

300627
17
2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA

**ENZIMAS GLICOHIDROLASAS Y SU APLICACION EN
LA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ANA BERTHA IBARRA GOMEZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. J. Domingo Méndez Francisco

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1992



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

1. GENERALIDADES
- 1.1 Importancia de las enzimas en alimentos.
2. ENZIMAS GLICOHIDROLASAS
- 2.1 Clasificación de las glicohidrolasas.
3. AMILASAS
- 3.1 Alfa-amilasa.
- 3.2 Amilasas termofílicas, termoestables, termolábiles, acidofílicas y alcalinas.
- 3.3 Amilasas de A. oryzae y B. subtilis.
- 3.4 Beta-amilasa.
- 3.5 Glucoamilasa.
- 3.6 Determinación de la actividad de amilasas bacterianas.
- 3.7 Almidones Alimenticios.
- 3.8 Proceso enzimático para la obtención de glucosa a partir de una alfa-amilasa de B. licheniformis, y una glucoamilasa de A. niger.
- 3.9 Especificaciones a nivel industrial de TENASE y DIAZYME L-200.
- 3.10 Aplicación de enzimas en panadería.
4. ENZIMAS PECTICAS
- 4.1 Propiedades de la pectina.
- 4.2 Pectin-Esterasa.
- 4.3 Poligalacturonasa.
- 4.4 Pectatoliasas.
- 4.5 Cambios de textura relacionados con las pectinas.
- 4.6 Enzimas pécticas en jugos de frutas.
- 4.7 Enzimas pécticas en la fabricación de vinos.
- 4.8 Proceso de gelificación de pectinas.
- 4.9 Producción Industrial de las pectinas.
5. INVERTASA
- 5.1 Producción de invertasa a partir de levadura.
- 5.2 Sacarosa.
- 5.3 Azúcar Invertido.
- 5.4 La invertasa en la industria del dulce.
6. LACTASA
- 6.1 Sustrato y Especificidad de la enzima.
- 6.2 Propiedades de lactasas comerciales.
- 6.3 Aplicaciones industriales de la hidrólisis de lactosa.
7. APENDICE. "ENZIMAS INMOVILIZADAS"
8. CONCLUSIONES.
9. BIBLIOGRAFIA.

EL OBJETIVO DE ESTE TRABAJO ES PRESENTAR UN ESTUDIO
BIBLIOGRAFICO DE INFORMACION ACTUALIZADA SOBRE LAS ENZIMAS
CLASIFICADAS COMO GLICOHIDROLASAS, ENFOCANDO SUS DIVERSAS
APLICACIONES AL AREA DE ALIMENTOS.

1. GENERALIDADES

Durante muchos siglos se han utilizado enzimas en la producción de ciertos alimentos como pan, bebidas alcohólicas y quesos. Sin embargo, la enzimología como ciencia aplicada a la tecnología de alimentos se puede considerar propia del siglo XX.

La mayor parte de los alimentos provienen de tejido vivo, animal o vegetal, y aún después de la muerte las enzimas permanecen activas por períodos que dependen de factores ambientales como temperatura, pH, oxígeno etc.

La conversión de tejido vivo a alimento depende de la actividad del sistema enzimático después de la muerte, ó después de la cosecha. De ésto se deriva la importancia de las enzimas endógenas, las cuales son componentes naturales de muchos alimentos como carnes, leche, cereales frutas y vegetales.

Han surgido avances muy significativos en el papel que desempeñan las enzimas endógenas en la calidad del alimento, y también acerca de las enzimas exógenas que son extraídas de varias fuentes: animal, vegetal o microbiana, y que se añaden al alimento durante su proceso para obtener las características deseadas.

La industria de los alimentos es una de las industrias que más utilizan enzimas.

Algunas ventajas de la utilización de las enzimas en el procesamiento de alimentos son las siguientes:

1. Son sustancias naturales no tóxicas.
2. No producen reacciones secundarias.
3. Son activas en condiciones normales (tratamientos suaves).
4. Son activas aún en cantidades pequeñas.
5. Se puede controlar su reacción por ajustes de temperatura, pH, y la cantidad de enzima empleada.
6. Pueden inactivarse después del proceso una vez que se logró la reacción deseada.

De más de 2000 enzimas conocidas, solamente unas cuantas son utilizadas en alimentos, y la mayoría de ellas son hidrolasas, que comprenden: glicohidrolasas, proteasas, lipasas y esterasas. Mientras que algunas de éstas enzimas son de origen animal y vegetal, la mayoría son de origen microbiano clasificadas por especie como "GRAS" (Generally Regarded As Safe, Generalmente consideradas como seguras) por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos.

En la actualidad hay una tendencia creciente a usar en--

zimas de origen microbiano en lugar de origen vegetal o animal, debido a que las enzimas de origen microbiano son de más fácil obtención y poseen propiedades más adecuadas de term-- estabilidad, resisten más las fluctuaciones del pH etc.

1.1 IMPORTANCIA DE LAS ENZIMAS EN ALIMENTOS

Las enzimas, desde el punto de vista químico son proteínas especializadas en la catálisis de reacciones biológicas, y catalizan diferentes tipos de reacciones.

La actividad de algunas enzimas depende solamente de su estructura como proteínas. Otras, necesitan uno ó más componentes no protéicos llamados cofactores, que pueden ser un ión metálico o una molécula orgánica llamada coenzima.

La base molecular de la especificidad de las enzimas depende de las exigencias químicas del lugar de la enzima en la que el sustrato, (molécula sobre la que ésta actúa) se une a ella, dicho sitio se llama: sitio activo, y está formado en parte por la cadena polipeptídica, y en parte por la coenzima.

Las enzimas que son componentes naturales de muchos alimentos se denominan endógenas, (4) y su presencia puede causar efectos favorables en la calidad final del alimento, o, por el contrario pueden reducir su calidad. Por eso, es importante para el tecnólogo en alimentos, el estudio de las reacciones enzimáticas naturales, para así aprovechar los efectos deseables, y tratar de eliminar los indeseables.

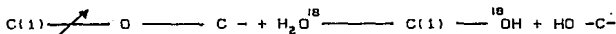
La Tabla 1 muestra ejemplos de enzimas endógenas en alimentos.

TABLA 1 ENZIMAS ENDOGENAS EN ALIMENTOS

ENZIMAS		ACCION
AMILASA	(Malta germinada)	Convierte el almidón del endospermo en azúcares fermentables para la elaboración de cerveza.
AMILASA	(Papa)	Convierte el almidón en azúcares.
PEROXIDASA	(Vegetales)	Causa olores indeseables durante el almacenamiento.
CATEPSINAS	(Carne)	Cambios autocatalíticos en el tejido.
INVERTASA	(Miel)	Las abejas producen en forma natural azúcar invertido.
MIROSINASA	(Mostaza)	Responsable del aroma.
LIPASA	(Leche)	Hidroliza grasas y produce sabores característicos.
PROTEASA	(Harina de trigo)	Degrada el glúten.
ESTERASA	(Frutas)	Produce ésteres durante la maduración que son responsables del olor.
ALINASA	(Cebolla y ajo)	Produce olores al dañar el tejido.
POLIFENOL- OXIDASA	(Frutas y vegetales)	Oscurecimiento aeróbico del alimento durante el daño físico del tejido.

2 ENZIMAS GLICOHIDROLASAS

Pertenece al grupo de las hidrolasas. Las glicohidrolasas rompen las uniones glicosídicas por el mecanismo de hidrólisis. La reacción general es la siguiente:



donde C(1) representa el carbono anomérico del glicón, y C - representa cualquier carbono del aglicón. La hidrólisis del enlace glicosídico está indicada por la flecha y es comprobada con el uso de H_2O^{18} .

En un glicósido, el grupo monosacárido que proporciona el grupo reductor implicado en el enlace glicosídico se llama glicón, y el grupo monosacárido que proporciona el grupo alcoholico se llama aglicón.

Hay varios factores que afectan la especificidad de estas enzimas:

1. La configuración D y L del glicón es importante. Los polisacáridos naturales son formados por monosacáridos de la configuración D, y las enzimas implicadas en su hidrólisis son específicas para la configuración D.

2. La configuración alfa o beta del carbono anomérico del glicón determina si una enzima puede hidrolizar el glicósido. Algunas enzimas son específicas para la configuración alfa, otras para la beta. Por ejemplo: maltosa y celobiosa son disacáridos formados por dos residuos de D-glucosa unidos

por enlaces glicosídicos (1,4). La única diferencia entre los dos es que en maltosa el enlace glicosídico es alfa 1,4 y en celobiosa es beta 1,4. Sin embargo, no son hidrolizados por la misma enzima.

3. El tamaño del anillo de los residuos de monosacárido que forma el glicósido es importante.

4. La posición de la unión con el aglicón también determina la especificidad de la enzima. Por ejemplo: alfa y beta amilasas hidrolizan los enlaces alfa 1,4 del almidón, pero no se pueden romper los enlaces alfa 1,6 que se encuentran en la fracción amilopectina del almidón.

5. La mayoría de las glicohidrolasas tienen especificidad por el tamaño de la molécula de sustrato. Así, alfa y beta amilasa prefieren moléculas grandes de almidón, pero no degradan maltosa.

6. La naturaleza del glicón es también importante. Muchas enzimas solamente degradan glicósidos en los que el glicón es un monosacárido específico. Por ejemplo: en maltosa, el glicón es glucosa. Lactosa es formada por galactosa como glicón, y glucosa como el aglicón. Sin embargo, maltasa solamente hidroliza maltosa. No afecta lactosa.

7. La naturaleza del átomo que forma el puente del enlace glicosídico también influye en la especificidad. Hay glicósidos formados por oxígeno, otros por nitrógeno y otros por azufre. Las enzimas son distintas en cada caso.

2.1 CLASIFICACION DE LAS ENZIMAS GLICOHIDROLASAS

Este grupo de enzimas se puede clasificar en :

-Amilasas

-Enzimas pecticas

-Disacáridasas

-Celulasas

3 AMILASAS

Las amilasas hidrolizan almidón, glucógeno y otros glucanos que contienen enlaces glicosídicos alfa 1,4.

Las amilasas de importancia en alimentos se pueden dividir en tres clases:

- alfa amilasa
- beta amilasa
- glucoamilasa

3.1 ALFA AMILASA

(alfa-1,4-glucan 4-glucanohidrolasa)

Es una endoenzima que actúa al azar en el interior de la molécula de almidón produciendo dextrinas, maltosa y glucosa.

Es importante mencionar que el almidón se halla en la naturaleza en dos formas que son: amilosa y amilopectina. (21) La primera está formada por cadenas no ramificadas de unidades de D-glucosa unidas por enlaces alfa 1,4. La amilosa, -- produce color azul con el yodo, y no es muy soluble en agua, pero forma micelas hidratadas (1). La amilopectina está altamente ramificada y cada ramificación llega a tener 24 a 30 unidades glucosídicas. Los enlaces glucosídicos son, como en el caso de la amilosa, de tipo alfa 1,4, pero presenta otro tipo en los puentes de ramificación donde se hallan enlaces glicosídicos alfa 1,6. La amilopectina produce un color rojo violeta con el yodo. La figura 1 muestra la estructura química de la amilopectina.

Alfa amilasa es específica para el enlace glicosídico alfa 1,4, y por ésta razón degrada parcialmente la fracción de amilopectina de almidón, formando dextrinas que contienen enlaces glicosídicos alfa 1,6 en los puntos de ramificación y maltosa. Es característico de alfa amilasa que haya retención de configuración alrededor del carbono anomérico. Así, se producen: alfa dextrinas, alfa maltosa y alfa glucosa.

Esta enzima se encuentra en animales, plantas y micro--

organismos. En el hombre se encuentra alfa amilasa en la saliva y en el páncreas.

Todas las amilasas que han sido cristalizadas contienen un átomo de calcio por molécula. Si se elimina el calcio, se inactiva la enzima.(4). Aparentemente, la función del calcio es mantener la conformación de la alfa amilasa. No hay ninguna prueba de que el calcio participe directamente en la combinación del sustrato.

El pH óptimo y la temperatura óptima de alfa amilasa dependen de la fuente de obtención.

La enzima de los mamíferos actúa en condiciones óptimas en un rango de pH de 6 a 7, la de Bacillus subtilis entre 5.8 y 6.

La temperatura óptima se encuentra cercana a los 40°C. en mamíferos, y hasta 70-80°C en B. subtilis.

FUENTES DE OBTENCION DE ALFA AMILASA

La fuente industrial más importante de alfa amilasa está representada por los sistemas microbianos. Muchos son los microorganismos capaces de sintetizar la enzima, en la Tabla 2 se muestran varios microorganismos productores de alfa amilasa (2). Sin embargo, la producida por los géneros *Bacillus* y *Aspergillus* posee gran interés industrial actualmente.

Además de su abundancia y bajo costo de producción, la aplicación industrial de alfa amilasa microbiana se encuentra estrechamente relacionada a las propiedades intrínsecas de la misma, como su termoestabilidad y pH óptimo de acción. Con base a éstos criterios, se ha logrado distinguir una serie de alfa amilasas microbianas como las termofílicas, las termolábiles, las acidicas y las alcalinas (2).

TABLA 2. MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ALFA AMILASA

BACTERIAS	OTROS GENEROS
B. subtilis	Lactobacillus
B. natto	Micrococcus
B. cereus	Pseudomonas
B. macerans	Arthrobacter
B. amyloliquefaciens	Escherichia
B. coagulans	S. albus
B. megaterium	Serratia
B. licheniformis	S. aureofaciens
B. caldolyticus	S. flavus

Ref. (2)

3.2 AMILASAS TERMOFILICAS

Actúan a temperaturas relativamente altas. Por ejemplo, la enzima obtenida de B.licheniformis es activa a temperaturas que van de 75 a 100°C.

AMILASAS TERMOLABILES

Las amilasas termolábiles no son estables al calor. Su temperatura óptima de acción oscila alrededor de los 55°C. Y como fuente de éstas enzimas se encuentran principalmente los géneros *Aspergillus* y *Rhizopus*.

AMILASAS ACIDOFILICAS

La cepa Bacillus acidocaldarius produce una amilasa acidofílica que posee un valor de pH óptimo para su actividad de 3.5, y una temperatura óptima de 75°C.

AMILASAS ALCALINAS

Las amilasas alcalinas poseen un pH óptimo de actividad por encima de 8. Casos representativos de este tipo de amilasas son las obtenidas de Bacillus alcalofila, cuya acción puede llevarse a cabo en condiciones óptimas a valores de pH de 9.2. Varias especies de *Bacillus* poseen amilasas cuya actividad se lleva a cabo a pH 10 ó más elevados. Generalmente éste tipo de amilasas no son termoeestables.

3.3 AMILASA DE Aspergillus Oryzae

Esta enzima causa la rápida hidrólisis del almidón a productos que no dan coloración con el yodo y que producen -- mutarrotación.

La presencia de cloruro de sodio casi duplica la velocidad de la hidrólisis del almidón a productos que no dan coloración con el yodo.

La amilasa de Aspergillus oryzae resiste sin pérdida apreciable en su actividad una hora de calentamiento a 45°C. A temperaturas inferiores a 40°C, conserva su actividad por períodos largos de tiempo. Su estabilidad máxima es a pH 6.4. Algunos autores reportan actividad óptima a pH entre 5.8 y 6.

AMILASA DE Bacillus subtilis

La amilasa de Bacillus subtilis produce una disminución -- rápida en la viscosidad del almidón, y lo hidroliza hasta -- productos que dan coloración con el yodo. Si la hidrólisis se efectúa a temperatura ambiente, cuando se ha alcanzado un poder reductor del 33 % del rendimiento teórico de maltosa, los productos estarán formados por maltosa y dextrinas en composición muy diversa (3).

El pH óptimo para ésta amilasa es de 6.5 - 8. Difiere de otras amilasas en su termoestabilidad, pues produce rápida li-cuefacción del almidón a temperaturas relativamente altas.

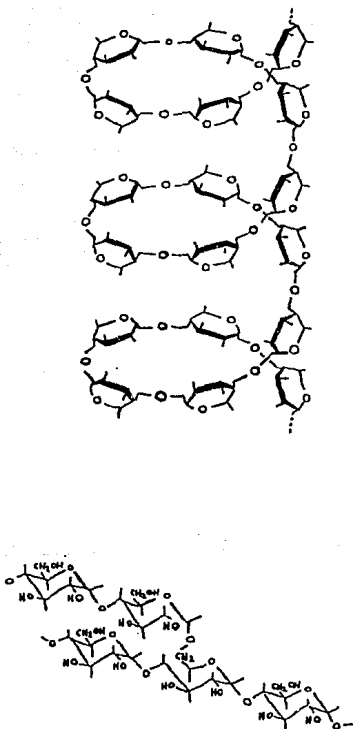


Fig. 1 Estructura química de la amilopectina.

3.4 BETA AMILASA

(alfa 1,4 glucan maltohidrolasa)

Es una exo enzima que hidroliza almidón, atacándolo solamente por su extremo no reductor, formando dextrinas y maltosa. Actúa sobre los enlaces glicosídicos alfa 1,4. No puede hidrolizar las ramificaciones formadas por enlaces alfa 1,6 en la fracción amilopectina del almidón, y produce una dextrina muy grande llamada dextrina límite (4).

El nombre de beta amilasa no indica el tipo de enlace hidrolizado, más bien significa que hay inversión de la configuración alrededor del carbono anomérico y los productos de hidrólisis son beta dextrinas y beta maltosa.

Su pH óptimo está generalmente entre 5 - 6. La temperatura óptima depende de la fuente de obtención, pero en general está entre 50 - 65°C.

Se ha encontrado beta amilasa en plantas superiores, tales como cebada, trigo, centeno, camote y soya.

La beta amilasa al actuar sobre la amilosa la hidroliza completamente hasta maltosa, separando los residuos de maltosa del extremo no reductor de la cadena, por hidrólisis de los enlaces glicosídicos alfa 1,4, sin embargo, la misma beta amilasa al actuar sobre la amilopectina, forma maltosa por mecanismo idéntico quedando por lo tanto una dextrina límite cuando ya han sido hidrolizadas todas las cadenas laterales con un extremo no reductor y uniones glucosídicas alfa 1,4.

Si a ésta dextrina límite, resistente a la acción de la beta amilasa, se le rompen las uniones glucosídicas alfa 1,4, que se encuentran entre las ramificaciones de la molécula de -- amilopectina, el producto de la hidrólisis es susceptible nuevamente a la acción de la beta amilasa.

3.5 GLUCOAMILASA

(alfa 1,4 glucán glucosidolasa)

Es una exo enzima que ataca el almidón únicamente por el extremo no reductor; pero, a diferencia de beta amilasa, se produce glucosa.

La glucoamilasa tiene preferencia por los enlaces alfa 1,4, pero también ataca más lentamente enlaces glucosídicos alfa 1,6 y alfa 1,3.

Esta exo enzima también causa inversión de la configuración alrededor del carbono anomérico, formando beta glucosa. En la práctica, la glucoamilasa sola no puede convertir amilopectina totalmente en beta glucosa. Siempre existe formación de dextrinas. Probablemente, es debido a la falta de accesibilidad de la enzima, porque si se agrega también alfa-amilasa a la mezcla, se convierte prácticamente todo el almidón en beta glucosa (4).

Solamente se ha encontrado glucoamilasa en microorganismos. Su pH óptimo va de 4 a 4.4. Su temperatura óptima está entre 50 - 60°C.

3.6 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE AMILASAS BACTERIANAS.

La actividad de las alfa amilasas sobre el almidón generalmente se determina por el procedimiento en el cual se mide la pérdida de la habilidad para dar color con el yodo, debido a la acción de la enzima.

Los primeros investigadores llevaron la hidrólisis enzimática al punto donde la adición del yodo no producía coloración (punto acróico) (5).

Posteriormente se eligió un punto final basado en el cambio de un color azul oscuro a un color café rojizo. El punto final puede ser determinado por el uso de cristales estándar de color con tintes orgánicos ó inorgánicos.

El método más comúnmente usado es una modificación del método Vohlgemut publicado por Sandstedt, Kneen y Blish (SKB), en el que la actividad de la amilasa es expresada en unidades arbitrarias de alfa amilasa por SKB.

Los métodos basados en la pérdida de la actividad del almidón para dar color con el yodo se llaman métodos dextrinogénicos. Aunque también se pueden utilizar métodos más sensibles de medición basados en la pérdida rápida de la viscosidad causada por la acción de la enzima.

En la medición de la viscosidad pueden usarse viscosímetros capilares, balanzas de tensión, pipetas de Ostwald y otros aparatos. Estos métodos generalmente son más sensibles.

La actividad dextrinizante en proporción con la actividad sacarificante varía para las diferentes amilasas, esto puede explicarse por la suposición de que la enzima varía en su preferencia por ciertos enlaces dentro de la molécula de almidón.

Diferencia en la acción de amilasas:

Se pueden diferenciar por la manera como hidrolizan el almidón. La alfa amilasa, por ser una endo amilasa reduce rápidamente la viscosidad de las dispersiones de almidón, mientras que las dos exo amilasas reducen lentamente la viscosidad. Hay diferencias en pérdida de color del yodo, ésta es rápida con alfa amilasa y lenta con beta amilasa y glucoamilasa. Por otro lado, la beta amilasa produce maltosa rápidamente, mientras que alfa amilasa produce maltosa lentamente.

La glucoamilasa no produce maltosa sino glucosa rápidamente. El poder reductor de las dispersiones de almidón aumentan considerablemente con las tres amilasas.

3.7 ALMIDONES ALIMENTICIOS

Los carbohidratos se encuentran almacenados como reserva en todas las plantas, pero los más abundantes y de mayor distribución en las reservas de carbohidratos son los almidones. Estos polisacáridos de reserva se almacenan principalmente en semillas, frutos, tubérculos, raíces y tallos. Los almidones se presentan como partículas definidas o gránulos de 2 a 150 micras de diámetro. El aspecto físico y las propiedades de los gránulos varían ampliamente de una planta a otra y pueden utilizarse para clasificar a los almidones de acuerdo con su origen. Algunos son redondos, otros elípticos y otros poligonales. La mayoría presenta un centro de origen llamado hilo, que con frecuencia es el centro de dos o más líneas o grietas; el cual, a menudo se rodea por anillos laminares concéntricos similares a los anillos de crecimiento en un árbol.

Los diámetros de los gránulos de algunos almidones comestibles, dados en micras son como sigue:

maíz	4 a 6	micras
papa	15 a 100	micras
camote	15 a 55	micras
arroz	3 a 9	micras
trigo	2 a 36	micras

Cuando se colocan en agua los gránulos de almidón, no se hinchan en forma considerable. Sin embargo, cuando una suspensión de ellos se calienta a una determinada temperatura, -

se produce un hinchamiento rápido y extenso, así como la gelatinización con un aumento en claridad de la suspensión. La pasta de almidón que se forma se compone de gránulos hinchados que ocupan mayor espacio y dan a la pasta sus características de alta viscosidad. Este hinchamiento puede inducirse a temperatura ambiente por medio de numerosos agentes químicos, incluyendo bases fuertes. Las sales, como el sulfato de sodio, impiden la gelatinización.

Las pastas de almidón de papa son mucho más transparentes y menos rígidas que las pastas producidas en concentraciones equivalentes de almidón de maíz. En muchos alimentos que contienen almidón, las partículas suspendidas de proteínas u otras sustancias, enmascaran la claridad de la pasta del almidón. En otras, la claridad contribuye considerablemente al atractivo visual del alimento. Los rellenos para pastel de cereza y otras frutas, son más llamativos cuando se puede ver con claridad la fruta a través de un jugo transparente y espeso.

Si se agita rápidamente una pasta de almidón, hace que los gránulos se desacomoden y la viscosidad de la pasta decaiga progresivamente, llegando a ser la de los polisacáridos de amilosa y amilopectina.

Cuando una suspensión acuosa de almidón se deja en reposo bajo condiciones asépticas, se hace opalescente y finalmente precipita, lo que se conoce como retrogradación. La retrogra-

dación es más rápida a medida que la concentración del almidón aumenta y la temperatura disminuye hacia 0°C. Este efecto se produce en un intento de cristalización de parte de las moléculas de almidón y es la reacción principal en el endurecimiento del pan.

Cerca de 1/3 del almidón de maíz total y 95% del jarabe de maíz total, se venden con propósitos alimenticios.

3.8 PROCESOS INDUSTRIALES PARA LA OBTENCIÓN DE GLUCOSA

Durante muchos años, la glucosa ha sido producida -- mediante la hidrólisis ácida del almidón (29). El proceso general se muestra en la Fig. 2

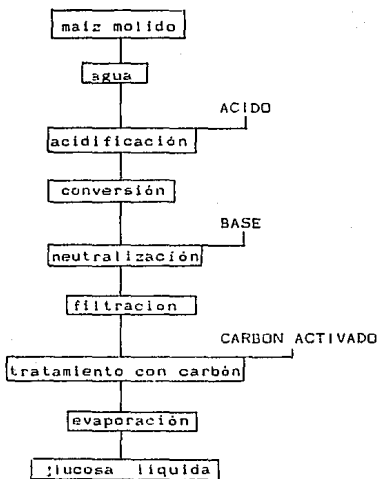


Fig. 2 Hidrólisis ácida para obtención de glucosa.

La hidrólisis ácida para la obtención de glucosa presenta desventajas como:

- la necesidad de neutralizar el producto.
- formación de subproductos que disminuyen el rendimiento.
- se requiere de un equipo especial que sea resistente al ácido y a la corrosión.

Debido a éstas desventajas fué necesario crear un proceso - que además de suprimir lo anterior, mejorará la calidad en cuanto a dulzura y funcionalidad de la glucosa obtenida. Para éste fin se ha realizado la hidrólisis enzimática.

En la hidrólisis enzimática del almidón, el proceso tiene dos etapas enzimáticas: la licuefacción y la sacarificación.

En la licuefacción, los gránulos del almidón son suspendidos en agua, gelatinizados con calor, he hidrolizados con - alfa amilasa. El objetivo de la licuefacción es obtener un - alto rendimiento de dextrinas solubles y de baja viscosidad (situación adecuada para el proceso).

En la etapa de sacarificación, las dextrinas son fácilmente hidrolizadas a glucosa por glucoamilasa.

A finales de los años 50s, las glucoamilasas derivadas de - *Aspergillus niger* fueron comercializadas y empleadas para mejorar significativamente la conversión de almidón a glucosa.

La licuefacción ácida y la sacarificación enzimática re -- emplazó al proceso de hidrólisis ácida del almidón, el cual -

se esquematiza en la Fig. 3

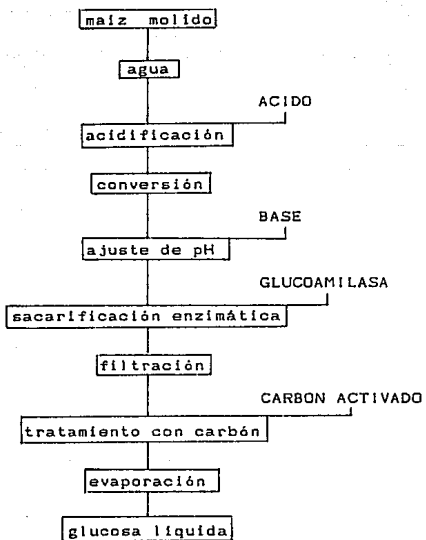


Fig. 3 Proceso ácido enzimático para la obtención de glucosa

El proceso que ha reportado mejores resultados en comparación con los anteriores, es el que emplea enzimas tanto en la licuefacción como en la sacarificación; el cual, se esquematiza en la Fig. 4.

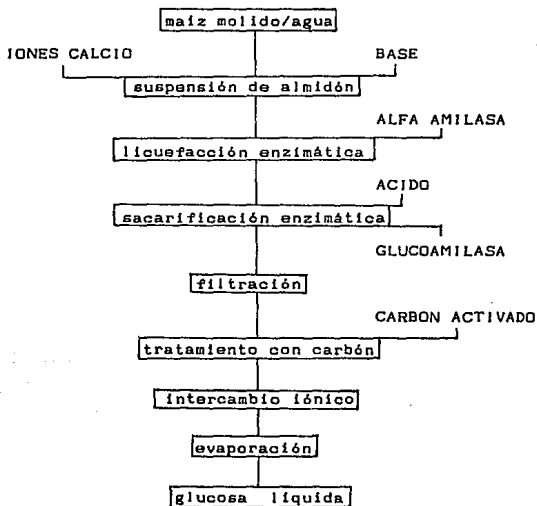


Fig. 4 Proceso enzimático para obtención de glucosa.

Proceso Industrial de licuefacción enzimática.

Para la licuefacción enzimática se han adoptado dos procesos; el de baja y el de alta temperatura. La ventaja del de baja temperatura, es la mínima cantidad de vapor que se necesita. La ventaja del proceso de alta temperatura es que la gelatinización del almidón, y su posterior filtración, se llevan a cabo más eficazmente.

Para ambos procesos el control del pH es fundamental. Valores de pH inferiores a 4.5 disminuyen la velocidad de la reacción. Valores de pH superiores a 5.8 incrementan la formación de subproductos durante la licuefacción.

La alfa amilasa de Bacillus licheniformis requiere iones calcio para su máxima estabilidad. La enzima se enlaza a los iones calcio estabilizando la molécula y manteniendo una configuración enzimáticamente activa. De ésta forma la enzima aumenta su resistencia a ser desnaturalizada por efectos de temperatura y pH.

Es importante mencionar que el calcio no interviene en la hidrólisis del almidón, y la cantidad de iones calcio necesarios dependerán de la concentración de la enzima.

3.9 ESPECIFICACIONES DE TENASE Y DIAZYME L-200
(AMILASAS EMPLEADAS EN LA OBTENCION DE GLUCOSA A
NIVEL INDUSTRIAL)

TENASE (alfa amilasa)

Esta amilasa es obtenida por la fermentación controlada de Bacillus licheniformis aceptada y recomendada por la FAO como una enzima apta para la tecnología de alimentos.

Es una endoamilasa que hidroliza los enlaces glicosídicos alfa 1,4 del almidón, produciendo soluciones de dextrinas y oligosacáridos. La hidrólisis propagada forma maltosa y -- glucosa.

La amilasa es activa y estable a temperaturas superiores a los 100°C, y puede hidrolizar efectivamente al almidón a -- pHs menores que otras alfa amilasas comerciales.

Características de la enzima:

Color: ambar
Olor: inodora
Sabor: insabora
Densidad: 1.20-1.25 g/ml.

Activadores y cofactores:

No se necesitan activadores para la completa actividad de -- ésta enzima.

La alfa amilasa es una metaloproteína que requiere calcio -- como cofactor para su máxima estabilidad. Los iones de calcio no intervienen en la hidrólisis del almidón, pero estabilizan

la estructura de la proteína manteniéndola una configuración --
enzimáticamente activa.

Efecto del pH y temperatura:

La enzima licúa satisfactoriamente al almidón en un rango --
de pH que va de 4.5 a 8, a temperaturas entre 85 y 100°C.

Inhibidores:

Esta enzima puede ser moderadamente inhibida por iones me--
tálicos de cobre, hierro y cobalto. El aluminio y el zinc --
son inhibidores enérgicos de la enzima.

Sustratos:

La enzima puede ser empleada para hidrolizar almidón de
papa, maíz, cebada, trigo etc.

DIAZYME L - 200 (glucoamilasa)

Esta es una enzima derivada de Aspergillus niger, aceptada y recomendada por la FAO como una enzima apta para la tecnología de alimentos.

Es un exo enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces glicosídicos alfa 1,6 y alfa 1,4 del almidón. Hidroliza con más rapidez oligosacáridos de alto peso molecular.

Características de la enzima:

Color: ambar-café claro

Olor: inodora

Sabor: insabora

Densidad: 1.20-1.25 g/ml

Activadores y cofactores:

No se requiere ningún tipo de activador y/o cofactor para la actividad de ésta enzima.

Efecto del pH y temperatura:

Esta glucoamilasa tiene un pH óptimo en un rango de 4-4.4. Puede hidrolizar satisfactoriamente las dextrinas del almidón en un rango de 3-5.

La temperatura óptima de actividad va de: 40 - 65°C.

Transglucosidasa:

La transglucosidasa es una enzima asociada con muchas glucoamilasas. Actúa reduciendo la producción de glucosa a partir del almidón formando oligosacáridos con enlaces glico-

sídicos alfa 1,6. Los oligosacáridos formados son rehidro--
lizados a glucosa lentamente.

3.10 APLICACION DE LAS ENZIMAS EN PANADERIA

El pan se horneó por primera vez en Egipto hace casi 6000 años, y desde entonces incursionó en el Occidente variando sus ingredientes, sabor, textura y forma. Los inmigrantes europeos y del Medio Oriente que llegaron a éste país llevaron varias recetas de pan que han pasado de generación en generación.

La industria de la panificación incluye diversos productos tales como: galletas, gran variedad de bizcochos, pasteles, tartaletas, pies etc.

El uso de enzimas es de importancia primordial para obtener una buena calidad en el producto final (13).

La panificación incluye cuatro etapas principales:

1. La masa se elabora a partir de harina, agua y algunos aditivos como sal, y levadura para dar consistencia.
2. La masa es fermentada, dividida y moldeada. Actúa el glúten, y hay producción de dióxido de carbono.
3. El pan se cuece y se desarrolla la coloración de la corteza. La temperatura debe permanecer a 100 C; a ésta temperatura las proteínas son desnaturalizadas y el almidón es gelatinizado, de ésta forma la migaja adquiere una textura porosa.
4. El pan es cocinado, y se enfría durante su almacenamiento.

Acción de las Amilasas.

La cantidad de monosacáridos y disacáridos fermentables en

la harina de trigo es bastante pequeña, generalmente no excede a un 0.5%. Esta cantidad no es suficiente para mantener la fermentación requerida y dar un buen volumen, es por ésto que la calidad del pan depende de la generación de maltosa -- por la actividad enzimática de alfa y beta amilasa en la harina. Walden (1955), analizó el efecto de las dos amilasas alfa y beta, y observó que el grado de hidrólisis es mayor -- cuando actúan las dos enzimas, que la suma de la hidrólisis producida cuando las amilasas trabajan separadamente.

La harina de trigo proveniente de granos sin germinar contiene mayor cantidad de beta amilasa que de alfa amilasa, ésto reduce la producción de azúcares fermentables en la masa, la cual generalmente, requerirá una suplementación de alfa -- amilasa. Esta suplementación ofrece ventajas en cuanto a las propiedades reológicas de la masa, para la migaja, y para las características del pan en general.

Solamente la alfa amilasa es capaz de hidrolizar al almidón en estado nativo, aunque la degradación es mínima. La estructura del almidón es considerablemente modificada por el tratamiento térmico de la masa durante el cocimiento inicial, y ésto aumenta considerablemente el ataque amilolítico.

Actividad amilolítica durante la preparación de la masa.

La actividad amilolítica empieza tan pronto como el agua es añadida a la masa, la estructura del almidón se conserva por una temperatura baja y constante, y no se afecta la acción de

la enzima. La hidratación del almidón es baja; un 50% del agua disponible se asocia con éste, y el otro 50% se distribuye entre las proteínas insolubles. Bajo éstas condiciones, solo alfa amilasa es capaz de hidrolizar el almidón ileso, es decir, el almidón que no ha sido dañado. Por otro lado, el almidón que ya ha sufrido algún daño, es atacado rápidamente -- por ambas enzimas.

La maltosa es el azúcar de mayor formación durante la preparación de la masa, y es fermentada más lentamente que la glucosa. La producción de maltosa proviene principalmente de la acción de beta amilasa sobre el almidón dañado.

En el proceso amilolítico se produce dióxido de carbono, y consecuentemente, éste origina un aumento de volumen en el pan. En algunos procesos de panadería el volumen final del producto, es obtenido no solamente por la fermentación sino también por la alta velocidad de mezclado de la masa.

Actividad amilolítica durante el cocimiento.

Cuando la masa alcanza 56 °C, el almidón es gelatinizado, y su hidratación, y la dispersión de amilasa aumenta.

La presencia de alfa y beta amilasa simultáneamente tiene un efecto sinérgico en la amilolisis, la intensidad de la reacción depende de la cantidad de cada enzima y del porcentaje de cada una con respecto a la otra.

Los oligosacáridos producidos durante la fermentación y el cocimiento no son completamente consumidos para la producción

de dióxido de carbono. Algunos de éstos oligosacáridos están contenidos entre las migajas y contribuyen a las características de sabor; los que quedan en la superficie del pan tienen que ver con la caramelización y en las reacciones de Maillard, que son responsables de la coloración y sabor de la corteza del pan.

Suplementación de la harina.

Si la calidad de la harina no es adecuada, o, en caso de que la amilólisis sea deficiente, se añade alfa amilasa (8).

Anteriormente, la harina era suplementada con cebada maltada, ahora también se hace con amilasas obtenidas a partir de hongos ó amilasas bacterianas.

Las amilasas fúngicas en general, son inactivadas antes de la completa gelatinización del almidón, por tanto, se reduce su acción durante el cocimiento. Estas amilasas pueden emplearse con seguridad aún cuando se añada accidentalmente una cantidad excesiva.

Las amilasas bacterianas se inactivan parcialmente a temperaturas más elevadas, pero presentan una problemática; con una sobredosis, se produce una acumulación de dextrinas, y esto es perjudicial para la calidad del pan.

Los resultados obtenidos por Beck en 1957, muestran que las amilasas fúngicas no incrementan la producción de maltosa.

Se ha puesto mucha atención en la alfa amilasa bacteriana -

como una forma para retardar el envejecimiento del pan, que trae consigo cambios en su calidad. La dureza de la migaja, - es probablemente el cambio más importante asociado con el envejecimiento del pan; y es causada por una agregación espontánea de varias porciones de cadenas de moléculas de almidón durante el almacenamiento prolongado.

El uso de la amilasa bacteriana aumenta la suavidad, y así, facilita el corte del pan y ayuda a prolongar su vida de -- anáquel.

4 ENZIMAS PECTICAS

Las enzimas pécticas ó pectinasas pertenecen a un grupo de enzimas que degradan las sustancias pécticas.

Hay tres grupos de enzimas pécticas:

- pectinesterasas
- poligalacturonasas
- pectatoliasas

4.1 PROPIEDADES DE LA PECTINA

Las sustancias pécticas constituyen las paredes celulares y las capas intercelulares de todas las plantas superiores. Son materiales coloides solubles, de considerable capacidad para absorber agua.

La pectina es el término general para las sustancias pécticas las cuales forman geles característicos de ácido-azúcar.

La pectina está formada por una larga cadena de moléculas de ácido poligalacturónico, y tiene alrededor del 75% de sus grupos carboxílicos esterificados con metanol. La Fig. 5 muestra la estructura de la pectina.

Durante el desarrollo de las frutas, las pectinas se forman a partir de un precursor insoluble, el cual ha sido llamado protopectina ó pectosa. Según Branfoot (9), la protopectina puede observarse en los tejidos vegetales tiñendolos con rojo de rutenio.

Al calentar sustancias vegetales ricas en pectina en agua acidulada, se libera protopectina probablemente a partir de la celulosa adherente que se hidroliza produciendo pectina que se disuelve con rapidez y facilidad en el agua.

La pectina es un coloide de carga negativa, de tipo liofílico, sus soluciones desvian a la derecha la luz polarizada. Precipita fácilmente en soluciones acuosas con

alcohol o acetona en forma de suspensión gelatinosa, que -- volverá a ser soluble en agua. Este precipitado también -- puede lograrse mediante ciertas sales, como sulfato de aluminio, e hidróxido amónico, con los que se forma hidróxido de aluminio, cuyas partículas coloides arrastran a una carga eléctrica de signo opuesto al de la pectina.

La pectina, bajo la acción de los álcalis y de los -- carbonatos se transforma en ácido péctico.

En términos generales, la pectina es un polímero que -- se constituye de unidades de ácido galacturónico unidas por enlaces glicosídicos alfa 1,4. En las pectinas naturales -- aproximadamente 2/3 de los grupos ácidos carboxílicos están esterificados con metanol.

Las pectinas se extraen comercialmente de las cáscaras de frutas cítricas utilizando diferentes ácidos diluidos -- bajo ciertas condiciones de temperatura. Por ser insolubles en alcohol, se pueden separar de otros compuestos que hayan sido extraídos en éste primer paso. Durante la extracción -- de las pectinas se debe controlar la concentración de ácido y la temperatura, ya que éstos factores pueden inducir cambios químicos en su estructura, como la hidrólisis de los -- enlaces éster y el glucósido, ó bien en despolimerización -- de la cadena. En cualquier caso, las propiedades físicas de la pectina cambiarán de acuerdo con la intensidad del tra-- tamiento ácido térmico.

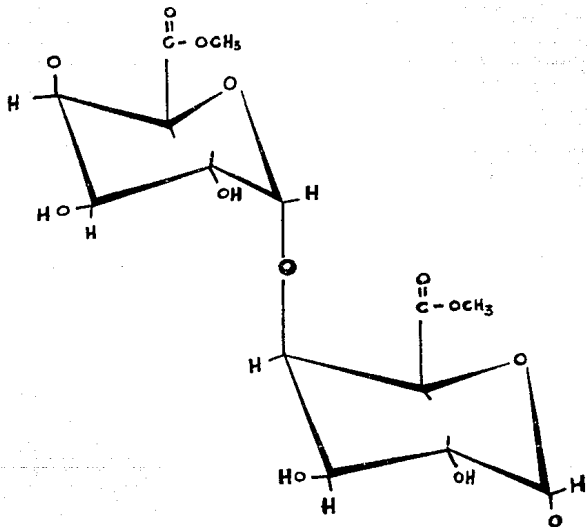


Fig. 5 Estructura de la Pectina.

La característica química más importante de las pectinas es su contenido de grupos carboxilo que le imparten -- propiedades muy diferentes a las de otros carbohidratos que no tienen grupos ionizables. Los carboxilos de las pectinas pueden estar en forma no ionizada COOH a pH menos de 3, en forma ionizada COO^- a pH mayores de 3, ó metilados COOCH_3 . - En cada caso tienen diferente capacidad de interaccionar -- con los otros constituyentes de los alimentos; los carboxilos ionizados son los que le imparten la mayor reactividad al polímero.

Durante el procesamiento de los alimentos que contie-- nen pectinas pueden suceder muchos cambios causados por varias enzimas naturales que actúan sobre éstos polisacáridos. Las enzimas pécticas se encuentran en diferentes -- plantas y en frutas, y además son sintetizadas por varios - microorganismos.

TABLA 3 CONTENIDO DE LAS PECTINAS EN FRUTOS (%)

Manzana	0.5 - 1.6	Zanahoria	1.4 - 6.9
Piátano	0.7 - 1.2	Naranja	12.4 - 28.0
Durazno	0.1 - 0.9	Papa	1.8 - 3.3
Fresa	0.6 - 0.7	Tomate	2.4 - 4.6
Cereza	0.2 - 0.5		

Ref. (18)

4.2 PECTINESTERASA (pectasa, pectimetoxilasa, pectin- metil-esterasa)

Esta enzima cataliza la eliminación de los grupos metoxilo de la molécula péctica. Abunda en tomates y cítricos

En la pectina, únicamente del 67 - 75% de los grupos carboxílicos están esterificados, de manera que hay un número de puntos a lo largo de la cadena donde la enzima puede empezar la eliminación de los grupos metoxilo.

Se ha demostrado que la pectinesterasa está asociada con partículas sólidas de la pared celular. Esta asociación ha sido demostrada por Bonner y sus colaboradores (22) en el jugo de naranja, en el que la pectinesterasa se encuentra como una enzima insoluble ligada a las estructuras.

1 mg de sustancia péctica de la pared celular puede fijar hasta 5 mg de pectinesterasa. La actividad óptima de esta enzima es a pH 7.5.

La figura 6 muestra la actividad de la pectinesterasa sobre la pectina.

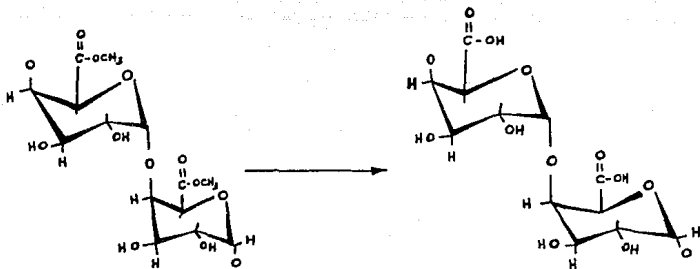


Fig. 6 Actividad de pectinesterasa sobre la pectina.

4.3 POLIGALACTURONASA (pectinasa, poligalacturonidasa, pectolasa)

Cataliza la hidrólisis glucosídica del ácido poligalacturónico (ácido péctico) en unidades de ácido D-galacturónico. La figura ; muestra la reacción general.

La actividad óptima de la poligalacturonasa se logra a un pH de 3.5 a 4.2.

Esta enzima se inactiva sobre el polímero totalmente metilado, pero en presencia de pectinesterasa, que es capaz de desmetilar la pectina, escinde todos los enlaces de la cadena y produce ácido D-galacturónico libre.

En los últimos años numerosos investigadores han demostrado la compleja naturaleza de las enzimas pécticas; y se ha sugerido la existencia de otra enzima intermediaria: pectindespolimerasa, capaz de hidrolizar la molécula de pectina en unidades más pequeñas, aunque no hasta ácido galacturónico. Se ha indicado su existencia en levaduras y tomates. Hidroliza sólo alrededor del 11% de los enlaces glucosídicos del ácido péctico y es muy resistente al calor

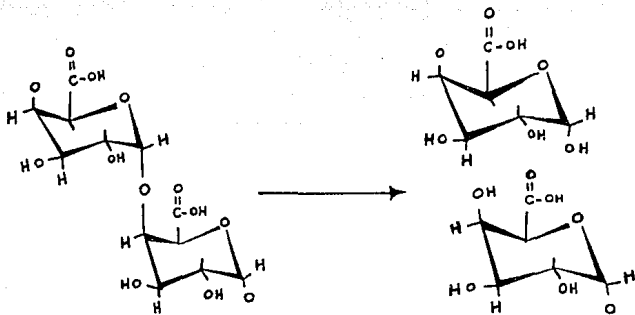


Fig. 7 Actividad de la poligalacturonasa sobre la pectina.

4.4 PECTATOLIASAS (liasas pécticas, pectin trans-eliminadasas ó liasas)

Estas enzimas tienen la propiedad de formar dobles ligaduras entre los carbonos 4 y 5 de la molécula de ácido D-galacturónico, lo que trae como consecuencia el rompimiento del enlace glucosídico y la reducción de la viscosidad de las dispersiones de pectinas. Estas reacciones que conducen a la formación de dobles ligaduras, también ocurren cuando las pectinas se calientan en presencia de álcalis fuertes.

Las transeeliminadasas pueden subdividirse de acuerdo a su especificidad para la pectina ó para el ácido péctico como sustrato, y de acuerdo a si son exo ó endoenzimas.

(Tabla 4) (10)

TABLA 4. SUBDIVISION DE LAS PECTATOLIASAS

1. Mecanismo de degradación transeeliminativo al azar.
 - a) Endopectina metil-trans-eliminasa (endo-PMTE)
Pectina desdoblada de preferencia a ácido péctico.
 - b) Endopoligalacturonáto trans-eliminasa (endo-PGTE)
Acido péctico desdoblado de preferencia a pectina.

 2. Mecanismo de degradación transeeliminativo terminal.
 - a) Exopectina metil-trans-eliminasa (exo-PMTE)
Pectina desdoblada de preferencia a ácido péctico.
 - b) Exopoligalacturonáto trans-eliminasa (exo-PGTE)
Acido péctico desdoblado de preferencia a pectina.
-

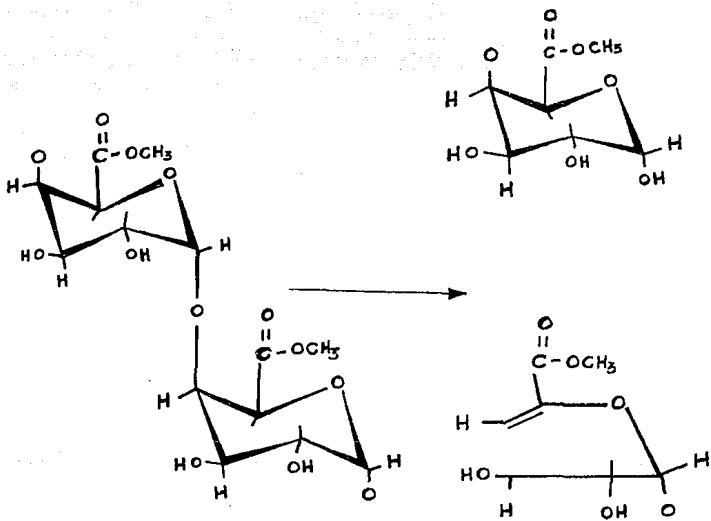


Fig. 8 Actividad de las pectatoliasas en la pectina

4.5 CAMBIOS DE TEXTURA RELACIONADOS CON LAS PECTINAS

La textura de los frutos se ve afectada cuando se someten a tratamientos térmicos en presencia de agua, debido a un cambio en la permeabilidad de las células, ya que se rompe su estructura organizada y se vuelven muy flexibles. Los calentamientos ligeros y los tratamientos de escaldado, pueden activar a las pectatoliasas, lo que trae como consecuencia la hidrólisis de los grupos metilo de las pectinas. Este es el caso de las modificaciones de textura que sufren las cerezas durante su procesamiento, lo que se relaciona directamente con una reducción de la concentración de las pectinas altamente esterificadas solubles en agua y un aumento de las pectinas no solubles menos esterificadas. La causa de ésta modificación de las pectinas parece ser una demetoxilación llevada a cabo por una pectatoliasa que se encuentra en forma inactiva, pero que se activa cuando el tejido vegetal sufre algún daño físico.

La acción de la pectatoliasa sobre las pectinas produce un mayor número de grupos carboxilo libres que pueden interaccionar a través de iones divalentes como el calcio, formando estructuras tridimensionales rígidas que aumentan la dureza de los frutos que las contienen.

4.6 ENZIMAS PECTICAS EN JUGOS DE FRUTAS.

El uso de enzimas pécticas en la industria del jugo de frutas, facilita el exprimido ó extracción de jugos. Estas permiten la clarificación y promueven la separación del -- precipitado por sedimentación, filtración ó centrifugación del jugo. El producto resultante presenta una estabilidad - excelente.

Hay casos en los que no se recomienda el uso de enzi-- mas pécticas, por ejemplo: cuando se desean bebidas de frutas de alta viscosidad, o donde el contenido pectínico del jugo debe ser preservado para la producción subsecuente de gelatinas de frutas.

Frutas como la manzana pueden ser fácilmente exprimi-- das sin el uso de enzimas pécticas, y si se desea, se puede llevar a cabo la filtración y obtener un jugo claro sin necesidad de una clarificación anterior, aunque, realmente - éste proceso no es muy práctico debido a que se requieren - tiempos de filtración muy largos. Otras frutas, por ejemplo ciruelas pasas frescas, no pueden ser exprimidas sin la a-- dición de enzimas pécticas en la pulpa de la fruta.

Se ha demostrado que un tratamiento enzimático largo, - produce la pérdida de los constituyentes del sabor altamente volátiles, y que, la presencia de pectina en el jugo, -- conduce a sabores cocinados ó quemados en los jugos pasteu-- rizados.

Descripción general del proceso enzimático en el jugo de manzana:

Una preparación enzimática es disuelta en una pequeña cantidad de jugo de manzana y se agrega al jugo. Al cabo de 5 a 15 minutos, hay una caída rápida de la viscosidad, y -- después de cierto tiempo, que variará con la temperatura, y la cantidad de enzima usada, la bruma del jugo forma un -- flóculo que se sedimenta lentamente. Posteriormente, el jugo puede ser centrifugado o filtrado.

El jugo de manzana oscurece rápidamente debido a la -- presencia de polifenol oxidasa, y dependiendo del tiempo en que sean agregadas las enzimas pécticas, el oscurecimiento puede haber sido completado antes de que el jugo esté to-- talmente clarificado.

4.7 ENZIMAS PECTICAS EN LA FABRICACION DE VINOS.

Una característica importante de la calidad del vino es su claridad y brillantez. El vino debe estar totalmente libre de sedimento, esto permite que el producto sea más atractivo en apariencia. Además la eliminación de células suspendidas de levadura y sedimento evita ciertos cambios indeseables en los que se refiere a sabor, aroma y estabilidad. Un medio para realizar la clarificación es el uso de enzimas pécticas, las cuales han sido utilizadas por años en la clarificación de jugos de frutas.

Los experimentos en la clarificación de vinos por medio de enzimas pécticas fueron iniciados por Besone y Cruess en 1936. Se demostró que los vinos tratados con enzimas aclaran mucho más pronto y pueden ser filtrados rápidamente. Además, los vinos tratados y clarificados con enzimas, no presentan turbidez durante el añejamiento.

Otros investigadores observaron que la utilización de enzimas pécticas, acelera la clarificación tanto del jugo no fermentado como del vino, facilita el exprimido de las uvas trituradas y aumenta el rendimiento durante el prensado.

4.8 PROCESO DE GELIFICACION CON PECTINAS.

El uso más importante de la pectina en la industria de los alimentos deriva de su capacidad para formar geles. Por ésto se emplea en la fabricación de mermeladas, gelatinas y conservas.

Para que una pectina forme un gel, se requiere un agente deshidratante; el alcohol ó la acetona son agentes - deshidratantes típicos utilizados en la extracción y fa-- bricación de la pectina. Aún no se ha aclarado el mecanismo de formación de geles, pero se han establecido algunas condiciones óptimas para la gelificación. Un gel puede prepa-- rarse por una combinación adecuada de azúcar, agua, ácido - y pectina. Numerosas investigaciones demuestran que convie-- ne ajustar la acidez y la cantidad de pectina para usar me-- nor cantidad de azúcar. El incremento de la acidez en un -- 0.1 a 1.7% permite ahorrar casi un 20% de azúcar. Igual su-- cede con la pectina; dentro de ciertos límites (0.5-1.5%) de pectina, cuanto mayor sea el porcentaje de pectina en la fruta (pulpa o jugo) menor es la cantidad de azúcar requere-- rida para formar el gel.

Algunos investigadores (11) han demostrado que no -- existe una relación entre acidez total y formación de gel; basta con mantener el pH dentro de ciertos límites estrictos.

La estabilidad de los geles aumenta a pH bajo, entre -

3.1 y 3.2; a pH aún más bajo, el líquido se separa del gel como resultado de la sinéresis.

Hay frutas ricas en pectina, como las manzanas y frutos cítricos que poseen gran capacidad de formar geles por sí mismos. A las mermeladas fabricadas con frutas de bajo contenido de pectina, se les debe adicionar pectinas comerciales.

El número de grupos metoxilo que posee una sustancia péctica desempeña un papel muy importante en la capacidad de una pectina determinada para formar un buen gel. Aunque, el grado de metilación no es la única propiedad determinante de la capacidad de las pectinas para formar geles. También influyen otros factores como el tamaño de la molécula. Las pectinas comerciales se evalúan en términos de "grado de pectina", por lo que se entiende el número de partes de azúcar por cada una de pectina, que formará un gel de una consistencia adecuada bajo las siguientes condiciones:
pH: 3.2 - 3.5, azúcar: 65 - 70%, pectina: 0.2 - 1.5%.

En el comercio se venden pectinas de 100 a 500 grados. Difieren en el tiempo de gelificación. Una gelificación rápida comienza a los 85 °C. La gelificación lenta se lleva a cabo por debajo de los 55°C.

Las pectinas de gelificación rápida se utilizan en la manufactura de conservas con objeto de evitar la sedimentación de frutas enteras o grandes trozos de las mismas en el

fondo de los recipientes, permitiéndolo en cambio, una distribución homogénea de los distintos tamaños.

- Sistemas de geles especiales obtenidos con pectinas de grados de metoxilación variables:

- a) Acido poligalacturónico totalmente metoxilado que sólo forma geles con azúcar. La gelación es producida por la acción deshidratante del azúcar.
- b) Pectinas de gelación rápida que poseen un grado de metoxilación de al menos el 70%. Forman geles al adicionarles ácidos ó azúcares a pH óptimo de 3 a 3.4, y a temperaturas relativamente elevadas. La consistencia de los geles formados depende del peso molecular y no del grado de metoxilación. Cuanto más alto sea el peso molecular, mayor es la fuerza del gel.
- c) Pectinas lentas, aquéllas que poseen un grado de metoxilación del 50 al 70%; forman geles al adicionarles azúcar a un pH óptimo de 2.8 a 3.2. La cantidad de ácido requerido es aproximadamente proporcional al número de carboxilos libres.
- d) Pectinas de bajo contenido de metoxilos; son pectinas con un grado de metoxilación inferior al 50%. No forman geles con azúcar y ácido, pero sí en presencia de iones calcio y otros cationes polivalentes.

4.9 PRODUCCION INDUSTRIAL DE PECTINAS.

Las pectinas industriales se fabrican de dos formas: - pectinas "líquidas", que son soluciones más o menos concentradas de pectinas extraídas de sustancias vegetales de desecho, como cáscaras de manzanas ó de frutas cítricas; y -- "pectinas en polvo".

Los productos resultantes, no son en la práctica comercial productos puros. Su grado de pureza, depende fundamentalmente del método de fabricación, del tamaño molecular de la sustancia péctica, del grado de esterificación y de -- la cantidad de sustancias minerales existentes en el producto final.

Los métodos utilizados para la fabricación de las pectinas comprenden las siguientes etapas:

- 1a Preparación del material.
- 2a Eliminación de sustancias minerales.
- 3a Hidrólisis Ácida de la protopectina y disolución de la pectina.
- 4a Precipitación.
- 5a Purificación y desecación.

Braverman (12) ha descrito métodos detallados de la fabricación de la pectina. Se basan fundamentalmente en dos sistemas: precipitación de la pectina con acetona ó al-- coholes, ó aprovechando el hecho de que las sales minerales tales como el hidróxido de aluminio llevan en su estado co--

loidal una carga eléctrica de signo contrario a las del ácido péctico negativamente cargadas, coagulando las soluciones acuosas de pectina. En éste método se adiciona amoníaco al extracto acuoso filtrado de la pectina para llevar a 4 su pH, entonces se añade sulfato de alúmina. Completada la precipitación de la pectina, se drena el líquido libre, y se separa el gel precipitado, que se prensa entre capas de tela y se trata con soluciones acidificadas de mezclas de agua y alcohol para eliminar el exceso de hidróxido de aluminio; al lavar con alcohol isobutilico varias veces acidificado y finalmente con alcohol absoluto, se obtiene un gel de regular pureza que es prensado, deshidratado y triturado. El alcohol se recupera por destilación. La pectina obtenida por éste proceso es de 300 grados.

5 INVERTASA

La invertasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de sacarosa formado fructosa y glucosa (azúcar invertido).

El azúcar invertido tiene mucha demanda en la industria de la confitería porque su poder edulcorante es mayor que el de la sacarosa. Los monosacáridos formados por la acción de la invertasa son más solubles que la sacarosa y tienen poca tendencia a cristalizar.

Se ha comprobado la presencia del azúcar invertido en cantidades considerables en diferentes frutos, entre ellos: naranjas, toronjas, ciruelas, cerezas, tomates, moras, -- granadas etc. Existe en un tipo de dátiles que suelen llamarse dátiles de azúcar invertido (14).

El nombre de invertasa fué dado a las enzimas que hidrolizan sacarosa a una mezcla de fructosa y glucosa, produciendo así una inversión del signo de la rotación óptica de positivo a negativo.

Sacarosa + Agua \longrightarrow Glucosa + Fructosa

Condiciones de actividad de la invertasa:

El pH óptimo está entre 3.5 y 5.5. La temperatura óptima es cercana a los 40°C, aunque periodos de reacción -- prolongados requieren temperaturas inferiores.

La invertasa se puede obtener a partir de microorganismos, pero también de otras fuentes.

TABLA 5 FUENTES DE OBTENCION DE INVERTASA

Bacterias	<u>B. subtilis</u>
Hongos	<u>A.oryzae, A.niger</u>
Levaduras	<u>S.cereviciag, S.carlsbergensis</u>
Insectos	Abejas
Vegetales	Cebada, remolacha, plátano, naranja, raíces de alfalfa, cereza etc.
Mamíferos	A partir de la mucosa intestinal del cerdo

5.1 PRODUCCION DE INVERTASA A PARTIR DE LEVADURAS.

En la producción de invertasa se emplean ordinariamente cepas de S.cerevisiae, que se pueden obtener del subproducto de las industrias del pan ó de la cerveza; y más específicamente a partir de una cepa especial de S.cerevisiae seleccionada por su alto contenido de invertasa.

El contenido de invertasa en levaduras varía según la cepa de levadura y las condiciones de cultivo. La cantidad de la enzima aumenta, si el cultivo se realiza en presencia de sacarosa.

Extracción de la invertasa:

El concentrado de levadura se somete a plasmólisis, (por adición de cloroformo ó de éter). El pH deberá estar ajustado a 4.7, posteriormente los restos de las células se separan por centrifugación. La invertasa se precipita por adición de alcohol a pH 4.7 y 0°C.

5.2 SACAROSA

alfa D-glucopiranosil-beta-D-fructofuranósido.

Es un disacárido compuesto de D-glucosa y D-fructosa. -- Sustancia soluble en agua y alcohol etílico diluido, prácticamente insoluble en alcohol anhidro, éter, cloroformo y glicerol anhidro. Su P.M. es de 342.30.

Las propiedades físicas más notables de la sacarosa, son su sabor dulce y su solubilidad en el agua. Y tiene -- dos propiedades químicas predominantes: no es reductora, y se hidroliza rápidamente. Se llama no reductora, porque no reduce el reactivo de Fehling; y la razón es que los grupos reductores de los dos monosacáridos integrantes, están unidos mediante un enlace glicosídico. Aunque éste enlace es relativamente estable en álcali diluido y en soluciones neutras, la estabilidad máxima ocurre a pH 9.

La sacarosa es fácilmente hidrolizada por ácidos y -- por la invertasa.

5.3 AZUCAR INVERTIDO.

El azúcar invertido, llamado así a causa de que la rotación óptica de una solución de sacarosa cambia o se invierte de dextrógira a levógira por hidrólisis. Es una mezcla equimolecular de D-glucosa y D-fructosa. Por consiguiente, sus propiedades resultan de la combinación de las propiedades de esos dos azúcares. Su utilidad reside en que es una fuente cómoda y relativamente barata de los dos monosacáridos en los casos en que la presencia de uno de ellos no afecte la utilización del otro.

El azúcar invertido se vende en forma líquida (en algunos casos como una masa semisólida resultante de la cristalización de la D-glucosa), solo ó mezclado con la sacarosa, con varios nombres registrados, tales como: "flo-sweet", "nutomoline", "liqua invert", "Cascade" etc.

Propiedades del azúcar invertido:

El azúcar invertido se conserva y se usa casi siempre en forma líquida, puesto que la D-glucosa cristaliza en la mezcla más rápidamente que la D-fructosa. Por ésta razón, la solubilidad del azúcar invertido depende de la solubilidad de la D-glucosa en una solución de D-fructosa.

La solubilidad máxima a 30 C es de 69.7 % de azúcar invertido (comparada con 68.11 % de la sacarosa), y a dicha concentración la solución está saturada con D-glucosa. La solubilidad del azúcar invertido y de la sacarosa se --

reduce para ambas cuando están juntas, pero el contenido total de azúcar en la solución aumenta.

Si bien la sacrosa es azúcar no reductor, su hidrólisis forma un aldehído y una cetona, que reducen la solución de Fehling. El color del azúcar invertido líquido es más estable a pH 3.3. El oscurecimiento con valores superiores del pH se debe a la degradación de la fructosa en productos complejos.

La fabricación del azúcar invertido se hace por tres métodos de hidrólisis de la sacarosa:

1. Por ácidos inorgánicos fuertes ó ácidos orgánicos débiles.
2. Por resinas de intercambio iónico.
3. Por acción de la invertasa.

Hidrólisis con invertasa:

Se emplea frecuentemente para azúcares que contienen gran cantidad de cenizas, pues se necesitaría mucho ácido para vencer el efecto amortiguador de éstas sales.

Una solución de sacarosa de 45 a 50 grados Brix con un pH de 5.2 a 5.6, se mantiene a una temperatura de 55 a 60°C con la invertasa hasta que se obtiene el grado de hidrólisis que se desea. En éstas condiciones, ocurre el 95 % de la inversión en 24 hrs, pero la hidrólisis puede interrumpirse en el punto conveniente elevando la temperatura hasta 70-80°C para inactivar a la enzima.

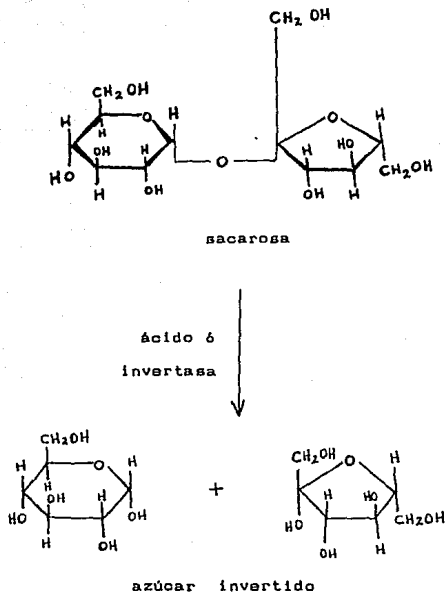


Fig 9

Formación de azúcar invertido en la hidrólisis de la sacrosa.

5.4 LA INVERTASA EN LA INDUSTRIA DEL DULCE.

Las propiedades de retención de humedad, elevado poder edulcorante y alta solubilidad de la D-fructosa, así como el retardo de la cristalización de la sacarosa en la mezcla constituyen características importantes que permiten diversas aplicaciones del azúcar invertido.

En confitería, se emplea para restringir la tendencia de los dulces a secarse y cristalizarse por el reposo.

En los caramelos fundentes, y en los que tienen frutas incluidas, se producen a menudo centros suaves ó completamente licuados por adición de invertasa a la materia fundente que origina la inversión lenta de la sacarosa.

La adición de invertasa al fundente en los bombones evita la fermentación y la rotura invirtiendo parte de la sacarosa. Con ello, la pasta se hace resistente a la acción de la levadura, pues la densidad y la presión osmótica del jarabo en el bombón han aumentado (16).

El azúcar invertido se emplea en la preparación de jaleas y de frutas en conserva, en las que se produce inversión de la sacarosa durante la cocción, por la acción hidrolítica de los ácidos de las frutas. En los helados constituye un ingrediente importante porque sustituye en menor grado a la sacarosa disminuyendo la temperatura de congelación del producto final. La industria de pastelería emplea con éxito el azúcar invertido para mantener los productos blandos y evitar agrietamiento.

La invertasa en la industria del dulce:

Como ya se ha mencionado, la invertasa se utiliza en la industria del dulce para la producción de centros de crema de relleno y centros de sabores de frutas líquidas. En éste tipo de productos, es importante el uso de la enzima para obtener la consistencia semisuave deseada.

Los centros de crema consisten en una fase de azúcar sólida cristalina, y una fase de miel líquida que tiene una concentración de sacarosa de 67 - 68 % a temperatura ambiente. La adición de la invertasa en tales sistemas, produce la hidrólisis de la sacarosa de la fase líquida a fructosa y glucosa. Tales monosacáridos, presentan gran solubilidad, de manera que la sacarosa adicional de la fase sólida se disuelve, y posteriormente es hidrolizada por la misma enzima. Este proceso continúa hasta que la solubilidad límite del azúcar invertido ha sido alcanzado, lo cual ocurre cuando la miel ha llegado a una densidad de aprox. - 82 - 83 % (17).

En la práctica, los centros de miel están hechos con fondos que contienen pequeñas cantidades de miel de maíz y agua; con frappes que contienen miel de maíz, azúcar invertido y albúmina de huevo. Estas mieles son mezcladas y preparadas de manera que la concentración de los sólidos del azúcar en la fase líquida se aproxime al 74-75 %. Esta concentración es debida a la presencia de azúcar invertido y de glucosa en la miel de maíz.

En la producción de centros de crema duros, por lo -

menos 30 g de invertasa se añaden a aproximadamente 50 kg de crema dura. En ésta proporción el centro del dulce -- suaviza en un período de 1 a 2 semanas.

6 LACTASA (BETA-GALACTOSIDASA).

Es una enzima que hidroliza lactosa formando galactosa y glucosa. Esta mezcla de monosacáridos es más dulce -- que el disacárido original. La lactosa tiene tendencia a -- cristalizar; en cambio, en sus productos de hidrólisis -- disminuye dicha tendencia (4).

Características de la lactosa:

Es un disacárido que se encuentra exclusivamente en -- la leche de los mamíferos, y está constituido por una mo-- lécula de galactosa y una de glucosa unidas por un enlace glucosídico beta (1,4). El carbono anomérico de la glucosa está libre, lo cual hace a la lactosa un azúcar reductor. Existe en forma alfa y beta, y por lo tanto presenta el -- fenómeno de mutarrotación (18).

De los disacáridos de importancia en alimentos, la -- lactosa es el azúcar menos soluble y dulce. Algunos gru-- pos étnicos en el mundo no toleran éste disacárido debido fundamentalmente a la ausencia de la enzima beta D-galac-- tosidasas del jugo intestinal del sistema digestivo.

6.1 SUSTRATO Y ESPECIFICIDAD DE LA ENZIMA.

La lactasa está presente en almendras, duraznos, -- manzanas, etc; también se ha identificado en especies de microorganismos como *A.oryzae*, *A.foetidus*, *S.fragilis*, así como en el intestino de ciertos animales, principalmente -- mamíferos jóvenes. (19)

Beta galactosidasa es específica en lo que se refiere a la mitad de la molécula del glicón. El reemplazo del -- sexto carbón de la galactosa con un hidrógeno, disminuye la actividad de la enzima. Cualquier cambio en el glicón de la molécula hace al sustrato inaccesible a la acción de la enzima. En cuanto al aglicón, los requerimientos de la enzima son menos específicos. Glucosa, u otros glucósidos, o al-- quil, o aril alcoholes pueden servir de aglicón. La Tabla 6 muestra la velocidad máxima a pH 7.6 y 20 C de la hidrólisis de varios sustratos por beta-galactosidasa de *E.coli*.

Hay varios minerales que tienen un efecto importante sobre la actividad de la enzima. Tanto las enzimas fúngicas como las obtenidas a partir de levadura son inactivadas por metales pesados como: cobre, zinc, mercurio; y particularmente, las enzimas de levadura también son inhibidas por -- iones de calcio y sodio (20). Otros iones pueden aumentar la actividad de beta-galactosidasa. Entre los activadores -- más importantes se pueden mencionar los iones de potasio, -- magnesio y manganeso. Las concentraciones óptimas e éstos -- caciones se encuentran en un rango de 10^{-2} a 10^{-1} para el -- potasio, 10^{-3} a 10^{-4} M para el magnesio y 10^{-4} a 10^{-5} M para el manganeso (20).

TABLA 6 HIDROLISIS POR LACTASA

SUSTRATO	ACTIVACION	Vmax *
o-nitrofenil-beta-D-galactosido	0.05 M NaCl	178
fenil-beta-D-galactosido	0.05 M NaCl	10.04
Lactosa	0.05 M NaCl	6.55

* micromoles de sustrato hidrolizado por min. por mg. de proteína

Esta tabla muestra la velocidad máxima a pH 7.6 y 20 C de la hidrólisis de varios sustratos por beta-galactosidasa de E.coli.

6.2 PROPIEDADES DE LAS LACTASAS COMERCIALES.

Las preparaciones enzimáticas para la industria alimentaria han sido obtenidas de levaduras, y de hongos tales como: *Kluyveromyces fragilis*, *Candida pseudotropicalis* y - otras. La Tabla 7, muestra la temperatura óptima de actividad de lactasas fúngicas y bacterianas. El pH óptimo de las enzimas difiere apreciablemente; en enzimas bacterianas es cercano a 7, en las fúngicas, cercano a 3, y en las provenientes de levadura cercano a 6.

TABLA 7 ACTIVIDAD DE LACTASAS

TEMP. C	FUNGICA*	DE LEVADURA**	DE E.coli
10	1.5	4.0	2.0
26	16.0	12.0	9.0
30	18.0	12.0	10.0
34	27.0	13.0	9.0
37	33.0	14.0	11.0
50	66.0	4.0	4.0

* *Aspergillus oryzae*.

** *S. fragilis*.

6.3 APLICACIONES DE LA HIDROLISIS DE LA LACTOSA.

Los usos alimenticios de la lactosa se han incrementado considerablemente durante los últimos 20 años.

Los usos incluyen alimentos tales como aderezos, confitados, rellenos para pastel, dulces etc; donde las propiedades únicas de la lactosa que modifican la cristalización del azúcar contribuyen a la textura y viscosidad sin aumentar en forma excesiva la dulzura, absorbiendo y estabilizando los sabores y aromas de los alimentos y bebidas en las que puede emplearse.

Las aplicaciones más importantes de la lactosa se pueden resumir en los siguientes puntos:

1. Leche líquida; la hidrólisis de lactosa en leche líquida mejora la digestibilidad de la misma. En leches de sabores (malteadas, licuados), aumenta el poder edulcorante.
2. Leche en polvo; el hidrolizado de lactosa en leche en polvo es muy importante para uso dietético, sobre todo en bebés que presentan deficiencia de beta-galactosidasa.
3. Productos fermentados de leche; la hidrólisis de lactosa es importante para la elaboración de queso y yogurt, incrementa el porcentaje de acidez reduciendo por tanto el tiempo del proceso. El tiempo de maduración del queso también puede reducirse a través de la presencia de pequeñas cantidades de proteasas en preparaciones de beta-

galactosidasa.

4. Productos de leche concentrada; en productos como el helado previene la cristalización de la lactosa evitando que se produzca "arenosidad" en el producto.
5. Suero para alimentación de animales; la hidrólisis de lactosa en el suero utilizado como alimento para ganado es importante para prevenir la cristalización en el concentrado.

7 ENZIMAS INMOVILIZADAS.

Con el fin de obtener un mejor aprovechamiento de las enzimas solubles que son desechadas al término de un proceso, y que potencialmente pueden ser recuperadas y reusadas, la ingeniería enzimática ha propuesto la inmovilización de enzimas solubles.

El término "enzima inmovilizada" se refiere a la enzima que tiene una localización ó confinamiento en una -- cierta región del espacio con retención de sus actividades catalíticas, que se puede usar en forma rápida, repetida y continua; además de presentar mayor estabilidad operacional que las enzimas solubles (23)

El término de localización ó confinamiento de la molécula de la enzima puede tener diferentes significados dependiendo de si la enzima está unida covalentemente a un -- polímero insoluble, si está adsorbida a un soporte insoluble de naturaleza orgánica ó si está atrapada ó microencapsulada en geles ó membranas sintéticas.

Las ventajas que presentan las enzimas inmovilizadas son: (24)

1. Son enzimas más baratas, ya que pueden ser reusadas.
2. Se pueden usar en procesos continuos.
3. Los productos quedan libres de las enzimas.
4. La formación del producto es más controlada.
5. Las propiedades de las enzimas pueden ser alteradas favorablemente. (25)

7.1 SOPORTES UTILIZADOS PARA LA INMOVILIZACION.

Los soportes utilizados para la inmovilización de enzimas y células pueden dividirse en dos categorías: orgánicos e inorgánicos.

Comúnmente es aceptado que los soportes orgánicos son mejores, debido a que proveen una gran variedad de grupos reactivos sobre su superficie, como son grupos carboxilo, amino, hidroxilos etc (26). Los soportes orgánicos, a su vez pueden ser divididos en soportes polisacáridos, de proteínas y polímeros sintéticos. Dependiendo del tipo de subunidad, los soportes de polisacáridos pueden subdividirse en celulosa y sus derivados y dextran, mientras que los polímeros sintéticos se pueden dividir en polímeros de acrilamida, copolímeros de fenol y formaldehído (resinas fenólicas) y copolímeros de estireno y polímeros de poliestireno.

Características del soporte:

El principal criterio que debe tomarse en cuenta para la elección del soporte es que éste no sea tóxico a la enzima, para que ésta pueda seguir desarrollando su función normal.

Es necesario que el soporte sea capaz de retener una elevada concentración de enzimas. Además, los soportes deben ser estables a rangos amplios de pH y temperatura, de acuerdo al proceso; también deben ser estables a elevadas--

presiones, y deben tener forma y tamaños definidos. (26)
Se desea la presencia de soportes con elevada porosidad, -
debido a que aumentan la superficie de retención así como -
la difusión del sustrato y producto a la enzima.

Mecanismos de interacción soporte-enzima:

Existen 5 tipos diferentes de interacción responsables
de la inmovilización de enzimas y células: (27)

1. Interacciones electrostáticas entre la enzima cargada -
y el soporte cargado.
2. Formación de enlace covalente parcial entre grupos a-
mino y grupos carboxilo de la superficie de la enzima
y un grupo reactivo de la superficie del soporte.
3. Entrecruzamiento intermolecular mediante agentes bifun-
cionales como un soporte.
4. Reacciones de acoplamiento por enlaces covalentes di-
rectos entre las enzimas y el soporte.

La Tabla 9 muestra los métodos principales de inmovili-
zación.

La adsorción es el método más fácil de inmovilización.
Las fuerzas de unión entre la enzima y el soporte son fi-
sicas, y por tanto, débiles.

Los métodos de atrapamiento y microencapsulación están
basados en la oclusión de una enzima dentro de una es-
tructura que no permita la difusión de la enzima en el me-
dio exterior, pero que permita la penetración del sustrato.

· TABLA 9 METODOS PRINCIPLES DE INMOVILIZACION

METODO	ENZIMAS	SOPORTES
Adsorción	Glucosa oxidasa Catalasa Invertasa Proteasa Glucosa isomerasa	Bentonita, Celulosa, Vidrio, Resinas de intercambio iónico, Polímeros de vinilo, etc.
Atrapamiento	Catalasa Glucosa oxidasa Alfa-amilasa Beta-amilasa	Colágena, Gel de acril- amida, Gel de al- midón, etc.

Este método es apropiado solamente para enzimas con sus--
tratos de peso molecular bajo que permita la difusión --
dentro del soporte.

El entrecruzamiento intermolecular por agentes bifun--
cionales ha sido empleado con éxito para inmovilizar varias
enzimas. El agente bifuncional más común es glutaraldehído.
En éste método, un grupo funcional del agente bifuncional -
forma un enlace covalente con el soporte, y el otro grupo -
funcional forma un enlace covalente con la enzima.

El método de inmovilización más estudiado es el aco--
plamiento de la enzima por enlaces covalentes directos con
el soporte. El tipo de grupo funcional en la enzima que --
forma el enlace covalente es muy importante. Hay varios --
grupos funcionales en las enzimas que pueden formar enlaces
covalentes, tales como grupos amino, imidazol, sulfhidrilo,
grupos fenólicos, hidroxilo, carboxílico etc. Como éstos --
grupos funcionales forman también los sitios activos de las
enzimas, es esencial que el grupo funcional implicado en la
reacción de acoplamiento no sea esencial para la actividad
de la enzima. Hay varias reacciones de acoplamiento cova--
lente. Algunas de las principales son:

1. Reacciones de acilación.
2. Diazotización.
3. Reacciones con bromuro de cianógeno.
4. Reacciones de arilación y alquilación.

8. CONCLUSIONES

La enzimología aplicada como tecnología, ha sido un gran progreso para la ciencia en general, debido a la inmensa variedad de usos que se puede dar a las enzimas en diferentes áreas.

Haciendo un enfoque al área de alimentos, la bioquímica ha hecho un sustancial aporte a través de la aplicación de enzimas para reacciones específicas que aceleren las reacciones deseadas, o bien, minimicen y eviten los resultados indeseables en productos tan importantes y de tan estricto control de calidad como son los alimentos.

En lo referente a las glicohidrolasas, éste grupo de enzimas actúan de una manera importante y fundamental en gran variedad de productos alimenticios, presentando un comportamiento ya sea de endo ó exo enzimas, observando como resultado de su acción, productos de primordial importancia para la calidad final del alimento.

Las amilasas son enzimas con diversas aplicaciones debido a su acción hidrolizante sobre el almidón, compuesto que se encuentra ampliamente distribuido en gran cantidad de productos alimenticios naturales. Se debe considerar que dentro del grupo de las amilasas, cada enzima es específica para una parte del almidón, originando diferentes subproductos, cada uno de los cuales tendrá una aplicación importante en el proceso llevado a cabo.

Las pectinasas son importantes porque hidrolizan a las pectinas; sustancias que abundan en la mayoría de los frutos, especialmente los cítricos. Durante el procesamiento de éstos frutos para producir productos como: jaleas, mermeladas, frutas en conserva, jugos etc; las pectinasas, y específicamente las pectatoIASas actúan sobre la cadena pectínica originando una modificación de la textura en el alimento, situación que debe tomarse en cuenta en lo referente a las características finales del producto.

Tanto en la clasificación de las amilasas como en la clasificación de las pectinasas, cada una de las enzimas desempeña una función importante, y en cada grupo; dependiendo del proceso, algunas veces presentan un efecto sinérgico, por lo que no se puede afirmar que una enzima sea más importante o útil que otra.

La importancia de la Invertasa radica en su capacidad para hidrolizar la sacarosa formando lo que se conoce como

"azúcar invertido"; compuesto muy usado en la industria del dulce. Aunque la sacarosa puede ser hidrolizada por otros métodos, el uso de la invertasa presenta ventajas en cuanto a costo y control de la hidrólisis, por lo que la enzima es muy empleada a nivel industrial.

La invertasa puede obtenerse de diversas fuentes, pero la enzima obtenida de levaduras y principalmente de *S.cerevisiae* es muy recomendada debido a que, a partir de éstas cepas se obtiene gran rendimiento, además de que el costo se puede reducir si se toma en cuenta que se pueden conseguir de los subproductos de la cerveza. Cabe mencionar que el contenido de invertasa en levaduras va a variar según las condiciones de cultivo.

La lactasa actúa sobre la lactosa formando una mezcla de monosacáridos (galactosa y glucosa), producto importante ya que puede ser más fácilmente digerido que la misma lactosa, especialmente por personas que carecen de la enzima (beta-galactosidasa) en el jugo intestinal del sistema digestivo.

A nivel industrial se ha preferido el uso de lactasas obtenidas principalmente de levaduras y hongos, debido a que (principalmente las lactasas fúngicas) son inactivadas a altas temperaturas.

9. BIBLIOGRAFIA.

- (1) Joza and Johnston: W.R. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 7, 143 (1965)
- (2) Farrés Amelia, Azaola Alejandro: alfa amilasa: Bases Bioquímicas y Moleculares para la sobreproducción de la enzima, BEB, Marzo 5(1): 10-13, 1986.
- (3) Di Carlo and Redfern: Alfa amylase from *B.subtilis* Purification and physical properties, Arch. Biochem 15 (3) 333-342 (1977).
- (4) Ruby Nickel Castrejón: Enzimología aplicada a alimentos, Bioquímica Especial.
- (5) Zeller A: Heb. Chem, Acta 21 1645 (1978)
- (6) Handbook of Enzymology.
- (7) P.F. Fox: Enzymes in Food Processing; Industrial Aspects of Biochemistry, B.Spencer (ED). Federation of European Biochemical Societies N.Y. 1974 pp 232
- (8) Norman B.E: Enzyme and Food Processing, Ed Reed G. 2nd ed. Academic Press pp 53-122
- (9) D.F. Bateman and R.L. Millar, Phytopath 4, 119 (1976)
- (10) A.L. Demain and H.J. Phaff; Pectic Enzymes; Walleers-tein Lab. Communis 20, 119 (1969)
- (11) L.W. Tarr A.: Study of the factors affecting the -
Jelling of fruits; Univ. Delaware Agr. Exptl. Sta. Bull, 133 14 (1983)
- (12) J.B.S. Braverman; Litrus Products-Chemical Composition and Chemical Technology, Interscience N.Y. (1979)
- (13) J.E. Kruger, D. Lineback: Enzymes and their role in Cereal Technology; American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul Minnesota, USA (1987)
- (14) Godfrey A. and Reschelt J: Ind. Enzymol. Macmillan London (1983)
- (15) Bates, F.J. and col: Polarimetry, saccharimetry and the sugars; Natl. Bur. Standards U.S. Circ. (1972)
- (16) Paine, H.S. Birkner V, and Hamilton J: Ind. Eng. Chem, 19, 358 (1976)

- (17) Bacon J.S. D: Methods in Enzymology; (1975)
- (18) Badul D.S: Química de los Alimentos; Alhambra México D.F. (1981)
- (19) Reed G: Enzymes in Food Processing; Academic Press N.Y. (1975)
- (20) Scott D: Enzymes in Food Processing, Ed. Reed 2nd ed.(1975) pp 493-517
- (21) Laguna Piña: Bioquímica; La prensa Médica Mexicana México D.F. (1981)
- (22) E.F. Jansen R. Jang and J. Bonner: Orange pectin-esterase Binding and activity, J. Am Chem. Soc, 88 (1976)
- (23) Van Beynum: Immobilized Biocatalysts; Biotechnol. Letters 2 (4) 185-190 (1988)
- (24) Skinner, J.K: Enzymes Technology C. and E. Washington August (1975)
- (25) Voroshilova, O.I. Kiseler, A.V. Nikitin, Yu.S. Khokhlova, T.D. Ananicher A.V. Egoro VAM, Ulszlo, 1984: Immobilization of Glucose Isomerasa from Actinomyces olivocinereus 154 on Macroporus Silica carriers, Prikladanya Biokhimiya Mikrobiologiya 22 (4) 466-470.
- (26) Srere, P.A. and Uyeda, K, 1976: Functional Groups on Enzyme Suitable for Bending to Matrices in Methods of Enzymology 44 11-19.
- (27) Kolot, F.B. 1981: Microbial Carriers-Strategy for Selection Proc. Biochem, 16 (5), 2-9
- (28) Vietch, W.R:1974 Enzyme Engineering Part II Chem. Tech. January 47-55.
- (29) Slott,S; and Madsen G.B. Procedure for Liquefying Starch, U.S. Patent 3912 590, 1983.
- (30) Dias, F.F. and Panchal, D.C. Maltulose formation during saccharification of starch. Staerke 1987.
- (31) Taka-Therm II-Thermal Stable Bacterial Alpha-amylase for starch liquefaction, Miles Inc. 1988.
- (32) Vance. R.V; Rock, A.O; and Carr, P. Starch Liquefaction Process, U.S. Patent 854-081, 1988.

- (33) Wingard Jr. L.B: Immobilized Enzyme Principles; Applied Biochemistry and Biotechnology, Goldstein (ED) Academic Press, N.Y. 1978.
- (34) P.S.J. Cheetham: The applications of enzymes in industry; Handbook of Enzyme Biotechnology, Wiesman (ED) John Wiley and Sons Ltd, N.Y. 1985.
- (35) Enari, T.M: Microb. Enz. and Biotechnol. Appl. Sci publishers 1983.
- (36) Duff, J.I: Chemicals by enzymatic and microbial process Noyes Data Corp. New Jersey USA 1980.
- (37) Chibata, I.T.Sato: Methods in Enzymology, Mosbach K (ED) Academic press 1979.
- (38) Beck C.I. and Scott: Food related enzymes, Advs in Chem. Series No 136, Whitaker J.R. (ED) Am. Chem. q. 1980.
- (39) Ward G.P: Microb.Enz. and Biotechnol, Appl. Sci. Publishers 1983.
- (40) Bucke C: Topics in Enzyme and Fermentation Biotech. Wiseman, A (ED) Ellis Horwood 1977.
- (41) Aunstrup, K: Biotechnological applications of proteins and Enzymes; Academic Press N.Y. 1980.