluación de ciencia, tecnología e innovación

La evaluación de las actividades relacionadas con la ciencia, tecnología e innovación retoma modelos internacionales, fundamentalmente, los propuestos por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) en el Manual de Frascati, el Manual de Canberra, el Manual de Oslo y el Manual de Estadística de Patentes, que señalan los lineamientos para la medición de las actividades de investigación y desarrollo, recursos humanos en ciencia y tecnología, innovación y patentes respectivamente, en países miembros.

Para el caso de Iberoamérica, la Red Iberoamericana de Ciencia y Tecnología (RICYT) realiza desde 1994, un trabajo sistemático de construcción de indicadores de ciencia y tecnología. Para medir la innovación, México, Colombia, Chile y Argentina realizaron entre 1995 y 1997 las primeras encuestas, con una interpretación

propia de las recomendaciones del Manual de Oslo, lo que no posibilitó su comparabilidad (Anlló y colaboradores, 2011). Lo anterior definió la necesidad de formular un mecanismo que fuera utilizado por países de la región, dando lugar con ello al Manual de Bogotá y la posibilidad de generar indicadores que fueran comparables en el ámbito internacional.

La aceptación de las diferencias en las regiones y países es tal que el Manual de Oslo en su edición 2005 ha incorporado un anexo basado en el Manual de Bogotá para la medición de la innovación en países que no son miembros de la OCDE (Anlló y colaboradores, 2011).

En el caso de México, la construcción de los indicadores es responsabilidad del Conacyt que atiende a ambas metodologías internacionales para recopilar, analizar y presentar información a nivel nacional.

El Foro Consultivo Científico y Tecnológico retoma la información generada por el conacyt, Anuies, cámaras empresariales, comisiones de CyT en los Congresos Estatales, Consejo Nacional de Población (*CONAPO*), *CONEVAL*, Consejos Estatales de CyT, IMPI, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) RENIECYT, Secretaría de Energía (SE), SEP y los Acuerdos de Presupuesto de Egresos de las Entidades Federativas; la complementa y realiza desde 2004, importantes estudios sobre ciencia, tecnología e innovación en México como:

- Futuros del Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología, Prospectiva México Visión 2030.
- Catálogo de Programas para el Fomento Empresarial y la Vinculación en México 2010 y 2011.
- El debate de la Ciencia en México, múltiples visiones un mismo compromiso.
- Diagnósticos en Ciencia, Tecnología e Innovación.
- Evaluación de impacto del programa de formación de científicos y tecnólogos 1997-2006, Febrero 2011.
- Ranking Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación, El Impacto de los Fondos Mixtos en el desarrollo regional 2011.
- Proyectos estratégicos de Fondos Mixtos.
- Ranking de Producción Científica Mexicana, 2012.
- Informe sobre las ciencias sociales en el mundo.

Los análisis mencionados presentan información a nivel macro, con datos agregados que no permiten apreciar el detalle de un entorno específico, ni el análisis de la fortaleza o problemática real, por lo que se extrapola el criterio de Deaton (2009),

coincidiendo en que la asignación de Producto Interno Bruto (PIB), a las actividades científicas y tecnológicas o el número de personas formadas para estas áreas son datos importantes, pero es a nivel micro donde se puede analizar puntualmente la forma en que las políticas públicas o la inversión han influido en los individuos o grupos de investigación. Este enfoque será la base para el análisis del modelo para la transferencia científica y tecnológica entre universidad-gobierno-empresa: caso del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

Tamaulipas

El Diagnóstico del Sistema Regional de Innovación 2004 – 2010 realizado por el Foro Consultivo Científico y Tecnológico (FCCYT) con la finalidad de evaluar el desempeño de las políticas (FCCYT: 2010) sirvió de base para elaborar una primer aproximación del estado del arte de las interacciones entre actores del sistema de innovación en Tamaulipas y los instrumentos operativos de interacción en investigación y desarrollo mostrados en los cuadros 3 y 4.

Cuadro 3. Estado del arte de las interacciones entre actores del sistema de innovación en Tamaulipas

<i>Actividad</i>	<i>Universidad</i>	<i>Empresa</i>	<i>Características del Sistema de Innovación Estatal</i>
Formalización de la oferta de la universidad.	Pasiva	Necesitadas de soluciones de problemas concretos.	Ausente
Impulsar la transferencia de resultados de investigación y favorecer la obtención de resultados aplicables.	Pasiva	Desconfianza y lejanía de las Instituciones de Educación Superior.	Ausente

Mejorar el conocimiento y la mayor comunicación entre los diferentes agentes del Sistema de Innovación.	Pasiva	La investigación y desarrollo sólo está presente en las grandes empresas no entre las pequeñas y medianas que es la mayoría de las que prevalecen en el Tamaulipas.	Ausente
---	--------	---	---------

Fuente: adaptado de las estructuras de interacción de la universidad en el entorno socioeconómico. Fernández Lucio y colaboradores (2000).

Cuadro 4. Instrumentos operativos de interacción en investigación y desarrollo: requisitos a cumplir por la Universidad

	<i>Política científica de la Universidad</i>	<i>Estructura de gestión</i>	<i>Grupos de investigación.</i>
Formalización de la oferta de la universidad.	Ausente	Ausente	Sin formación para la gestión y orientación hacia la transferencia.
Impulsar la transferencia de resultados de investigación y favorecer la obtención de resultados aplicables.	Ausente	Ausente	Existencia de pocos grupos consolidados de investigadores, orientados hacia la publicación.

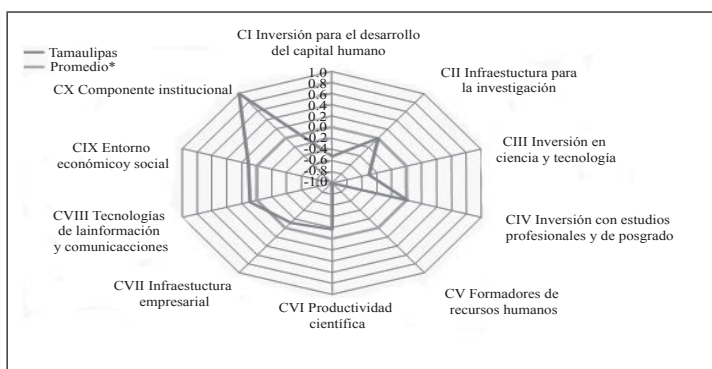
Fuente: adaptado de las estructuras de interacción de la universidad en el entorno socioeconómico. Fernández Lucio y colaboradores (2000).

Ranking nacional de ciencia, tecnología e innovación

Con el objetivo de medir y comparar la cantidad y calidad de recursos en CTI de que los estados disponen, el FCCYT elabora desde 2009 el *ranking* nacional de ciencia, tecnología e innovación. El *ranking* mide la actividad científica y tecnológica en las entidades del país en diez dimensiones: *i)* Inversión para el desarrollo del capital humano. *ii)* Infraestructura para la investigación. *iii)* Inversión en Ciencia y Tecnología. *iv)* Población con estudios profesionales y de posgrado. *v)* Formadores de recursos humanos. *vi)* Productividad científica. *vii)* Infraestructura empresarial; *viii)* Tecnologías de la información y comunicaciones; *ix)* Entorno económico y social. *x)* Componente institucional. En la construcción del *ranking* se utilizaron 43 variables procedentes de 14 fuentes de información estadística tales

como ANUIES, cámaras empresariales, comisiones de Ciencia y Tecnología en los Congresos Estatales, conacyt, CONAPO, CONEVAL, Consejos Estatales de Ciencia y Tecnología, IMPI, INEGI, PNUD, RENIECYT, SE, SEP y los Acuerdos de Presupuesto de Egresos de las Entidades Federativas. El FCCYT, señala que los datos de las variables son en su mayoría del 2010. Por el problema de disponibilidad algunos datos son del 2003, 2008 y 2009. Tamaulipas en este *ranking* ocupa el lugar 16 (FCCYT, 2011a). El comportamiento de las diez variables analizadas para Tamaulipas se muestran en la figura 1.

Figura 1. Comportamiento de las variables analizadas en el *ranking*: Tamaulipas



Fuente: Foro Consultivo Científico y Tecnológico (2011). La línea promedio del radar tiene el valor de cero. De esta manera se identifica si la identidad se encuentra por encima, por debajo o en el promedio nacional de cada componente.

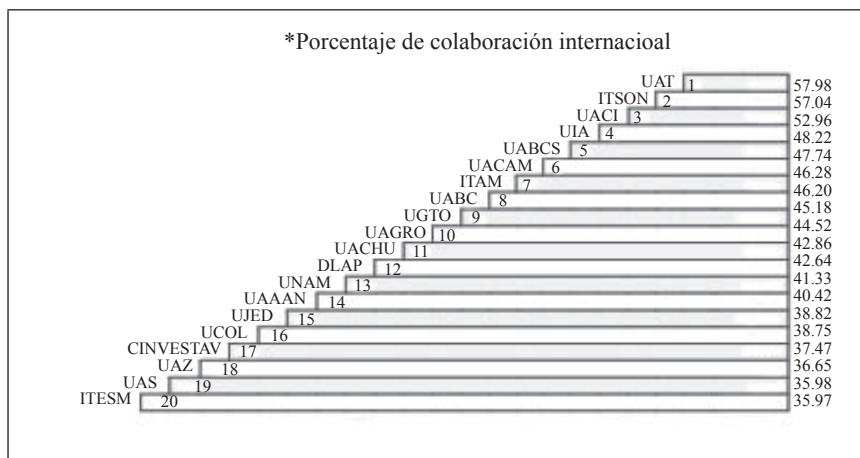
El estado muestra un alto desarrollo en el componente institucional y el componente de Tecnologías de la información y comunicaciones se encuentra ligeramente por encima del promedio nacional. Los componentes de formadores de recursos humanos, inversión para el desarrollo del capital humano e inversión en ciencia y tecnología se encuentran muy por debajo de la media. Es interesante observar que la infraestructura para la investigación y la población con estudios profesionales y de posgrado se encuentran en la media nacional, pero la productividad científica se encuentra por debajo.

El FCCYT celebró un convenio de colaboración con el Conacyt y con el grupo SCIMAGO, formado por investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España, reconocido como uno de los más sólidos grupos de cientímetristas

para la evaluación de la producción científica en México período 2003–2009. La base de datos utilizada fue SCOPUS de Elsevier que provee acceso a 17 mil revistas arbitradas, equivalentes a poco más de dos tercios del total y que incluye 27 áreas y 303 categorías temáticas. Se analiza cada entidad federativa desde tres ópticas: las Instituciones de educación superior, el sector salud y el sector empresarial. Los indicadores considerados en el estudio fueron: 1. Producción total (suma de documentos publicados en cada institución). 2. Número de citas que recibieron las publicaciones de cada una de las instituciones. 3. Citas por publicación. 4. Porcentaje de documentos que recibieron citas. 5. Porcentaje de publicaciones en colaboración internacional. 6. Porcentaje de publicaciones que aparecieron en revistas de alto impacto. Para cada indicador se muestran los nombres de las 20 primeras instituciones.

De las seis variables analizadas, Tamaulipas únicamente aparece en el porcentaje de publicaciones en colaboración internacional durante el periodo 2003-2009, en la que la Universidad Autónoma de Tamaulipas ocupa el primer lugar (FCCYT, 2011b), como se muestra en la Gráfica 2.

Figura 2. Producción científica en México para el período 2003-2009



Fuente: Foro Consultivo Científico y Tecnológico (2011). *Se refiere a la cantidad de artículos publicados en revistas indizadas con mayor colaboración internacional durante el periodo 2003-2009, FCCYT (2011b). Con base en estadísticas de SCIMAGO Research group.

Universidad Autónoma de Tamaulipas

En 2002, la Universidad Autónoma de Tamaulipas, atendiendo la normatividad emitida por PROMEP, promovió la integración y registro de los Cuerpos Académicos y Grupos disciplinares en las Dependencias de Educación Superior (DES). En el caso de la Unidad Académica Reynosa Aztlán, se integró en el 2002 formalmente el Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición, algunos de sus integrantes trabajaban en forma colegiada desde hacía cuatro años, con la filosofía de centrar sus esfuerzos tanto en la gestión como en la transferencia del conocimiento y cumplir los indicadores individuales, grupales institucionales y del entorno. En la primer evaluación realizada por PROMEP, el Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición fue dictaminado en el nivel “En consolidación”. En el cuadro 5 se muestra la evolución de los integrantes.

Cuadro 5. Evolución de los integrantes del CA de Alimentos y Nutrición

2002					2011			
<i>Cuerpo Académico en consolidación</i>					<i>Desde 2005 Cuerpo Académico consolidado</i>			
Nombre	Escolaridad	SNI	Perfil PROMEP	Tipo de Contratación	Escolaridad	SNI	Perfil PROMEP	Tipo de Contratación
José Alberto Ramírez de León	Doctorado	Nivel 1	Perfil deseable	PTC Categoría D	Doctorado	Nivel 2	Perfil deseable	PTC Categoría D
Manuel Vázquez Vázquez	Doctorado	Nivel 1	Perfil deseable	PTC Categoría D	Doctorado	Nivel 2	Perfil deseable	PTC Categoría D
Juan José González Cabriales	Maestría			PTC Categoría G	Maestría		Perfil grado mínimo	PTC Categoría G
Martha Alicia Oliva Álvarez	Maestría			PTC Categoría G	Maestría		Perfil grado mínimo	PTC Categoría G
Abelardo Herrera Guajardo	Maestría			PTC Categoría G	Maestría		Perfil grado mínimo	PTC Categoría G
Rocío Margarita Urestí Marín	Maestría			Profesor de Horario Libre	Doctorado	Nivel 1	Perfil deseable	PTC Categoría D
Simón Josías Tellez Luis	Maestría			Estudiante	Doctorado	Nivel 1	Perfil deseable	PTC Categoría D
Gonzalo Velazquez de la Cruz	Doctorado			Colaborador externo	Doctorado	Nivel 1	Perfil deseable	PTC Categoría D

Fuente: elaboración propia. Información del Conacyt y PROMEP UAT. Consultado el 27 de Septiembre 2011. PTC = Profesor de Tiempo Completo.

Desarrollo del modelo

A partir de 2005, ya dictaminado por PROMEP como Consolidado, orienta fuertemente su trabajo a la transferencia de conocimiento, atendiendo demandas específicas del diversos sectores económicos, donde ha podido desarrollar un capital intelectual, que se sustenta en:

- Visión, liderazgo estratégico y cultura de cooperación.
- Alineación coherente de estrategias científicas, económicas y políticas.
- Análisis de políticas públicas nacionales e internacionales.
- Análisis y contacto permanente en el entorno.
- Investigadores competentes internacionalmente (Doctores, miembros del Sistema Nacional de Investigadores).
- Redes de colaboración con España, Estados Unidos, Canadá y Chile para la formación de recursos humanos, ejecución de proyectos y publicaciones.
- Alta productividad con más de 59 artículos en revistas indexadas en el ISIWeb.
- Proyectos financiados por agencias nacionales (SAGARPA, Conacyt) e internacionales (Organización Panamericana de la Salud).
- Soporte de un posgrado con certificación de excelencia en el Padron Nacional de Posgrados de Calidad (Conacyt).
- Incremento de indicadores individuales, grupales e institucionales.
- Acervo de conocimientos generados y acumulados, base de la transferencia.

El líder del Cuerpo Académico considera que es la integración adecuada de elementos científicos, comerciales y políticos los que sustentan el posicionamiento estratégico del modelo desarrollado: la *Universidad* con su capacidad científica y técnica, el *sector productivo* con su visión empresarial y capacidad tecnológica y el *gobierno* estatal y federal con su capacidad de financiamiento y su política de apoyo al desarrollo empresarial, así como la formación de recursos humanos especializados.

Los objetivos planteados para sustentar el modelo

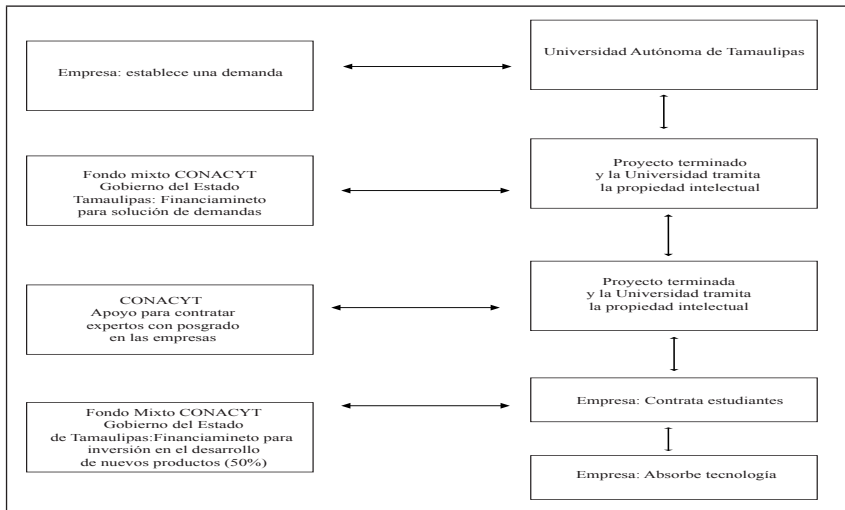
- Desarrollar nuevos productos y procesos que otorguen a la industria de la región una ventaja competitiva e impacten en el desarrollo de la población.
- Formar recursos humanos con capacidades y conocimientos científicos y técnicos considerando los requerimientos de la industria.
- Transitar de la producción de artículos científicos a la contribución al desarrollo económico, alimentario y de salud una población específica.

- Ofertar los conocimientos generados y acumulados a los sectores interesados en el entorno.
- Fortalecer los indicadores institucionales académicos, científicos, tecnológicos a la par de los indicadores de desarrollo social en la región.
- Establecer asociaciones estratégicas con grupos de alto nivel nacionales e internacionales.

Primera etapa del modelo

El modelo inicia con la empresa Integradora Pesquera y Acuícola A. C. (IPESCA), formada por 15 cooperativas que agrupan a mil 500 pescadores, ubicada en la Laguna Madre, municipio de San Fernando, Tamaulipas, México, donde la principal captura es la liza (*Mugil cephalus*), capturándose 52% del volumen nacional de la especie. La liza tiene el más bajo valor comercial del mercado. Su principal valor comercial es la hueva comercializada en mercados internacionales como materia prima fresca-congelada, en los meses de Diciembre-Febrero. Su operación es presentada en la figura 3.

Figura 3. Esquema de la operación del modelo



Fuente: Elaboración propia con información resultado de las entrevistas a miembros de CA. 2011

La operación se inicia con la elaboración de proyectos de investigación y desarrollo que atiendan demandas específicas de un sector. En el ejemplo presentado del sector pes-

quero ubicado en la Laguna Madre de Tamaulipas. El diseño del proyecto requiere de la participación de diversos actores del entorno como se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Proyecto de investigación y desarrollo

<i>Involucrados</i>	<i>Financiamiento</i>	<i>Intereses</i>	<i>Consideraciones para el éxito del programa</i>
Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cuerpo Académico alimentos y nutrición (Consolidado) Laboratorio de ciencia y tecnología de los alimentos.		Atender una demanda específica realizada por el sector pesquero de la Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas, por medio de un proyecto de investigación y desarrollo afín con las líneas de trabajo. Financiar tesis de maestría a estudiantes del posgrado, que permitan la finalización en el tiempo señalado. Incrementar los indicadores de calidad del programa de posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, registrado en el Padrón de Posgrados de Calidad del Conacyt con nivel de Consolidado, del grupo (Cuerpo Académico) y de los integrantes. Publicación de artículos científicos en revistas de alto impacto y presentación en congresos.	El planteamiento e involucramiento de los investigadores, usuarios de los resultados de la investigación, becarios, derivado de la visión del líder y experiencia del Cuerpo Académico y trabajo desarrollado durante los últimos 15 años.
Consejo Tamaulipeco de Ciencia y Tecnología	Fondo Mixto Conacyt-Gobierno de Tamaulipas.Financiamiento para solución de demandas.	Asignación del recurso financiero conforme a la normatividad existente. Recepción de informes técnicos y financieros conforme lo planteado.	Conocimiento de la normatividad por parte del investigador responsable y del equipo de colaboradores.
Ingeniería piscícola SA de CV.	Materia prima, pescado instalaciones y empleados.	Buscar a través de procesos de industrialización aumentar la vida de anaquel del producto para introducirla al mercado internacional.	El conocimiento de la empresa en procesos similares realizados en otros países potenció los resultados.
Estudiantes de la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.	Fondo Mixto Conacyt-Gobierno de Tamaulipas.Financiamiento para solución de demandas.	Financiamiento y asesoría para realizar tesis de maestría y titularse. Publicar al menos un artículo científico en revista de alto impacto y una presentación en congreso. Transitar hacia el doctorado o hacia un trabajo de alta remuneración.	Compromiso del becario y de los investigadores en el cumplimiento de los tiempos asignados para realizar las actividades inherentes al proyecto.
Cooperativistas de la Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas.			

Fuente: Elaboración propia con información resultado de las entrevistas a miembros del CA en 2011. Elaboración de huevo de lisa ahumada y seco salada, 2009. Desarrollo de un proceso para el secado industrial de la huevo de lisa, ya que el secado artesanal no es viable por la gran cantidad de polvo que existe en la región induciendo altos índices de contaminación microbiana.

Durante el proceso del desarrollo del proyecto de investigación y desarrollo, se inicia también el diseño general y se evalúan las estrategias para la transferencia del conocimiento, identificando dentro de la empresa, comunidad y entorno a los actores que por sus características de liderazgo, nivel educativo o compromiso pueden ser los gestores hacia el resto de su grupo. El diseño básico para la transferencia del conocimiento se presenta en los cuadros 7 y 8.

Cuadro 7. Proyecto: proceso de transferencia de tecnología a partir de los resultados de investigación obtenidos en el Proyecto de investigación y desarrollo “Elaboración de huevo de lisa ahumada y seco salada”

<i>Involucrados</i>	<i>Financiamiento</i>	<i>Intereses</i>	<i>Consideraciones para el éxito del programa</i>
Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cuerpo Académico Alimentos y Nutrición (consolidado).		<p>Transferir el conocimiento obtenido en el proyecto de investigación y desarrollo “Elaboración de huevo de lisa ahumada y seco salada por el sector pesquero de la Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas”.</p> <p>Establecer los protocolos para la transferencia en la universidad.</p> <p>Incrementar los indicadores de calidad del Cuerpo Académico y de sus integrantes Publicación de artículos científicos en revistas de alto impacto y presentación en congresos.</p> <p>Fortalecer una línea de investigación del Doctorado en Gestión y Transferencia del Conocimiento.</p>	<p>El involucramiento de los usuarios, desde que se inició el proyecto de investigación y desarrollo, la incorporación de una ex becaria, como gerente del Sistema Producto. Conocimiento del trabajo técnico por integrantes del Cuerpo Académico Alimentos y Nutrición (Consolidado).</p>
Ingeniería piscícola S.A. de C.V.	Financiamiento del proceso de la transferencia.	Realizar las modificaciones estructurales y tecnológicas para establecer el proceso de ahumado y seco salada de la huevo de la lisa.	La empresa exporta el producto a Italia
COTACYT	Financiamiento para inversión en el desarrollo de nuevos productos (50%)	Desarrollo de nuevos productos que proporcionen valor agregado al sector pesquero.	Conocimiento de la normatividad por parte del investigador responsable y del equipo de colaboradores

Gobierno del Estado de Tamaulipas	Obtención de un crédito con intereses.	Construir la segunda etapa de la planta donde se procesará hueva seco-salada de lisa, embutidos de camarón y otros productos	Promover la mejora en la competitividad del sector y de la región.
IDEAS Conacyt	Sueldo del primer año de los egresados de posgrado de Conacyt contratados por empresas que realizan actividades científicas para el desarrollo de nuevos productos y procesos.	Que personal altamente calificado se incorpore en las empresas, básicamente pequeñas y realicen actividades científicas para el desarrollo de nuevos productos y procesos.	Promover que los becarios de maestría asociados a los proyectos de investigación y desarrollo sean los contratados por el sector.
Cooperativistas de la Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas.		Beneficiados a través de la Integradora pesquera y la compra del producto que pescan.	

Fuente: elaboración propia.

Cuadro 8. Proyecto: Proceso de transferencia de tecnología a partir de los resultado de investigación obtenidos en el Proyecto de investigación y desarrollo “Elaboración de jamón de pescado y camarón”

Involucrados	Financiamiento	Intereses	Consideraciones para el éxito del programa
Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cuerpo Académico Gestión y Transferencia del Conocimiento (Consolidado).		Transferir el conocimiento obtenido de los proyectos de investigación y desarrollo “Obtención de jamón de mantarraya” y “Obtención de salchicha y jamón de camarón” a los cooperativistas del Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas, para que oferten productos con mayor valor agregado. Establecer dos plantas piloto para la elaboración de los productos, que serán operadas por mujeres. Fortalecer una línea de investigación del Doctorado en Gestión y Transferencia del Conocimiento.	Conocimiento del trabajo técnico por integrantes del Cuerpo Académico Gestión y Transferencia del Conocimiento (Consolidado). Formación del personal para la asimilación del conocimiento.
IPESCA S. A. y ANAMAR	Financiamiento del proceso de transferencia	Probar el modelo de transferencia. Potenciar el desarrollo de los cooperativistas, de sus familias y la zona. Buscar nuevos mercados	Escalamiento de modelo autofinanciamiento en el corto plazo (6 meses)

MODELO PARA LA TRANSFERENCIA CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

Cooperativistas de la Laguna Madre de San Fernando Tamaulipas		Realizar las modificaciones a las instalaciones, tecnológicas para establecer el proceso para la elaboración de jamón de pescado y camarón	Los hombres realizarán la pesca y serán las mujeres quienes trabajen en la elaboración de los nuevos productos.
COTACYT	Fondo Mixto: Financiamiento para inversión en el desarrollo de nuevos productos (50%)	Buscar nuevos productos así como nuevos mercados, que impacten en el desarrollo del estado. Asignación del recurso financiero conforme a la normatividad existente.	Conocimiento de la normatividad por parte del investigador responsable y del equipo de colaboradores.
Conacyt	Apoyo para contratar expertos con posgrado en las empresas	Que personal altamente calificado se incorpore en las empresas, básicamente a pequeñas y medianas. Asignación del recurso financiero conforme a la normatividad existente.	Promover que los becarios de maestría asociados a los proyectos de investigación y desarrollo sean los contratados en empresas del sector.
Gobierno del Estado de Tamaulipas	Financiamiento para desarrollar la planta procesadora de jamón.	Incrementar el nivel de competitividad del sector. Mejorar el nivel de vida de los cooperativistas de la Laguna Madre.	
Habitantes de la zona de la Laguna Madre		Posibilidad de mejorar su nivel de vida. Potenciar el cuidado del entorno.	

Fuente: elaboración propia. Información resultado de las entrevistas a miembros del CA (2011).

En el cuadro 9 se presenta el listado de proyectos en los que se ha replicado el modelo de trabajo.

Cuadro 9. Proyectos en donde se ha replicado el modelo

<i>Producto/proceso</i>	<i>Empresa/sector productivo</i>	<i>Financiamiento</i>
Desarrollo de un proceso de elaboración de jamón de pescado con alto contenido proteico, rico en ácidos grasos omegas 3 y 6, bajo en colesterol, con la misma textura y color del jamón de cerdo y pavo; un sabor agradable con alta aceptación en las pruebas de evaluación sensorial.	Integradora Pesquera y Acuícola S. A. (IPESCA S.A.)	Fondo Mixto Conacyt Gobierno de Tamaulipas. IPESCA S.A.
Obtención de gelatina de piel de pescado a partir de especies abundantes en la región sur de Tamaulipas	Ingeniería piscícola SA de CV	FOMIX Tamaulipas Ingeniería piscícola

AVANCES DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

Obtención de salchicha y jamón de camarón	IPESCA S.A. y ANAMAR	FOMIX Tamaulipas IPESCA S. A. y ANAMAR
Obtención de jamón de mantarraya	IPESCA S.A.	FOMIX Tamaulipas. IPESCA S.A.
Producción de enzima transglutaminasa microbiana a partir de cereales	Productores de sorgo y maíz del norte de Tamaulipas	Coordinadora de Fundaciones PRODUCE del Noreste de México.
Aplicación de altas presiones hidrostáticas como método para la eliminación de huevecillos y larvas de la mosca de la fruta en mango. Se cuenta con apoyo de USDA/ARS	Asociación de productores de mango de Tamaulipas Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGARPA)	FOMIX Tamaulipas
Aplicación de atmósferas modificadas como método para la eliminación de huevecillos y larvas de la mosca de la fruta en naranja. Se cuenta con apoyo de USDA/ARS	Sr. Carlos Montemayor, citricultor del Estado de Nuevo León	Empresario, Interés del Gobierno del Estado de Nuevo León.
Desarrollo de un sistema de aprovechamiento sustentable de la jaiba azul (<i>Callinectes sapidus</i>) en las lagunas costeras de Tamaulipas	Comité Sistema Producto Jaiba de Tamaulipas	Proyecto de Fundación Produce.
Desarrollo y transferencia de procesos para la industrialización de la jaiba azul capturada en la Laguna Madre de Tamaulipas.	Comité Sistema Producto Jaiba de Tamaulipas	Proyecto 105637 FOMIX-Tamaulipas Duración de 2 años a partir de julio de 2009 Monto \$827,000.00
Diseño de un prototipo de trampa jaibera ecológica	Comité Sistema Producto Jaiba de Tamaulipas	FOMIX Tamaulipas
Aplicaciones de altas presiones hidrostáticas para la obtención de alimentos inocuos y aceptables para el consumidor.	Productores de mango del Sur de Tamaulipas	Red de Aprovechamiento de Recursos Agropecuarios. PROMEP
Aprovechamiento de la fauna de acompañamiento del camarón.	Armadores del Sur de Tamaulipas	FOMIX Tamaulipas
Análisis del perfil de ácidos grasos en placas de ateromas de pacientes diabéticos de Reynosa, Tamaulipas.	Médicos internista de los Hospitales de Pemex y Christus Muguerza en Reynosa	Programa Institucional de Fortalecimiento Integral
Producción biotecnológica de aditivos alimentarios (sorgo, maíz; bagazo de caña y melaza; paja de sorgo y maíz).	Unión Agrícola del Norte de Tamaulipas	Coordinadora de Fundaciones PRODUCE del Noreste de México.
Detección de compuestos orgánicos persistentes en sistemas acuáticos del estado.	Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT	Fondo Sectorial Conacyt -SEMARNAT
Caracterización del almidón de sorgo y maíz	Unión Agrícola del Norte de Tamaulipas	Red de Aprovechamiento de Recursos Agropecuarios. PROMEP

MODELO PARA LA TRANSFERENCIA CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

Extracción de capsaicina y capsaicinoides de chile habanero	Productores de Chile del Sur de Tamaulipas	Red de Aprovechamiento de Recursos Agropecuarios. PROMEP
Mejoramiento de la dieta de <i>Anastrepha ludens</i> (APHI/USDA).	APHI/USDA	APHI/USDA
Desarrollo de ceviche por altas presiones hidrostáticas.	Armadores del Sur de Tamaulipas	Red de Alimentos, Nutrición y Salud. PROMEP
Empleo de altas presiones como método cuarentenario para la mosca de la fruta y organismos similares que infestan diferentes frutos.	Productores de Mango del Sur de Tamaulipas	Red de Aprovechamiento de Recursos Agropecuarios. PROMEP

Fuente: elaboración propia con información resultado de las entrevistas a miembros de CA. 2011.

La consolidación del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición se ha sustentado en la interacción mediante asociaciones estratégicas con otros grupos como:

Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos AC.

Edita la revista científica *CyTA Journal of Food* y cuenta con más de 80 socios.

Red aprovechamiento de recursos agropecuarios (PROMEP).

Se trabajó en colaboración para el desarrollo del proyecto empleo de métodos tradicionales y emergentes para incrementar el aprovechamiento poscosecha de frutas en México.

Cuerpos Académicos Participantes

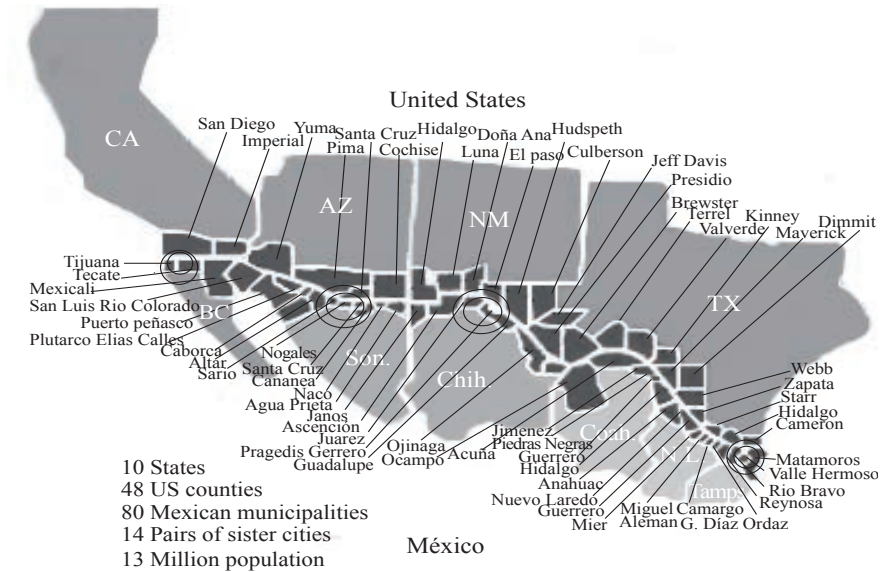
- Seguridad Alimentaria y Nutricional (UNICACH-CA-2)
- Alimentos y Nutrición (UAT-CA-26)
- Tecnología de Alimentos (UTIM-CA-2)
- Ciencia y Tecnología de Frutas y Hortalizas (ITTEP- CA-1)
- Modernización e Innovación de Procesos Alimentarios (ITDUR-CA-7)
- Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ITMER-CA-5)

- Biotecnología (ITVER-CA-4)
- Colaborador: Departamento de Desarrollo de Métodos, Planta MOSCA-FRUT. SAGARPA/SENASICA

A Coalition of Centers of Excellence to Counter Chronic Disease on the U.S.-México Border (http://www.borderhealth.org/files/res_1202.pdf).

Se trabajó en colaboración entre instituciones en ambos lados de la frontera.

<i>México</i>	<i>United States</i>
Universidad Autónoma de Baja California (Tijuana)	<i>The Whittier Institute for Diabetes Prevention</i> (San Diego)
El Colegio de Sonora	<i>The University of Arizona</i>
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (Chihuahua)	<i>The University of Texas at El Paso</i>
Universidad Autónoma de Tamaulipas	<i>The University of Texas Pan American</i>



Fuente: elaboración propia.

Visibilidad de los resultados

La generación y aplicación del conocimiento se evalúa a través de la publicación de material científico que puede ser en memorias de congresos, memorias en extenso, capítulos de libros y artículos científicos. El PROMEP establece diferentes niveles de

publicaciones para los artículos científicos, clasificándolas como artículos en revistas arbitradas y artículos en revistas indizadas (por estar en algún índice, también se les conoce como revistas indexadas, por estar en un índice), este último tipo de publicaciones son consideradas como las de mejor calidad y en algunas áreas son las únicas que se consideran adecuadas para obtener el nombramiento (DOF, 2010).

El Conacyt por su parte, premia con distinciones y estímulos económicos la actividad científica de los investigadores mexicanos, a través del SNI, creado el 26 de julio de 1984. El SNI realiza una convocatoria anual para que los profesores e investigadores adscritos a instituciones de educación superior, institutos y centros de investigación nacionales presenten su producción científica para ser evaluada por comisiones dictaminadoras que se integran por áreas del conocimiento ya definidas. Entre los productos a evaluar están los artículos científicos. El Conacyt define como artículo al “trabajo impreso en una publicación periódica de carácter académico o de difusión de trabajos científicos. Las publicaciones periódicas están normalmente respaldadas por una casa editorial reconocida como tal. Las revistas electrónicas seriadas son consideradas en el mismo nivel que las revistas impresas y bajo los mismos criterios de calidad: perfil general de los artículos publicados en la revista, perfil general de los autores de dichos artículos, perfil del consejo o comité editorial, cobertura, distribución e impacto”. No obstante de esta definición que parece abarcar a la mayoría de las revistas científicas, existen criterios para evaluar la calidad de los artículos científicos, principalmente el factor de impacto de la revista, así como el número de citas bibliográficas que ha tenido cada artículo, excluyendo autocitas y citas en tesis (SNI, 2008).

El conocimiento generado tiene diferente nivel de impacto en la comunidad científica y la humanidad en general. Una forma de medir este impacto es evaluar el número de instituciones que ahora difunden el nuevo conocimiento o de las empresas que lo aplican en sus procesos. El impacto también se puede medir, contabilizando el número de artículos nuevos que citan el artículo que se está evaluando en un periodo de tiempo. Esto es importante, ya que existe una asociación entre el número de citas y el impacto que se causó en la generación del nuevo conocimiento, estableciendo un indicador de calidad para la publicación. Este parámetro de medición de la calidad de un artículo, también se puede aplicar para evaluar la calidad de las revistas científicas, cuantificando las citas que reciben los artículos que publican en un periodo de tiempo. Esta forma de evaluar el conocimiento ha dado lugar al término “revistas científicas de alto impacto”. El factor de impacto (FI) de las revistas científicas se mide matemáticamente dividiendo el número total de citas que recibieron los artículos publicados en esa revista en ese mismo año y el anterior por el número de artículos publicados en ese mismo periodo como se muestra en el cuadro 10.

Cuadro 10. Ejemplo de determinación del factor de impacto (FI) en 2012 de una revista científica

<i>Artículos publicados en 2009 y 2010</i>
Número de artículos publicados en 2009 = 148
Número de artículos publicados en 2010 = 152
Total de artículos publicados = 300
<i>Artículos citados en 2011</i>
Citas de artículos publicados en 2009 = 237
Citas de artículos publicados en 2010 = 193
Total de artículos citados = 430
<i>Cálculo:</i>
$FI\ 2012 = \frac{CITAS\ EN\ 2011\ A\ ARTÍCULOS\ PUBLICADOS\ EN\ 2009-2010}{TOTAL\ DE\ ARTÍCULOS\ PUBLICADOS\ EN\ 2009-2010} = \frac{430}{300} = 1.433$
Factor de Impacto 2012 = 1.433

Fuente: Adaptado de ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation).

Las revistas con alto factor de impacto son seleccionadas preferentemente por los mejores investigadores para publicar sus artículos, por lo que los editores desean que sus revistas tengan un alto FI y para ello seleccionan artículos científicos de alta calidad y relevancia científica. Es por ello que las nuevas revistas científicas o las revistas que presentan atrasos en sus fechas de publicación o una selección poco rigurosa del material que publican difícilmente alcanzan un FI que les permita ser incluidas en el *Journal of Citation Report* que publica anualmente el FI de cada revista. El sistema desarrollado por el ISI es actualmente comercializado por *The Thomson Corporation* (www.thomson.com) y es usado mundialmente.

Producción del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición en el contexto de la Universidad Autónoma de Tamaulipas en el periodo 1989-2011

Proceso de búsqueda bibliográfica de las publicaciones de la Universidad Autónoma de Tamaulipas

Utilizando como referencia la base de datos *ISI Web of Knowledge* (Copyright © 2011, *The Thomson Corporation*) se analizó la producción científica de la Universidad Autónoma de Tamaulipas durante el periodo 1989 a 2011. De esta información se deriva la producción de los integrantes del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición.

La base de datos no tiene un sistema de búsqueda específico que permita localizar todas las publicaciones de la institución, por lo que se probaron diferentes combinaciones hasta encontrar la que permitió obtener el mayor número de publicaciones de la institución eliminando la presencia de otras instituciones nacionales e internacionales. A continuación se describe la forma en que se realizó la consulta en la base de datos. En la sección de búsqueda general (*General search*), se realizó una búsqueda introduciendo la combinación de los parámetros “tam* and mex* and uni* or uat*” en el campo de dirección (*Address*) y el período “1989-2011” en el campo de año de publicación (*Year published*). Estos parámetros combinados produjeron un total de mil 584 publicaciones indexadas. Utilizando la herramienta de análisis proporcionada por la base de datos (*Analyze results*), se hizo una segunda clasificación seleccionando sólo las publicaciones originadas en México (*Country/territory*), quedando sólo mil 354 publicaciones. La exclusión de los trabajos con relación a la búsqueda inicial, se debe a que en estos la palabra México está presente en la dirección, pero no corresponde al país de origen. Por ejemplo este es el caso de los trabajos que se producen en *New Mexico* (USA).

Las publicaciones fueron analizadas de acuerdo con la institución de origen. Se analizaron las diferentes instituciones, encontrándose que existen diferentes formas de acreditación para la Universidad Autónoma de Tamaulipas, las cuales incluyen: UAT, Univ Autonoma Tamaulipas, Univ Tamaulipas, Autonomous Univ Tamaulipas, Univ Auton Tamaulipas, Tamaulipas Autonomous Univ. El total de productos científicos reportados por la base de datos fue de 469. Estos productos fueron la base de datos empleada para el análisis de la producción científica de la UAT en el periodo de 1989-2011 que se discute en este capítulo.

Existe un margen pequeño de error, no estimado, asociado con la operatividad de la base de datos y la forma de hacer la consulta, que causa que un reducido número de trabajos publicados por investigadores adscritos a la UAT no aparezcan entre las 469 publicaciones arrojadas por la base de datos. Otras causas por las cuales algunos trabajos producidos en el periodo, por PTC adscritos a la UAT no aparezcan en la base de datos obtenida, son que ninguno de los autores hubiese declarado su adscripción a la institución o que la institución no haya sido nombrada en forma adecuada y sea distinta a las que se consideraron en este estudio, particularmente cuando se pone como adscripción a la facultad o unidad académica, sin darle el crédito a la universidad en forma directa. También es importante mencionar que dada la cantidad de información generada, no se analizó detalladamente artículo por artículo, sino que se aplicaron los criterios generales de discriminación mencionados para llegar a la selección de las 469 publicaciones. Es por ello que este análisis debe ser utilizado como un indicador en la tendencia de la producción científica y no como una referencia exacta.

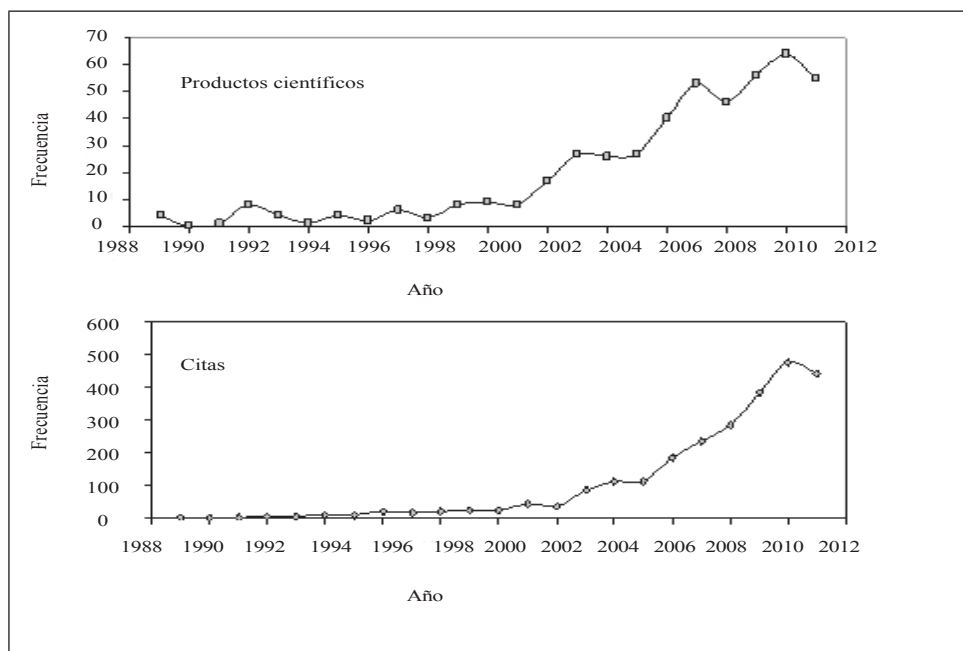
La contextualización de la producción académica se realizó con la información obtenida de los registros del PNC y del SNI del Conacyt, de los CA de PROMEP en México y de profesores con reconocimiento de perfil deseable de la oficina de PROMEP de la UAT.

Producción científica

La producción científica de la Universidad Autónoma de Tamaulipas durante el periodo comprendido entre 1989 y 2011 fue de 469 publicaciones, de las que 87% fueron artículos científicos y el resto resúmenes de congreso (5.5%), revisiones (4.1%), cartas (0.3%) y otros (2.1 por ciento).

La producción científica permaneció baja durante el periodo comprendido entre 1989 y 2001, en esos trece años se generaron menos de 10 productos científicos por año en revistas indexadas en la base de datos del *ISI Web of Knowledge* (figura 4).

Figura 4. Productos científicos publicados anualmente y citas a los trabajos de la Universidad Autónoma de Tamaulipas



Fuente: ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation).

A partir de 2001 se muestra una tendencia positiva en la producción científica de la UAT, lo que indica que las acciones de coordinación y planeación tomadas por la institución para estimular la actividad científica han tenido éxito relativo. La UAT estableció en 2004 un reconocimiento institucional, acompañado por un estímulo económico, para los investigadores que obtuvieran el reconocimiento de perfil PROMEP o del Sistema Nacional de Investigadores. También es importante considerar que el número de investigadores se ha incrementado en la UAT, ya sea mediante nuevas contrataciones o porque el personal obtuvo su grado de doctor. La producción científica de las universidades está relacionada con el número de PTC dedicados a actividades científicas (Grupo Scimago, 2007a).

El *ISI Web of Knowledge* clasifica las publicaciones en diferentes áreas del conocimiento. Los artículos publicados por la UAT abarcaron 58 especialidades del conocimiento que utiliza esta base de datos. Existe una asociación de las áreas de estudio en que más publicaciones se tienen con las Líneas de Generación de Conocimiento de nueve de los once Cuerpos Académicos Consolidados (CAC) que tiene la UAT. El Cuerpo Académico Consolidado de Alimentos y Nutrición mantiene una consistencia entre las líneas de generación y aplicación de conocimiento y las publicaciones como se muestra en el cuadro 11).

Cuadro 11. Disciplinas de las publicaciones y Líneas de Generación y Aplicación del Conocimiento de los Cuerpos Académicos Consolidados

<i>Líneas de Generación y Aplicación del Conocimiento</i>	<i>Principales disciplinas de las publicaciones</i>
Aprovechamiento de recursos pesqueros	Ciencia y Tecnología alimentaria (71)
Aprovechamiento biotecnológico de recursos agropecuarios	
Inocuidad alimentaria	
Nutrición	

Fuente: elaboración propia. Información de ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation).

Una de las características de calidad asociadas con una publicación es el número de citas de un artículo por otros autores. En cuanto al número de citas, este se incrementa generalmente con el tiempo, por lo que es común que los artículos con más citas sean los más antiguos. Un artículo reciente con muchas citas es un indicativo de que el conocimiento generado es relevante para la comunidad científica. En el

cuadro 12 se muestran los 10 trabajos con más citas en la actualidad publicados por la UAT durante 1989-2011 que acumulan 557 citas y representan 51.99% del total. Los artículos de los integrantes del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición contribuyen con 344 de las citas como se muestra en el cuadro 12.

El artículo producido que más citas ha recibido en el periodo estudiado es un artículo del área de Alimentos titulado *Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse* de los autores Aguilar R; Ramirez JA; Garrote G. Publicado en 2002 en la revista *Journal of Food Engineering* con 92 citas, en el que participa un integrante del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición, así como un becario del investigador mencionado.

Cuadro 12. Publicaciones generadas por profesores de la Universidad Autónoma de Tamaulipas entre 1989 y 2011 con mayor número de citas acumuladas

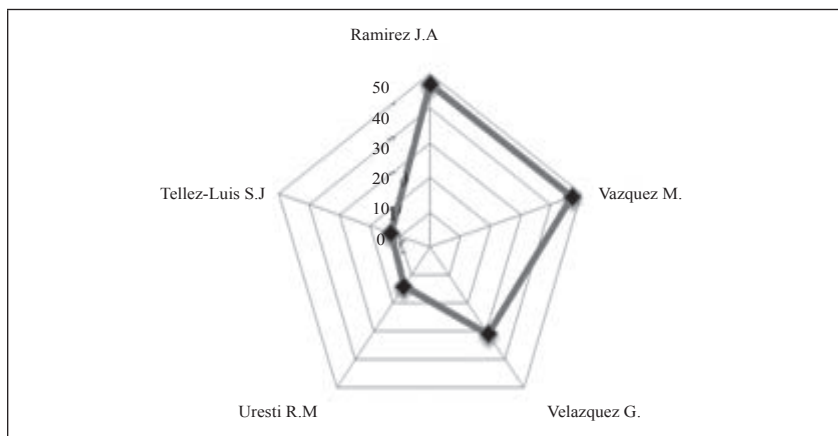
Integrantes del Cuerpo Académico y Nutrición				Otros			
Lugar en número de citas	Año de publicación	Citas totales a 2011	Promedio de citas por año	Lugar en número de citas	Año de publicación	Citas totales a 2011	Promedio de citas por año
1	2002	92	8.36	2	1992	86	4.1
3	2005	84	10.5	4	2000	52	4
5	2006	49	7	7	2004	38	4.22
6	2004	44	4.89	10	1999	37	2.64
8	2000	38	2.92				
9	2002	37	3.36				
Total		344	37.03	Total		213	14.96

Fuente: elaboración propia. Información de: ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation). (Se consideraron sólo los 10 artículos más citados).

Un total de 16 autores concentran 65.90% de las publicaciones en revistas internacionales de alto impacto de la Universidad Autónoma de Tamaulipas. El 32.41% del total de las publicaciones fueron generadas por miembros del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición.

En la figura 5 se presenta la producción de los miembros de Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición. En este apartado, es importante resaltar que los autores que menos publicaciones tienen (Uresti Marín y Tellez Luis) son los que obtuvieron su doctorado en fecha más reciente y son los más jóvenes del Cuerpo Académico.

Figura 5. Producción científica de los integrantes del Cuerpo Académico



Fuente: elaboración propia. ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation).

En el cuadro 13, se presenta la producción de los miembros de Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición así como el número de citas que reciben al analizar los 10 artículos más citados.

Cuadro 13. Producción de los integrantes del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición y citas a los artículos

Nombre	Artículos Publicados 1989-2011	Número de citas recibidas y lugar ocupado en el período 1989 a 2011					
		1	3	5	6	8	9
Ramírez JA	47	92		49	44	38	37
Vázquez M	47	92					37
Velázquez G	31		84				
Uresti RM	14						
Téllez-Luis SJ	13						37
Año de publicación de los Artículos		2002	2005	2006	2004	2000	2002

Fuente: elaboración propia. ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation). (Se consideraron solo los 10 artículos más citados).

c) Reconocimientos académicos

La publicación en revistas de alto impacto es un indicador muy importante para el ingreso al Sistema Nacional de Investigadores. En el cuadro 14 se muestran los miembros del SNI de la Universidad y del Cuerpo Académico. Se observa que de los cinco investigadores adscritos al CA dos tienen nivel 2 y tres nivel 1.

Cuadro 14. Profesores de tiempo completo de la Universidad Autónoma de Tamaulipas con nivel de doctorado que son miembros del Sistema Nacional de Investigadores 2011

<i>Adscripción</i>	<i>Categoría</i>	<i>Grado académico</i>	<i>Miembros del Sistema Nacional de Investigadores</i>		
	<i>Profesor de tiempo completo</i>	<i>Doctorado</i>	<i>Nivel 2</i>	<i>Nivel 1</i>	<i>Candidato</i>
Institución	1054	234	5	42	20
CA Alimentos y Nutrición	5	5	2	3	0

Fuente: PROMEP, UAT, consultado el 27 julio 2011, Conacyt (2011a).

Vinculación con posgrado de calidad

La adscripción de los programas de posgrado en el Padrón Nacional de Posgrado de Calidad está vinculada a la publicación en revistas de alto impacto y la certificación de los PTC por el Sistema Nacional de Investigadores.

El número de programas de posgrado de la UAT reconocidos por Conacyt en el PNPC es muy reducido, sólo 12 programas de maestría vigentes, 3 de doctorado y uno de especialidad son reconocidos por el PNPC. El Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición es el núcleo básico de la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, incorporada en Padrón Nacional de Posgrados de Calidad en el área de Ingeniería y Tecnología. La concentración de los posgrados en el PNPC por área del conocimiento y nivel de desarrollo se muestra en el cuadro 14.

Cuadro 15. Posgrados por Área del Conocimiento y Nivel de Desarrollo

Área del Conocimiento	Nivel de desarrollo			Total
	Consolidado	En desarrollo	Reciente creación	
Ciencias naturales y exactas		1	4	5
Ingeniería y tecnología	1		2	3
Ciencias de la salud		1		1
Ciencias sociales	1	1	5	7
Total	2	3	11	16

Fuentes. elaboración propia. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Programa nacional de posgrados de calidad. Programas vigentes 2011: disponible en http://www.conacyt.gov.mx/Becas/Calidad/Documents/Listado_PNPC.pdf; consultado el 2 de septiembre de 2011.

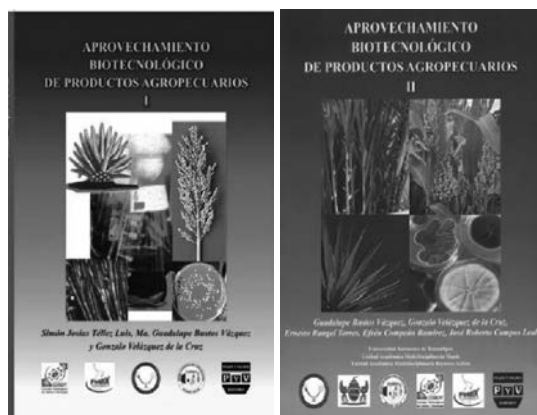
e) Libros editados

Los integrantes editaron tres libros a partir del conocimiento generado de sus trabajos y de colaboradores externos.



Fuente: elaboración propia.

También participaron en la edición de libros de otros cuerpos académicos de la Universidad Autónoma de Tamaulipas con los que compartían proyectos de investigación y formación de recursos humanos.



Fuente: elaboración propia.

f) Edición de la Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria

La revista pasó de arbitrada en 2002 a Revista Indexada en Base de Datos Internacionales en 2006 y a estar en el Journal Citation Report en 2008. Actualmente, es impresa, editada y comercializada en formato impreso y digital por la Casa Editorial Francis & Taylor.

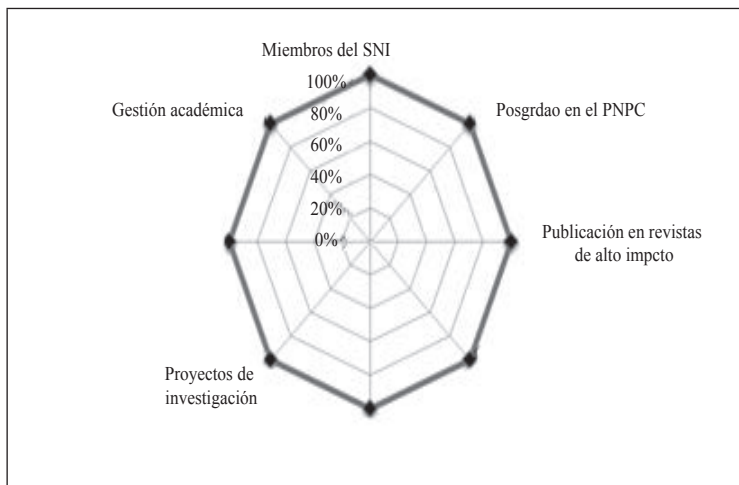


Fuente: elaboración propia.

g) Indicadores de calidad del Cuerpo Académico

En la Figura 5 se integran los indicadores analizados y como puede apreciarse, se ha logrado un desarrollo armónico, lo que permite la consecución de los objetivos individuales, grupales e institucionales.

Figura 5. Indicadores de calidad del Cuerpo Académico de Alimentos y Nutrición



Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

Transitar hacia la sociedad del conocimiento implica asumir un compromiso en los diferentes niveles organizacionales que se traduzca en procesos orientados a fortalecer las capacidades para la generación y transferencia del conocimiento, la formación de capital humano altamente competitivo y la visualización de los resultados de la investigación en publicaciones de alto impacto.

Un desarrollo planeado es indispensable para cumplir con los indicadores internos (institucionales, posgrados en el Padrón Nacional de Posgrado, grupales Cuerpos Académicos Consolidados e individuales membresía al Sistema Nacional de Investigadores), atender las demandas del entorno, fortalecer las capacidades de investigación y desarrollo tecnológico del sector empresarial y social, mediante traba-

jo colaborativo en proyectos de investigación, procesos de formación o transferencia de conocimientos que dinamicen los procesos de innovación y que contribuyan a elevar el nivel socioeconómico de nuestro entorno.

Referencias

- Abello, R. (2007), “Factores claves en las alianzas universidad-industria como soporte de la productividad en la industria local: hacia un modelo de desarrollo económico y social sostenible”, *Revista Investigación y Desarrollo*, vol. 1, núm. 15.
- Albornoz M., J. A. López Cereso, (2010), “Organización de Estados Iberoamericanos Ciencia, tecnología y universidad en Iberoamérica”, *Metas Educativas 2021, La Educación que queremos para la generación del bicentenario*, 1a ed., Buenos Aires, Eudeba, ISBN 978-950-23-1770-0, p. 216.
- Anlló G., G. Lugones, D. Suarez (2011), “Estado de la Ciencia 2011”, Manual de Bogotá: Hacia un Formulario Mínimo Común. Red de Indicadores de Ciencia y Tecnología -Iberoamericanos e Interamericanos-(RICYT) Agencia Española de Cooperación Internacional para el desarrollo (AECID), Centro de Altos Estudios Universitarios.
- Brint, S. (2005), “Creating the Future: New Directions in American Research Universities”, *Minerva*, vol. 43, spring, Steven Brint, pp. 23-50.
- Castro Martínez E., J. Vega Jurado (2009), “Las relaciones universidad-entorno socioeconómico en el Espacio Iberoamericano del Conocimiento”, *Rev. Iberoamericana ciencia tecnología sociedad* [online], vol. 4 (12), pp. 71-81, disponible en [cited 2011-10-07],. Available from: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-00132009000100008&lng=en&nrm=iso>. ISSN 1850-0013.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (2011b), “Programa nacional de posgrados de calidad”, Programas vigentes 2011, disponible en http://www.conacyt.gob.mx/Becas/Calidad/Documents/Listado_PNPC.pdf; consultado el 2 de septiembre de 2011.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (2010), “Miembros del Sistema Nacional de Investigadores 2011”, disponible en <http://www.conacyt.gob.mx/SNI/2011/Paginas/SNI-INGRESO-2011.aspx>; consultado el 2 de Julio de 2011.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (2006), *Informe General del Estado de la Ciencia y la Tecnología*, México, Conacyt, p. 426.

- Daton Angus (2009), “Instruments of development: Randomization in the tropics, and the search for the elusive keys to economic development”, NBER Working Paper No. 14690, NBER Program(s), AG EFG HC.
- Diario Oficial de la Federación 568 (2011), *Reglas de operación del programa de mejoramiento del profesorado*, diciembre 2010.
- Etzkowitz, Henry, (2002), *Networks of Innovation: Science, Technology and Development in the TripleHelixEra*, International Journal of Technology Management & Sustainable Development, vol. 1 (1), pp. 7-31.
- Etzkowitz, H. & M. Klofsten (2005), “The innovation region: toward a theory of knowledge-based regional development”, *R & D Management*, vol. 35 (3), pp. 243-255.
- Feria Patiño V. H. (2009), “**Propuesta de un modelo de Transferencia de Conocimiento Científico-Tecnológico en México**”, tesis doctoral, Departamento de Proyectos de Ingeniería, Universidad Politécnica de Valencia (UPV), España.
- Fernández Lucio F., E. Castro Martínez, F. Conesa Cegarra, A. Gutiérrez García (2000), *Estructuras de Interacción de la universidad en el entorno socioeconómico*, Ciencia, Tecnología Sociedad + Innovación.
- Foro Consultivo Científico y Tecnológico A. C. (2010), “El Diagnóstico del Sistema Regional de Innovación 2004-2010”.
- Foro Consultivo Científico y Tecnológico A. C. (2011), “Ranking Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2011”, ISBN 978 – 607- 9217- 00- 6.
- Foro Consultivo Científico y Tecnológico A. C. (2011), “Ranking de Producción Científica Mexicana 2011”, ISBN 978 – 607- 9217- 01- 3.
- Garmendia Mendizábal C. (2010), *Innovaciones Universitarias*, editor Redotri Universidades, CRUE.
- Grupo Scimago (2007^a), “ISI productivity the Spanish Universities (2000-2004)”, *El profesional de la información*, vol. 16 (4), pp. 354 -358.
- Grupo Scimago (2007^b), “Análisis de la producción científica mundial por regiones”, *El profesional de la información*, vol. 16 (2), pp. 158-159.
- Ibarra Colado, Eduardo (2009), “Exigencias de organización y de gestión de las Universidades Públicas Mexicanas: de su pasado político a sus mercados presentes”, en D. Cazés, E. Ibarra y L. Porter (coords.), *Las Universidades Públicas Mexicanas en el año 2030: examinando presentes, imaginando futuros*, México, CEIICH-UNAM/UAM-
- Molas-Gallart, J.; A. Salter, P. Patel, A. Scott y X. Durán (2002), “Measuring Third Stream Activities”, *Final Report to the Russell Group of Universities*, Science and Technology Policy Research (SPRU), University of Sussex, Birmingham.
- Nonaka, I. y H. Takeuchi (1995), *The knowledge-creating company: How Japanese companies create the dynamics of innovation*, Oxford University Press. New York.

- Programa de Mejoramiento al Profesorado (2011), “Informe Ejecutivo”, fecha de consulta 3 de Agosto del 2011.
- Programa de Mejoramiento al Profesorado (2011), Universidad Autónoma de Tamaulipas, disponible en <http://www.promep.uat.edu.mx/promep09/subpersonal/personaldes.aspx>; consultado el 20 de Septiembre del 2011.
- Reporting Intellectual Capital to Augment Research, Development and Innovation in SMEs Report to the Commission of the High Level Expert Group on RICARDIS. (EUROPEAN COMMISSION, 2006, RICARDIS) ISBN 92-79-02149-4
- RICYT (2007 y 2009), *El estado de la ciencia. Principales indicadores de ciencia y tecnología iberoamericanos/interamericanos*, Buenos Aires, RICYT.
- Schwartzman S. (2008), *Universidad y desarrollo en Latinoamérica: Experiencias exitosas de centros de investigación*, Caracas, UNESCO/IESALC.
- Siegel, D. S., D. A. Waldman, L. E. Atwater y A. N. Link (2004), “Toward a model of the effective transfer of scientific knowledge from academicians to practitioners: qualitative evidence from the commercialization of university technologies”, *Journal of Engineering and Technology Management*, vol. 21 (1-2), pp. 115-142. doi:10.1016/j.jengtecman.2003.12.006.
- Sistema Nacional de Investigadores (2008), Reglamento vigente del Sistema Nacional de Investigadores, México, D. F. ISI Web of Knowledge (Copyright © 2011, The Thomson Corporation).
- Zorzetto, R.; D. Razzouk, M. T. B. Dubugras, J. Gerolin, N. Schor, J. A. Guimaraes, J.J. Mari (2006), “The scientific production in health and biological sciences of the top 20 Brazilian universities“.

Acerca de los autores

Rocío M. Uresti Marín, Frida C. Caballero Rico, Manuel Vázquez Vázquez, José Alberto Ramírez de León. Cuerpo Académico de Gestión y Transferencia del Conocimiento. Centro de Excelencia. Dirección General de Innovación Tecnológica. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Correo electrónico: ruresti@uat.edu.mx

Octelina Castillo Ruiz, Rodrigo Montes Zorrilla, Margarita Hurtado González, Guadalupe Bustos Vázquez, Simón J. Téllez Luis. Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Calle 16 y Lago de Chapala, colonia Aztlán, Reynosa, Tamaulipas. Correo electrónico: octecastillox@hotmail.com. Instituto de Ecología Aplicada, Universidad Autónoma de Tamaulipas, División del Golfo núm. 356, Col. Libertad, Cd. Victoria, Tamaulipas. Unidad Académica Multidisciplinaria Mante. Blvd. Enrique Cárdenas González núm. 1202 Pte. Cd. Mante, Tamaulipas.

Alma Vázquez Luna y Rafael Díaz Sobac. Laboratorio de Biología y Química Molecular de Frutas. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Correo electrónico: luvazal@hotmail.com

José Ernesto Cervantes Martínez, Yolanda Salinas Moreno, Griselda Vázquez Carrillo y María Guadalupe Bustos Vázquez. Profesores investigadores de la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante. Universidad Autónoma de Tamaulipas. E. Cárdenas G. 1201 Cd. Mante, Tams. Correo electrónico: jecervan@uat.edu.mx. Investigadoras del Campo Experimental Valle de México, INIFAP. Chapingo, México 56230.

Miguel Aguilera Ortíz, Patricia Ramírez Baca, María Guadalupe Candelas Cadillo, Jorge Armando Meza Velázquez, Juan Ramón Esparza Rivera. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n, Fraccionamiento Filadelfia. C.P. 35010. Gómez Palacio, Durango, México. Correo electrónico: maguilerao@hotmail.com

Laura Eugenia Pérez Cabrera, Karina Reyes Bernal, Alejandra Godínez Hoyos y Rafael Alejandro Casillas Peñuelas. Cuerpo Académico Alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Josafat Marina Ezquerro Brauer,* Dulce Alondra Cuevas Acuña, Enrique Márquez Ríos, Maribel Robles Sánchez, Wilfrido Torres Arreola. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, C. P. 83000, Col. Centro, C. P 1658, Hermosillo, Sonora, México. *Correo electrónico: ezquerro@guayacan.uson.mx

Jorge Alberto Acosta Gallegos,¹ Rocío Campos Vega,² Rakel Cruz Bravo,² Ana Angélica Feregrino Pérez,³ Ramón Gerardo Guevara González,³ Guadalupe Loarca Piña,^{2*} Minerva Ramos Gómez,² Rosalía Reynoso Camacho,² Haydé A. Vergara Castañeda.² ¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Km. 6 Carretera Celaya-San Miguel de Allende, Guanajuato, 38000. ²Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC), Facultad de Química, Facultad de Química. ³Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro. 76010, México. *Correo electrónico: loarca@uaq.mx

Reyna Luz Vidal Quintanar* y Ofelia Rouzaud Sáñez. CA Fisicoquímica de Biomoléculas en Alimentos. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Rosales s/n Colonia Centro. Hermosillo, Sonora, C.P. 83000. Universidad de Sonora. *Correo electrónico: rvidal@guaymas.uson.mx

Rafael Díaz Sobac y Alma Vázquez Luna. Laboratorio de Biología y Química Molecular. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Correo electrónico: radiaz@uv.mx

Fabiola Gabriela Zuno Floriano,¹ María Isabel Silveira Gramont,² Marion Miller¹ y María Lourdes Aldana Madrid.² ¹Departamento de Toxicología Ambiental, Universidad de California, Davis, One Shields Avenue, Davis, California 95616-8588 (USA). Tel/Fax (530)752-1142/(530)752-3394. ²Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Rosales y Blvd Luis Encinas s/n, Col. Centro, Hermosillo, Sonora, 83000, México. Tel/Fax (662)259-2207. Correo electrónico: laldana@guayacan.uson.mx

Raymundo Orduño Valenzuela,¹ María Mercedes Meza Montenegro,¹ Ana Isabel Valenzuela Quintanar,¹ José de Jesús Balderas Cortés,² Anacleto Félix Fuentes,¹ Iram Mondaca Fernández,¹ Patricia Grajeda Cota,² Roberto Rodríguez Ramírez.¹ ¹Instituto Tecnológico de Sonora, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. 5 de febrero 818 sur. Col. Centro. Hermosillo, Sonora 85000

México. Correo electrónico: mmeza@itson.edu.mx. ²Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos A. C. (CIAD A. C.), Hermosillo, Sonora.

María de Lourdes Gutiérrez Coronado,¹ Ana Isabel Valenzuela Quintanar,¹ María de Lourdes Aldana Madrid,² Patricia Grajeda Cota,¹ Rosa María Cabrera Pacheco,¹ Martha Nydia Ballesteros Vázquez,¹ María del Socorro Saucedo Tamayo,¹ María Isabel Ortega Velez¹ y Daniel Fierros Mendiola.¹

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km. O.6. 83000, Hermosillo, Sonora, México. Tel: 662 289 24 00 ext 292.

²Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Rosales y Transversal s/n, Centro. 83000. Hermosillo, Sonora, México. Tel: 662 259 22 07. Autor para correspondencia lulu@ciad.mx

Gabriela Ramos-Clamont Montfort,¹ Silvia Guadalupe Fernández Michel,² María Cristina Cueto Wong² y Luz Vázquez Moreno.¹ ¹Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km 0.6. Hermosillo, Sonora, 83000, México. Ivazquez@ciad.mx. ²Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Torreón-Matamoros Km 7, Ejido el Águila, Ciudad Universitaria, Torreón, Coahuila. 27000, México.

Gabriela Ramos-Clamont Montfort y Luz Vázquez Moreno. Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km 0.6. Hermosillo, Sonora, México. Ivazquez@ciad.mx, gramos@ciad.mx.

Edgar Iván Jiménez Ruiz,¹ Víctor Manuel Ocaño Higuera,² Enrique Márquez Ríos,³ Abril Zoraida Graciano Verdugo,² Alfonso N. Maeda Martínez,⁴ Francisco Javier Castillo Yáñez.^{2*} ¹Programa de Posgrado en Biociencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo Sonora México. ²Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo Sonora 83000 México. ³Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo Sonora 83000 México. ⁴Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo núm. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B. C. S. 23090, México. *Correo electrónico: jcastillo@guayacan.uson.mx.

Guillermo Barba-Quintero,^{1*} José Alberto Ramírez de León,² Gonzalo García Tapia.³ ¹Instituto Tecnológico de Mazatlán, Corsario I núm. 203, Colonia Urias, Mazatlán, Sinaloa. Correo electrónico: barbamaz@hotmail.com. ²División de Posgrado e Investigación, Dirección General de Innovación Tecnológica, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. ³Pescados Industrializados S. A. Puerto de Mazatlán 406-A, Parque Industrial Alfredo V. Bonfil. Mazatlán, Sinaloa, México.

Wendy Marisol Mazón Abarca,¹ Rocío M Uresti Marín,² José Alberto Ramírez de León,² Gonzalo Velazquez de la Cruz.³ ¹UAM Reynosa Aztlán. Universidad Autónoma de Tamaulipas. ²Dirección General de Innovación Tecnológica. Universidad Autónoma de Tamaulipas. ³CICATA-Querétaro. Instituto Politécnico Nacional.

Iván de Jesús Tolano Villaverde,¹ Guadalupe Dihort García,¹ Víctor Manuel Ocaño Higuera,² Josafat Marina Ezquerro Brauer,¹ Edgar Iván Jiménez Ruiz² y Enrique Márquez Ríos.^{1*} ¹Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Rosales y Niños Héroe S/N. Hermosillo, Sonora 83000, México. ²Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. Rosales y Niños Héroe S/N. Hermosillo, Sonora 83000, México. Correo electrónico: emarquez@guayacan.uson.mx

Ramón Gertrudis Valdez Melchor,^{1*} Enrique Márquez Ríos,² Víctor Manuel Ocaño Higuera,¹ Joe Luis Arias Moscoso,² Santiago Valdez Hurtado³ y Francisco Javier Castillo Yáñez.¹ ¹Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, C. P. 83000 Col. Centro. Hermosillo, Sonora, México. ²Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, C. P. 83000, Col. Centro. Hermosillo, Sonora, México. ³Universidad Estatal de Sonora, Unidad Académica Navojoa. Carretera a Huatabampo Km. 5, Navojoa, Sonora, México. P. O. Box 455 C. P. 85800, Tel. +52 (642) 422 7576 ext. 106.

Karla Yuritzi Amador Rodríguez, Laura Eugenia Pérez Cabrera y Fernando Bon Rosas. Cuerpo Académico de Alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, correo electrónico: leperez@correo.uaa.mx

Margarita Hurtado González, Arturo Mora Olivo y Ramón López de León. Instituto de Ecología Aplicada. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Correo electrónico: mhurtado@uat.edu.mx

Alma Rosa Centurión Yah,¹ Lourdes Vargas Vargas,¹ Luis Cuevas Glory,¹ Crescenciano Saucedo Veloz,⁴ Reginaldo Báez Zañudo,³ Edmundo Mercado Silva,² Enrique Sauri Duch.¹ ¹Instituto Tecnológico de Mérida. Correo electrónico: esauri@uxmal.itmerida.mx; ²Universidad Autónoma de Querétaro; ³CIAD-Hermosillo; ⁴Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco.

Porfirio Gutiérrez Martínez,¹ Silvia Bautista Baños,² Laura L. Barrera Necha.² ¹Instituto Tecnológico de Tepic. Postgrado en Alimentos. LIIA-Lab. de Biotecnología. Av. Tecnológico, 2595 Col. Fracc. Lagos del Country. Tepic, Nayarit, México ²Instituto Politécnico Nacional-Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carr. Yautepec-Jojutla k.m. 6, Colonia San Isidro, Calle CEPROBI 8, Morelos C. P. 62531 Correo electrónico: gutierrez1960@prodigy.net.mx

Cesiah Jemimah Guillén-Romána, Ramón Guevara-González,^b Lorenzo Guevara-Olvera, Francisco Villaseñor-Ortega y Cristina I. Pérez-Pérez.* ^aDepartamento Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya. Ave. Tecnológico y A. García Cubas S/N, C. P. 38010 Celaya Gto., Mex. ^bFacultad de Ingeniería, UAQ. Centro Universitario, Cerro de las Campanas, C.P. 76010 Querétaro Qro., Mex. *Autor de Correspondencia: cristina.perez@itcelaya.edu.mx

Eber Addí Quintana-Obregón, Maribel Plascencia-Jatomea y Mario Onofre Cortez-Rocha. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, C. P. 83000, Hermosillo, Sonora, México.

Alejandro Sánchez Varela e Isabel Cristina Rodríguez Luna. Laboratorio de Biotecnología Ambiental y Laboratorio de Biomedicina Molecular, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional.

Guadalupe Concepción Rodríguez Castillejos,¹ Simón Josías Téllez Luis,² Manuel Vázquez Vázquez,² ³Jorge Lois Correa,¹ José Alberto Ramírez de León.² ¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Altamira, Instituto Politécnico Nacional. ²Dirección General de Innovación Tecnológica. Universidad Autónoma de Tamaulipas. ³Área de Tecnología de los Alimentos, Departamento de Química Analítica, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Santiago de Compostela-Campus Lugo.

Ana María Sifuentes Rincón, Gaspar Manuel Parra Bracamonte, Xóchitl Fabiola de la Rosa Reyna, Williams Arellano Vera. Laboratorio de Biotecnología Animal, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Boulevard del Maestro sin número, Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C. P. 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. Tel. +52 (899) 9243627, Ext. 87709.

Gaspar Manuel Parra-Bracamonte y Ana María Sifuentes-Rincón. Laboratorio de Biotecnología Animal, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Boulevard del Maestro SN, Esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710, Reynosa, Tamaulipas, México. Tel. +52 (899) 9243627, Ext. 87709. gparra@ipn.mx, asifuentes@ipn.mx.

María del Rosario González González,^{1,2} Virgilio Bocanegra García,³ Gildardo Rivera,³ Isaías Balderas Rentería.¹ ¹Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ²Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa, Tamaulipas, México. ³Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica, Reynosa, Tamaulipas, México.

Frida Carmina Caballero Rico,^{1*} Rocío M. Uresti Marín,¹ José A. Ramírez de León,¹ Manuel Vázquez Vázquez,¹ Gonzalo Velázquez de la Cruz.² ¹Centro de Excelencia. Dirección General de Innovación Tecnológica. Universidad Autó-

noma de Tamaulipas. Centro Universitario. Cd. Victoria, Tamaulipas 87140 México. ²Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada CI-CATA-IPN unidad Querétaro. Cerro blanco 141, Colinas del cimatarío, Querétaro, Qro. CP 76090. Autor de correspondencia: fcaballer@uat.edu.mx

Avances en ciencia y tecnología alimentaria en México
se terminó de imprimir en enero de 2013
El tiraje consta de 1 000 ejemplares

