

Libros de **Cátedra**

Nutrición y Bromatología

Guía práctica enfocada a la carrera de Farmacia

Cristina Ferrero - Pablo A. Sobral
Ricardo Martín Torrez Irigoyen (Coordinadores)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

GUÍA PRÁCTICA ENFOCADA A LA CARRERA DE FARMACIA

Cristina Ferrero

Pablo A. Sobral

Ricardo Martín Torrez Irigoyen
(Coordinadores)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



*Para Aldo H. Campana
por su inestimable contribución al
Área Bioquímica y Control de Alimentos
de nuestra Facultad*

Agradecimientos

A los alumnos, por su permanente estímulo a crecer como docentes.

A nuestros compañeros docentes del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas, por compartir experiencias y saberes.

A la Universidad pública, por habernos formado.

Índice

Introducción	7
---------------------	----------

Capítulo 1

Definición de alimento. Macro y micronutrientes. Conceptos básicos de nutrición.

Rotulado nutricional	9
----------------------	---

Cristina Ferrero

Capítulo 2

Alimentos saludables y funcionales. Nutraceuticos.

Suplementos dietarios. Vitaminas.	23
-----------------------------------	----

Cristina Ferrero

Capítulo 3

Grupos alimentarios y nutrición.	39
----------------------------------	----

Ricardo Martín Torrez Irigoyen

Capítulo 4

Análisis de alimentos. Conceptos generales.	57
---	----

Facundo Massolo

Capítulo 5

Humedad y contenido mineral.	71
------------------------------	----

Mariela Patrignani

Capítulo 6

Principales métodos para el análisis de carbohidratos.	90
--	----

Facundo Massolo

Capítulo 7

Principales métodos para el análisis de proteínas.	107
--	-----

Eugenia Alejandra Orosco Condori

Capítulo 8

Principales métodos para el análisis de lípidos.	121
--	-----

Pablo Antonio Sobral

Capítulo 9

Determinación de Fibra alimentaria. Métodos químicos y enzimáticos. _____ 142

Carlos Gabriel Arp

Capítulo 10

Aditivos alimentarios. _____ 158

Ricardo Martín Torrez Irigoyen

Capítulo 11

Estudio de casos representativos: Pan, un alimento rico en almidón. _____ 170

Carlos Gabriel Arp y Cristina Ferrero

Capítulo 12

Estudio de casos representativos: Leche, un alimento con proteína de muy alta calidad. ____ 191

Eugenia Alejandra Orosco Condorí

Capítulo 13

Estudio de casos representativos: Margarina, un alimento con alto contenido de lípidos. ____ 209

Pablo Antonio Sobral

Capítulo 14

Conceptos de Nutrición enteral y parenteral. _____ 224

Julia María Rodríguez Bugueiro

Los autores _____ 238

Introducción

Este es un libro pensado para los farmacéuticos y escrito por docentes que desde hace muchos años llevamos adelante la asignatura Nutrición y Bromatología del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas, recogiendo inquietudes y experiencias de nuestros alumnos. Este Libro de Cátedra no es un recorrido exhaustivo en el programa de la asignatura. Temas como Alteraciones Alimentarias, Conservación de Alimentos entre otros, no han sido abordados porque o bien existen libros de cátedra que ya lo hacen o porque la bibliografía existente cubre la temática con la orientación que pretendemos. Tampoco este libro pretende reemplazar la abundante y muy buena bibliografía sobre los alimentos, de necesaria lectura para realizar el curso, ni el espacio áulico donde se desarrollan los temas. Lo que aquí se pretende es dar una herramienta más que facilite y entusiasme a nuestros estudiantes en el abordaje de una materia que nos compromete a todos.

La crítica situación alimentaria actual, donde muchas de las enfermedades crónicas no transmisibles están relacionadas con deficiencias de distinto tipo en la alimentación, hacen hoy muy necesaria la intervención educativa y preventiva de los profesionales de la salud. La carrera de Farmacia de la UNLP otorga a sus egresados incumbencia en el control de alimentos, así como conocimientos básicos para la futura integración de equipos profesionales dedicados a la Nutrición hospitalaria. En su quehacer profesional, las y los farmacéuticos tendrán contacto con productos alimentarios o sus derivados ya sea en la farmacia oficial, en el hospital o en la industria. La asignatura Nutrición y Bromatología se propone contribuir no sólo a dar herramientas para el ejercicio profesional sino también para promover la participación activa del farmacéutico en distintos ámbitos de su quehacer profesional con el fin de contribuir a una vida más saludable.

La asignatura se cursa ya habiendo promediado la carrera y apela a conceptos de Química Biológica, Fisiología, Química Orgánica, Química Analítica entre otros por lo que resulta una instancia de recuperación e integración de conocimientos previos. Uno de los ejes programáticos de la misma es el de Análisis de alimentos, donde se incorporan los fundamentos sobre diversas metodologías adecuadas para determinar la composición de un alimento. Este eje temático requiere de los estudiantes la ejercitación y combinación de muchos de los conocimientos ya vistos previamente en su carrera, pero ahora aplicados a un sistema alimentario.

Los aspectos de nutrición que incluye la asignatura son de especial interés. Trataremos de lograr una base conceptual para que el farmacéutico pueda integrar equipos con otros profesionales de la salud. El otro propósito es destacar los aspectos nutricionales y propiedades de ciertos productos que serán cotidianos en el ejercicio farmacéutico: los suplementos dietarios, entre ellos

los nutraceúticos o las formulaciones para nutrición enteral son productos habituales en la farmacia.

Finalmente se incluye en el libro un estudio más integral de casos seleccionados, sobre ciertos alimentos representativos de la dieta local. En esta instancia se relacionará la composición con la utilidad desde el punto de vista nutricional y se hará un breve recorrido respecto a la producción de dichos alimentos para integrar aspectos de producción-composición-valor nutricional.

La asignatura Nutrición y Bromatología no sólo amplía las incumbencias de las y los farmacéuticos, sino que debería aportar a la formación de profesionales que interpelen la forma en que nos relacionamos con los alimentos y las consecuencias que eso tiene para nuestra salud. Es en este sentido que hemos tratado de orientar la presente propuesta.

CAPÍTULO 1

Definición de alimento. Macro y micronutrientes. Conceptos básicos de nutrición. Rotulado nutricional

Cristina Ferrero

Definición de alimento. Dieta y salud

Un alimento es “toda sustancia o mezcla de sustancias naturales o elaboradas, que ingeridas por el hombre aportan a su organismo los materiales y energía necesarios para el desarrollo de sus procesos biológicos” (Código Alimentario Argentino). Desde el punto de vista de su origen, los alimentos pueden ser naturales, ya sea de fuentes vegetales o animales, los que generalmente presentan ningún o mínimo procesamiento, o formulados, los cuales son el resultado de la combinación de varios ingredientes que pueden tener valor nutricional (por poseer macro/micronutrientes) o bien agregarse por alguna razón distinta de la nutricional, ya sea sensorial, sanitaria o tecnológica (aditivos alimentarios). Sin embargo, existen otras dimensiones que es necesario tener en cuenta para abordar el tema de los alimentos y la alimentación: la social, la psicológica y la económica. La posibilidad de acceso y las costumbres, entre otras razones, inciden en qué es lo que llevamos a la mesa, cómo lo preparamos, cómo combinamos los diferentes ingredientes. Por ejemplo, los insectos en muchos países no son considerados como alimento, pero en otros sí son apreciados como es el caso de México y muchos países sudamericanos y africanos (Pijoan, 2021). Otro ejemplo surge de las adscripciones a dietas vegetarianas y veganas que se pueden basar tanto en consideraciones de salud como éticas; hoy este tipo de posturas tienen cada vez más incidencia en los alimentos que se eligen.

Es necesario distinguir los conceptos de formulación y composición de un alimento. La formulación es el listado de los ingredientes (materias primas) y sus respectivas cantidades. Por ejemplo, si nos referimos a un pan, su formulación será la lista y cantidades de cada ingrediente utilizado en su preparación, por ejemplo: harina 500 g, materia grasa 50 g, agua 300 g, sal 10 g y levadura 15 g. Por otro lado, la composición de un alimento está dada por la cantidad de cada componente sea nutriente o no: hidratos de carbono, lípidos, proteínas (macronutrientes), minerales y vitaminas (micronutrientes), sustancias que no son nutrientes naturalmente presentes (por ejemplo: pigmentos, fibra dietaria, antioxidantes), aditivos alimentarios (sólo se pueden agregar los permitidos por el Código Alimentario Argentino-CAA) y el agua. Para el

ejemplo del pan, la composición de un pan ya cocido (listo para consumir) puede ejemplificarse: hidratos de carbono 45%, proteína 10%, grasa 3%, fibra 1%, sal 1% p/p y la diferencia corresponde al agua, 40%. La lista de ingredientes aparece en orden de mayor a menor cantidad en el envase del alimento y la composición puede obtenerse del rotulado nutricional.

La composición de un alimento no es solo importante desde el punto de vista nutricional, sino que determina otras características y también define el tipo de procesamiento, así como su conservación, comercialización y utilización. Como ejemplo, un alimento con gran cantidad de agua como una hortaliza o fruta es considerado perecedero, y no podrá ser almacenado en las mismas condiciones que un alimento no perecedero, que por su bajo contenido de agua (por ejemplo, una harina que contiene menos de un 14% de agua en peso) puede ser conservado por largo tiempo en envase adecuado a temperatura ambiente.

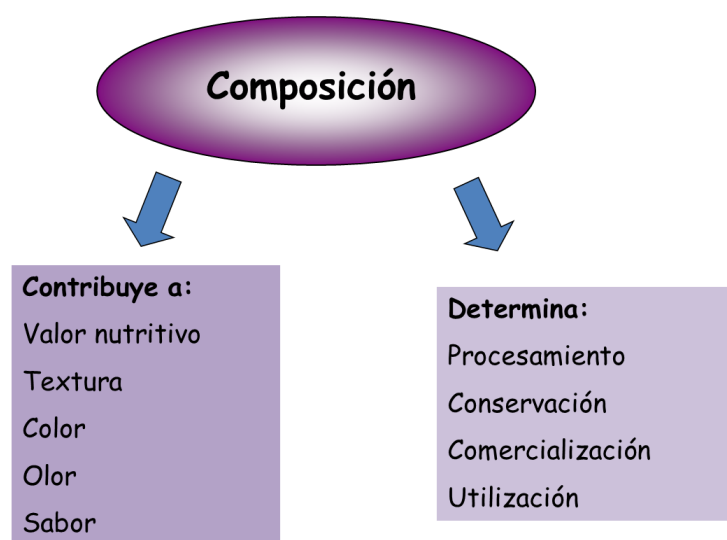


Figura 1.1. Importancia de la composición de un alimento

Hoy está aceptado que el tipo de dieta que elegimos tiene una fuerte incidencia en nuestra salud. Según datos de la OMS (2023), las enfermedades no transmisibles (ENT) constituyen la causa de muerte de 41 millones de personas por año que representan el 74% de todas las muertes en el mundo. El 77% de los decesos debidos a ENT se concentran en países de ingreso mediano bajo. Entre las ENT, las enfermedades cardiovasculares son la causa de la mayoría de las muertes (17,9 millones de personas cada año), seguidas de cáncer (9,3 millones), las enfermedades respiratorias crónicas (4,1 millones) y la diabetes (2,0 millones). Estos cuatro grupos de enfermedades representan más del 80% de todas las muertes prematuras (en menores de 70 años) por ENT (OMS, 2023).

Según el mismo informe, entre los factores que incrementan el riesgo de muerte por una ENT se encuentran: el tabaquismo, el sedentarismo, el consumo nocivo del alcohol, una alimentación poco saludable y la contaminación atmosférica. Según la OMS, estas enfermedades se ven favorecidas por factores como el rápido desarrollo urbano no planificado, la generalización de

modos de vida poco saludables y el envejecimiento de la población. Por ejemplo, una alimentación poco saludable sumada al sedentarismo puede generar hipertensión arterial, un aumento de los niveles de glucosa o de lípidos en sangre y obesidad. Estos factores se denominan factores de riesgo metabólicos (OMS, 2023).

El tratamiento de las ENT conlleva cambios de conducta, entre ellos, los cambios en los hábitos dietarios. Para ello es indispensable informarnos sobre los alimentos que consumimos, así como la consulta con profesionales para la prescripción de una dieta adecuada.

Esta influencia negativa de ciertos tipos de dieta en el desarrollo de ENT está en relación con nuestra evolución como especie. Nuestro organismo está evolutivamente preparado para un cierto tipo de dieta, la llamada dieta ancestral, en donde no había excesos de grasas saturadas e hidratos de carbono, rica en fibra alimentaria y con un buen balance de ácidos grasos insaturados. La evolución como especie hasta llegar al *Homo sapiens* fue atravesando diversas transiciones alimentarias que significaron fuertes cambios en la composición de la alimentación (Aguirre, 2001).

Tabla 1.1. Resumen de las transiciones alimentarias.

Transición	Datación	Causa	Cambio en la dieta
DE VEGETARIANOS A OMNÍVOROS	Un millón de años	Los homínidos abandonan las zonas selváticas a causa del cambio climático	Mayor aporte de ácidos grasos y proteínas a través del consumo de: frutos, nueces, raíces, hojas, brotes, semillas, miel, huevos, larvas, insectos, animales pequeños
DE CAZADORES A AGRICULTORES	13000 años aprox.	Hay un nuevo cambio climático, los bosques suplantando llanuras y se extingue la megafauna pleistocénica. Colapsan las culturas de la caza mayor	Se domestican (domesticación= reproducción dirigida) especies vegetales (como el trigo) y animales (como bovinos) que permiten asegurar la provisión de alimentos
DE AGRICULTORES A INDUSTRIALES	200 años	Revolución industrial	Nuevos alimentos formulados ricos en azúcar y grasas. Surgen los sistemas de conservación (envases de vidrio, enlatados, congelados), la mecanización de los procesos, el transporte y las ventas mayorista y minorista, los sistemas de control alimentarios para asegurar inocuidad. Los alimentos se deslocalizan y desestacionalizan.

Nota: basado en Aguirre (2001)

La última transición data de alrededor de 200 años, ya que surge con la era industrial y la mecanización de la producción lo que significó un drástico cambio en la dieta, que incidió en el incremento de ciertas enfermedades. Nuestros antepasados cazadores-recolectores desarrollaron una adaptación evolutiva ante la alternancia de períodos de abundancia y escasez de alimentos. Ante la abundancia, el “exceso” de energía se almacenaba como tejido adiposo preparando al individuo ya que este tejido era una reserva energética para los períodos de escasez. Este mecanismo permitió sobrevivir a la especie y aún lo portamos. Los alimentos típicos de la era industrial, ricos en hidratos y grasas, proveen de un exceso de calorías que nuestro organismo no puede siempre llegar a gastar. Este tipo de dietas sumado al estilo de vida sedentario es lo que se suele denominar “entorno obesogénico”. El resultado es una prevalencia de ENT como la obesidad, la hipertensión, la diabetes, entre otras.

Conceptos básicos de nutrición

Según la definición de la Asociación Médica Argentina (1963) se entiende por Nutrición “la ciencia que estudia los alimentos, los nutrientes, la interacción en relación con la salud y la enfermedad; los procesos de digestión, absorción, utilización y excreción de sustancias alimenticias y también los aspectos económicos, culturales, sociales y psicológicos relacionados con los alimentos y la alimentación”. Sobre la base de esta definición que abarca varias dimensiones nos enfocaremos en los primeros aspectos que aborda, es decir el estudio del intercambio entre las sustancias y energía en los seres vivos y en particular, nos referiremos también en este curso a los procesos de absorción y utilización, así como los daños que derivan del exceso o déficit de algunos nutrientes. Hay que tener en cuenta que para los distintos nutrientes existe el concepto de “Ingesta recomendada”, que son los niveles de ingesta de un determinado nutriente que se consideran adecuados para cubrir las necesidades nutricionales de prácticamente todas las personas sanas.

Se pueden distinguir tres etapas de la nutrición:

Alimentación: se extiende desde la prescripción hasta la absorción de los principios nutritivos. Esta etapa incluye la elección de los alimentos, la forma en que se combinarán y cocinarán, porciones, entre otros aspectos. A través de la acción de enzimas de nuestro tracto oro-gastro-intestinal los nutrientes que se encuentran en el alimento son degradados y absorbidos.

Metabolismo: segunda etapa, en donde se utilizan la materia y energía aportadas por los componentes alimentarios. Se extiende de la absorción hasta la excreción.

Excreción: tercera etapa cuya finalidad es liberar los desechos que se forman como producto del metabolismo.

Nos enfocaremos en la primera etapa, la alimentación, que para ser saludable debe cumplir con algunos requisitos, que se pueden enunciar como “las cuatro leyes de la alimentación saludable” (López y Suarez, 2021) (Figura 1.2)

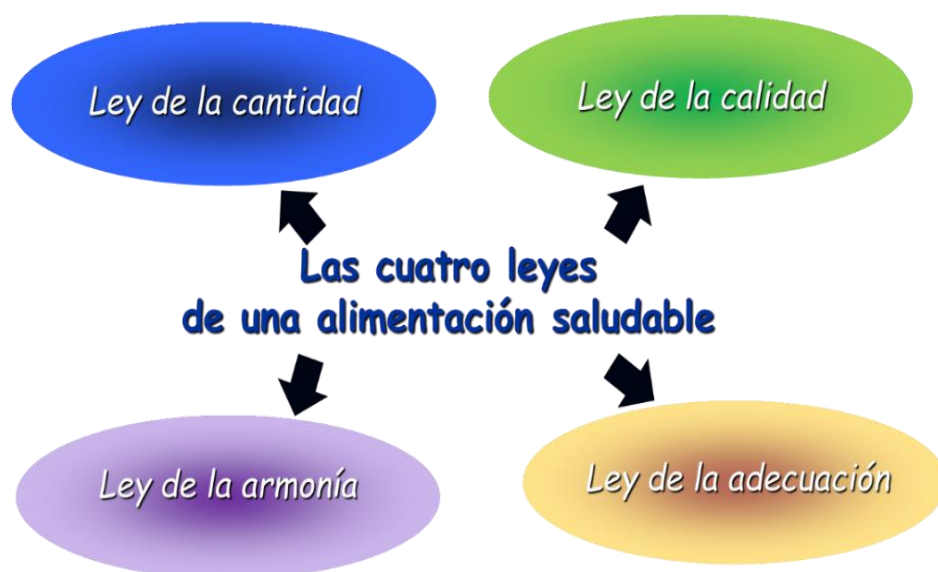


Figura 1.2. Las cuatro leyes de una alimentación saludable

Estas leyes nos recuerdan que debemos consumir suficientes alimentos para proveernos de la cantidad de energía que necesitamos para nuestro metabolismo y las actividades que desarrollamos, que debemos incorporar todos los nutrientes (calidad de la alimentación) y que estos deben estar presentes en determinadas proporciones (ley de la armonía). Por último, las dietas deben adecuarse a las necesidades de cada individuo, de acuerdo a su metabolismo y actividad física.

Respecto a las necesidades energéticas, estas quedan determinadas por el gasto energético total (GET) del individuo. Las necesidades diarias de energía de una persona son aquellas que permiten mantener el peso corporal adecuado constante. Existen situaciones particulares, por ejemplo, en niños en etapa de crecimiento y mujeres gestantes, en las cuales el GET también incluye la formación de tejidos y en las mujeres en periodo de lactación, los requerimientos energéticos involucran la secreción de leche a un ritmo adecuado.

El GET se puede dividir de acuerdo a la utilización de la energía en lo utilizado por nuestro metabolismo para mantener las funciones vitales (tasa metabólica basal-TMB), el gasto energético asociado a la ingesta y utilización de los alimentos (acción dinámica específica-ADE o acción termogénica de los alimentos) y finalmente todo gasto asociado a la actividad física (AF). Esta distribución se puede apreciar en la Figura 1.3.

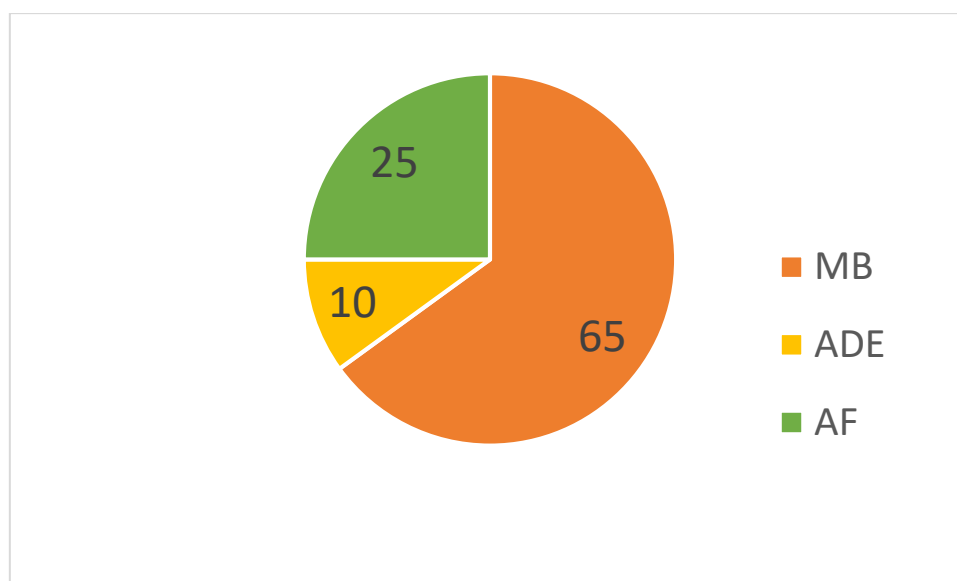


Figura 1.3. Distribución del gasto energético (%) para una actividad moderada. MB: metabolismo basal, ADE: acción dinámica específica o termogénica de los alimentos, AF: actividad física

Como se puede apreciar, la TMB representa la mayor parte del gasto energético (60-65%). La magnitud de la TMB dependerá de factores fisiológicos y patológicos. Entre los fisiológicos se encuentran la edad, sexo, talla, peso, superficie corporal, masa magra, condiciones particulares como el embarazo y la lactancia y los climas extremos que representan una mayor exigencia a nuestro metabolismo para mantener la temperatura constante. Además de los fisiológicos existen factores patológicos como alteraciones en la función de hormonas, procesos infecciosos, alteraciones en el estado nutricional, estrés.

La tasa metabólica basal (TMB) se puede determinar por calorimetría ya sea directa o indirecta. La **calorimetría indirecta respiratoria** se realiza con un dispositivo que permite determinar el volumen de oxígeno consumido (VO_2) y el volumen de dióxido de carbono producido (VCO_2) con lo cual se puede determinar la TMB reemplazando en la fórmula de Weir completa (López y Suárez, 2021)

$$TMB = [3,9 \times (VO_2) + 1,1 \times (VCO_2)] \times 1,44 - 2,17 \text{ (NU)}$$

o abreviada (donde se elimina el término correspondiente al nitrógeno urinario-NU).

$$TMB = [3,9 \times (VO_2) + 1,1 \times (VCO_2)] \times 1,44$$

Para aplicar esta metodología se asume que todo el O_2 inspirado es utilizado en el metabolismo oxidativo, todo el CO_2 espirado deriva de la completa oxidación de los sustratos y todo el N que resulta de la oxidación proteica se elimina por la orina en forma de urea pudiendo ser cuantificado.

Las condiciones de medición son estrictas, debe realizarse con al menos 12 h de ayuno, al despertar y en posición decúbito supino (acostado boca arriba en forma paralela al suelo). Debe haber un control de temperatura ambiental (20°C). Cuando estas condiciones no se cumplen completamente (menos de 12 h de ayuno o medición que no se realiza al momento de despertarse) el valor obtenido ya no es la TMB sino un valor energético similar (normalmente 10% superior) que se denomina gasto energético de reposo (GER).

La otra manera de determinar la TMB es por calorimetría directa, utilizando un habitáculo aislado térmicamente y midiendo el incremento de temperatura que se produce al estar la persona en las condiciones de medición descriptas para la calorimetría indirecta. Este tipo de calorimetría también se utiliza para determinar el gasto energético involucrado en una actividad física particular. Normalmente este tipo de calorimetría se utiliza en mayor medida en investigaciones.

Para un cálculo de rutina de la TMB se pueden utilizar tablas que relacionan la TMB con el peso de una persona (P, kg) teniendo en cuenta franja etaria y género (Tabla 1.2). Este es el método recomendado por la FAO/OMS.

Tabla 1.2. Ecuaciones para calcular la TMB de acuerdo a recomendaciones FAO/OMS

Sexo y edad (años)	Ecuación para calcular la TMB (kcal/día)	
	Hombres	Mujeres
0-2	$(60,9 \times P) - 54$	$(61,0 \times P) - 51$
3-9	$(22,7 \times P) + 495$	$(22,5 \times P) + 499$
10-17	$(17,5 \times P) + 651$	$(12,2 \times P) + 746$
18-29	$(15,3 \times P) + 679$	$(14,7 \times P) + 496$
30-59	$(11,6 \times P) + 879$	$(8,7 \times P) + 829$
60+	$(13,5 \times P) + 487$	$(10,5 \times P) + 596$

Estas ecuaciones, que corresponden a rectas se han obtenido correlacionando para cada grupo de referencia (de acuerdo a sexo y edad) la TMB medida en función del peso del individuo. Existen otras formas de calcular la TMB, como la aplicación de las fórmulas de Harris Benedict para hombres y mujeres que utilizan como variables el peso (P), la talla (T) y la edad.

Hombres:

$$TMB = 66 + [13,7 \times P \text{ (kg)}] + [5 \times T \text{ (cm)}] - [6,8 \times \text{edad (años)}]$$

Mujeres:

$$TMB = 655 + [9,6 \times P \text{ (kg)}] + [1,8 \times T \text{ (cm)}] - [4,7 \times \text{edad (años)}]$$

A partir del valor de TMB que se obtiene para 24 h se puede calcular el gasto energético para una hora de determinada actividad física, aplicando factores como los que se ejemplifican en la tabla siguiente

Tabla 1.3. Ejemplos de factores para determinar el gasto energético por actividad

Actividad	Etilo de vida		
	Sedentario	Activo moderado	Muy activo
Sueño	1	1	1
Cuidado personal (aseo, vestido)	2,3	2,3	2,3
Trabajo sentado (oficina, venta)	1,5		
Trabajo doméstico general	2,8		
Cocinar	2,1		2,1
Manejar al/del trabajo	2,0		
Caminar a paso variado, sin carga	3,2	3,2	3,2
Ocio (mirar TV, charlar)	1,4	1,4	1,4
Ejercicio aeróbico baja intensidad		4,2	
Desplazarse en micro al/del trabajo		1,2	
Trabajo parado, con carga pequeña		2,2	
Trabajo agrícola no mecanizado			4,4
Barrido, lavado de ropa, platos			2,3

Nota: adaptado de *Joint, FAO* (2004)

De esta manera, multiplicando la TMB/h (se obtiene dividiendo la TMB por 24) por el factor de cada actividad (Tabla 1.3) y por la cantidad de horas que dicha actividad se realiza, y luego sumando todos los aportes se obtiene el GET (en este cálculo no se está considerando la ADE ya mencionada). Existen otros métodos para este tipo de cálculo, en algunos casos se puede tener como dato el gasto energético por kg de peso del individuo y por unidad de tiempo de la actividad. Finalmente, para un cálculo aproximado si se cuenta con el valor de GER se puede adicionar al mismo un 30% si el individuo tiene una actividad muy sedentaria, 50% si es sedentaria, 70% para actividad moderada y un 100% para una persona muy activa.

El GET expresa nuestros requerimientos energéticos en kcal/día. Una alimentación saludable debe balancear entre necesidades e ingesta energética (ley de la cantidad). Este es el principal determinante del peso corporal. Cuando hay un balance positivo y la dieta aporta más energía de la necesaria, el exceso se almacena (dada nuestra adaptación evolutiva mencionada anteriormente) en forma de grasa dando lugar a sobrepeso y obesidad. Por el contrario, cuando la ingesta de energía es inferior al gasto, se hace uso de las reservas corporales de grasa y proteína, produciéndose una disminución del peso y malnutrición.

Existe un índice que permite determinar si existe una situación de desbalance entre las necesidades energéticas y lo provisto por los alimentos. Es el índice de Quetelet, o índice de masa corporal (IMC) definido por la relación:

$$\text{IMC} = [\text{peso (kg)} / \text{talla}^2 (\text{m}^2)]$$

que está relacionado con la adiposidad y obesidad. Para una persona adulta se considera un IMC adecuado aquel valor comprendido entre 20 y 25; cuando está entre 25 y 30 puede existir sobrepeso; si es mayor de 30, obesidad y si, por el contrario, es menor de 20, se habla de bajo peso. Respecto a las leyes de la calidad y de la armonía, se considera que la energía provista por la dieta tiene que ser aportada por los distintos nutrientes de acuerdo a la distribución representada en la Figura 1.4.

Entonces, por ejemplo, para una necesidad energética de 2000 kcal/día, el 60% de dichas calorías deberían provenir de los hidratos de carbono, tanto simples (como glucosa) como complejos (almidón) lo que significa unas 1200 kcal. Para pasar a los gramos de hidratos de carbono se debe dividir por el factor de Atwater correspondiente (4 kcal/g) resultando 300 g de hidratos de carbono diarios. El 25 % de las calorías debe ser provisto por los lípidos, lo que significa 500 kcal; dividiendo por el factor de Atwater correspondiente (9 kcal/g) significa que hay que consumir unos 55,5 g de lípidos. Finalmente, si bien las proteínas tienen una función estructural se representa su aporte como el 15% de las kcal totales o sea 300 kcal que dividiendo por el factor de Atwater (4 kcal/g) resultan en 75 g de proteína de buen valor nutricional.

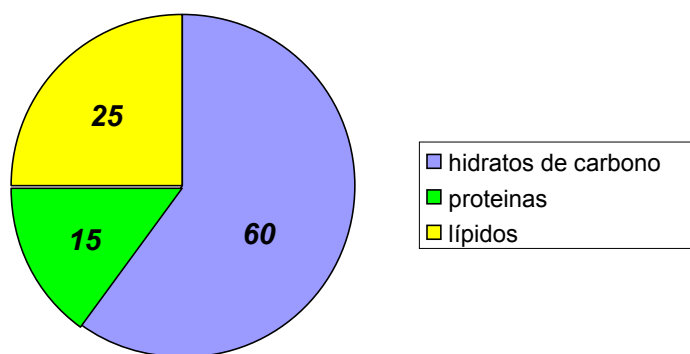


Figura 1.4. *Aporte porcentual de calorías según los nutrientes*

Los nutrientes serán aportados por alimentos de distintos grupos alimentarios; una forma de representar una dieta balanceada es a través de esquemas, algunos muy conocidos como la pirámide nutricional (que está siendo reemplazada por otras representaciones conceptualmente diferentes) o la gráfica de alimentación saludable (Risso Patrón y col., 2018). En la Figura 1.5 se muestran ambos ejemplos.



Figura 1.5. Aportes de distintos grupos alimentarios en la dieta según la concepción de la pirámide nutricional tradicional y la gráfica de alimentación saludable.

Legislación y Rotulado

El Código Alimentario Argentino (CAA) es el conjunto de disposiciones higiénico-sanitarias, bromatológicas y de identificación comercial del Reglamento Alimentario aprobado por Decreto 141/1953. Sus diferentes capítulos abarcan distintos tópicos y grupos alimentarios (Tabla 1.4).

El CAA diferencia entre alimento genuino y el que no lo es en su Capítulo I, art 6. Un alimento genuino o normal es el que “respondiendo a las especificaciones reglamentarias, no contenga sustancias no autorizadas ni agregados que configuren una adulteración y se expendan bajo la denominación y rotulados legales, sin indicaciones, signos o dibujos que puedan engañar respecto a su origen, naturaleza y calidad”. En contraposición, un alimento alterado es el que “por causas naturales de índole física, química y/o biológica o derivadas de tratamientos tecnológicos inadecuados y/o deficientes, aisladas o combinadas, ha sufrido deterioro en sus características organolépticas, en su composición intrínseca y/o en su valor nutritivo”. Un alimento contaminado es el que contiene “a) Agentes vivos (virus, microorganismos o parásitos riesgosos para la salud), sustancias químicas, minerales u orgánicas extrañas a su composición normal sean o no repulsivas o tóxicas. b) Componentes naturales tóxicos en concentración mayor a las permitidas por exigencias reglamentarias.” Tanto la alteración como la contaminación implican un hecho accidental, es decir, la ausencia de una acción intencionada para cambiar la composición del alimento. En cambio, un alimento adulterado lo ha sido intencionalmente y se define como el que “ha sido privado, en forma parcial o total, de sus elementos útiles o característicos, reemplazándolos o no por otros inertes o extraños; que ha sido adicionado de aditivos no autorizados o sometidos a tratamientos de cualquier naturaleza para disimular u

ocultar alteraciones, deficiente calidad de materias primas o defectos de elaboración.” Finalmente, un alimento falsificado es aquel “que tenga la apariencia y caracteres generales de un producto legítimo protegido o no por marca registrada, y se denomine como éste sin serlo o que no proceda de sus verdaderos fabricantes o zona de producción conocida y/o declarada.”

Tabla 1.4. Contenidos del Código Alimentario Argentino

Cap.	Artículos	Contenido
I	1 al 11	Disposiciones generales
II	12 al 154	Condiciones generales de las Fábricas y Comercios de Alimentos.
III	155 al 183	De los productos alimenticios
IV	184 al 219	Utensilios, Recipientes, Envases, Aparatos y Accesorios.
V	220 al 246	Normas para la Rotulación y Publicidad de los Alimentos
VI	247 al 519	Alimentos Cárneos y Afines.
VII	520 al 552	Alimentos Grasos, Aceites Alimenticios
VIII	553 al 642	Alimentos Lácteos
IX	643 al 766	Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados
X	767 al 818	Alimentos Azucarados
XI	819 al 981	Alimentos Vegetales
XII	982 al 1079	Bebidas Hídricas, Agua y Agua Gasificadas.
XIII	1080 al 1107	Bebidas Fermentadas
XIV	1108 al 1136	Bebidas Espirituosas, Alcoholes, Bebidas Alcohólicas Destiladas y Licores
XV	1137 al 1198	Productos Estimulantes o Fruitivos.
XVI	1199 al 1338	Correctivos y Coadyuvantes
XVII	1339 al 1390	Alimentos de Régimen o Dietéticos
XVIII	1391 al 1406	Aditivos Alimentarios
XIX	1407 al 1412	Harinas, Concentrados, Aislados y Derivados Proteínicos
XX	1413 al 1414	Metodología Analítica Oficial
XXI	1415 al 1416	Procedimientos
XXII	1417	Misceláneos

Según el CAA se define como rotulación a “toda inscripción, leyenda, imagen o toda materia descriptiva o gráfica que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado, marcado en relieve o huecograbado o adherido al envase del alimento” siendo el envase el “recipiente, el empaque o el embalaje destinado a asegurar la conservación y facilitar el transporte y manejo de alimentos”. El envase primario o envoltura primaria es el que se encuentra en contacto directo con los alimentos mientras que el secundario o empaque es el envase destinado a contener el o los envases primarios. Puede haber inclusive un envase terciario, que contiene a los secundarios.

En el rotulado hay información obligatoria y facultativa. Dentro de la información obligatoria se encuentra;

- Denominación de venta del alimento
- Lista de ingredientes
- Contenidos netos
- Identificación del origen
- Nombre o razón social y dirección del importador, para alimentos importados.

- Identificación del lote
- Fecha de duración
- Preparación e instrucciones de uso del alimento, cuando corresponda.
- Información nutricional obligatoria

Para esta última existen diferentes modelos de presentación de dicha información ya establecidos (Figura 1.6) dependiendo su elección del espacio disponible en el envase.

Información nutricional.		
Porción... g o ml (medida casera)		
	Cantidad por porción	% VD*
Valor energético	 kcal =kJ	
Carbohidratos	g	
Proteínas	g	
Grasas totales	g	
Grasas saturadas	g	
Grasas trans	g	(No declarar)
Fibra alimentaria	g	
Sodio	mg	

(*) % Valores diarios con base a una dieta de 2000 kcal. ÷ 8400 kJ.
Sus valores diarios pueden ser mayores ó menores dependiendo de sus necesidades energéticas.

Información Nutricional: Porción g o ml (medida casera). Valor energético kcal = kJ (... %VD*); Carbohidratosg (...%VD); Proteínasg (...%VD); Grasas totalesg (...%VD); Grasas saturadasg (...%VD); Grasas transg; Fibra alimentariag (...%VD); Sodiomg (...%VD).
No aporta cantidades significativas de ... (Valor energético y/o el/los nombre/s del/de los nutriente/s) (Esta frase se puede emplear cuando se utilice la declaración nutricional simplificada)
* % Valores Diarios con base a una dieta de 2.000 kcal u 8.400 kJ. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas.

Figura 1.6. Modelos vertical y lineal para el rotulado nutricional

Desde marzo de 2022, en que fue reglamentada rige la Ley de Alimentación saludable (Ley 27.642) conocida como “de etiquetado frontal” cuyos objetivos son (Infoalimentos, 2023):

- Promover una alimentación saludable, brindando información nutricional simple y comprensible de los alimentos envasados y bebidas alcohólicas envasadas.
- Advertir a los consumidores sobre los excesos de azúcares, grasas totales, grasas saturadas, sodio y calorías en los alimentos envasados y bebidas alcohólicas envasadas. Y también advertir sobre la presencia de edulcorantes y cafeína, con el fin de no recomendar o evitar su consumo en niños.
- Prevenir la malnutrición en la población y reducir las enfermedades crónicas no transmisibles.

En la siguiente tabla reproducida del sitio Infoalimentos se encuentran los límites que deben superarse para la obligatoriedad del sello negro, en cada etapa de aplicación de la ley.

Tabla 1.5. Rotulado frontal

Nutrientes críticos y calorías, edulcorantes y cafeína	Primera etapa	Segunda etapa	Sello de advertencia y leyenda precautoria que se debe colocar en el frente del envase
Azúcares	$\geq$ (**)20% del total de energía (calorías)	$\geq$ 10% del total de energía (calorías)	
Grasas totales	$\geq$ 35 del total de energía (calorías)	$\geq$ 30% del total de energía (calorías)	
Grasas saturadas	$\geq$ 12 del total de energía (calorías)	$\geq$ 10% del total de energía (calorías)	
Sodio	$\geq$ 5 mg/1 kcal o $\geq$ 600 mg/100 g Bebidas analcohólicas sin aporte energético: $\geq$ 40 mg/100 ml	$\geq$ 1 mg/1 kcal o $\geq$ 300 mg/100 g Bebidas analcohólicas sin aporte energético: $\geq$ 40 mg/100 ml	
Calorías*	Alimentos: $\geq$ 300 kcal/100 g Bebidas analcohólicas: $\geq$ 50 kcal/100 ml	Alimentos: $\geq$ 275 kcal/100 g Bebidas analcohólicas: $\geq$ 25 kcal/100 ml	
Edulcorantes	Si la lista de ingredientes del alimento y/o la bebida contiene	Si la lista de ingredientes del alimento y/o la bebida contiene	
Cafeína	Si la lista de ingredientes del alimento y/o la bebida contiene	Si la lista de ingredientes del alimento y/o la bebida contiene	

* Corresponderá la aplicación del sello "EXCESO EN CALORÍAS" solo cuando el límite del valor energético sea igual o mayor al establecido y presente al menos un sello de exceso en azúcares y/o grasas totales, y/o grasas saturadas. * $\geq$ Mayor o igual a ...

.Nota: reproducida de Infoalimentos, Consejo Argentino sobre Seguridad de Alimentos y Nutrición

Esta ley fue planteada en dos etapas de aplicación, siendo la segunda más estricta en cuanto a los límites permitidos. Estos límites se refieren a calorías totales, azúcares añadidos, grasas totales y grasas saturadas y sodio. Corresponde colocar un sello negro en el rótulo si se superan estos límites. Existen alimentos envasados como azúcar de mesa, frutos secos, aceite vegetal y sal común que están eximidos de presentar estos sellos. Por otro lado, la presencia de edulcorantes y de cafeína debe ser advertida con sellos rectangulares

Referencias bibliográficas

- Aguirre P. (2001) Del gramillón al aspartamo. Las transiciones alimentarias en el tiempo de la especie. Boletín Techint, 306, 93-120 <https://boletintechint.com> . (ingresado febrero 2023)
- Código Alimentario Argentino (2024). www.anmat.gov.ar
- Infoalimentos (2023) Ley de etiquetado frontal nutricional en la Argentina <https://infoalimentos.org.ar/temas/nutricion-y-estilos-de-vida/627-ley-de-etiquetado-nutricional-frontal-en-argentina>
- Joint, F. A. O. (2004). Human energy requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, Rome, 17-24 October 2001.
- López L.B. y Suarez M.M. (2021). Fundamentos de Nutrición Normal 3º Edición, Editorial Ateneo,
- OMS (2023) Enfermedades no transmisibles. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Pijoan, M. (2001). El consumo de insectos, entre la necesidad y el placer gastronómico. Offarm, 20(9), 150-161.
- Risso Patrón, V., Bichara, P., Bustos, A., Abrodos, N., Sánchez, D., Hansen, E., ... & Coton, N. (2018). Manual para la aplicación de las Guías Alimentarias para la Población Argentina.

CAPÍTULO 2

Alimentos saludables y funcionales.

Nutracéuticos. Suplementos dietarios. Vitaminas

Cristina Ferrero

Alimentos saludables y funcionales

Son aquellos que proveen los nutrientes necesarios para una alimentación sana. Cumplen con las recomendaciones para una dieta saludable y ayudan a corregir desvíos. Podemos mencionar entre ellos, los cereales integrales, las legumbres, frutas y hortalizas, carnes magras, lácteos descremados.

Los alimentos funcionales poseen uno o más componentes (sean o no nutrientes) que tienen beneficios demostrados para la salud, por ejemplo, reducir el riesgo de contraer ciertas enfermedades no transmisibles. No se trata de propiedades curativas sino de un efecto de reducción de riesgo, que tiene que estar científicamente demostrado. Suelen ser parte de la dieta habitual y el componente que presenta la actividad biológica beneficiosa es el componente funcional o bioactivo. En la Tabla 2.1 se listan algunos componentes funcionales alimentarios y su actividad demostrada. Ejemplos de algunos alimentos que los contienen son los lácteos con probióticos, galletitas, barras y otros productos de panadería con fibra prebiótica, cereales, frutas o vegetales fuentes de componentes bioactivos (por ej., semillas de lino), huevos con ácidos grasos n-3, cereales con folato, entre otros.

Un alimento puede ser naturalmente funcional, por ejemplo, una baya rica en antioxidantes como el arándano o bien se puede convertir en funcional realizando alguna de las siguientes operaciones durante su procesado:

Incremento en la concentración, biodisponibilidad o estabilidad de un componente alimenticio beneficioso con el objeto de producir un efecto funcional o reducir la aparición de enfermedades.

Adición de un componente beneficioso que no está presente en la mayoría de los alimentos, no necesariamente un macro o micronutriente.

Eliminación de un componente alimenticio conocido como causante o determinante de una enfermedad, por ejemplo, las proteínas alergénicas de ciertos alimentos, la lactosa de lácteos.

Reemplazo de macronutrientes, por ejemplo, materia grasa.

Tabla 2.1. *Ejemplos de componentes funcionales y su acción en el organismo*

Carotenoides	Neutralizan radicales libres Mantenimiento visión Prevención hipertrofia próstata
Fibra dietaria	Puede reducir riesgo de enfermedades cardiovasculares Mejora función intestinal
Ácidos grasos mono y poliinsaturados	Reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares
Flavonoides	Antioxidantes
Fenoles (ac. cafeico, ac. ferulico)	Antioxidantes
Poliolios (xilitol, manitol, sorbitol, lactitol)	Puede reducir el riesgo de caries dentales
Estanoles/esteroles de plantas	Puede reducir riesgo de enfermedades cardiovasculares
Prebióticos (inulina, fructoligosacaridos, povidextrosa)	Mejoran función intestinal
Probióticos (lactobacilos, bifidobacterias)	Mejoran función intestinal Mejoran inmunidad sistémica
Fitoestrógenos (isoflavonas)	Mejoran salud ósea Disminuyen síntomas de la menopausia Reducen colesterol
Fitoestrógenos (lignanos)	Mantenimiento salud cardiaca
Proteína de soja	Puede reducir riesgo de enfermedades cardiovasculares
Sulfuros, tioles	Pueden mejorar desintoxicación de compuestos no deseados Mejoran función del sistema inmunológico

Nutracéuticos

A diferencia de los mencionados alimentos saludables y funcionales, los nutraceuticos no tienen la apariencia de un alimento, sino que son productos derivados de alimentos, usualmente presentados bajo la forma de un fármaco y que han demostrado tener beneficios para la salud o reducir el riesgo de enfermedades crónicas. El nombre viene de la fusión de los términos “nutrición” y “farmacéutico” y fue acuñado en 1989 por el Dr. Stephen De Felice, presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina de Nueva Jersey, Estados Unidos. Ejemplos de nutraceuticos son: extracto de ajo, aceites de pescado ricos en omega 3, isoflavonas, diversos aminoácidos, lecitina, flavonoides, creatina, licopeno.

Según la Sociedad Española de Nutraceutica Médica, los nutraceuticos deben reunir ciertos requisitos para ser considerados como tales:

- Ser productos de origen natural, aislados y purificados por métodos no desnaturalizantes.
- Aportar efectos beneficiosos para la salud.
- Haber sido sometidos a análisis químicos, de estabilidad y toxicología.
- Haber sido sometidos a estudios reproducibles de sus propiedades bioactivas, incluyendo estudios en animales de experimentación y en humanos.
- Haber sido sometidos a un proceso de desarrollo y validación siguiendo criterios científicos equiparables a cualquier medicamento.
- Aportar reproducibilidad, calidad, seguridad y eficacia.

Los nutraceuticos pueden ser considerados parte del amplio conjunto de los suplementos dietarios. Estos últimos son generalmente productos destinados a incrementar la ingesta diaria habitual de ciertos componentes de la dieta de personas sanas, por ejemplo, proteínas, lípidos, aminoácidos, carbohidratos, vitaminas, minerales, fibra dietaria. Se presentan usualmente en forma de píldora, cápsula, comprimido o líquido, no en forma de alimento convencional ni como el producto exclusivo a ingerir como comida o alimento. Pueden ser de origen natural o químico sintético y pueden incluir sustancias medicamentosas aprobadas legalmente para tal fin. Muchos suplementos dietarios (también denominados complementos alimenticios) pueden ser considerados nutraceuticos, en tanto que las sustancias que aporten sean de origen natural y cumplan los requisitos antes detallados.

Cabe aclarar que las plantas medicinales y extractos de ellas, utilizados en fitoterapia, no son consideradas nutraceuticos a pesar de su origen natural por no ser derivados de alimentos, ya que esto es uno de los requisitos.

Rol de las grasas en una alimentación saludable

Los lípidos tienen en el organismo una función energética y también estructural al ser parte de la membrana celular y ser precursores de eicosanoides. Además, son vehículo de vitaminas liposolubles en el alimento. Sin embargo, el exceso en la alimentación de ciertas grasas como las saturadas y las trans (éstas presentes en aceites vegetales hidrogenados) han sido asociadas con un mayor riesgo aterogénico (deposición de placas que obstruyen el lumen arterial), por lo que se aconseja limitar su consumo. Actualmente la ingesta recomendada de lípidos es del 15 % del consumo energético diario en adultos, 20 % en mujeres en edad reproductiva, 35 % en individuos activos y un máximo de 30 % en personas con vida sedentaria. Los ácidos grasos saturados AGS no deben superar el 10 % del consumo calórico diario. Asimismo, se debe cuidar el balance de n-6 a n-3, lo que se verá a continuación.

Ácidos grasos omega 3 y omega 6

Estos ácidos grasos (AG) insaturados tienen el primer doble enlace en el tercer carbono contando desde el metilo terminal (omega 3: n-3) o en el sexto carbono contando desde el mismo metilo (omega 6: n-6) (Tabla 2.2)

Tabla 2.2. Ácidos grasos más comunes de las series n-3 y n-6.

nombre	C	<u>ins</u>	n	estructura
α-linolénico (ALA)	18	3	3	
Eicosapentaenoico (EPA)	20	5	3	
Docosahexaenoico (DHA)	22	6	3	
Linoleico (LA)	18	2	6	
Araquidónico (AA)	20	4	6	

Nota: ins: número de insaturaciones; n: nomenclatura omega; ácidos grasos esenciales: en rojo.

En un principio se consideraron como AG esenciales el linoleico, araquidónico y linolénico. Sin embargo, el araquidónico se obtiene en el organismo a partir del linoleico, por lo que no puede considerarse esencial. El 1% de las kilocalorías de la dieta deben corresponder a ácido

linoleico. El sistema enzimático que transforma los dos tipos de ácidos grasos esenciales es el mismo por lo que existe un efecto de competencia entre ellos (Figura 2.1).

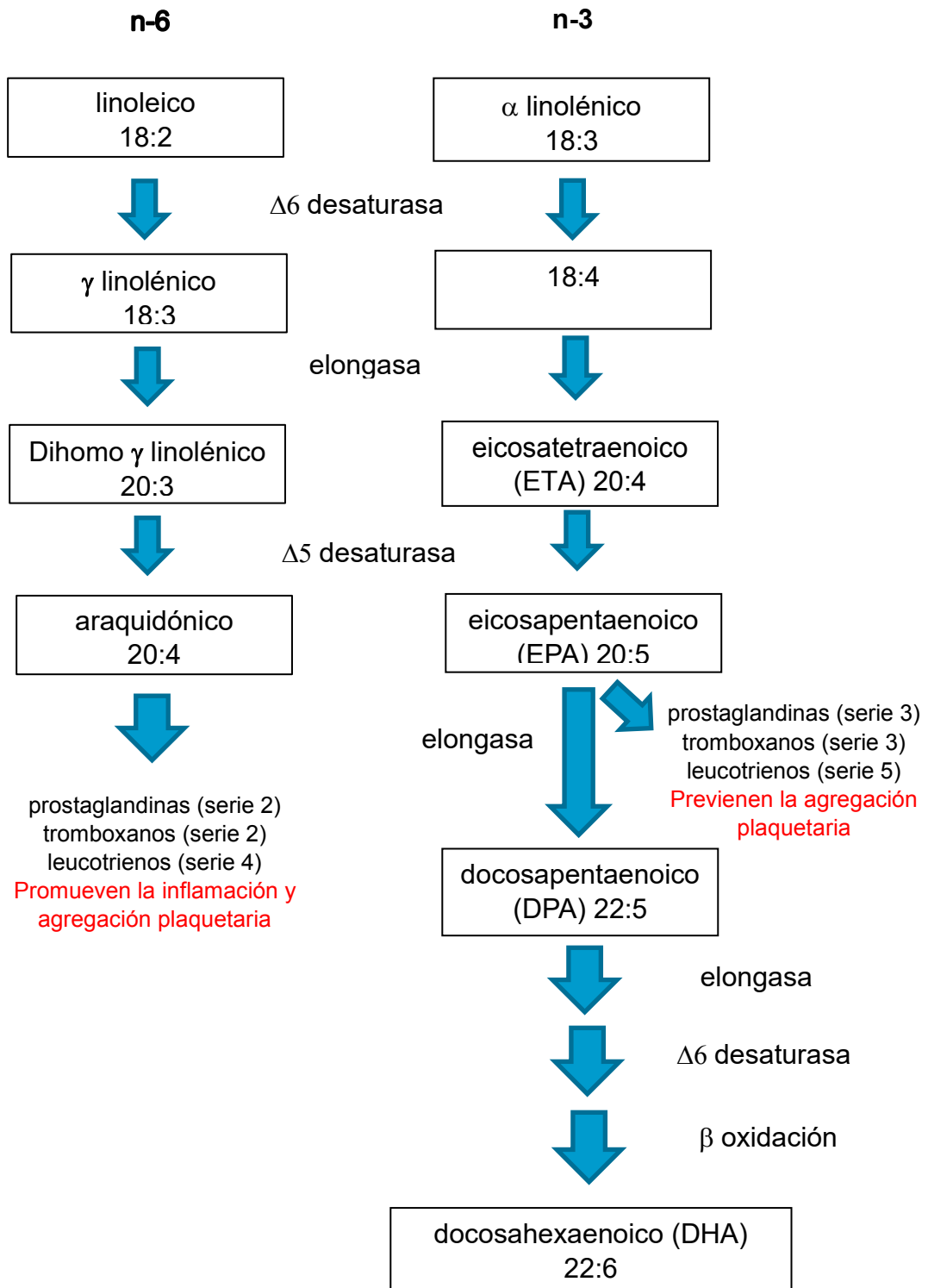


Figura 2.1. Rutas enzimáticas de los ácidos linoleico y linolénico y síntesis de eicosanoides. Basado en Jones y Papamandjaris, 2003.

La elongación y desaturación de estos AG produce AG poliinsaturados de cadena larga ($C > 20$) precursores de eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, compuestos que exhiben acciones biológicas diversas. Los eicosanoides derivados de las series n-6 y n-3 de AG tienen una acción inversa en relación a los sistemas inmunitario e inflamatorio. Se ha observado que poblaciones que consumen dietas ricas en n-3 (por ejemplo, con mayor cantidad de pescados ricos en estos AG) tienen mayores tiempos de sangría que las poblaciones con una alimentación pobre en n-3. Una deficiencia en n-3 promueve procesos inflamatorios y se vincula a trastornos como trombosis, artritis, lupus y cáncer (Jones y Papamandjaris, 2003). En deficiencia de linoleico, el oleico (el AG más abundante en los tejidos) es desaturado y elongado produciendo eicosatrienoico (20:3, n-9). La acumulación de este AG es un marcador de la deficiencia de linoleico.

Respecto a las fuentes de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta, estas son:

linoleico: nueces, cereales, aceites vegetales (girasol, maíz, uva en nuestro medio), soja, palta

linolénico: aceites vegetales (soja, canola-colza de bajo contenido de ácido erúico), semillas (chía), cereales

araquidónico: cerdo, carnes en general

DHA y EPA: aceites de peces, fuentes no-animales: microalgas

Existe una cierta ventaja de los AG n-3 por sobre los n-6 como sustratos en las rutas metabólicas descritas: los sistemas enzimáticos tienen mayor afinidad sobre los n-3. Por lo tanto, es necesario un balance en el aporte diario de los mismos. La relación linoleico-linolénico en la dieta debe estar entre 5:1 y 10:1. Las dietas actuales occidentales tienen una relación $n-6/n-3 \cong 20:1$, o sea son deficientes en n-3. Una dieta rica en n-3 contribuye a evitar la depresión, el desorden de deficiencia de atención y enfermedades cardiovasculares. Existen alimentos funcionales y nutraceuticos desarrollados para contribuir con n-3 a la dieta a fin de alcanzar los requerimientos del organismo. Una adecuada relación de $n-6/n-3$ se cumple en una dieta donde predominen las carnes magras, vegetales, frutas y frutos secos, semillas. Muchas veces se encontrará este tipo de combinación de alimentos bajo la denominación de dieta ancestral, ya que se cree era la dieta de los primeros homínidos. Nuestro organismo está evolutivamente adaptado a este tipo de dieta, caracterizada por ser magra, con un buen balance de ácidos grasos poliinsaturados, rica en fibra y limitada en carbohidratos asimilables (Montaner y Meade Huerta, 2016).

VITAMINAS

Las vitaminas son sustancias que intervienen en diversos procesos metabólicos y resultan esenciales para la vida. Se trata de micronutrientes de diversa composición química, que no pueden ser sintetizados por nuestro organismo y por ello, deben ser aportadas por la dieta en cantidades suficientes. Generalmente, adoptar una alimentación saludable alcanza para proveer la cantidad adecuada de vitaminas, pero a veces, por situaciones particulares como una nutrición pobre, tratamiento con antibióticos, problemas de absorción, entre otros, se puede producir un déficit vitamínico (hipovitaminosis) que se manifiesta a través de diversos síntomas y puede llegar, en algunos casos, a cuadros graves. Las hipovitaminosis requieren no solo de mejorar la dieta sino muchas veces del suministro de suplementos vitamínicos. Sin embargo, el exceso en la ingesta vitamínica puede llevar a lo contrario, es decir hipervitaminosis ya que algunas vitaminas liposolubles como la A y la D se pueden acumular en el tejido adiposo. Si bien, el exceso de vitaminas hidrosolubles se puede eliminar por orina también se pueden generar en este caso cuadros de hipervitaminosis.

La primera vitamina descubierta fue la B₁, llamada tiamina (Figura 2.2), y el hecho de que sea aminada condujo al nombre genérico de vitamina, que significa “amina esencial para la vida.”

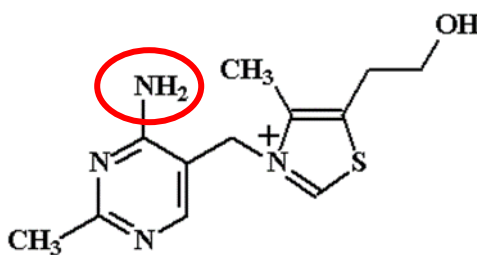


Figura 2.2. Estructura de la tiamina

La tiamina fue descubierta por el médico Christiaan Eijkman a fines del siglo XIX en Batavia, Java, cuando asoció el consumo de arroz descascarillado a la enfermedad conocida como “beri-beri”, generalizada en toda Asia Oriental en el siglo XIX a partir de la introducción de las máquinas arroceras a vapor que producían arroz pelado. Al descascarillarlo se perdía la Vitamina B₁, presente en las cubiertas. El Dr. Eijkman denominó “factor anti beri beri” a la sustancia presente en la cáscara de arroz y que evitaba la enfermedad. Posteriormente, el Dr. Frederick Hopkins demostró en 1906 que la vida animal no puede sostenerse con dietas compuestas exclusivamente de hidratos de carbono puros, grasas, proteínas, minerales y agua. Sus trabajos mostraban que las dietas normales contenían “factores alimenticios accesorios” no identificados que eran esenciales para el crecimiento y la supervivencia. Hopkins culminó estos trabajos en 1912. En 1929, Eijkman compartió el premio Nobel en Medicina con Frederick Hopkins.

Tabla 2.3. Características principales de las vitaminas liposolubles e hidrosolubles.

Vitaminas liposolubles				
	Provitamina	Forma funcional	Acción	Problemas por carencia y por exceso
A	β -caroteno frutas hortalizas	retinol	Co-enzima, interviene en el transporte de azúcares	Hipovitaminosis: Ceguera nocturna, xeroftalmia, anorexia, alteración de funciones genitales Hipervitaminosis: Anorexia, pérdida de peso, extrema irritabilidad, hepatomegalia, alopecia, jaqueca, dolores articulares, rarefacción ósea, adelgazamiento de la epífisis, fracturas espontáneas. En niños: hidrocefalia, hipertensión craneana. Microcefalia en feto. Inhibición de la implantación del óvulo fertilizado IMT: 3 mg/día
	retinol leche hígado yema de huevo	retinal	Pigmento visual, interviene en la conversión de la luz en señal nerviosa	
	RD (mg/d): hasta 65 años H:0,6/M:0,5; +65 años H: 0,6/M: 0,6	retinoico	Molécula señal que interviene en la diferenciación en el desarrollo	
D	colesterol (la luz UV lo transforma en calciol) calciol aceite de hígado de bacalao, leche y derivados, yema de huevo, cereales fortificados RD (μg/d): H/M: 5, +50 años: 10, +70 años: 15	calcitriol	Hormona que interviene en el metabolismo del Ca	Hipovitaminosis: alteración del metabolismo P y Ca (raquitismo, osteoporosis, osteomalacia, osteopenia, osteosclerosis), cirrosis, hiperparatiroidismo, hipoparatiroidismo, psoriasis, enfermedad renal crónica, síndrome de malabsorción intestinal Hipervitaminosis: calcificaciones de los tejidos blandos (hipercalcemia). Nefrocalcinosis IMT: 50 μg/d
E	tocoferol cereales hígado huevos aceite de semillas RD (mg/d): H: 10; M:8 (*)	tocoferol	Antioxidante	Hipovitaminosis: malabsorción de grasas, afección de la integridad de las membranas celulares, de funciones genitales, de la integridad de tejidos musculares Hipervitaminosis: aumento de susceptibilidad a hemorragias (antagonismo con vitamina K) IMT: 1000 mg/d
K	filoquinonas	filohidro-quinonas	Intervienen en el proceso de	Hipovitaminosis: problemas de coagulación sanguínea,

	síntesis por bacterias intestinales, hortalizas verdes, hígado, cereales RD (µg/d): H:65 /M:55		coagulación sanguínea	enfermedad hemorrágica del recién nacido Hipervitaminosis: no se ha documentado Ingesta Máxima Tolerable (IMT)
Vitaminas hidrosolubles				
	Vitamina	Forma funcional	Acción	Problemas por carencia y por exceso
B₁	tiamina granos, levadura, cerdo, carnes magras, pescado, leche RD (mg/d): H: 1,2 /M: 1,1	difosfato de tiamina	Coenzima, que interviene en la transferencia de residuos hidroxialquilo	Hipovitaminosis: anorexia, afecciones sistema nervioso, alteraciones cutáneas BERI-BERI (enfermedad que afecta sistema cardiovascular y sistema nervioso) Hipervitaminosis: las ingestas elevadas no producen efectos adversos. Se elimina el exceso o metabolitos por orina
B₂	riboflavina huevos, leche, cereales, nueces, vegetales de hoja, carnes magras RD: H: 1,3 /1,1	FAD FMN	Coenzimas que intervienen en el metabolismo energético como aceptor y transportador de hidrogeno	Hipovitaminosis: alteraciones cutáneas (dermatitis) inflamación de la lengua (glositis) Hipervitaminosis: las ingestas elevadas no producen efectos adversos. Se elimina el exceso o metabolitos por orina
B₃	niacina: nicotinamida nicotinato levadura carnes, frutas vegetales, lácteos, frutos secos RD:H:16, M:14	NADP NAD	Coenzimas que intervienen en reacciones de óxido-reducción	Hipovitaminosis: PELAGRA (alteraciones piel, mucosa, boca, lengua, intestino, signos neurológicos, vómitos, diarrea, estreñimiento) Hipervitaminosis: vasodilatación, hepatotoxicidad, trastornos oculares IMT= 35 mg/d
B₅	pantotenato ampliamente distribuida RD (mg/d): 5 (H/M)	coenzima A	Activación de ácidos carboxílicos	Hipovitaminosis: cuadros neurológicos y mentales (síndrome del pie ardiente) Hipervitaminosis: no se ha documentado Ingesta Máxima Tolerable (IMT)
B₆	piridoxina piridoxal piridoxamina carne	fosfato de piridoxal	Coenzima en el metabolismo de aminoácidos	Hipovitaminosis: alteraciones cutáneas, alteración de la inmunidad celular y humoral, anomalías electroencefalográficas

	vegetales, granos porotos RD: H y M:1,3 +50 años: H:1,7/ M:1,5			Hipervitaminosis: dermatitis, neuropatía periférica IMT= 100 mg/d
B₉	folato hígado vegetales de hoja frescos porotos cereales enriquecidos RD(μg/d): (H/M): 400	tetra hidrofolato	Transportador de grupos con un carbono, especialmente grupos formilo necesarios en la síntesis de purinas	Hipovitaminosis: anemia, neoplasias Hipervitaminosis: exacerbación del déficit de B12, disminución de la absorción de Zn, aumento de la tasa gemelar IMT= 1000 μg/d (**)
B₁₂	cobalamina carne hígado leche huevos RD(μg/d): (H/M): 2,4	5-deoxi- adenosil- cobalamina	Coenzima que interviene en procesos de isomerización	Hipovitaminosis: anemia, alteraciones cutáneas, neuropatías progresivas Hipervitaminosis: normalmente se elimina el exceso. Su exceso podría estar relacionado con insuficiencia cardíaca, hepática, renal, problemas de visión. IMT= 1000 μg/d
C	ácido ascórbico cítricos RD (mg/d): H/M: 45 Dosis mayores pueden requerirse para facilitar absorción de Fe no -hem	ascorbato	Actúa en la estabilización de sistemas enzimáticos	Hipovitaminosis: anorexia, afección integridad membranas celulares. ESCORBUTO (petequias, hemorragias gingivales, derrames articulares, fatiga, depresión) Hipervitaminosis: normalmente se elimina el exceso. La ingesta excesiva puede producir trastornos gastrointestinales, cálculos renales por formación de oxalatos IMT= 1000 mg/d
H	biotina levadura legumbres frutos secos RD (μg/d): H/M: 30	biotina	Coenzima que interviene en el metabolismo de carbohidratos y de lípidos	Hipovitaminosis: dermatitis, conjuntivitis, alopecia, retraso en el desarrollo, falta de coordinación/control muscular (ataxia) Hipervitaminosis: las ingestas elevadas no producen efectos adversos. Se elimina el exceso o metabolitos por orina

Nota: RD: recomendación dietética diaria para adultos (OMS, 2004). IMT: ingesta máxima tolerada (OMS, 2004).

H: hombres, M: mujeres. (*) Referencia de recomendación en Estados Unidos.

Efecto de los procesamientos sobre las vitaminas

Durante el procesamiento de alimentos, estos pueden ser sometidos a cortado, cocción, exposición al O_2 , entre otras operaciones. Las vitaminas pueden sufrir cambios dependiendo de su naturaleza química y solubilidad. En general las vitaminas hidrosolubles se pierden cuando se cortan los alimentos, por lixiviación. La vitamina C es sensible a las altas temperaturas y la presencia de oxígeno (se oxida). El ácido fólico es sensible a la temperatura, pH y O_2 . También son sensibles a la temperatura el pantotenato y la tiamina. La vitamina B₆ se inactiva por irradiación UV en presencia de O_2 y la forma piridoxal puede reaccionar con cisteína dando un producto sin actividad.

Son estables o relativamente estables frente a la mayor parte de las condiciones de procesado: biotina, vitamina B₁₂, niacina, vitamina B₂.

Dentro de las liposolubles, tanto la vitamina A como la E (Figura 2.3) son sensibles a la autooxidación por la presencia de insaturaciones. Esta alteración es promovida por la T y la luz y requiere de la presencia de O_2 .

Por otro lado, la vitamina K es sensible a la luz y la vitamina D es relativamente estable.

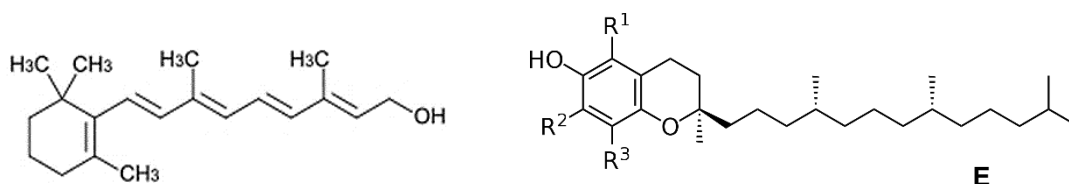


Figura 2.3. Estructuras de las vitaminas A (como retinol) y E tocoferol, donde R₁, R₂ y R₃ pueden ser distintos sustituyentes

Un proceso ancestral: la nixtamalización

El maíz y otros cereales (aunque en menor grado) contienen niacina, pero muy poco biodisponible, ya que está unida a distintas sustancias. Estos complejos se rompen por calentamiento en medio alcalino, liberando la niacina.

En el sistema tradicional de elaboración en Centroamérica y actual Méjico, el maíz se calienta precisamente en medio alcalino, en el método ancestral para preparar masa de maíz y tortilla.

La nixtamalización (cuyo nombre proviene del náhuatl “nextli”, o cenizas de cal, y “tamalli”, masa de maíz cocido) consiste en cocer el maíz en agua con cal (hidróxido de calcio), para mejorar sus propiedades de amasado (y, obviamente, mejorar su valor nutritivo como fuente de niacina). Una vez cocido, el grano se deja reposar para que se hinche y se separe la cascarrilla, se lava para eliminar el exceso de cal y se muele hasta formar la masa.

Alimentos enriquecidos y fortificados

Con el objeto de evitar la carencia de ciertos nutrientes y reducir el riesgo de contraer ciertas enfermedades asociadas a esas carencias se han desarrollado alimentos que pueden aportarlos en cantidades significativas.

Los alimentos enriquecidos se encuentran definidos en el artículo 1369 del CAA como “aquellos a los que se han adicionado nutrientes esenciales (Vitaminas y/o minerales y/o proteínas y/o aminoácidos esenciales y/o ácidos grasos esenciales) con el objeto de resolver deficiencias de la alimentación que se traducen en fenómenos de carencia colectiva”. De acuerdo a esta definición, el enriquecimiento es consecuencia de una decisión de las autoridades y resulta obligatoria para el fabricante.

En la Argentina existen tres alimentos que deben ser enriquecidos: la leche entregada en los programas alimentarios, las harinas de trigo y la sal de mesa.

El enriquecimiento de la leche por Ley 25459 (2001) tiene como objetivo disminuir la prevalencia de anemia en niños y mujeres embarazadas, y las malformaciones del tubo neural en los bebés. Según esta ley, la leche entera en polvo incluida en los programas alimentarios implementados por el Gobierno nacional (que no puede ser comercializada) debe adicionarse obligatoriamente con hierro, zinc y vitamina C, pudiendo modificarse la cantidad de estos nutrientes cuando la población destinataria los pueda incorporar a través de su dieta habitual.

La harina de trigo también debe ser adicionada de acuerdo a la Ley 25630 (2002) con hierro (adicionado como sulfato ferroso, 30 mg/kg de Fe elemental), ácido fólico (2,2 mg/kg), tiamina (como mononitrato de tiamina, 6,3 mg/kg, riboflavina (1,3 mg/kg) y niacina (como nicotinamida, 13,0 mg/kg) con el objeto de prevenir las anemias y las malformaciones del tubo neural, tales como la anencefalia y la espina bífida.

Finalmente, la sal de mesa se adiciona con yodo, por Ley 17259 (1967) y su Decreto reglamentario N° 4277/67 con el objetivo de prevenir enfermedades como el bocio, frecuentes en zonas donde la cantidad de yodo en suelos y aguas es reducida (las provincias en las cuales no existe endemia bociosa, pueden ser exceptuadas de esta obligación). La proporción adicionada debe ser de una parte de yodo en treinta mil partes de sal, aceptándose una variación en más o en menos del veinticinco por ciento ($\pm 25\%$).

A diferencia de los alimentos enriquecidos, para los cuales existe una obligación por ley de adicionar nutrientes, los alimentos fortificados han sido suplementados, pero por voluntad del fabricante. El artículo 1363 del CAA establece que los alimentos fortificados son aquellos “en los cuales la proporción de proteínas y/o aminoácidos y/o vitaminas y/o sustancias minerales y/o ácidos grasos esenciales es superior a la del contenido natural medio del alimento”. El CAA establece que dichos alimentos para considerarse fortificados en cierto nutriente deberán aportar entre 20 y 100 % de los requerimientos diarios recomendados. Los cereales para desayuno muchas veces son elegidos como alimento para ser fortificado en vitaminas y minerales.

Probióticos, prebióticos y simbióticos

Probióticos

Dentro de los componentes funcionales analizaremos más detenidamente en este capítulo los denominados prebióticos y probióticos. Se tratará en un capítulo posterior la fibra dietaria, otro componente funcional habitual en una dieta saludable.

Los probióticos se definen de acuerdo a la OMS como "microorganismos vivos que confieren efecto beneficioso para la salud del hospedador, cuando se administran en cantidad adecuada" (FAO/OMS, 2001).

El consumo de probióticos data de 5000 años a.C. Las poblaciones nómadas de los Cárpatos y del Cáucaso utilizaban bolsas de piel de cabra para transportar la leche fresca; producto del calor y la acción de bacterias la leche se fermentaba convirtiéndose en una masa semisólida. De forma empírica se descubrió que estos alimentos eran más duraderos, tenían buen sabor y eran buenos para la salud. Algunos ejemplos de productos lácteos obtenidos por fermentación con probióticos son: yogur (Balcanes), mazum (Armenia), kéfir (Rusia), masslo (Irán), kumis (Mongolia).

En 1907 el biólogo ruso Ilya Metchnikoff realizó los primeros estudios científicos en poblaciones de búlgaros longevos y relacionó su longevidad con los efectos benéficos para la salud del consumo de leche fermentada con el microorganismo que fue nombrado como "Bulgarian bacillus" (*Lactobacillus bulgaricus*). A partir de estos hallazgos, Metchnikoff propuso como teoría que el envejecimiento humano estaba relacionado con alteraciones de la microbiota intestinal y ganó el premio Nobel de Medicina en 1908 por este descubrimiento. Los primeros yogures industriales, producidos por la empresa Danone, se vendían en farmacias, prescriptos por los médicos. Luego se comenzaron a comercializar en lecherías, pastelerías y otros comercios.

Naturalmente, existen en nuestro tracto gastrointestinal 10^{14} células de bacterias (un número superior al de todas las células del cuerpo). En el tracto intestinal humano habitan más de 400 especies de bacterias, de las cuales, el 99% corresponde a 30-40 especies. Algunas de estas bacterias como las de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son beneficiosas ya que inhiben bacterias exógenas y/o dañinas, ayudan a la digestión, por ejemplo, de minerales, estimulan la función inmune y pueden sintetizar vitaminas (K). Otras, como la *Pseudomona aeruginosa*, algunas bacterias de los géneros *Clostridium*, *Staphylococcus* y *Proteus* pueden generar trastornos severos: putrefacción intestinal, producción de carcinógenos, diarrea, constipación, infecciones, daño hepático, cáncer, entre otros. Otras bacterias (*Escherichia coli*, algunas de los géneros *Clostridium*, *Bacteroides*, *Streptococcus*) pueden tener efecto variable según diferentes factores. Por ejemplo, *E. coli* normalmente permanece en el lumen intestinal sin generar daño alguno, no obstante, cuando el hospedador se encuentra inmunosuprimido o la barrera gastrointestinal está alterada, hasta las cepas no patógenas pueden ocasionar una

infección (Minaard y col., 2010). Asimismo, bacterias del género *Bacteroides* que normalmente son comensales inoos, cuando cambian las cualidades del medio pueden devenir en patógenos con resistencia a respuesta inmune y a la acción de antibióticos entre otras características (Wexler, 2007).

El tipo y cantidad de microorganismos variarán de acuerdo al nivel del tracto que estemos considerando, aumentando en número a medida que nos acercamos al final del intestino (Figura 2.4).

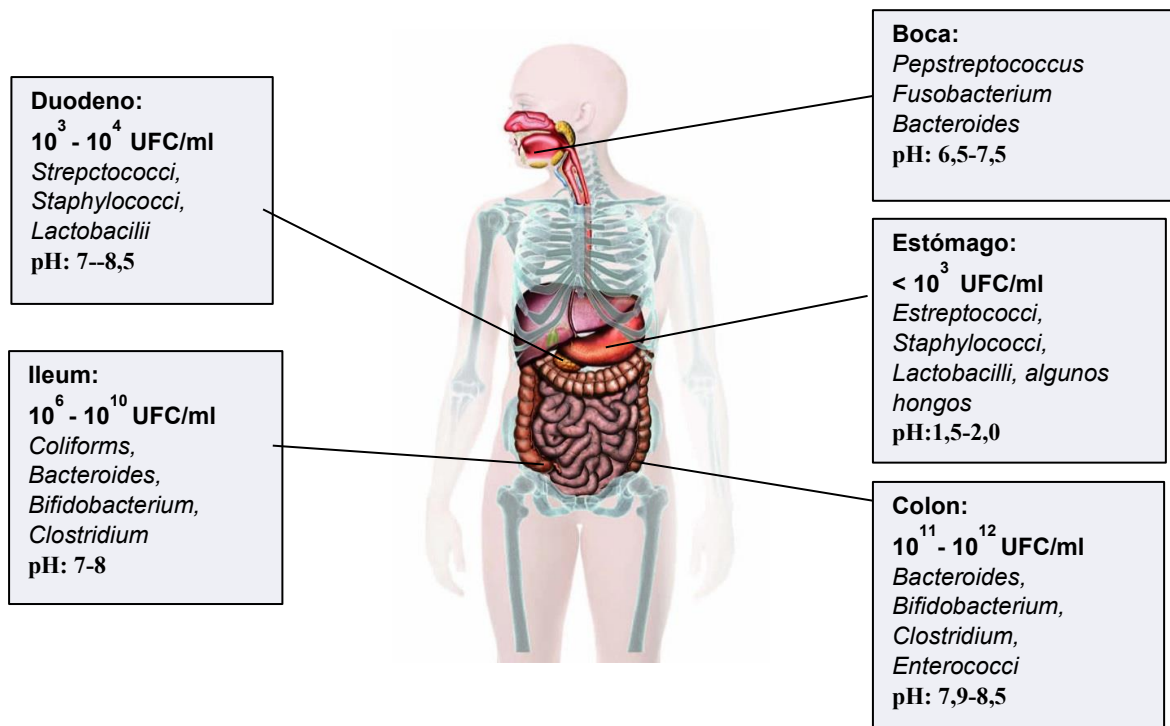


Figura 2.4. Bacterias más comunes en las distintas zonas del tracto oro-gastro-intestinal

Los factores que influyen en la composición de la microbiota son: la alimentación, el estado de salud y la administración de microorganismos beneficiosos.

Los microorganismos deben reunir ciertos requisitos para poder ser considerados como probióticos, los cuales se resumen a continuación:

- Ser GRAS (sigla de “Generalmente Reconocido como Seguro” en inglés).
- Poder resistir la acción de los ácidos gástricos y de las sales biliares.
- Presentar sinergia con la microbiota endógena normal.
- Ser capaces de adherirse y colonizar fácilmente el tracto gastrointestinal compitiendo con patógenos.
- Presentar actividad antagonica frente a patógenos in vitro e in vivo.
- Ser capaces de potenciar las defensas inmunitarias del hospedador.

Se han demostrado varios importantes beneficios respecto al consumo de alimentos con probióticos: disminución de los síntomas de intolerancia a la lactosa, estimulación de la respuesta inmune, prevención de infecciones entéricas, prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal, contribuyen a recuperar pacientes con desnutrición. Si bien falta acumular evidencia se ha relacionado el consumo de probióticos con la disminución del riesgo de desarrollar cáncer de colon.

Los microorganismos probióticos pueden encontrarse en industrias alimentarias (bajo patentes), en colecciones de cultivos de distintos centros de investigación (por ejemplo, en nuestro país en el centro CERELA dependiente del CONICET) y en preparados comerciales bajo la forma de tabletas y polvos incluyendo un solo microorganismo o mezcla de ellos.

En el caso de alimentos funcionales, los probióticos pueden encontrarse en diversos productos fermentados: leches y quesos, embutidos, mayonesa, helados, vegetales, carnes, etc. Un ejemplo es la leche BIO que fue un desarrollo conjunto de la industria privada (SanCor) y un organismo gubernamental (CERELA-CONICET). También existen productos suplementados con probióticos (no fermentados) como leches y bebidas (jugos, por ejemplo). Se pueden utilizar los probióticos en medicina como agentes bioterapéuticos. Las presentaciones suelen ser grageas y deben ser resistentes a la mayoría de los antibióticos más comunes. Su acción debe ser inmediata y deben presentar efectos de inmunomodulación, e inhibición de patógenos. En el caso de las toxinas deben competir con ellas por los receptores de éstas. Un ejemplo de agente bioterapéutico es producto BIOFLORA, que fue co-desarrollado por el laboratorio privado BIOSIDUS y dos centros dependientes de CONICET (CERELA y PROIMI, Tucumán).

Prebióticos

Se trata de ingredientes no digeribles que pueden estimular el crecimiento y/o actividad de una/o varias cepas de bacterias probióticas en el colon, contribuyendo así a mejorar la salud del hospedador. Los prebióticos pueden formar parte naturalmente de los alimentos o ser agregados a los mismos. Un ejemplo de prebiótico es la inulina, fibra soluble que estructuralmente es un polímero de fructosa (grado de polimerización de alrededor de 35). Los oligosacáridos de fructosa (FOS) también son prebióticos. Otros ejemplos de prebióticos son los galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS).

Simbióticos

Los alimentos simbióticos son aquellos que contienen prebióticos y probióticos. En general deberían contener un componente prebiótico que favorezca el efecto del probiótico asociado como puede ser: bifidobacterias con galactooligosacáridos o con fructooligosacáridos, lactobacilos con lactitol.

Referencias bibliográficas

- López, L.B. y Suárez M.M. (2003). Fundamentos de Nutrición Normal. Editorial El Ateneo.
- Código Alimentario Argentino. (2024). <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- FAO. (2002). Probióticos en los alimentos- Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. <https://www.fao.org/3/a0512s/a0512s00.pdf>
- Humen, M.H. (2009) Interacción de *Giardia intestinalis* con el hospedador. Efecto antagónico de probióticos intestinales. Tesis Doctoral. UNLP
- Jones, J.H. y Papamandjaris, A. (2003). Lípidos: metabolismo celular. En: Conocimientos actuales sobre nutrición (Eds. B.A. Bowman y R.M. Russell). 8ª edición. Publicación Científica y Técnica N° 592 ILSI. Organización Panamericana de la Salud.
- Ley 25459. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-25459-68815#>
- Ley 25630. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-25630-77088/texto>
- Ley 17259. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-17259-197392/texto>
- Minnaard, J., Hugo, A. A., Humen, M. A., Trejo, F. M., Racedo, S. M., Rolny, I. S., & Pérez, P. F. (2010). Probióticos contra patógenos intestinales: mecanismos relevantes y perspectivas.
- Montaner, R., Mónica, A., & Meade Huerta, P. (2016). Evolución nutricional del ser humano. La dieta del paleolítico. Universidad de Zaragoza.
- Sociedad Española de Nutraceutica Medica (2024) Nutraceuticos. <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>
- OMS (2004). Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Segunda edición.
- Wexler, H. M. (2007). Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. Clinical microbiology reviews, 20(4), 593-621.

CAPÍTULO 3

Grupos alimentarios y nutrición

Ricardo Martín Torrez Irigoyen

Concepto de pirámide nutricional

Hacia 1992, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos impulsó la creación de una guía alimentaria que resultará fácil de comprender surgiendo de esta manera la pirámide alimenticia o pirámide nutricional. Esta guía se representa como un triángulo o pirámide dividida en 6 escalones (aunque la original solo tenía 4) en cada uno de los cuales se encuentran representado un grupo alimentario. El orden en el cual se ubica cada grupo y el tamaño del escalón están relacionados con su importancia y las proporciones en las cuales deben consumirse para mantener una alimentación saludable (Lagua y Claudio, 2007).

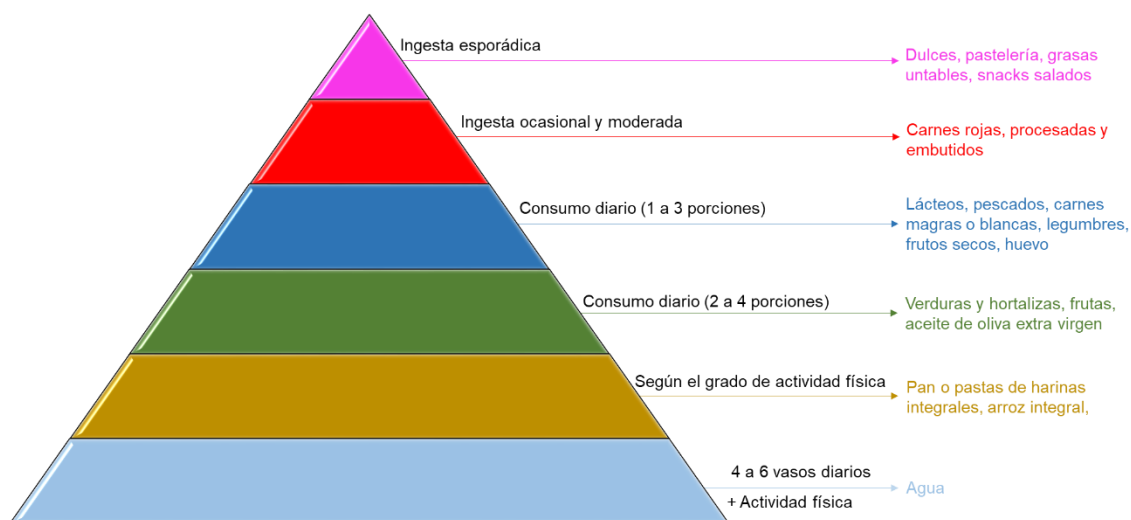


Figura 3.1. Pirámide nutricional modificada. (Adaptada de la Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria, 2015)

En la cúspide se encuentran los alimentos que no representan ningún aporte nutricional importante, sino que se destacan por su palatabilidad y atractivo debido a sus altos contenidos en azúcares y grasas, razón por la cual deben ingerirse de forma esporádica. A continuación, se encuentran los productos cárnicos y derivados, que aportan proteínas y otros nutrientes esenciales, pero debido a su contenido en grasa se recomienda su consumo de forma moderada. En el tercer escalón, se hallan alimentos que aportan energía y proteína, pero que en exceso

pueden traer ciertos problemas nutricionales por lo cual también se recomienda un consumo moderado. Un escalón más abajo se encuentran alimentos que deben abundar en nuestra dieta como verduras, hortalizas, frutas y ciertos aceites que son fuente de micronutrientes y componentes bioactivos. La base original de la pirámide le correspondía a cierto grupo de alimentos, los ricos en almidón, que aportan nutrientes, pero cuya ingesta depende del grado de actividad física que se realiza, mientras más intensa sea la actividad mayor cantidad de porciones pueden consumirse. En 2005, la pirámide se modificó adicionándose el agua y la actividad física como parte fundamental de un estilo de vida saludable.

Si bien, las pirámides alimenticias pueden variar dependiendo del país para adaptarse a su cultura gastronómica, en general todas siguen el mismo principio nutricional que recomienda que el aporte energético o calórico diario debe estar distribuido de la siguiente manera 50 a 60% de carbohidratos, 25 a 30% de grasas y entre 10 a 15% de proteínas (Salinas, 2000; López y Suárez, 2003).

Plato nutricional

En 2011, se realizó una modificación sustancial en la pirámide con el propósito de recomendar una dieta más balanceada, promoviendo *El Plato nutricional o plato para comer saludable*, cambio impulsado por nutricionistas de la Escuela de Salud Pública de Harvard.

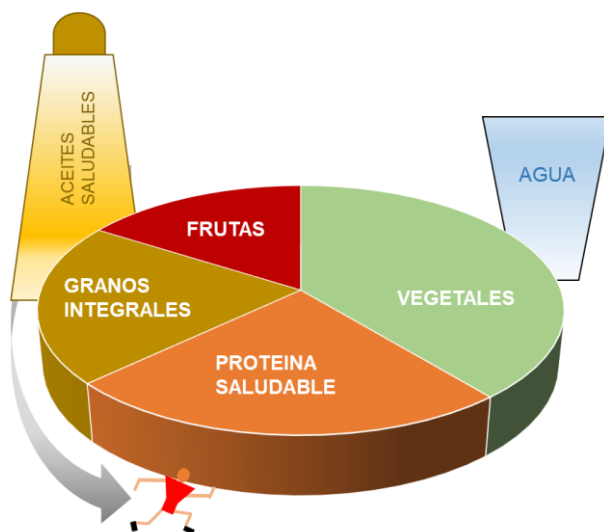


Figura 3.2. Plato para comer saludable (Adaptado de Willet y Skerret, 2005)

En este caso, se recomienda que, en la mayoría de las comidas, $\frac{1}{2}$ de su plato, sean vegetales y frutas, $\frac{1}{4}$ del mismo corresponda a granos integrales y las comidas preparadas con ellos y el $\frac{1}{4}$ restante se complete con proteína saludable como la proveniente del pescado, pollo o legumbres, limitando la carne roja y productos procesados como los embutidos. Además, se sugieren la ingesta de aceites vegetales saludables de forma moderada y evitar aquellos que

son parcialmente hidrogenados. En la Fig. 3.2 también se observa la presencia del vaso de agua, signo de que debe de consumirse la misma preferentemente y omitir las bebidas azucaradas y/o alcohólicas. Finalmente, la figura corriendo alrededor del plato es un recordatorio de que mantenerse activo también es importante para llevar una vida saludable (Willet y Skerret, 2017).

Grupos alimentarios

En la pirámide, así como en el plato nutricional, puede observarse que los alimentos son clasificados en diferentes grupos dependiendo de su composición y aporte nutricional. Estos denominados grupos alimentarios son los siguientes: farináceos, frutihortícolas, carnes, lácteos y derivados, legumbres y aceites. A continuación, realizaremos un recorrido por cada uno de los mismos, describiendo los aspectos nutritivos más relevantes y su incidencia en la dieta.

Farináceos

Los alimentos denominados como farináceos son la base de nuestra alimentación y son representados por los cereales, semillas o granos comestibles de las gramíneas como, por ejemplo: arroz, maíz, trigo, centeno, cebada y avena, entre otros (CAA, Capítulo IX). Este grupo alimentario se caracteriza por su elevado contenido en carbohidratos y deben ser consumidos diariamente, dado que representan entre el 55 a 60% del aporte calórico total. En general en este grupo el arroz se consume como tal, mientras que los demás suelen utilizarse para la obtención de harinas para la elaboración de alimentos como pastas o panificados (Willet y Skerret, 2017). La Tabla 3.1 presenta la composición nutricional de diferentes tipos de cereales.

Alrededor del 68 a 80% de su contenido son carbohidratos mayoritariamente almidón mientras que el contenido de fibra puede variar dependiendo de si el grano se consume entero o experimenta un proceso de refinación. El contenido de proteína varía entre 7,5 y 14% según el grano. En el trigo las proteínas formadoras de gluten son las responsables de la elasticidad y extensibilidad de la masa lo que permite la producción de panificados. Por otro lado, las proteínas del gluten en el trigo, así como las de otros cereales (cebada, centeno y posiblemente avena) están relacionadas con una reacción del sistema inmunológico en cierto grupo de personas (celiaquía). El maíz y el arroz carecen de este tipo de proteína. En cuanto a su perfil de aminoácidos, el mismo es bueno, aunque resulta ser deficiente en lisina. La materia grasa, se halla en baja proporción, alrededor del 1 a 3% concentrada principalmente en el germen. Podemos encontrar triglicéridos, fosfolípidos y fitoesteroles. Finalmente, con respecto a los micronutrientes se destacan la presencia de vitaminas del grupo B y minerales como Ca, Mg, Na, K y P que se encuentran en mayor medida en la cáscara de los cereales (Salinas, 2000; López y Suárez, 2003). En la Fig. 3.3 puede apreciarse, de forma general, la estructura de un grano de cereal.

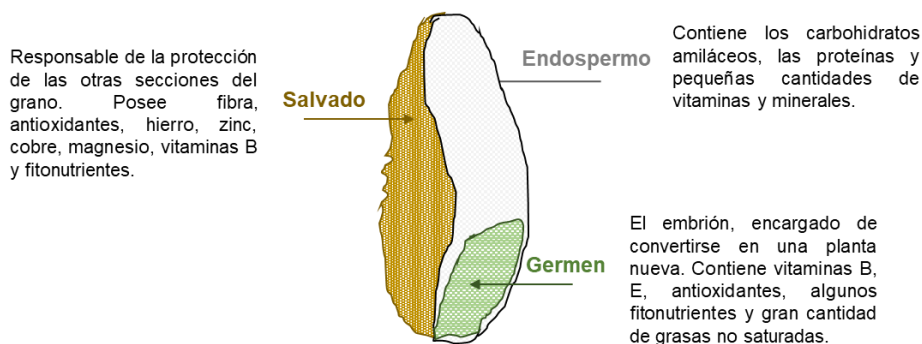


Figura 3.3. Estructura del grano de trigo (Adaptado de Divito y García, 2017)

Tabla 3.1. Composición en macro y micronutrientes de diferentes tipos de cereales.

Tipo	Hum.	Pr.	Gr.	Hc.	Fibr.	Cen.	Ca	P	Fe	Na	K	B ₁	B ₂	Niac.
	(g %)						(mg %)					(mg %)		
Arroz														
Pulido	12,0	6,7	0,4	80,4	0,3	0,5	24,0	94,0	0,8	5,0	92,0	0,07	0,03	1,6
Integral	12,0	7,5	1,9	77,4	0,9	1,2	32,0	221,0	1,6	9,0	214,0	0,03	0,05	4,7
Avena														
Arrollada	8,3	14,2	7,4	68,2	1,2	1,9	53	405	4,5	2	325	0,60	0,14	1,0
Cebada														
Perlada	11,1	8,2	1,0	78,8	0,5	0,9	16,0	189,0	2,0	3,0	160,0	0,12	0,05	3,1
Maíz														
Entero	13,4	8,9	0,9	74,9	2,0	1,2	22,0	268,0	2,1	1,0	284,0	0,37	0,12	2,2
Trigo														
Entero	13,0	14,0	2,2	69,1	2,3	1,7	36,0	383,0	3,1	3,0	370,0	0,57	0,12	4,3
Salvado	11,5	16,0	4,6	61,9	9,1	6,0	119,0	1267,0	14,9	9,0	1121,0	0,72	0,35	21,0
Germen	11,5	26,6	10,9	46,7	2,5	4,3	72,0	1118,0	9,4	3,0	827,0	2,01	0,68	4,2
Harina	12,0	11,8	1,1	74,7	0,3	0,4	16,0	95,0	0,9	2,0	95,0	0,08	0,06	1,0

Nota: Adaptada de Salinas, 2000. Hum: humedad, Pr: proteínas, Gr: grasas, Hc: carbohidratos, Fibr: fibra, Cen: cenizas.

Cereales integrales

Los denominados granos integrales representan una mejor fuente de fibra y otros nutrientes, como las vitaminas B, el hierro, el folato, el selenio, el potasio y el magnesio. Estos cereales pueden consumirse como tal o como ingredientes de otros productos, como la harina integral en el pan. Uno de los principales beneficios del consumo de este tipo de alimentos es su mayor aporte en fibra, constituida principalmente por polisacáridos y lignina propias de vegetales que no pueden ser digeridas en el tracto gastrointestinal. Esta familia de compuestos suele clasificarse de acuerdo a su capacidad de hidratarse y formar geles en medio acuoso como: fibra soluble (*gomas, pectinas, mucílagos*) y fibra insoluble (*celulosa, hemicelulosa, lignina*). Si bien cada fracción posee funciones particulares, de manera general, estos compuestos presentan acciones beneficiosas para el organismo como: mejorar la retención de agua, reducción de la

absorción de lípidos y ácidos biliares y efecto positivo sobre la microbiota colónica entre otros (López y Suárez, 2003; Willet y Skerret, 2017). En este caso, la ingesta recomendada depende del grado o intensidad de actividad física, lo común es de 4 a 6 porciones por día, apuntando por lo general a las formas integrales tanto de granos y productos derivados como harinas. Por ejemplo, 40 a 60 g de pan, 60 a 80 g de pasta o arroz y 150 a 200 g de papa.

Frutihortícolas

En este grupo alimentario, encontramos a las frutas y hortalizas las cuales son indispensables para nuestra dieta. Si bien no existe una definición ampliamente aceptada para frutas y hortalizas, en el Código Alimentario Argentino, en su capítulo XI titulado Alimentos vegetales, pueden hallarse las definiciones para ambos y sus diferentes formas de presentación para el consumo (CAA, Capítulo XI). Por otro lado, en el año 2021 declarado por la FAO como el año internacional de las frutas y verduras, se acordó la siguiente definición: *“las frutas y verduras se consideran las partes comestibles de las plantas (por ejemplo, estructuras portadoras de semillas, flores, hojas, tallos, brotes y raíces), sean cultivadas o cosechadas en forma silvestre, en estado crudo o mínimamente elaboradas”*. De esta manera quedan excluidos alimentos como: raíces y tubérculos (yuca, papa y camote), leguminosas de grano seco (legumbres), cereales, nueces, semillas y oleaginosas, estimulantes como el té, cacao y café, productos procesados y ultra-procesados elaborados a partir de frutas y hortalizas (FAO, 2021).

En general, los frutihortícolas no suelen ser reconocidos por su aporte en macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas y grasas), a excepción de algunos tubérculos y raíces que pueden aportar grandes cantidades de almidón. No obstante, los alimentos vegetales se destacan por ser fuentes de vitaminas, minerales y fibra además de aportar grandes cantidades de agua (80 a 90%) y un bajo valor calórico. El consumo de frutas y hortalizas está asociado a la prevención de diferentes enfermedades cardiovasculares, trastornos digestivos y algunos tipos de enfermedades neurodegenerativas por lo cual, la Organización Mundial de la Salud recomienda un consumo de al menos 400 g/día, esto representa alrededor de 5 porciones diarias (Uriarte y col., 2018; FAO, 2021).

En lo que respecta a los macronutrientes, podemos encontrar carbohidratos complejos (almidón) y algunos carbohidratos simples (glucosa, fructosa y sacarosa), aunque a excepción de raíces y tubérculos, el contenido de estos compuestos ronda el 1 a 10%. Las proteínas, de bajo valor biológico en este caso, también se encuentran en bajas cantidades (1 a 3,5%). Con respecto a las grasas, las mismas representan cantidades inferiores al 1%. Así como se mencionó previamente, el mayor aporte nutricional de los alimentos vegetales se halla en el aporte de micronutrientes. En cuanto a vitaminas, se destacan las del tipo hidrosoluble del grupo B (B₁, B₂, B₃ o ácido fólico) y la vitamina C. Si bien la presencia de liposolubles es escasa, en algunos casos pueden encontrarse carotenoides y vitamina K (vegetales de hoja). Entre los minerales se destaca el aporte de hierro y calcio, no obstante, la manera en la cual se encuentran

presentes hace que no sean completamente aprovechadas por el organismo. Un punto a favor es el bajo contenido en sodio lo cual es beneficioso en dietas destinadas a personas hipertensas. Los alimentos vegetales también son ricos en fibra dietética (entre 1 a 5%), soluble e insoluble, las cuales como vimos anteriormente son beneficiosas para el ser humano. En las últimas décadas el tema de los compuestos bioactivos ha cobrado importancia en el ámbito de los alimentos. Este tipo de sustancias si bien no tienen una función nutricional definida, poseen un impacto positivo en la salud humana. Estos bioactivos o metabolitos secundarios de origen vegetal también suelen denominarse fitoquímicos o fitonutrientes (Navarrete y col., 2008; Uriarte y col., 2018).



Figura 3.4. Colores de las frutas y verduras, su relación con la presencia de compuestos bioactivos. (Adaptado de FAO, 2021)

Hoy en día, comprenden un área de investigación importante en la ciencia de los alimentos. Entre los más conocidos podemos mencionar a los flavonoides, la capsaicina, los carotenoides entre otros. En el caso particular de frutas y verduras, sus colores suelen estar asociados a los nutrientes y fitoquímicos que contienen, esta particularidad da origen a la frase de que “*el secreto está en los colores*”, mientras más variedad de ellos se incluya en la dieta más completa será nuestra alimentación (ver Fig.3.4).

Raíces y tubérculos

Este tipo de productos vegetales, suelen estar compuestos mayoritariamente por carbohidratos, de los cuales se destaca el almidón, razón por la cual se los reconoce como una gran fuente de energía. Además, pueden contener cantidades variables de algunos azúcares y bajas proporciones de proteínas de buen perfil nutricional. En cuanto micronutrientes, encontramos vitaminas del grupo B y en algunas variedades también vitamina C; por el lado de los minerales se destacan por su aporte de potasio y zinc, aunque en algunos casos también suele encontrarse yodo (Scott y col., 2000).

Recientemente, varias raíces y tubérculos, como ahipa, arracacha, yacon y mashua entre otros, han llamado la atención de la comunidad científica por su contenido en compuestos bioactivos, lo cual ha motivado estudios para su inclusión en la formulación de diferentes tipos de productos como, por ejemplo, panificados y pastas (Leidi y col., 2018; Luziatelli y col., 2020).

Productos cárnicos

Los alimentos de origen animal son valorados por el aporte de proteína de alto valor biológico, lo que se complementa adecuadamente con los alimentos vegetales los cuales son escasos en dicho macronutriente. Además, el hierro presente en la carne se absorbe con mayor facilidad. No obstante, una ingesta en exceso implica una ingesta mayor de grasas saturadas lo que puede originar un aumento de enfermedades cardiovasculares y obesidad.

Carne vacuna

Por lo general la carne se define como la parte comestible de los músculos provenientes de bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, bubalinos y aves. Por extensión se aplica también a los animales de corral, pluma y mamíferos marinos. Declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena (CAA, Capítulo VI). Para que el consumo de carne sea seguro son esenciales los cuidados a todo nivel, desde la finca que la produce, los mataderos, hasta sus puntos de ventas y la preparación en los hogares. En nuestro país el ente responsable de realizar los controles sanitarios es el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA).

La carne contiene entre un 15 a 22% de proteínas de alto valor biológico, que contienen 8 aminoácidos esenciales. La materia grasa depende del tipo de animal y el tipo de corte, el rango varía entre 10 a 30%. En base a esto último, la carne suele clasificarse en magras (bajo contenido de grasa) entre un 7 a 10% de grasa, mientras que aquellas que superan el 30% se denominan como carnes grasas. Si bien el perfil lipídico puede verse afectado por la alimentación que haya tenido el animal, la grasa vacuna es rica en ácidos grasos saturados y colesterol. El colesterol es un precursor para cierto tipo de hormonas, ácidos biliares y también es un componente de las membranas. Este compuesto puede sintetizarse en el hígado del ser humano, mientras que otra parte puede provenir de la ingesta de diferentes fuentes (carne, yema de huevo, grasa de leche, manteca entre otros). Para su transporte a través del cuerpo esta molécula se combina con proteínas dando lugar a lipoproteínas de baja densidad (low-density-lipoprotein, LDL) y de alta densidad (high-density-lipoprotein HDL). El primero suele denominarse “colesterol malo” dado que se acumula en las arterias, mientras que el segundo “barre” este colesterol acumulado dentro del cuerpo en su regreso al hígado razón por la cual se lo conoce como “colesterol bueno” ya que reduce el riesgo aterogénico (Maggi, 2005; Secretaria de Agroindustria, 2014a). A continuación, la Tabla 3.2 muestra la composición porcentual de varios tipos de carne.

Tabla 3.2. Composición nutricional de diferentes variedades de carne, expresadas cada 100 g.

Carne	Calorías (kcal)	Hum.	Pr.	Gr.	Gs.	Gmi.	Gpi.	Colesterol (mg)
				(g%)				
<i>Vacuna</i>	174	65	23,6	5,7	2,1	2,4	0,2	69
<i>Caprina</i>	258	58	25,5	16,5	6,9	7	1,2	93
<i>Porcina</i>	293	53	25,1	20,7	7,5	9,5	2,3	93
<i>Aviar</i>	176	67	27,3	6,7	1,8	2,4	1,5	83

Nota: Adaptada de Araneda, 2022. Hum: humedad, Pr: proteínas, Gr: grasas, Gs: grasas saturadas, Gmi: grasas monoinsaturadas, Gpi: grasas poliinsaturadas.

Con respecto al contenido en micronutrientes la carne aporta riboflavina, niacina, tiamina, zinc y pequeñas cantidades de vitaminas A y C. P. Aporta cantidades significativas de hierro hemínico, que es aquel que está unido a la hemoglobina, y es de más fácil absorción que el hierro que se encuentra en los vegetales. Finalmente, cabe mencionar el alto contenido de agua, que usualmente ronda de 60 a 80% (Salinas, 2000). En el caso de carnes, suelen recomendarse un consumo semanal, de cortes magros, de 3 a 4 porciones, es decir entre 100 a 125 g.

Pescado

El pescado y los mariscos son reconocidos como fuentes de proteína de alto valor biológico, su contenido proteico varía entre 18 y 20%, similar al de la carne vacuna. No obstante, las proteínas de pescado son en su mayoría colágeno corto, de bajo peso molecular, lo que sumado a la escasa presencia de tejido conectivo contribuye a que estas proteínas sean fácilmente digeribles. En este caso, se destacan las altas concentraciones de aminoácidos azufrados. En cuanto al contenido graso, los valores se encuentran entre 1 y 15% dependiendo del pez. Se pueden encontrar ácidos grasos saturados y poliinsaturados, particularmente se destaca la presencia de Ω -3, precursores de ácidos como EPA y DHA. Dichos ácidos tienen funciones neuroprotectoras (ayudan a la transmisión de impulsos nerviosos) y cardioprotectoras (contribuyen a disminuir la cantidad de triglicéridos en sangre). Al mismo tiempo, tanto el EPA y DHA contribuyen al aumento de colesterol-HDL. En el caso de los peces, al igual que en la carne, suelen hacerse clasificaciones basadas en el contenido graso dividiéndose en magros de 1 a 5%, semigrasos 5 a 10% y grasos entre 15 y 20%. En cuanto a micronutrientes, esta carne suministra tiamina, riboflavina, niacina, y vitamina A y D. También aporta minerales como yodo, zinc, fósforo y selenio. El yodo es muy importante ya que es necesario para un normal funcionamiento de la glándula tiroides mientras que el zinc resulta fundamental para el crecimiento y el desarrollo del sistema inmune. A diferencia de otros grupos alimentarios, la presencia de carbohidratos en este tipo de carne es prácticamente cero, mientras que su contenido en agua es similar al de la carne vacuna (Salinas, 2000; Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca, 2018). En cuanto a las porciones de este tipo de carne, suele recomendarse 3 a 4 porciones por semana, lo que es igual a 125 a 150 g semanales.

Huevo

El huevo está incluido dentro del grupo de alimentos ricos en proteínas junto con las carnes. En el CAA, en el Capítulo VI de *alimentos cárneos y afines*, en sus artículos 491 y 492 se define por huevo fresco, al huevo no fecundado y que no ha experimentado ningún procedimiento de conservación. Aclarando, que sólo podrán comercializarse como huevos, aquellos provenientes de gallinas, si se trata de otra especie la misma deberá aclararse al momento de su distribución y venta. En la Fig. 3.5 puede observarse un esquema del huevo y las diferentes partes que lo componen.

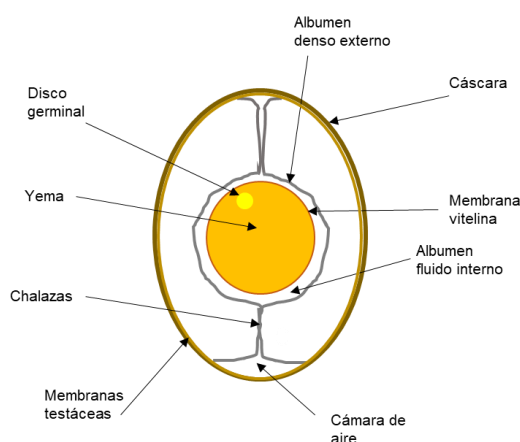


Figura 3.5. Corte transversal del huevo y sus partes. (Adaptado de El Instituto de estudios del huevo, 2009)

La cáscara (grosor < 0,5mm) representa entre un 9 a 12% del peso total y se encuentra formada por carbonatos de calcio, magnesio y fosfato de calcio unidas mediante una escleroproteína, denominada oseína. La cáscara es porosa lo que eventualmente permite el paso de gases del ambiente CO_2 , así como también de algunas bacterias. Por su parte, la clara es casi un 60% del huevo, y se encuentra constituida por agua y diferentes fracciones de proteínas como ovoalbúminas (rica en azufre), la conalbúmina (transportadora de hierro) y otras en menor medida, como glucoproteínas, ovomucoide y ovomucina. En general, estas proteínas poseen un alto valor biológico dado que contienen los 8 aminoácidos esenciales en cantidades suficientes. La clara, es una mezcla de sustancias, mayoritariamente agua, de consistencia viscosa, transparente que coagula a 65° adquiriendo un color blanco característico. Entre estas proteínas se destaca la lisozima, una enzima despolimerizante de glucoproteínas que actúa sobre las membranas celulares bacterianas, provocando su lisis ejerciendo un rol de barrera protectora. Finalmente, la yema representa un 30% del peso total del huevo; mientras que las proteínas de la clara parecen desempeñar una función de protección, las de la yema (alrededor del 15%) estarían destinadas a servir de alimento al nuevo ser. El contenido graso, ronda el 30% y principalmente se trata de ácidos grasos insaturados y en menor medida saturados, también se

destaca la presencia de colesterol y algo de lecitina. Con respecto a los micronutrientes tenemos sales minerales (Ca, P, Fe), vitaminas liposolubles (A, D, E y K) y vitaminas hidrosolubles (B₁ y B₂). A diferencia del aportado por los vegetales, si bien el hierro que se presenta es del tipo “no hemo” tiene muy buena biodisponibilidad. En la Tabla 3.3 se presenta la composición de diferentes tipos de huevo (Instituto de Estudios del huevo, 2009; López y Suárez, 2003).

Tabla 3.3. Composición nutricional porcentual de diferentes variedades de huevo.

Ave	Hum	Pr.	Gr.	Ch.	Cen	Ca	P	Fe	Vit.A	B ₁	B ₂
	g					mg			U.I	mg	
Gallina											
Entero (s/c)	73,7	12,9	11,5	0,9	1,0	54,0	205,0	2,3	1180,0	0,11	0,3
Clara	87,6	10,9	-	0,8	0,7	9,0	15,0	0,1	0,0	-	0,3
Yema	51,1	16,0	30,6	0,6	1,7	141,0	569,0	5,5	3400,0	0,22	0,4
Pato	70,4	13,3	14,5	0,7	1,1	56,0	195,0	2,8	1230,0	0,18	0,3
Ganso	70,4	13,9	13,3	1,3	1,1	-	-	-	-	-	-
Pavo	72,6	13,1	11,8	1,7	0,8	-	-	-	-	-	-

Nota: Adaptada de Salinas, 2000. Hum: humedad, Pr: proteínas, Ch: carbohidratos, Cen: cenizas.

En cuanto a la ingesta o porciones sugeridas, en el caso de carnes magras, aves, huevo y pescado suele recomendarse de 3 a 4 huevos por semana, dependiendo del tamaño un huevo puede pesar entre 50 a 60 g.

Lácteos

La leche representa uno de los alimentos más completos para el ser humano, no solo por el aporte energético sino por la cantidad de macro y micronutrientes que contiene. Las proteínas de la leche son de alto valor biológico, y están conformadas principalmente por caseínas y proteínas del suero, en una relación de 80 y 20%, respectivamente. Otro grupo importante, son las enzimas que también son proteínas con funciones para la protección y/o nutrición del recién nacido, estabilidad o deterioro de la leche, de hecho, su determinación en algunos casos es un indicador de la calidad de la misma. Además, las proteínas lácteas también contienen una serie de péptidos con funciones fisiológicas (anticancerígena, antimicrobiana y antihipertensiva) (Gómez Sala y col., 2011; Singh y Gaur, 2024). No obstante, a pesar de estos beneficios, dentro de este grupo proteico pueden hallarse algunos péptidos asociados a la aparición de cierto tipo de alergias, lo cual representa un problema que aún es objeto de estudio. Los hidratos de carbono representan alrededor del 4 a 5% de la composición de la leche, en este grupo el azúcar mayoritario es la lactosa, un disacárido formado por galactosa y glucosa. Este carbohidrato

representa la principal fuente de energía para los recién nacidos, los cuales cuentan con una enzima denominada β -galactosidasa capaz de hidrolizar la lactosa para ser metabolizada. Sin embargo, con la edad pueden detectarse deficiencias en la producción de dicha enzima lo cual conduce a la intolerancia a la lactosa, un hecho que ha motivado a la industria alimenticia para obtener productos deslactosados. Por otro lado, existen bacterias ácido lácticas, microorganismos no patógenos, capaces de metabolizar la lactosa y que son empleadas ampliamente en la elaboración de lácteos fermentados como yogur, manteca y diversos quesos. La materia grasa puede variar dependiendo de la raza del bovino, entre un 2,8 a 5%. Dado que la mayor parte de la leche es agua, la grasa se encuentra emulsificada, como partículas grasas recubiertas por una membrana lipoproteica. Estas partículas están formadas por triglicéridos que presentan en su mayoría ácidos grasos saturados o monoinsaturados, como el oleico. Una característica particular de la leche es la presencia de ácidos grasos de cadena corta, como butírico, caproico, cáprico y caprílico, característicos del aroma que se desprende al hervir la leche. Además, puede encontrarse también algo de colesterol, aunque en menor proporción que en la leche humana. Con relación a su aporte en micronutrientes, en cuanto a vitaminas la leche posee del tipo hidrosolubles (B_2) y liposolubles como A, D y cierta proporción de K. La leche también presenta una gran cantidad de minerales entre los cuales encontramos calcio, fósforo, magnesio, potasio, zinc y selenio entre otros, compuestos que en su mayoría se encuentran formando sales (Badui Dergal, 2006; Valenzuela, 2020).

Tabla 3.4. Composición nutricional de tres tipos de leche: Humana, vacuna y caprina.

Composición (c/100 ml)	Leche humana ¹	Leche de vaca ¹	Leche de cabra ²
Agua	87,1	87,3	87,1
Sólidos totales	12,9	12,7	12,9
Proteína	1,1	3,3	3,3
Grasa	4,5	3,7	4,3
Lactosa	6,8	4,8	4,6
Cenizas	0,21	0,72	0,7

¹Nota: Adaptada de Salinas, 2000.

²Nota: Adaptada de Fernández, 2016.

En la Tabla 3.4 puede apreciarse la composición porcentual de leche humana, de vaca y de cabra. La principal diferencia entre la leche humana y la de vaca es relevante en los primeros meses de vida de los recién nacidos. La leche materna contiene menos proteínas (aún difíciles de digerir en un neonato), más grasas y en glóbulos de menor tamaño, rápidamente asimilables y útiles para el desarrollo del cerebro, más lactosa como fuente energética y menos sales minerales. Además, tiene muchos compuestos útiles para el desarrollo del sistema inmune del niño que no se encuentran en la leche de vaca. Por su parte, la leche de cabra tiene una

composición similar en minerales y vitaminas en comparación a la de vaca, aunque con valores ligeramente superiores en calcio, potasio, manganeso y vitaminas A y B. Su composición en azúcares es similar a la humana, con una menor cantidad de lactosa en relación a la de vaca. En cuanto a su fracción proteica la estructura de la micela difiere con la de leche de vaca, por lo tanto, la misma resulta más digerible. Algo similar ocurre con su materia grasa, dado que los glóbulos grasos son más pequeños se asimilan más fácilmente. Por tanto, la leche de cabra representaría una alternativa válida como sustituto de la humana (Salinas, 2000; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2020).

Derivados lácteos

Actualmente, la leche se comercializa de diferentes maneras, por ejemplo, a) dependiendo del sistema de higienización encontramos leche pasteurizada, esterilizada o leche UHT (ultra alta temperatura); b) por su estado físico como leche líquida, condensada y leche en polvo; c) por su contenido nutricional tenemos leche entera, semidescremada, descremada, fortificada, enriquecida y deslactosada. Por otro lado, dentro de los derivados lácteos se incluyen alimentos que se elaboran a partir de la leche como 1) leches ácidas o acidificadas entre las cuales encontramos al yogurt y el kéfir, 2) quesos, productos elaborados por la separación del suero lácteo mediante el uso de coagulantes y/o enzimas específicas, 3) manteca, 4) crema de leche y 5) dulce de leche, entre otros. Por lo general los productos fermentados y/o acidificados, como yogures y quesos, suelen presentar una mejor capacidad de asimilación en individuos que presentan alergias hacia ciertos componentes de la leche. Esto probablemente esté relacionado con los procesos de hidrólisis de carbohidratos y proteínas que dichos productos pueden experimentar durante su elaboración. En el caso del queso, en particular, además de la hidrólisis la separación del suero conlleva una disminución importante en el contenido de lactosa. (OMS, 2011).

En cuanto a los valores recomendados, para los productos lácteos y derivados los sugeridos son de 3 a 4 porciones por día, lo que representa entre 200 a 250 ml de leche; 200 a 250 g de yogur u 80 a 125 g de queso fresco.

Legumbres

Las leguminosas son alimentos muy importantes desde el punto de vista nutricional. Durante años han sido la base de la alimentación mediterránea y también en casos de dietas vegetarianas. En este grupo podemos encontrar garbanzos, lentejas, porotos, habas y arvejas. En algunos casos puede incluirse a la soja, aunque al ser utilizada para la extracción de aceite, suele denominársela como oleaginosa, al igual que con el maní. La Tabla 3.5 muestra la composición nutricional de las legumbres de mayor consumo humano.

Tabla 3.5. Composición nutricional de diferentes tipos de legumbres.

Componente	Unid.	Porotos		Lentejas	Garbanzos	Arvejas	Soja	Habas
		Negros	Blancos					
Agua	g	11,02	12,1	8,26	7,68	78,86	8,54	10,98
Energía	kcal	341	337	352	378	81	445	341
Proteína	g	21,6	22,33	24,63	20,47	5,42	36,49	26,12
Lípidos totales	g	1,42	1,5	1,06	6,04	0,4	19,94	1,53
Carbohidratos	g	62,36	60,75	63,35	62,95	14,45	30,16	58,29
Fibra total	g	15,5	15,3	10,7	12,2	5,7	9,3	25
Az. Tot.	g	2,12	3,88	2,03	10,7	5,67	7,33	5,7
Minerales								
Ca	mg	123	147	35	57	25	277	103
Fe	mg	5,02	5,49	6,51	4,31	1,47	15,7	6,7
Mg	mg	171	175	47	79	33	280	192
P	mg	352	407	281	252	108	704	421
K	mg	1483	1185	677	718	244	1797	1062
Na	mg	5	5	6	24	5	2	13
Zn	mg	3,65	3,65	3,27	2,76	1,24	4,89	3,14
Vitaminas								
Tiamina (B6)	mg	0,9	0,775	0,873	0,477	0,266	0,874	0,555
Riboflavina (B1)	mg	0,193	0,164	0,211	0,212	0,132	0,87	0,333
Niacina (B3)	mg	1,955	2,188	2,605	1,541	2,09	1,623	2,832
Piridoxina (B6)	mg	0,286	0,428	0,54	0,535	0,169	0,377	0,366
Ac. Ascórbico	mg	-	-	4,5	4	40	6	1,4
Folatos	µg	444	364	479	557	65	375	423
Fitoquinona (K)	µg	5,6	2,5	5	9	24,8	47	9
Lípidos								
Saturados	g	0,366	0,17	0,154	0,603	0,071	2,884	0,254
Monoinsaturados	g	0,123	0,128	0,193	1,377	0,035	4,404	0,303
Poliinsaturados	g	0,61	0,873	0,526	2,731	0,187	11,255	0,627

Nota: Adaptada de Delgado-Andrade y col. 2016.

Las leguminosas o legumbres son alimentos con alto contenido proteico (20 a 40%), muy superior al de los cereales. Por otro lado, si bien poseen una elevada cantidad de lisina, su bajo aporte en azufrados (metionina y cisteína) origina que su valor biológico no sea alto, esto hace necesario que dichas proteínas se combinen o complementen con otras, como por ejemplo las de cereales, ricos en lisina. En lo que respecta a su composición en carbohidratos, estos alimentos aportan fibra, diversos oligosacáridos y almidón, siendo este último el más abundante (35 a 45% del peso de la semilla) a excepción de la soja donde su presencia es baja. Otro aspecto importante es el alto contenido de fibra dietética, de la cual una gran fracción corresponde a fibra soluble, constituida principalmente por pectinas, hemicelulosas y polisacáridos. En cuanto a

los oligosacáridos, los mismos corresponden a la familia de la rafinosa, responsables de la flatulencia al consumir este tipo de productos. El contenido de materia grasa en las legumbres es bajo, especialmente en porotos y lentejas, con valores del alrededor 1 a 2%. En este caso, es la soja quien se destaca, dado que su contenido en lípidos es superior al 20%. En cuanto a la composición se pueden mencionar que está integrada por un grupo heterogéneo con ácidos grasos libres, di- y triglicéridos, fosfolípidos, esteroides, glucolípidos y lipoproteínas.

Con respecto a sus micronutrientes, las legumbres se consideran fuente de vitaminas hidrosolubles (B_1 , B_2 , B_3 y B_6) y folatos; además, son ricas en hierro, zinc y calcio. Sin embargo, a pesar de la riqueza en dichos minerales, hay que tener presente que se trata de componentes de baja disponibilidad ya que se encuentran formando complejos con el ácido fítico, el cual, constituye el principal inhibidor para la absorción de dichos minerales. Incluso, en algunos casos también suelen encontrarse compuestos fenólicos, como el ácido tánico que tienen capacidad quelante de minerales, por tanto, también pueden afectar la biodisponibilidad de los mismos (Alonso y col., 2010; Secretaria de Agroindustria, 2014b; Delgado-Andrade y col., 2016).

Compuestos bioactivos

Las legumbres contienen una serie de compuestos fitoquímicos en pequeñas cantidades que se consideran como factores anti-nutricionales como lectinas, inhibidores de proteasas y fitatos usualmente resistentes al proceso digestivo. No obstante, estudios recientes demostraron que dichas sustancias pueden tener efectos positivos a nivel metabólico y fisiológico en el ser humano, por lo que actualmente están siendo considerados como compuestos bioactivos (Salinas, 2000; Alonso y col., 2010). En la Tabla 3.6 se muestran algunos ejemplos de dichos compuestos.

Tabla 3.6. Efecto de diferentes tipos de compuestos bioactivos en legumbres.

Componente	Efectos beneficiosos	Efectos perjudiciales
α -galactósidos	Prebiótico	Flatulencia
Inhibidores de tripsina	Anticancerosos, antioxidantes	Reducen la digestibilidad proteica
Lectinas	Anticancerosas	Hemoaglutinación
Fitatos	Antioxidantes, disminuyen el índice glucémico	Alteran la biodisponibilidad de minerales

Nota: Adaptada de Alonso y col. 2010.

Las legumbres poseen varios beneficios tal como se discutió arriba, para este grupo alimentario se recomiendan de 3 a 4 porciones por semana, lo que representa alrededor de 80 g.

Grasas y aceites

Este grupo alimentario representa una excelente fuente de energía, sin embargo, su consumo excesivo puede conducir a severos problemas de salud. Una alta ingesta de ácidos grasos saturados, principalmente láurico, mirístico y palmítico, conlleva el aumento del colesterol sanguíneo mediante la síntesis de lipoproteínas de baja densidad (*colesterol malo*). Por el contrario, los ácidos grasos insaturados como el tipo ω (oleico, linoleico, linolénico, etc), promueven la producción de lipoproteínas de alta densidad (*colesterol bueno*). Para evitar riesgos de enfermedades cardiovasculares, se sugiere no superar una concentración de 200 mg/dL (decilitro) de colesterol sanguíneo total. No obstante, además de los problemas del corazón, el consumo excesivo de ácidos grasos saturados también se asocia con riesgos de cáncer de colon, próstata y mama. Debido al dilema beneficio-daño que provocan las grasas y los aceites, se han establecido lineamientos para una dieta balanceada: se recomienda que su consumo represente hasta 30% de las calorías totales de una persona, de las cuales 10% máximo provengan de grasas saturadas 10% de las monoinsaturadas y 10% de las poliinsaturadas.

Desde el punto de la industria alimentaria elaborar productos con materia grasa que cumpla todos los aspectos nutricionales y organolépticos es un gran desafío. En ocasiones con el propósito de evitar la oxidación de los ácidos grasos insaturados se realiza una hidrogenación (reducir el número de insaturaciones) para aumentar su estabilidad. No obstante, durante dicho proceso pueden originarse ácidos grasos trans los cuales están vinculados con el aumento del colesterol sanguíneo y desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Salinas, 2000, Badui Dergal, 2006). La Tabla 3.7 muestra alguna de las funciones que cumplen los lípidos en la industria alimentaria.

Tabla 3.7. Contribución de los lípidos en diferentes aspectos de la alimentación

Calidad	Textura, dan consistencia y estructura a muchos productos
	Lubricación y saciedad al consumirlos
	Color, debido a los carotenoides
	Sabor, gracias a las cetonas, aldehídos y derivados carbonílicos
Nutrición	Fuente de energía importante por la β -oxidación
	Vehículo de vitaminas liposolubles
	Contienen ácidos grasos indispensables, linoleico y linolénico
	Promueven la síntesis de miscelas y bilis
Biológico	Facilitan la absorción de las vitaminas liposolubles
	Fuente de vitaminas A, D, E y K
	El colesterol es precursor de la vitamina D ₃ , de corticosteroides y de ácidos biliares
	El ácido linoleico es componente de las acilglucoceramidas de la piel
	El inositol favorece la transmisión de señales
	El ácido araquidónico es precursor de eicosanoides y lipoxinas
	El ácido docosahexanoico forma parte de las membranas celulares
	Los ácidos poliinsaturados son moduladores en la síntesis de eicosanoides
	Los fosfolípidos acetílicos ayudan a la agregación de las plaquetas

Nota: Adaptada de Badui Dergal, 2006.

En nuestro país, a partir de las recomendaciones de OMS (2008) sobre regímenes alimentarios, actividad física y salud se trabajó en una normativa que fue incorporada en el año 2010 en el CAA que establece el límite máximo de contenido de grasas trans en los alimentos. De esta manera, en su Capítulo 3, Art.155 tris se menciona: *“El contenido de ácidos grasos trans de producción industrial en los alimentos no debe ser mayor a: 2% del total de grasas en aceites vegetales y margarinas destinadas al consumo directo y 5% del total de grasas en el resto de los alimentos. Estos límites no se aplican a las grasas provenientes de rumiantes, incluyendo la grasa láctea.”*

Referencias bibliográficas

- Badui Dergal, B. (2006). Química de los Alimentos, Capítulo 12: leche. 4ta Ed. Pearson Educación, Distrito Federal, México.
- Codex Alimentarius. (2011). Leche y productos lácteos 2da. Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma, Italia.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo IX. Alimentos farináceos - cereales, harinas y derivados. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_capitulo_ix_harinas.pdf
- Código Alimentario Argentino. Capítulo VI. Alimentos cárneos y afines.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo XI. Alimentos vegetales. https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo_XI.pdf
- Delgado-Andrade, C., Olías, R., Jiménez-López, J. y Clemente, A. (2016). Aspectos de las legumbres nutricionales y beneficiosos para la salud humana. *Arbor*, 192 (779), a313.
- FAO. (2021). Frutas y verduras – esenciales en tu dieta. Año Internacional de las Frutas y Verduras, 2021. Documento de antecedentes. Roma. <https://doi.org/10.4060/cb2395es>
- Gómez-Sala, B., Díaz-Freitas, B., Rodríguez Martínez, M.J. (2011). Complementos alimenticios funcionales: péptidos antihipertensivos procedentes de la leche. *Farmacéuticos comunitarios*, 3 (3), 112-118.
- https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_caa_capitulo_vi_carneos_act_2023_5.pdf
- Instituto de Estudios del Huevo. (2009). El gran libro del huevo. 1ra. Ed. Editorial Everest S.A., La Coruña, España.
- Lagua, R.T. y Claudio, V.S. (2007). Diccionario de nutrición y dietoterapia 5ta. Ed. McGraw-Hill Interamericana, Distrito Federal, México. ISBN 970-10- 5933-6.
- Leidi, E.O., Monteros Altamirano, A., Mercado, G., Rodriguez, J.P., Ramos, A., Alandia, G., Sorensen, M. y Jacobsen, S.E. (2018). Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. *Journal of Functional Foods*, 51, 86-93
- López, L.B. y Suárez, M.M. (2003). Fundamento de nutrición normal 1ra. Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina. ISBN 950-02-0404-5.
- Luziatelli, G., Sorensen, M., Jacobsen, S.E. (2020). Current uses of Andean roots and tuber crops in south American gourmet restaurants. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100270.
- Maggi, E. (2005). Carne de vacunos, porcinos, aves y conejos, la diferencia es la calidad de las grasas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Sitio Argentino de Producción Animal.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2018). Manual de carnes y huevo. https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/Nutricion/publicaciones/consumo_diversificado/Manual%20de%20Carnes%20y%20Huevo.pdf
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2020). Características nutricionales de la leche de cabra. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/caprinos/lecheria/_archivos/000001-

Informes/000002_Caracteristicas%20nutricionales%20de%20la%20leche%20de%20cabra.pdf

- Ministerio de Salud de la Nación. (2016). Guías alimentarias para la población argentina. https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-08/guias-alimentarias-para-la-poblacion-argentina_manual-de-aplicacion_0.pdf
- Navarrete, N.M.; Vidal, M.M.C y Lahuerta, J.J.M. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12 (2), 64-8.
- Organización Mundial de la Salud. (2011). Leche y productos lácteos, 2da Ed. Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura.
- Salinas, R.D. (2000). Alimentación y nutrición. Introducción a la bromatología 3ra. Ed. El Ateneo, Buenos aires, Argentina. ISBN 950-02-0379-0.
- Scott, G.J.; Rosegrant, M.W. y Ringler, C. (2000). Raíces y tubérculos para el siglo 21. Tendencias, proyecciones y opciones de política. Instituto Internacional de Investigación sobre Políticas Alimentarias, Washington, D.C., USA.
- Secretaria de Agroindustria. (2014a). Nutrición y educación alimentaria Ficha 59: Incluí carne vacuna en tu alimentación. Ministerio de producción y trabajo presidencia de la nación.
- Secretaria de Agroindustria. (2014b). Nutrición y educación alimentaria Ficha 31: Legumbres. Ministerio de producción y trabajo presidencia de la nación.
- Singh, N. y Gaur, S. (2024). New insights into multifunctional aspects of milk derived bioactive peptides: A review. *Food Chemistry Advances*, 4, 100628.
- Uriarte, P.A.; Bergera, L.M.; Alonso, P.R.; Gaspar, T.V.; Moreno, E.R.; Torres, J.M.A. y Moreiras, G.V. (2018). Frutas y hortalizas: nutrición y salud en la España del siglo XXI. Fundación Española de la Nutrición.
- Valenzuela, R.B. (2020). Lácteos: nutrición y salud. 1ra. Ed. Imprenta América Ltda., Antofagasta, Chile.
- Willet, W.C. y Skerrett, P.J. (2017). Eat, drink, and be healthy. The Harvard medical school guide to healthy eating. Free Press, New York, Estados Unidos.

CAPÍTULO 4

Análisis de alimentos. Conceptos generales.

Facundo Massolo

Alcances del capítulo

Esta sección abarca desde la toma, preparación y conservación de muestras de alimentos hasta su posterior análisis composicional. Por otro lado, se introducen criterios para la selección de métodos de análisis de alimentos naturales de consumo directo (Ej.: vegetales) o que requieran procesamiento (Ej.: artesanales, industriales).



Figura 4.1. Alimentos naturales o procesados, con algunos grupos alimentarios como ejemplos. Fotografía: propia.

Breve introducción

El presente capítulo propicia un panorama general sobre el análisis integral de alimentos. Incluye información sobre la preparación y/o conservación de la muestra a ser analizada a futuro (ya sea de forma directa o con un previo acondicionamiento), las cantidades a pesar dependiendo del tipo de muestra y/o del protocolo de laboratorio, los recaudos a considerar durante la ejecución de las metodologías empleadas y el análisis de los resultados obtenidos, las posibles dificultades o limitaciones de ciertas técnicas, la contemplación de posibles errores experimentales y la tolerancia de error en el rótulo aceptada por el Código Alimentario Argentino (CAA).

Por qué y cuándo analizar los alimentos

La necesidad de conocer la composición de un alimento puede tener diferentes orígenes, como un análisis de rutina a modo de verificación o cumplimiento de requerimientos legales (bajo el marco del CAA), la elaboración de un nuevo rótulo, la detección de posibles adulteraciones y el análisis de alimentos especiales de origen incierto, hasta de naturaleza arqueológica.

El rótulo de un alimento por lo general debe contener la información nutricional, esto es, la composición porcentual de los macrocomponentes que lo integran (proteínas, hidratos de carbono, lípidos y en ocasiones, fibra) y de microcomponentes (minerales y vitaminas). En ocasiones, el análisis composicional de ciertos productos alimenticios, puede requerir información adicional, como la presencia de antioxidantes, registro de unidades formadoras de colonias para ciertos microorganismos, detección de alérgenos u otro tipo de sustancias tóxicas, determinación de componentes asociados a *flavor* (aroma y sabor), tipo y proporción de aminoácidos, presencia de proteínas de gluten, de grasas trans, de aditivos como preservantes, colorantes, saborizantes o de componentes en trazas no mencionados (sustancias tóxicas, alérgenos, hormonas, etc). Esta información constituye una de las herramientas necesarias para reconocer operaciones fraudulentas o adulteraciones. Se define como “adulteración” a la práctica mediante la cual la calidad de un alimento se ve alterada mediante la adición de una o más sustancias base que lo componen, preexistentes o no en él o su eliminación. Por último, el análisis de muestras nunca antes analizadas puede ser motivo de estudio por parte de bromatólogos y/o de investigadores.

Flujo experimental

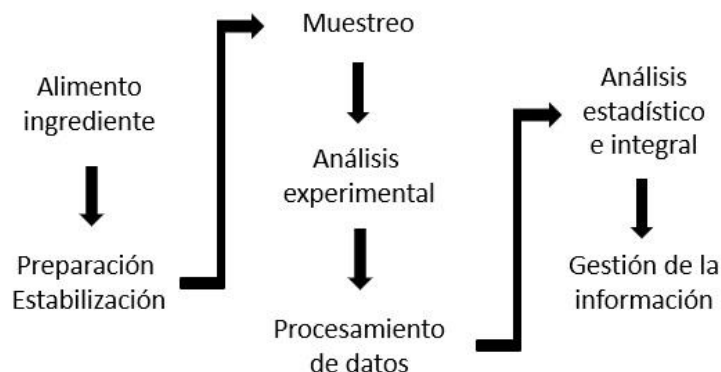


Figura 4.2. Flujo experimental para el análisis nutricional clásico de un alimento o ingrediente.

Fuente: Adaptado de Picó, 2012.

Preparación, estabilización y muestreo

La preparación de la muestra consiste en enriquecer la cantidad de analito, considerar los interferentes remanentes y adecuarse a la técnica experimental, según modo y sensibilidad del método de medición. Para lograr este objetivo, pueden utilizarse etapas de dilución, extracción, clarificación (defecación o precipitación), destilación, derivatización, calcinación y/o digestión del alimento o ingrediente a analizar (Picó, 2012). Llegado el momento de llevar a cabo las medidas experimentales pertinentes, si la muestra no posee la homogeneidad necesaria, esta deberá lograrse mediante mezclado directo, molienda o disgregación, dependiendo de la naturaleza de la misma. Por último, dependiendo de lo que se pretenda analizar puede adicionarse una etapa de aislamiento y purificación de un componente determinado o una etapa de acondicionamiento de la muestra para facilitar el proceso de análisis y minimizar errores.

La conservación o estabilización de la muestra comprende una serie de consideraciones necesarias para que el alimento no sufra alteraciones antes de ser analizado. Esta etapa busca evitar procesos indeseados, que interfieren en las mediciones como: la descomposición por acción biológica (sobre todo microbiológica), la volatilización de sustancias aromáticas (particularmente en muestras ricas en compuestos volátiles), la deshidratación, la adsorción y/o absorción de humedad y reacciones de hidrólisis, de oxidación o bioquímicas, reacciones catalizadas por la luz, entre otras (Picó, 2012). Para evitar efectos indeseados es fundamental que no transcurra demasiado tiempo entre la adquisición de la muestra y el análisis en el laboratorio, almacenando en envases adecuados y en condiciones ambiente controladas (temperatura, humedad, atmósfera gaseosa, oscuridad) y sin contaminación cruzada.

El muestreo es una etapa indispensable dentro del protocolo experimental, ya que en la gran mayoría de casos no puede analizarse un lote completo de muestra sino una porción o alícuota del mismo. Esta fracción se dice que debe ser representativa, esto es, que debiera contener al

analito buscado en la misma proporción que dentro de la población total (Morawicki, 2009). Esta etapa se lleva a cabo mediante la toma de muestra de forma aleatoria en diversos lugares de la población del lote de partida. Para tomar las muestras debe considerarse la homogeneidad o heterogeneidad del lote, la aptitud para ser manipulada, la cantidad de la que se disponga, la facilidad para ser mezclado (y las consecuencias a las que esto pueda llevar), la capacidad para deshidratarse o absorber humedad del ambiente, el efecto que pueda tener la luz sobre el producto, la acción que pueda tener el oxígeno del aire, el recipiente de donde proviene y/o donde será almacenado antes del análisis, y el material con el que se cuenta en el laboratorio (Nielsen, 2009).

Análisis experimental

Comprende una serie de pasos que se enmarcan dentro de un determinado protocolo experimental con el fin de identificar, caracterizar y/o cuantificar un cierto analito dentro de una determinada matriz (muestra o alimento en este caso). Para proceder a estudiar la composición de un alimento, este será manipulado según su naturaleza (Zumbado Fernández, 2004; Méndez Ventura, 2020).

Muestras sólidas

Se deberán moler en molinillo (o picadora), mezclar y homogenizar.

~ **con alto porcentaje de agua (pastas frescas, dulces, etc.).** Dado que éstas pierden agua fácilmente, deben permanecer en un recipiente bien tapado para evitar alteraciones en su composición y, al momento de la evaluación, se tomará muestra rápidamente. Por ejemplo, para el caso de quesos, en caso de tener corteza se elimina y se toman varias muestras con un sacabocados.

~ **con bajo porcentaje de agua (harinas, galletas, leche en polvo, etc.).** En este caso, al abrir el recipiente contenedor (hermético) se evitarán condiciones de temperatura y humedad extremas. La alícuota se tomará con los mismos recaudos que para muestras con alto porcentaje de humedad.

Muestras semilíquidas y líquidas no carbonatadas

Se deben mezclar por agitación. En el caso de mieles que presentan cristalización de azúcares (granulación) éstas deben homogenizarse, introduciendo el envase en un baño de agua a 60 °C. Agitar hasta disolución de los cristales.

Bebidas carbonatadas (incluyendo fermentadas).

Se enfría antes de abrir, se transvasa repetidamente entre dos vasos de precipitados (o se agita vigorosamente) para expulsar el CO₂ antes de proceder al análisis.

Grasas y aceites.

Si poseen impurezas es necesario eliminarlas, incluyendo la presencia de agua. Para ello, dejar en estufa a 50 °C hasta que se clarifique si es líquida y para que funda completamente si la muestra es sólida. De ser necesario, filtrar por papel, en lo posible manteniendo la temperatura de 50 °C.

Procesamiento de datos, análisis estadístico e integral

Los valores obtenidos de las mediciones realizadas sobre la muestra, es decir, los datos numéricos, deben ser sometidos a un análisis estadístico para que puedan ser interpretados como información real que permitirá describir a la muestra. De lo contrario, el análisis experimental realizado no tendría sustento.

Gestión de la información

La información obtenida a partir de la interpretación de los resultados, será de utilidad para alguna/s de la/s siguiente/s acciones: el ajuste de variables en un proceso industrial, la aprobación o decomisado de lotes de alimentos (a pequeña o gran escala), el cambio de formulaciones (con el fin de mejorar el valor nutricional, conferir alternativas de textura, sabor o palatabilidad, reducir costos), la implementación del rotulado frontal, la aprobación o restricción de sellos o *claims* en determinados alimentos, etc.

Espectro de metodologías de análisis de alimentos

Dependiendo de las necesidades o del objetivo buscado, para un alimento o ingrediente existen metodologías de análisis directas u objetivas, subjetivas o incluso determinaciones que no entran en estas clasificaciones. Los métodos subjetivos de análisis son básicamente aquellos basados en una evaluación sensorial. A su vez, existen otras metodologías de análisis como los *tests* o encuestas nutricionales, o la realización de estudios biológicos utilizando animales de laboratorio. Por último, dentro de los métodos directos u objetivos se encuentran los métodos de análisis químico, ya sean clásicos o instrumentales, los físicos, los microbiológicos y los microscópicos (Zumbado Fernández, 2004). Dentro de las metodologías clásicas de análisis químico se encuentra el análisis composicional de macrocomponentes, microcomponentes e incluso de sustancias tóxicas, alérgenos, u otros contaminantes. En este libro se detallarán los métodos químicos tradicionales utilizados en un laboratorio de bromatología para el análisis de macrocomponentes, de minerales en general (cuantificados como cenizas), de agua y de fibra.

Metodologías de análisis: panorama general

Determinación de humedad

Método indirecto (secado en estufa, usualmente a 105 °C). En líneas generales, la medición del contenido de agua de un alimento suele llevarse a cabo de forma gravimétrica indirecta, debido a su versatilidad y alcance. Su empleo es apto para muestras en las que la mayor parte del contenido evaporable de la matriz en estudio es agua. El punto final se alcanza cuando se obtienen dos pesadas constantes consecutivas (AOAC). En el caso de muestras que tengan componentes sensibles se pueden utilizar estufas con presión reducida ya que en estas condiciones se reduce la temperatura de evaporación del agua. En el caso de muestras o ingredientes con alto contenido de sustancias aromáticas volátiles, su humedad debe ser evaluada mediante una técnica alternativa específica (ver *Método de Karl Fischer*).



Figura 4.3. Concentración de muestras líquidas sobre arena en baño termostático a modo de pre-tratamiento (izquierda) y deshidratación en estufa (derecha) para determinar humedad.

Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Método directo (destilación). También conocido como método de Markuson, utiliza una trampa de destilación (por ejemplo, la trampa de Dean Stark) donde directamente se recoge y se lee el volumen del agua de la muestra que es calentada en un sistema cerrado. Este método es apto para alimentos con muy bajos niveles de agua (especias, granos) o aquellos que tienen una alta proporción de sustancias volátiles inmiscibles en agua (especias, hierbas o plantas con aceites esenciales).

Método de Karl Fischer. Este método está basado en una reacción de consumo de agua exactamente conocido. Esta técnica logra detectar trazas de agua ya que emplea una mezcla de sustancias (reactivo de Karl Fischer) que reacciona con agua de forma estequiométrica (Nielsen, 2003). Este método permite determinar agua en sistemas que sólo contengan trazas (algunos productos liofilizados), o para muestras en las que el proceso de medición genere agua *in situ* por descomposición de otras sustancias (ambas metodologías previas utilizan calentamiento) o

para muestras en las que haya sustancias volátiles solubles en agua en alta proporción (ej.: etanol en bebidas alcohólicas, aceites esenciales en plantas aromáticas comestibles).

Determinación de cenizas

El método universal es por calcinación de la muestra, contenida en un crisol, en una mufla a 500-550 °C seguido de gravimetría (AOAC). Si bien para harinas suele utilizarse una temperatura bastante más alta (920 °C), por lo general se recomienda no superar los 550 °C debido a la pérdida de cloruros por volatilización. Previo a la incineración suele haber etapas de concentración y/o carbonización de la muestra. Debe considerarse que lo que permanece en el crisol tras la calcinación son sales que contienen a los minerales de la muestra (Méndez Ventura, 2020). En otras palabras, lo que se recupera no son los cationes o aniones que componen a las sales, sino cada uno con un contraión determinado. Como punto final del proceso de calcinación, además de considerar dos pesadas sucesivas repetidas, las cenizas obtenidas deberán ser blancas a grises (AOAC).



Figura 4.4. Mufla con crisoles (izquierda). Crisol con muestra calcinada parcialmente, los restos de color negro deben llegar a un tono blanco o grisáceo. Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Determinación de lípidos: métodos extractivos

Existen varias metodologías para cuantificar y/o separar lípidos presentes en alimentos, que van desde protocolos de referencia empleados habitualmente para el análisis composicional o el control de rótulos, hasta técnicas utilizadas más puntualmente en estudios científicos o particulares. Estas por lo general son extractivas o separativas. Entre los protocolos más usados en el laboratorio para el análisis proximal de lípidos en un alimento se encuentran los métodos de Soxhlet, de Ratzlaff-Schmidt-Bondinsky, de Rose-Gottlieb o de Gerber (AOAC). Para decidir cuál de los métodos utilizar, es necesario conocer la muestra de antemano. Lo primero que hay que evaluar es si existe interacción lípido-proteína, como ocurre en el caso de leche o derivados y en huevo o en otros alimentos que contengan yema de huevo. Esto se debe a que cualquier determinación directa, sin romper esta interacción, como podría ser por ejemplo utilizando el método de Soxhlet, conllevaría a un error por defecto en el contenido de lípidos. Para muestras

que presenten esta interacción la determinación debe ejecutarse mediante el método de Ratzlaff-Schmidt-Bondinsky, por Rose-Gottlieb o en el caso de lácteos utilizando el método de Gerber. Como criterio de peso de muestra inicial se suele emplear el mismo que para humedad por el método indirecto (0,1 y 0,5 g), con la diferencia de que el valor obtenido corresponderá directamente al peso de lípidos, y no de forma indirecta como en la determinación de humedad.



Figura 4.5. *Sistemas extractores del método de Soxhlet (Balón y tubo de solvente, izquierda), Gerber (butirómetro, centro) y Rose-Gottlieb (Tubo de Mojonnier, derecha). Fotografía: propia.*

Dentro de las metodologías para la separación y/o cuantificación de lípidos no usuales en análisis de rutina sino de carácter científico o de empleo industrial específico se encuentran las cromatografías, como el caso de la cromatografía en capa fina (TLC), la cromatografía gas líquido (GLC) o la cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (RP-HPLC). La TLC es de carácter cualitativo y a su vez semi-cuantitativo ya que permite separar distintos tipos de lípidos, que junto a patrones de corrida pueden identificarse según la distancia recorrida y cuya cantidad puede ser estimada por la intensidad de las bandas que se generan. Una mezcla heterogénea o compleja de lípidos requerirá solventes de corrida de distinta polaridad y cuyos lípidos menos polares serán los que más distancia recorran con referencia al punto de siembra. Por otro lado, la GLC y la RP-HPLC son herramientas mucho más poderosas que la TLC ya que permiten separar de forma más eficiente cada lípido, cuantificarlos (realizando una curva de calibración con patrones) y hasta de aislarlos por fracción. Entre estas dos metodologías, se destaca la RP-HPLC ya que no requiere de la derivatización de los lípidos a ésteres metílicos previo a la corrida cromatográfica, como sí ocurre con la GLC.

Determinación de lípidos: métodos no extractivos

Como se mencionó anteriormente, si bien la mayor parte de los métodos de análisis de lípidos requieren de la extracción de estos macrocomponentes, existen algunas metodologías que prescinden de esta etapa. Entre estas se encuentran la resonancia magnética nuclear (RMN) y el análisis espectroscópico del infrarrojo cercano (NIR).

Desde el punto de vista cualitativo, la técnica de RMN permite dilucidar estructuralmente compuestos orgánicos de bajo peso molecular y macromoléculas, a partir de espectros de ^1H y ^{13}C . La frecuencia de resonancia es una característica del tipo de núcleo; sin embargo, debido al "entorno químico" en el que reside el átomo, pueden ocurrir ligeras variaciones de frecuencia para un mismo núcleo según la posición del átomo dentro de la molécula. Debido a esta propiedad, podemos distinguir, por ejemplo, entre hidrógenos aromáticos y alifáticos u olefinicos (que tienen dobles enlaces carbono-carbono). Como herramienta de análisis cuantitativo, la RMN permite determinar la concentración del analito de forma precisa, incluso en matrices complejas. La cuantificación se lleva a cabo mediante la integración de señales obtenidas como ondas que se transforman en picos (García González y col., 2022). Esta técnica puede utilizarse en la mayoría de los alimentos, aunque requiere de una calibración previa con un alimento específico (ORACLE & SMART 6TM).

La espectrometría de luz infrarroja cercana (NIR) mide la absorción de luz de una determinada muestra en la región del espectro que va de los 800 a los 2500 nm. En otras palabras, la exposición de la muestra a esta radiación genera un espectro de ondas, conformado por vibraciones y armónicos (o sobretonos) característicos de grupos como CH, NH u OH, que luego deben transformarse a picos. Esta particularidad hace que la técnica mencionada permita no sólo analizar compuestos orgánicos en el sector alimentario, sino también farmacéutico y químico. Para llevar a cabo un análisis espectroscópico de este tipo en el laboratorio, la muestra simplemente puede medirse dentro de un vial de vidrio o de un vaso de precipitados, ya que estos materiales no absorben en la región espectral NIR, así como también admite el uso de sondas de fibra óptica (Bruker Corporation). Como sucede con otras técnicas espectroscópicas, la espectroscopía NIR es rápida y precisa en comparación con determinaciones químicas, y además ofrece otras ventajas que hacen que sea muy útil para el análisis de rutina en laboratorios de control de calidad y en el control de procesos. Además, a diferencia de los análisis estándar que consumen mucho tiempo, las medidas llevan entre 10 y 60 segundos, y, al no requerir reactivos químicos, no produce desechos (Bruker Corporation). Sin embargo, se trata de una metodología de gran costo tanto de inversión como de uso, así como ocurre con la RMN.

Determinación de proteínas

El método universal para determinación de proteínas totales es el de Kjeldahl-Willfart-Gunning y está basado en la cuantificación del contenido de nitrógeno total. Para la inmensa mayoría de los alimentos, se considera que el nitrógeno determinado (por titulación) es de naturaleza orgánica, despreciando con bajo error el aporte que pueda haber de nitrógeno inorgánico o proveniente de trazas de ácidos nucleicos u otras sustancias orgánicas no proteicas que lo contengan. La cantidad de muestra a pesar usualmente se ubica en el rango de 0,1000-1,5000 g, dependiendo de la naturaleza de la misma.

Existe una metodología alternativa que utiliza las últimas etapas del método Kjeldahl, que se denomina método de Kofranyi o del nitrógeno álcali lábil. Dado que esta técnica sólo considera el nitrógeno de cadenas laterales de aminoácidos básicos (que se desprende fácilmente en

medio alcalino), carece de la etapa de digestión, que implica un ahorro de tiempo de 2 a 3 hs. Por este motivo, debe ser contrastado inicialmente con la medición de nitrógeno total por el método de Kjeldahl. Su utilización se justifica cuando se llevan a cabo análisis de rutina de una muestra dada, midiendo de forma más rápida por el método de Kofranyi y correlacionando con la determinación por Kjeldahl (que se realizaría con mucha menor frecuencia) mediante una curva recta de proporcionalidad conocida entre ambas determinaciones.

Otra forma de determinar el contenido de nitrógeno total es mediante el método de Dumas. Se basa en la oxidación de la muestra cuando, bajo una atmósfera de CO_2 , se la calienta en presencia de CuO y genera a partir de moléculas orgánicas sustancias gaseosas inorgánicas como H_2O , CO_2 y N_2 . Estos gases se hacen pasar por una columna de KOH , siendo el N_2 el único que no queda retenido, lo cual permite identificarlo y cuantificarlo en un recinto de volumen conocido mediante un manómetro.

Existe un método alternativo para medir nitrógeno total, la técnica de piroquimioluminiscencia. Está basada en un calentamiento de la muestra a 1800°C en presencia de ozono (pirólisis oxidativa), tratamiento que genera, entre otros gases, una única especie de nitrógeno, en estado excitado, el NO_2^* . Esta especie se descompone rápidamente emitiendo luz en el infrarrojo, que, a partir de su intensidad, indica la cantidad de nitrógeno de la muestra.

Es importante mencionar que los métodos anteriores son no extractivos, y que la muestra se utiliza en su totalidad.

Por otro lado, existen numerosas técnicas que, en lugar de precisar el contenido de nitrógeno, determinan directamente el contenido de proteínas y están basadas en medidas espectrofotométricas o, en ciertos casos, algunas técnicas cromatográficas. En este último grupo las metodologías existentes se clasifican en extractivas o no extractivas. Existen medidas directas según la detección directa en el espectro UV o técnicas colorimétricas, pudiendo estas últimas estar basadas en la reacción con cobre o en la formación de complejos proteína-colorante. En el primer caso, se registra la absorbancia directa de aminoácidos aromáticos a 280 nm. En el segundo caso se mide la absorbancia de especies coloreadas (se detectan en el espectro visible), que tienen como factor común la reacción del cobre con las uniones peptídicas de las proteínas: métodos de Biuret, de Lowry y del ácido bicinconínico. Es importante mencionar que en los primeros dos métodos el complejo que se forma entre el cobre y las proteínas es con Cu^{2+} mientras que en el último caso es con Cu^{1+} . El método de Lowry es el más utilizado de los tres ya que posee una mayor sensibilidad (0,01 – 1,00 mg/ml) (Waterborg, 2009). Por último, dentro de los métodos colorimétricos, se encuentran el método de Bradford, el de Amidoblack y el de Udy, que requieren del agregado de colorantes específicos y en exceso. El método de Bradford es extractivo, pero la absorbancia que se mide es la correspondiente al complejo proteína-colorante, su sensibilidad es de 0,1 – 1,0 mg/ml. Amidoblack y Udy, si bien son espectrofotométricos, no son extractivos ya que en estos se utiliza la muestra directamente sin extraer y son métodos con menor sensibilidad (10 - 50 mg/ml) que Bradford. Además, para el método de Bradford no se requiere separación entre el exceso de colorante y el complejo proteína-colorante ya que el colorante y el complejo poseen absorbancias distintas y bien

separadas, mientras que en el de Amidoblack y en el de Udy se debe retirar el complejo proteína-colorante (por centrifugación) para poder medir la absorbancia del colorante en exceso sin interferencias.

Con respecto a las técnicas cromatográficas para analizar proteínas, se suele utilizar dentro de la clasificación de cromatografía líquida de alta resolución/presión (HPLC) la cromatografía de exclusión molecular o sino dentro de otra modalidad, la cromatografía líquida rápida de proteínas (FPLC). La cromatografía de exclusión molecular separa a las proteínas por tamaños, siendo las de mayor peso molecular excluidas de la retención por parte del relleno de la columna de separación y eluyendo al inicio de la corrida cromatográfica. Por el contrario, cuanto menor tamaño tenga la proteína, más equilibrios (o platos) atravesará y su tiempo de retención será mayor. A diferencia de la HPLC, en la FPLC la presión a la que se hace circular el *buffer* es relativamente baja, (menor a 5 bar), pero el caudal es relativamente alto (1-5 ml/min). Además, la FPLC puede abarcar un análisis de proteínas en cantidad de miligramos en volúmenes de 5 mL hasta la producción industrial de kilogramos de proteína purificada, en columnas con capacidad para varios litros.

Determinación de hidratos de carbono

Existen variadas metodologías mediante las cuales pueden identificarse y/o cuantificarse a los hidratos de carbono de una muestra. Los grupos de técnicas abarcan métodos físicos, químicos, enzimáticos, fisicoquímicos y técnicas alternativas, de uso individual o combinado.

Dentro de los **métodos físicos** se encuentran técnicas como la microscopía óptica, la cual suele utilizarse para la observación de gránulos de almidón. A su vez, existen métodos refractivos que podrían ser de utilidad para estimar la cantidad de azúcares simples de una mezcla. Dado que su principio de dosaje se basa en la refracción de la luz por sustancias disueltas en un medio líquido, la presencia de otras sustancias solubles (como sales, ácidos, etc) serían interferencias. Por otro lado, es necesario registrar la temperatura de trabajo para poder obtener el valor real a la temperatura deseada, lo cual se lleva a cabo utilizando tablas específicas que suman o restan un cierto porcentaje de sacarosa (Lees, 1982). Otra metodología dentro de esta categoría, y muy utilizada también para mezclas de azúcares simples, es la polarimetría. Si bien esta técnica tiene posibles interferencias, es más apta que la refractometría para dilucidar mezclas debido a la especificidad de la rotación del plano de la luz polarizada que cada azúcar tiene asociada. Por último, la densimetría o la picnometría se hallan también dentro de las metodologías físicas, aunque cada vez son menos utilizadas.

Entre las **metodologías de base química**, se encuentran técnicas clásicas con una larga historia de uso como el ensayo colorimétrico del fenol-sulfúrico o el del reactivo de antrona, que sirven para determinar azúcares totales. A su vez, existen varios protocolos basados en la reacción del ión Cu^{2+} , siendo el de Fehling-Causse-Bonnans (FCB) o el de Somogyi Nelson (SN) de los más utilizados debido a su capacidad de distinguir entre azúcares reductores de forma directa, de azúcares no reductores y de incluso polisacáridos.

Por otro lado, existen métodos enzimáticos, que, a diferencia de los anteriores, son específicos de un azúcar en particular. Estos suelen ser utilizados en casos muy particulares debido a su elevado costo; por ejemplo, para alguna línea de investigación, o como requerimiento de una empresa o de un laboratorio.

En última instancia y no menos importante se encuentran los protocolos que utilizan fundamentos fisicoquímicos como las cromatografías. Dentro de estos se encuentran las técnicas semicuantitativas como la cromatografía líquida en capa fina o la cromatografía en papel, donde cada azúcar corre sobre un medio determinado, en condiciones específicas en referencia a patrones, se separa de los demás y cuyo contenido puede ser estimado por la intensidad de las bandas que se generan en la corrida cromatográfica. Por último, para un análisis más específico y cuali/cuantitativo de hidratos de carbono, puede utilizarse HPLC (Oliver y col., 2013; BeMiller y col., 2017) de uso indiscutido debido a su capacidad, versatilidad, especificidad, y a los diferentes arreglos que ofrece. Otra metodología también muy utilizada, aunque no tan versátil es la cromatografía de gases. Si bien esta técnica requiere derivatización (metilación, sililación, entre otras) debido a la baja volatilidad y la inestabilidad térmica de los azúcares, es de suma importancia a nivel cuali/cuantitativo (Ruiz-Matute y col., 2011). Por último, existe la cromatografía de fluidos supercríticos, una técnica híbrida entre la cromatografía líquida y la cromatografía de gases (Hostettmann y col., 2014). Actualmente se está utilizando en el campo de la metabolómica, que incluye el examen de compuestos polares como los hidratos de carbono. Una de sus ventajas es que no requiere derivatización (Meyer y col., 2022).

Es importante mencionar que, si bien las cromatografías han reemplazado en gran medida a la mayoría de los métodos de dosaje de hidratos de carbono, para análisis de hidratos de carbono totales siguen siendo muy empleados los métodos colorimétricos más antiguos (con fenol-sulfúrico o antrona), o los que detectan azúcares reductores (FCB o SN), o incluso la polarimetría como método físico, debido a su robustez y al costo significativamente menor de estas técnicas.

Límites permitidos en el rótulo (CAA)

En el capítulo V del Código Alimentario Argentino se presentan las “Normas para la rotulación y publicidad de los alimentos”. En el apartado 3.5.1 queda explicitado que la tolerancia de error en la cantidad de cada nutriente de cualquier alimento es de $\pm 20\%$ respecto al valor que se declara en la rotulación. Para un alimento dicho límite es bastante amplio o “permisivo” debido a que en este se debe contemplar tanto la variabilidad en la composición de las materias primas que componen un alimento dado como las limitaciones de las técnicas empleadas dependiendo de la cantidad a detectar del analito o de la matriz en la que se encuentra. Cabe mencionar que para minimizar la suma de errores asociados a materiales y/o equipos de laboratorio estos deben ser controlados con cierta frecuencia (análisis de funcionamiento correcto, calibración, etc). Además, la existencia de errores experimentales u operativos debiera ser llevada a su mínima

expresión cuando el número de repeticiones sea el adecuado y el operador adquiera suficiente experiencia en las determinaciones.

Comentarios finales

Al momento de analizar la composición de un alimento se debe tener en cuenta qué tipo de matriz se trata para manipularlo y acondicionarlo de la mejor manera. A su vez, de existir datos previos (rótulo, bibliografía, composición y cantidad de los ingredientes que componen el alimento a analizar) estos orientarán al operador para la decisión de las metodologías a emplear y en consecuencia para el procesamiento adecuado de la muestra. En los siguientes capítulos se explicarán en detalle los protocolos experimentales más relevantes que fueron introducidos aquí.

Referencias bibliográficas

- AOAC. Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- BeMiller, J. N. (2017). Carbohydrate Analysis. *Food Analysis*.
- Bruker Corporation. ¿Por qué la espectroscopia FT-NIR? https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-nir-spectrometers/What_is_FT-NIR_spectroscopy.html#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20es%20NIR%3F,a%20diferentes%20longitudes%20de%20onda.
- Código Alimentario Argentino (CAA). <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>.
- García González, M. A., Sánchez Mendoza, E., Waksman Minsky, N. H. y Saucedo, A. L. 2022. Fundamentos y analogías para entender mejor la espectroscopía de RMN. Fundamentals and analogies to better understand NMR spectroscopy. *Educación química*. 33, 4.
- Hostettmann, K. (Editor en jefe); Chen, S., Marston, A. y Stuppner, H. (Eds.). (2014). *Handbook of chemical and biological plant analytical methods*. Editorial: Wiley.
- Lees, R. (1982). *Análisis de los alimentos. Métodos analíticos y de control de calidad*. Editorial: Acribia.
- Méndez Ventura, L. M. (2020). *Manual de prácticas de Análisis de Alimentos*. Editorial: Universitaria.
- Meyer, M., Montero, L., Meckelmann, S. W. y Schmitz, O. J. (2022). Comparative study for analysis of carbohydrates in biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 414(6), 2117–2130.
- Morawicki R. O. (2009). Sampling and Sample Preparation. S. S. Nielsen (Ed.). *Food Analysis* (4th edition). pp. 69-81.

- Nielsen, S. S. (2003). *Food Analysis Laboratory Manual (3rd edition)*. Editorial: Springer International Publishing.
- Nielsen, S. S. (2009). *Food Analysis (4th edition)*. Editorial: Springer International Publishing.
- Oliver, J. D., Gaborieau, M., Hilder, E. F. y Castignolles, P. (2013). Simple and robust determination of monosaccharides in plant fibers in complex mixtures by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1291, 179-186.
- ORACLE & SMART 6™. Foodstuff Application Note. ORACLE Fat Analyzer. The first ever-rapid fat analyzer with no method development. www.cem.com.
- Ruiz-Matute, A. I., Hernández-Hernández, O., Rodríguez-Sánchez, S., Sanz, M. L. y Martínez-Castro, I. (2011). Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. *Journal of Chromatography B*. 879(17-18), 1226-1240.
- Picó, Y. (2012). *Chemical analysis of food. Techniques and Applications*. Editorial: Academic Press (Elsevier).
- Waterborg, H. (2009). The Lowry method for protein quantitation. En J. M. Walker (Ed.), *The Protein Protocols Handbook* (pp. 7-10). Springer Publishing (3ra edición).
- Zumbado Fernández, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos: Métodos Clásicos*. Editorial: Universitaria.

CAPÍTULO 5

Humedad y contenido mineral

Mariela Patrignani

Introducción a la humedad en los alimentos

El agua es el principal componente de muchos alimentos (Tabla 5.1). Su cantidad, localización y orientación influye en la estructura, aspecto y sabor de los alimentos y en su susceptibilidad a la alteración.

Tabla 5.1. *Contenido de humedad en alimentos*

Alimento	Contenido aproximado de agua (g/100 g muestra)
Frutas frescas	65-95
Hortalizas frescas	66-96
Carne	50-70
Pescado	50-70
Cereales	< 10
Frutas secas	<3
Legumbres	8-12
Harina	12
Cereales preparados	4-11
Pastas secas	8-10
Bizcochos	14-28
Tortas	19-32
Panes	34,5-36,5
Galletas cracker	4,6-5,7
Huevos	74
Huevos deshidratados	3-5
Frutas deshidratadas	10-25
Hortalizas deshidratadas	7-12
Jaleas y mermeladas	27-35
Jarabes y jugos concentrados	<32
Frutas confitadas	12-21

En los alimentos, el agua puede estar retenida en distintas formas:

-Agua ligada: corresponde al agua constitucional, monocapa y multicapa. Es el agua que se encuentra fuertemente adsorbida y menos movable en el alimento. No actúa como disolvente y se puede considerar que actúa como parte del sólido (Fennema, 2010).

-Agua de fase masiva: corresponde al agua libre o atrapada. Esta agua constituye más del 95 % (p/p) del agua en el alimento. Las propiedades de esta agua son similares a las del agua en solución, está disponible como disolvente y puede soportar el crecimiento microbiano (Fennema, 2010).

Sin embargo, se ha observado que alimentos con el mismo contenido de agua podían diferir en su perecibilidad, esto se atribuye a la diferencia con que el agua se asocia al resto de los constituyentes. A raíz de esto se desarrolló el término “actividad de agua” (a_w). La a_w puede predecir la estabilidad y la vida útil de un producto y refleja el grado de interacción del agua con los demás constituyentes (Badui Dergal, 2006). Este parámetro se define como la relación entre la fugacidad del disolvente en solución (f) (tendencia de un disolvente de escapar de una solución) y la del disolvente puro (f^0). Como el vapor de agua se comporta aproximadamente como un gas ideal, es posible emplear la presión de vapor en lugar de la fugacidad. En términos matemáticos:

$$a_w = \left(\frac{f}{f^0} \right)_T \approx \left(\frac{p}{p^0} \right)_T$$

En donde a_w se expresa como la relación entre la presión parcial de vapor de agua en el alimento (p) y la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura (p^0). Los valores de a_w varían desde el 1 (agua totalmente pura) a 0 (producto totalmente seco) (Badui Dergal, 2006)

A su vez, la presión de vapor relativa (p/p^0) está correlacionada con el porcentaje de humedad relativa en equilibrio (%HRE) del ambiente con el producto de la siguiente manera:

$$a_w \approx \frac{HRE}{100}$$

El %HRE es una propiedad de la atmósfera que se encuentra en equilibrio con la muestra y puede ser determinada colocando la muestra en una cámara cerrada hasta que la misma alcance el equilibrio. La cámara debe tener un tamaño adecuado de modo que sea la muestra la que gobierne el proceso y se llegue al equilibrio sin modificar el a_w de la misma y luego se debe medir la presión o humedad relativa en la cámara. Para esto existen distintos tipos de instrumentos que utilizan manómetros o determinan el punto de rocío (Fennema, 2010).

La representación gráfica del contenido de agua en un material frente a su a_w se conoce como isoterma de sorción. Estas curvas tienen por lo general una forma sigmoidea en donde se pueden diferenciar distintas regiones (Figura 5.1).

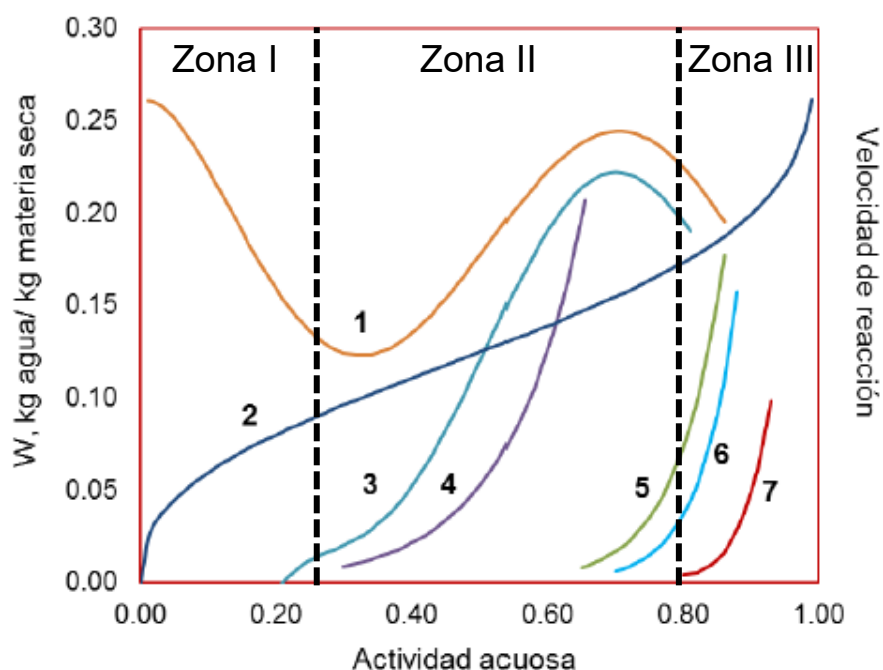


Figura 5.1. Velocidad de alteración generalizada de los alimentos en función de la actividad de agua: 1- Oxidación de lípidos, 2- Isoterma de sorción (lectura de las ordenadas del lado izquierdo expresada como materia seca), 3- Pardeamiento no enzimático, 4- Actividad enzimática, 5- Mohos, 6- Levaduras, 7- Bacterias. Las líneas punteadas negras indican cada una de las zonas que se describen en la Tabla 5.2 (adaptado de Torrez Irigoyen, 2013).

Las características de estas regiones se describen en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2. Regiones de Isoterma de sorción

Zona	Humedad (% p/p)	Rango de a_w	Características del agua
I	≈5 %	0-0,25	Agua de monocapa. Es la más difícil de eliminar ya que interactúa fuertemente con los grupos polares. Su presencia ejerce un efecto protector de reacciones oxidativas ya que actúa como barrera.
II		0,25-0,8	Agua de multicapa. Es el agua que se organiza en capas más estructuradas y microcapilares.
III	≈95 %	0,8-1	Agua libre. Se puede encontrar en macrocapilares, es la más abundante y posee propiedades similares a las del agua de una solución diluida

Determinación de humedad en alimentos

En el estudio de los alimentos, la determinación de la humedad es de vital importancia tanto para garantizar su calidad como para comprender su composición y comportamiento durante procesos de producción y almacenamiento. Para llevar a cabo esta tarea, se emplean diversos métodos que se clasifican en tres categorías principales.

Métodos físicos de separación y pérdida de peso

Estos métodos se fundamentan en la separación del agua de los sólidos del alimento y la medición de la pérdida resultante en el peso del producto o la cantidad de agua separada.

Métodos que aprovechan la reactividad química del agua

Estos métodos se basan en una reacción química del agua para determinar su contenido. Ejemplos comunes incluyen la titulación Karl Fischer, que utiliza un reactivo específico para cuantificar la cantidad de agua presente en la muestra.

Métodos basados en propiedades físicas

Este enfoque se basa en la medición de una propiedad física del alimento que varía de manera regular con los cambios en su contenido de humedad. En el presente capítulo describiremos una aplicación de este tipo de análisis utilizando el índice de refracción para la determinación de humedad en miel.

Expresión de resultados

El contenido de agua en los alimentos puede expresarse en base húmeda o en base seca según se requiera.

El contenido de humedad en base húmeda hace referencia a la medida porcentual de agua que contiene una muestra con respecto a su masa total. En forma matemática, este valor se puede calcular de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad base húmeda} = \frac{m_h - m_s}{m_h} \times 100$$

Donde m_h es la masa de la muestra húmeda, y m_s es la masa de la muestra seca (es decir, la masa que corresponde a los sólidos del producto, es decir restada la humedad contenida en la muestra original). Este es la forma más habitual para la expresión de los resultados del contenido de humedad y la que se utilizará en las secciones procedentes a menos que se especifique lo contrario.

Por otro lado, el contenido de humedad en base seca es una medida porcentual que hace referencia a la humedad respecto de su masa seca total, sin considerar el agua. Este valor es muy útil cuando existen procesos de secado en donde el contenido de humedad varía con el tiempo, y es la unidad habitual en las isotermas de sorción como puede verse en la Figura 5.1.

El contenido de humedad en base seca puede expresarse de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad base seca} = \frac{m_h - m_s}{m_s} \times 100$$

Ej. Se pesaron 2,1516 g de un alimento y se sometió a un secado hasta peso constante, obteniéndose 1,7359 g finales de peso seco. El contenido de humedad puede calcularse como

$$\% \text{ Humedad base húmeda} = \frac{2,1516 \text{ g} - 1,7359 \text{ g}}{2,1516 \text{ g}} \times 100 = 19,32 \frac{\text{g de agua}}{100 \text{ g de muestra húmeda}}$$

$$\% \text{ Humedad base seca} = \frac{2,1516 \text{ g} - 1,7359 \text{ g}}{1,7359 \text{ g}} \times 100 = 23,95 \frac{\text{g de agua}}{100 \text{ g de materia seca}}$$

Cabe destacar que en alimentos que contienen un alto contenido de agua, es posible que este porcentaje supere el valor de 100. Por ejemplo, una muestra de leche puede contener un 90 % p/p de agua, por lo que su contenido en base seca quedaría expresado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad base seca} = \frac{100 \text{ g} - 10 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100 = 900 \frac{\text{g de agua}}{100 \text{ g de materia seca}}$$

Métodos de determinación de humedad

Método indirecto de secado en estufa

La determinación de la humedad mediante el uso de altas temperaturas y eventualmente uso complementario de vacío es el método más habitualmente utilizado para la determinación del contenido de agua en un alimento. Sin embargo, este método es solo aplicable en alimentos que no sufran transformaciones durante el secado térmico (termoestables) ya que el desarrollo de reacciones químicas, como la reacción de Maillard pueden llevar a resultados erróneos del contenido de humedad por la liberación de agua (Adrián y col., 2000). Por otro lado, este ensayo considera que el agua es el único componente volátil en el alimento, por lo que de existir una gran proporción de compuestos volátiles en el producto se debe optar por algún otro método como la destilación.

Procedimiento de análisis

En un cristizador de peso conocido, se pesa con exactitud la muestra preparada y se coloca en una estufa hasta que se alcance un peso constante. La temperatura de la estufa puede superar los 100 °C e incluso llegar a los 130°C como es el caso de los cereales (ver Tabla 5.3). Si la muestra está en forma seca, se recomienda triturlarla lo más finamente posible en un mortero o en un molinillo de cuchillas. La cantidad de muestra a pesar se calcula considerando una diferencia de peso final de entre 0,1 y 0,5 g.

Luego se calcula el contenido humedad a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(m_1 - m_0) - (m_2 - m_0)}{m_1 - m_0} \times 100$$

En donde:

- m₀: peso vacío del cristizador o recipiente para contener la muestra
- m₁: peso vacío del cristizador más peso de la muestra antes del proceso de secado
- m₂: peso de m₁ luego del proceso de secado

Variantes: presión reducida, agregado de arena, determinación de humedad en líquidos

Si son muestras pastosas que tienden a formar una capa o costra seca en la parte superior que impide la evaporación de agua desde el interior (extracto de tomates, conserva de carnes, dulce de leche, etc.) se debe mezclar con arena para aumentar la superficie de contacto. Para esto se debe tarar el cristizador con una pequeña cantidad de arena lavada y calcinada y con una varilla de vidrio pequeña (que también ha de tararse conjuntamente con el cristizador y la arena) hacer una pasta con la muestra. En esta forma, dada la división en que se encuentra el producto, el desprendimiento de agua es más rápido y uniforme tal como se observa en la Figura 5.2.



Figura 5.2. Tratamiento con arena realizado a una muestra de queso crema previo al secado en estufa para la determinación de humedad. Fuente: propia

Para la determinación de humedad en líquidos se procede de forma equivalente, pero se coloca la muestra sobre un baño de agua de modo tal que el vapor retire lentamente la mayor parte del agua retenida en la muestra y que la misma adquiera una consistencia siruposa.

Para muestras que sufran algún tipo de modificación al ser tratadas a altas temperaturas se recomienda el uso de estufas de vacío en donde el agua puede ser retirada a menor temperatura, tal como se describe en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3. *Condiciones de secado para diversos productos*

Alimento	Presión	Temperatura recomendada
Productos de mar, lácteos, chocolates, granos	normal / ligeramente reducida	95-100°C
Carnes y derivados	normal	100-102°C
Quesos y cereales	normal	130°C
Frutas deshidratadas, grasas y aceites, productos, granos	< 100 mm Hg	56 °C
productos, azucarados	<50 mm Hg	40 °C

Errores y limitaciones

En la Tabla 5.4 se presenta una lista de los errores comunes que pueden surgir durante la determinación de humedad mediante el método indirecto.

Tabla 5.4. *Tipos de errores de la determinación de humedad mediante el método indirecto*

Tipo de error	Resultado
Retención de agua por adsorción, oclusión o combinación química	Error por defecto
Formación de barreras físicas en productos con alto contenido de azúcares o hidrocoloides	Error por defecto
Sensibilidad de algunos constituyentes a la temperatura como alimentos ricos en azúcares que se descomponen a 70-100°C.	Error por exceso
Reacciones químicas entre los constituyentes (hidrólisis): inversión de sacarosa en alimentos ácidos, hidrólisis de ésteres.	Error por defecto
Presencia de otras sustancias volátiles distintas al agua como alcohol, aceites esenciales o ácidos volátiles	Error por exceso
Oxidación durante el tratamiento térmico de ácidos grasos insaturados, taninos, sustancias fenólicas.	Error por defecto
Absorción de vapor de agua del aire durante la pesada: debido a que los residuos son muy higroscópicos. Estos deben pesarse rápidamente y preferentemente en recipientes cerrados (pesafiltros)	Error por defecto

Método directo por destilación azeotrópica (método de Markuson)

Los métodos de destilación son rápidos y están recomendados para productos que pueden descomponerse con otros métodos que utilicen las altas temperaturas. Este método es el único procedimiento oficialmente reconocido para la determinación del contenido de humedad en especias y uno de los métodos oficiales para granos.

En este método la muestra se destila añadiendo un solvente orgánico. El agua con el solvente forma una mezcla azeotrópica que, tras la condensación, se separa en sus componentes

originales por diferencia de densidad. El agua que fue arrastrada durante el proceso puede ser fácilmente cuantificada mediante un tubo graduado calibrado (trampa).

Procedimiento de análisis

El solvente empleado debe ser inmiscible con el agua, tener un punto de ebullición (PE) superior o $\approx 100^{\circ}\text{C}$, y estar saturado de agua al momento de su uso. Como el tolueno tiene un PE menor que el xileno es preferentemente el primero el que se utiliza (PE de 110°C y 144°C del tolueno y el xileno respectivamente, mientras que los PE de los azeótropos tolueno/agua y xileno/agua son de 84°C y 92°C).

Para la determinación se coloca en el balón la cantidad de muestra necesaria, se agrega el solvente orgánico saturado de agua¹ hasta cubrir la muestra. El balón luego debe ser acoplado a una trampa graduada denominada de Dean-Stark. La trampa se carga con el solvente más 2 o 3 gotas de indicador (Sudán II o Sudán III) y se conecta el refrigerante (ver Figura 5.3). El balón se calienta a ebullición suave por espacio de 2 h. Transcurrido dicho lapso, observar si no destila más agua, dejar enfriar y efectuar la lectura de la capa acuosa contenida en la trampa. Este proceso se facilita por el agregado del indicador que tiñe la fase orgánica destilada y permite

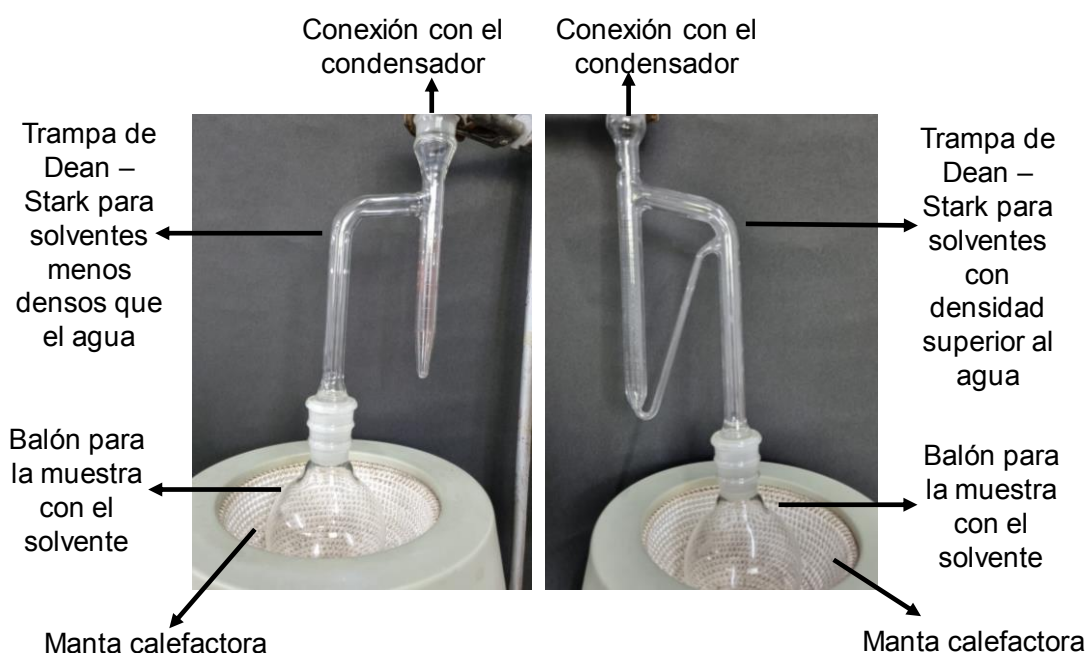


Figura 5.3. Equipo para determinación de humedad por destilación azeotrópica. Se puede observar la trampa de Dean-Stark para solventes menos densos que el agua (izquierda), en este caso sólo el solvente vuelve al balón donde se encuentra la muestra ya que queda por encima del agua. La trampa para solventes más densos que el agua (derecha) posee un brazo lateral que permite al solvente orgánico (que se ubica en la parte inferior de la trampa) volver al balón. Fuente: propia

¹. Debe asegurarse que la capa acuosa del tolueno saturado estará bien decantada y se debe cuidar de no trasvasarla al balón (tomar solo la fracción superior).

visualizar más claramente la fase acuosa para su cuantificación. La trampa de Dean-Stark está diseñada para solventes menos densos que el agua, pero existen otros diseños que permiten el uso de solventes más densos como se puede ver en la Figura 5.3 (derecha).

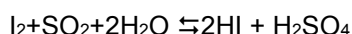
Errores y limitaciones

El método de determinación de humedad por destilación ofrece rapidez en su aplicación, sin embargo, puede estar sujeto a ciertos errores, como la miscibilidad parcial del agua en el solvente de arrastre, la formación de emulsiones que dificultan la recuperación completa del agua, la posibilidad de una remoción incompleta del agua de la muestra, así como la adherencia de gotas de agua al condensador o a la trampa graduada, y en casos extremos, la descomposición de la muestra. Para mitigar estos errores, se pueden aplicar correcciones como la saturación del solvente con agua, el agregado de alcohol amílico o isobutílico para evitar la emulsificación y la adición de una pequeña cantidad de una sustancia volátil, como etanol, para arrastrar el agua adherida al condensador. Estas correcciones contribuyen a garantizar una determinación precisa y confiable del contenido de humedad en la muestra analizada.

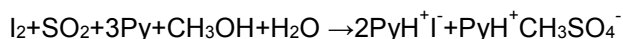
Métodos químicos: Método de Karl-Fischer

El método de Karl-Fischer suele emplearse cuándo la determinación de agua por pérdida de peso o destilación es imprecisa, como suele ocurrir en alimentos muy secos. Este método es muy específico y determina tanto el agua libre como el agua ligada. Además, la determinación dura unos 2-5 minutos y permite medir en un amplio rango de concentraciones.

Esta técnica se basa en la determinación del contenido de agua a partir de la reacción del dióxido de azufre con yodo en presencia de agua de acuerdo a la siguiente ecuación.



Luego, mediante la adición de piridina (Py) (o dietanolamina, menos tóxica) y de metanol la reacción se desplaza hacia el lado de los productos según:



El punto final de la determinación puede detectarse gracias al exceso de yodo que se produce al consumirse toda el agua. El mismo puede determinarse visualmente (viraje de amarillo a marrón-rojizo), de manera fotométrica (determinación de la absorbancia a 525 – 600 nm) o electroquímicamente (utilizando electrodos de platino, el primer pequeño exceso de yodo en la solución produce una caída abrupta del potencial que se registra como una deflexión en el flujo de corriente). Dada la estequiometría de la reacción (1 mol de I_2 requiere 1 mol de H_2O), por tanto, se pueden obtener resultados cuantitativos mediante este ensayo.

Procedimiento de análisis

El reactivo de Karl Fischer preparado por alguno de los métodos existentes, debe estandarizarse antes de cada uso, porque su actividad para la determinación de agua cambia con el tiempo. Esto puede hacerse frente a cantidades conocidas de agua: por ejemplo, una cantidad exactamente pesada (precisión 0,1 mg) de tartrato disódico hidratado ($C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$) o ácido oxálico dihidratado ($((COOH)_2 \cdot 2H_2O)$).

Para pesar la muestra se debe tener en cuenta la cantidad aproximada de agua que contiene la misma, el volumen de la bureta, del título del reactivo y de la exactitud deseada. Una vez introducida la muestra en el aparato (ver Figura 5.4) la misma debe ser suspendida o disuelta en el reactivo de trabajo (dietanolamina/ SO_2) y luego se valora inmediatamente con una solución metanólica de yodo (CH_3OH/ I_2). Paralelamente se debe realizar un blanco en las mismas condiciones que la muestra.

Una vez alcanzado el punto final debe leerse en la bureta el volumen de reactivo utilizado y calcular el contenido de humedad de la muestra cómo (Marano, 2013).

$$\% \text{ Humedad} = \frac{V \times F}{P} \times 100$$

dónde:

V: volumen de reactivo en ml

F: título del reactivo (mg H_2O /ml) obtenido en el ensayo de estandarización

P: peso de muestra en gramos



Figura 5.4. Equipo de Karl-Fischer para determinación de humedad (adaptado de Scancotec Productos, 2024)

Errores y limitaciones

Aquellos compuestos que consumen iodo pueden causar interferencias en la medición, y se recomienda realizar un análisis por separado para realizar una corrección adecuada. La interferencia de los compuestos carbonílicos (aldehídos o cetonas) puede ocurrir debido a la formación de acetales y cetales con el metanol. Por otro lado, los ácidos carboxílicos tienen la capacidad de esterificar con metanol, lo que resulta en la producción de agua.

Determinación de humedad en miel mediante el índice de refracción

El contenido de humedad de la miel es una de sus características más importantes, ya que condiciona su tiempo de conservación y sus cualidades organolépticas. En la Argentina, el Código Alimentario permite un contenido de humedad máximo del 20 % p/p para asegurar un producto de alta calidad y de prolongada vida útil.

Por la alta concentración de azúcares que posee la miel, la misma puede sufrir fuertes modificaciones durante el proceso de secado (caramelización, reacciones de pardeamiento no enzimático) que dificultan su medida. Es por esto que el método más sencillo para estimar su contenido de humedad consiste en determinar su índice de refracción con un refractómetro y posteriormente mediante tablas (ej., Tabla 5.5), calcular el contenido de humedad en la miel. Si bien los valores obtenidos pueden resultar menores que los de Karl Fischer, debido a su simpleza y reproducibilidad esta técnica es ampliamente utilizada (Bogdanov y col., 2002).

Tabla 5.5 *Contenido de humedad vs índice de refracción a 20°C construida a partir de la determinación de humedad de mieles mediante la técnica de secado al vacío. Temperaturas superiores a 20°C: añadir 0,00023 por °C, temperaturas inferiores a 20°C: restar 0,00023.*

Humedad de miel (% p/p)	Índice de refracción a 20°C
13,0	1,5044
13,2	1,5038
13,4	1,5033
13,6	1,5028
13,8	1,5023

Nota. Adaptado de Relationship of water content of honey to refractive index, Bogdanov y col., 2002

Procedimiento de análisis

Con una varilla de vidrio limpia y seca se colocan unas gotas de miel fluida entre los prismas de un refractómetro y se realiza la lectura (Figura 5.5). Luego, a partir de tablas y considerando la temperatura ambiente se relaciona el índice de refracción con la humedad de la miel a 20 °C (IRAM 15931, 1994; Bogdanov y col., 2002).



Figura 5.5. Refractómetro que puede ser utilizado para determinación de humedad en miel (gentileza de M.C. Mouteira, 2024).

Determinación de a_w

La determinación de la a_w en sistemas alimentarios se basa principalmente en principios de psicometría, higrometría, medición del punto de rocío, índice de refracción o evaluación de las constantes dieléctricas (Welti y Vergara, 1997).

Determinación de a_w mediante punto de rocío

En alimentos es habitual determinar la a_w mediante equipos como el AQUALAB (Figura 5.6), que emplea el método de determinación de punto de rocío. La muestra se coloca en un compartimiento especial cerrado, en donde el agua presente se equilibra con el aire en el espacio de cabeza. La cámara sellada contiene un espejo, un sensor óptico, un ventilador y un termómetro infrarrojo. El ventilador interno genera una circulación de aire que reduce el tiempo de equilibrio entre la muestra y el espacio de cabeza. Luego el sensor de temperatura embutido en el espejo mide la temperatura de rocío mientras que el termómetro infrarrojo mide la temperatura de la superficie de la muestra, que está en equilibrio con la temperatura de bulbo seco del aire del espacio de cabeza. Estas dos temperaturas se utilizan para calcular la humedad relativa del aire que, en equilibrio con la muestra, se visualiza como actividad acuosa (Torrez Irigoyen, 2013).

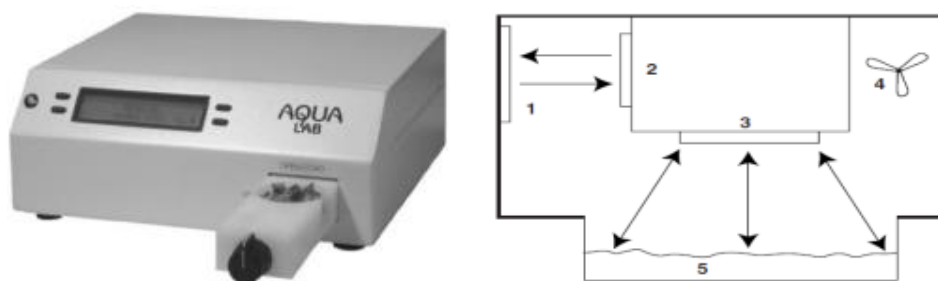


Figura 5.6 Equipo empleado para las determinaciones de a_w y modelo del funcionamiento interno (1-espejo, 2-sensor óptico, 3- termómetro infrarrojo, 4-micro ventilador, 5-porta muestra cargado) (Torrez Irigoyen, 2013)

Procedimiento de análisis

La muestra se debe colocar en el compartimiento que luego se cierra. En el equipo, un sensor de punto de rocío mide la temperatura de rocío del aire en el espacio donde se coloca la muestra, mientras que un termómetro infrarrojo mide la temperatura. Con estos valores el equipo calcula la humedad relativa del aire en equilibrio con la muestra. La medición se logra en aproximadamente 5 minutos y el equipo exhibe los datos de la a_w y la temperatura en un visor digital (Torrez Irigoyen, 2013).

Determinación de a_w mediante el método estático

Este método permite que la muestra alcance el equilibrio con un material de referencia dentro de un desecador durante un tiempo determinado y a una temperatura constante. Luego se determina el contenido de humedad, que se grafica para obtener el valor de a_w (Welti y Vergara, 1997).

Procedimiento de análisis

La muestra se debe colocar en frascos que contengan soluciones saturadas de las sales de referencia con a_w conocida (Tabla 5.6). Luego de lograr el equilibrio se determina la humedad de la muestra y se grafica su pérdida o ganancia de agua en cada uno de los frascos. Posteriormente, estos valores se grafican contra la a_w que tiene cada muestra en el equilibrio y la a_w original de la muestra se estima interpolando en la gráfica el punto en el cual no ocurre cambio de peso (Welti y Vergara, 1997) (Figura 5.7).

Tabla 5.6. Actividad acuosa de las soluciones de sal en función de la temperatura

	a_w a 10°C	a_w a 20°C
NaOH	0,096	0,089
LiCl	0,113	0,113
KC ₂ H ₃ O ₂	0,245	0,234
MgCl ₂	0,34	0,33
K ₂ CO ₃	0,431	0,432
Mg(NO ₃) ₂	0,574	0,544
NaNO ₂	0,654	0,654

Nota. Adaptada de Actividad acuosa de las soluciones de sal en función de la temperatura, de Sciammaro, 2016.

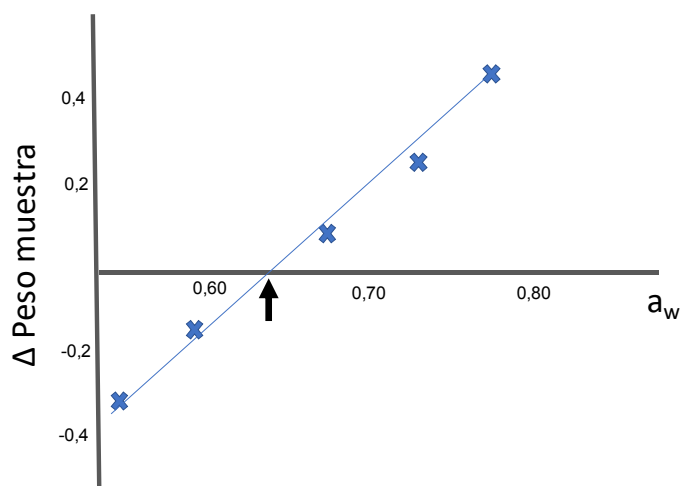


Figura 5.7. Representación esquemática de la gráfica obtenida mediante el método estático. La flecha indica el punto en el que la muestra no gana ni pierde agua ($\Delta \text{Peso} = 0$) y es posible determinar el valor de su a_w original. Fuente: propia

Concepto y determinación del contenido mineral

El contenido de cenizas se refiere al residuo que queda tras la incineración de los componentes orgánicos del alimento. Se considera que este residuo corresponde al contenido en minerales. Este índice permite caracterizar el alimento en cuestión y puede ser utilizado, por ejemplo, para distinguir entre distintos tipos de harina de cereales. (Matissek, 1992). Además, esta metodología es aplicada en la industria para detectar posibles adulteraciones en productos como jaleas, mermeladas y vinagres, así como identificar contaminantes que podrían provenir del envase u otras fuentes externas.

Es importante tener en cuenta que las sustancias presentes en las cenizas no siempre existen en su forma original en el alimento. Durante la incineración las sales de ácidos orgánicos pueden transformarse en carbonatos durante el proceso de combustión. Del mismo modo, los bicarbonatos pueden convertirse en carbonatos, mientras que el azufre orgánico puede oxidarse y transformarse en sulfato. Además, los fosfatos monoácidos y diácidos pueden formar pirofosfatos.

Método de incineración

El alimento se calcina a 550°C en mufla² y se calcula el peso del residuo que corresponde al contenido de minerales.

² En el caso de harinas suele utilizarse temperaturas de 920 °C

Procedimiento de análisis

Pesar la muestra dentro de una cápsula de porcelana previamente calcinada a 500-550°C y enfriada en desecador hasta temperatura ambiente. Para poder estimar la cantidad de muestra a pesar se parte de la suposición de que tras la calcinación se obtendrá una masa del doble de peso respecto del contenido de minerales que figure en el rótulo de un determinado alimento (esto presupone que, en promedio, las sales obtenidas estarán conformadas por pesos similares de cationes y aniones, más allá de mantener una proporción equimolar o no). Sin embargo, el peso inicial de muestra podría verse limitado por el tamaño del crisol, el volumen que ocupe la muestra (según su densidad) y la precisión de la balanza en la que se hagan las pesadas. En principio, se suele considerar una cantidad de muestra tal que tras la incineración permita pesar 0,0100 g de cenizas en balanza analítica.

Si la muestra es sólida, la misma debe ser calentada sobre triángulo de pipas, tela metálica o sobre una resistencia hasta residuo carbonoso. Si, en cambio, la muestra es líquida, se debe evaporar el agua a baño maría. Luego, la muestra debe ser calcinada en mufla a 500-550°C hasta cenizas blancas o de color gris claro y peso constante (1-3 horas). Si las cenizas quedan con trazas de carbón, al enfriarse deben ser humedecidas con un poco de agua destilada o bidestilada (en cápsula fría). Luego con una varilla se deben romper las partículas de carbón y proceder a evaporar la muestra a sequedad antes de volver a calcinar. Este procedimiento debe repetirse tantas veces como sea necesario hasta lograr cenizas uniformes del color deseado y peso constante (Figura 5.8).

Finalmente se deja enfriar el crisol en un desecador y se determina el porcentaje de residuo de incineración (contenido de cenizas) de la siguiente manera.

$$\text{Cenizas (\% p/p)} = \frac{m_2 - m_1}{P} \times 100$$

En donde:

m₁: peso del crisol vacío en g

m₂: peso del crisol con la muestra tras la incineración en g

P: peso de la muestra en g



Figura 5.8. *Determinación de cenizas en una muestra pastosa. Se pueden observar la presencia de partículas carbonosas (puntos negros) luego del primer ciclo de calentamiento. Estos debieron ser dispersados mediante la humectación y el uso de una varilla previo al segundo ciclo de incineración en mufla. Fuente: propia*

Errores y limitaciones

Durante el calentamiento es crucial no superar los 550 - 600°C para evitar la pérdida de halógenos, especialmente cloruros, y el pasaje de carbonato de calcio a óxido. Además, durante la manipulación de la muestra y su calentamiento existe el riesgo de pérdida por proyección y/o ignición, lo que podría conducir a una subestimación del contenido de cenizas. Finalmente, los productos con alto contenido de azúcares pueden experimentar espumado durante la incineración, lo que puede producir proyecciones no deseadas; esto puede evitarse con el agregado de aceites o vaselina

Determinación de cenizas insolubles en ácido

Esta técnica se utiliza para determinar impurezas como arena o tierra que pueden estar adheridas a un alimento. Esto es especialmente importante en productos vegetales y conservas. Para la determinación el residuo obtenido por incineración debe ser tratado con un ácido diluido, luego se filtra la fracción insoluble y la misma es nuevamente incinerada (Matissek, 1992).

Procedimiento de análisis

El residuo obtenido por incineración se debe trasvasar cuantitativamente a un vaso de precipitados con ayuda de una varilla de vidrio. Sobre la muestra se debe agregar 20 ml de HCl

(10 %p/v). Se debe tapar el vaso de precipitados con un vidrio de reloj para luego proceder al calentamiento durante 10 min a ebullición suave.

La disolución obtenida se filtra con un papel libre de cenizas y se lava con agua destilada caliente hasta la total remoción de los cloruros. El filtro se coloca en un crisol de peso conocido, se seca a 105°C y luego se calcina a 500 - 550°C en mufla. El crisol con el residuo insoluble en ácido se enfría y se pesa. Luego se calcula el porcentaje de cenizas ácido-insolubles en el material (Farmacopea.org.mx, 2020)

Errores y limitaciones

Como la arena contaminante en general no está distribuida uniformemente pueden ocurrir desviaciones considerables en los resultados.

Determinación de alcalinidad de cenizas

En muestras como jugos de frutas, la alcalinidad de cenizas representa el contenido de compuestos como carbonatos presentes en el residuo de incineración que se forman por la presencia de citratos, tartratos o malatos. Estos carbonatos tienen reacción alcalina y puede indicar también posibles adulteraciones, los citratos, tartratos y malatos presentes se convierten en carbonatos, lo que aumentará la alcalinidad.

Procedimiento de análisis

Por tratarse de una muestra líquida, la misma debe evaporarse hasta sequedad y luego debe ser incinerada como se describió anteriormente. Las cenizas obtenidas deben ser enfriadas y luego se debe agregar 10-25 ml de ácido sulfúrico de molaridad conocida ($\approx 0,050$ mol/L) sobre el crisol. La muestra se tapa con un vidrio de reloj y se calienta hasta que comience la ebullición. A continuación, el contenido del crisol debe ser trasvasado a un Erlenmeyer en donde se valora frente a NaOH ($\approx 0,100$ mol/L) con indicador rojo de metilo/azul de metileno. La alcalinidad total de cenizas se expresa finalmente como mmol de NaOH por litro de muestra.

Determinación cuantitativa de minerales por espectroscopia de absorción atómica

En muchos casos resulta de utilidad no solo la determinación total de los componentes minerales presentes en una muestra, sino que también es necesario cuantificar particularmente cada uno. Para esto es posible utilizar equipos específicos que miden la absorción de la energía radiante por parte de los átomos. Este es el fundamento de la espectroscopia por absorción atómica, que es muy utilizado para el análisis de aguas, el análisis de suelos y el análisis de

alimentos (ej. Cd en chocolate; Sn en enlatados; Fe, B; Cu, Zn en vinos; Cu, Pb, Zn, Sn y As en productos cárnicos; Zn, Cu, Cd, Cr, Fe, Ni, Pb, As y Hg en peces y mariscos, etc.) (Byrne, 2021).

Procedimiento de análisis

Las cenizas obtenidas luego de la mineralización en mufla a 550 °C se disuelven en ácido nítrico y se enrasan a volumen específico determinado. Las muestras son luego llevadas a un espectrofotómetro de absorción atómica en donde se produce la atomización, proceso por el cual una muestra en solución se dispersa (nebuliza) y se mezcla con el combustible gaseoso y el oxidante para arrastrarla al mechero. Allí el solvente se evapora mientras que las partículas sólidas finamente divididas que resultan, son arrastradas a la región central de la llama en donde se forman finalmente átomos gaseosos. Una vez atomizada la muestra, los átomos del analito son irradiados a la λ que corresponde a su pico de absorción y pasan a un estado excitado. Lo que se mide es la energía de la fuente que no fue absorbida, la señal atraviesa un monocromador que selecciona la señal de interés, y posteriormente un detector (Matissek y col., 1992; Byrne, 2021). En la Figura 5.9 puede observarse un esquema general de este tipo de equipos.

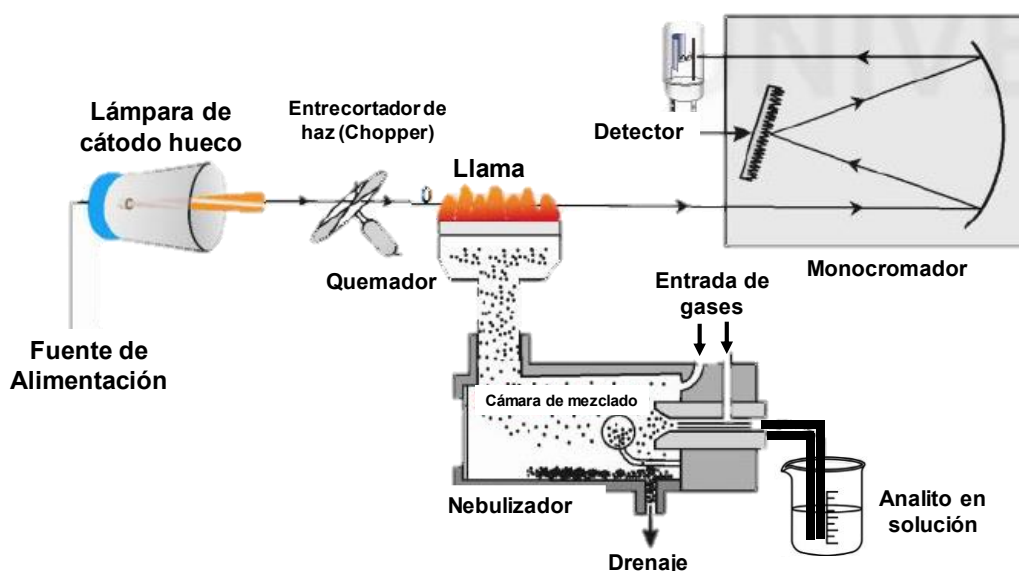


Figura 5.9 Esquema de equipo de espectrometría de absorción atómica (adaptado de Byrne, 2021)

Una vez obtenidos los datos, la relación entre la absorbancia medida (A) y la concentración (C en ppm) del analito en la muestra viene dada por:

$$A = K \cdot C$$

En donde K es una función de concentración. Paralelamente se realizan curvas de calibración para obtener el gráfico de A vs. C de donde puede ser interpolado el valor de la concentración para la muestra a partir de la absorbancia obtenida para la misma

Referencias bibliográficas

- Adrian J., Potus J, Poiffait A. y Dauvillier P. (2000). *Análisis nutricional de los alimentos*, Editorial Acribia S.A.
- Badui Regal S (2006). *Química de los Alimentos*, Editorial Pearson
- Bogdanov, S., Martin, P. y Lullmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, Volumen. 5* (número 1), 1-62.
- Byrne C. E. (2021). *Trabajo práctico N° 8: Espectroscopía atómica*. Universidad Nacional de La Plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/120231>
- CAA (2023). Capítulo X: Alimentos Azucarados. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_x_azucaradosactualiz_2023-05_1.pdf
- Fennema, O. (2010). *Química de los Alimentos*, Editorial Acribia.
- Farmacopea.org.mx (2020). Recuperado el 1° de Abril 2024 <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/926.pdf>
- IRAM, 15931 (1994). Miel. Determinación de la humedad.
- Marano, C.G. (2013). Capítulo 8: Determinación de agua. En M.G. Volonté y P. Quiroga (Cord.) *Libro de cátedra Análisis farmacéutico* (pp 186-199). Editorial Universidad Nacional de La Plata.
- Matissek, R., Schnepel, F.M. y Steiner, G. (1992). *Análisis de los alimentos*, Editorial Acribia.
- Scanotec products (2024) Recuperado el 1° de Abril 2024. <https://scancotec.com/productos/kf-titrino-plus/>
- Sciammaro L. (2015). *Caracterización fisicoquímica de vainas y harinas de algarrobo (Prosopis alba y Prosopis nigra). Aplicaciones en productos horneados y fermentados*. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata
- Torrez Irigoyen, R. M (2013). *Diseño de un proceso térmico de fluidización para la producción de soja crocante* Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata
- Welti J. y Vergara F. (1997). Capítulo 1 Actividad de Agua. Concepto y aplicación en alimentos con alto contenido de humedad. En J.M. Aguilera (Ed), *Temas de Tecnología de Alimentos*. (pp 11-44). Editorial CYTED.

CAPÍTULO 6

Principales métodos para el análisis de carbohidratos

Facundo Massolo

Alcances del capítulo

En este capítulo se describirán los fundamentos de los principales métodos de análisis de carbohidratos asimilables (glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa, almidón entre otros), la clasificación de los métodos según las propiedades fisicoquímicas del hidrato de carbono en estudio, etapas principales del análisis, así como las limitaciones y ventajas de cada método.

Breve introducción

Los hidratos de carbono son moléculas polihidroxiladas, ya sean polihidroxi aldehídos o polihidroxiketonas, que pueden incluir grupos carboxilo o amino (McMurry, 2017). Estos cumplen importantes roles en los seres vivos, tales como de reserva energética, conformación de estructuras asociadas a membranas celulares (vegetales), carácter de receptor o molécula señal (glicolípidos y glicoproteínas). Además, se trata de las moléculas orgánicas más frecuentes en la naturaleza y más consumidas por el ser humano, puede ir su ración del 50 al 80 por ciento de la ingesta diaria dependiendo de la dieta, cultura, costumbres, etc (Badui Dergal, 2006). La cuantificación de hidratos de carbono y/o su discriminación resulta indispensable al pensar en la composición nutricional de un alimento. Cuando hablamos de aporte energético, estas moléculas representan nada más y nada menos que los macrocomponentes que debemos incorporar en mayor proporción en una dieta estándar. Por otro lado, la ingesta de hidratos de carbono puede ser limitada o restringida en casos en los que estos estén asociados a enfermedades como en el caso de la diabetes, la obesidad, la intolerancia a la lactosa, etc (McClemens, 2007). Por todo ello, es importante conocer el tipo y contenido de carbohidratos que contiene un alimento. *En esta sección se presentarán distintos protocolos para el análisis de hidratos de carbono, acordes y adaptados a ejemplos de muestras reales.*

Métodos físicos

Microscopía óptica

El almidón es el glúcido de reserva de la mayoría de los vegetales y se encuentra presente en una gran cantidad de alimentos. Químicamente se trata de una mezcla de dos polisacáridos, la amilosa y la amilopectina; la amilosa es una molécula lineal de D-glucopiranosas, con uniones α -(1,4) que puede adoptar una conformación helicoidal. La amilopectina posee uniones tanto α -(1,4) como α -(1,6) y debido a estas últimas tiene ramificaciones (que aparecen cada 15-25 unidades de glucosa lineales). Los gránulos de almidón son cuerpos birrefringentes (tienen dos índices de refracción), por lo que cuando se irradian con luz polarizada desarrollan la típica “cruz de Malta”; ya que dentro de estos se localizan zonas cristalinas de moléculas de amilosa ordenadas, así como zonas amorfas causadas principalmente por la amilopectina. Dado que cada especie botánica tiene gránulos de cierto tamaño, morfología y ubicación del hilio o núcleo desde donde se originan los anillos concéntricos de crecimiento del gránulo, la microscopía sirve para identificarlas. Con luz polarizada se puede apreciar la birrefringencia del gránulo y la localización del hilio. Esta propiedad, al igual que la presencia de picos en un espectro de rayos X, se pierde cuando los gránulos gelatinizan. La microscopía óptica permite observar gránulos de almidón en estado nativo, dañado o gelatinizado.

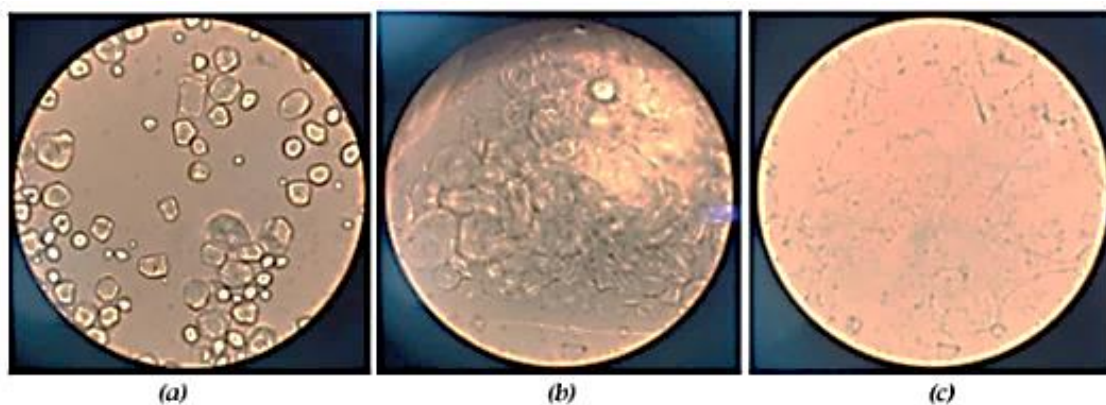


Figura 6.1. Microscopía óptica de suspensiones de harina de maíz 1,5% p/v, donde se observan gránulos de almidón en muestras sin calentar (a), calentada por 2 minutos (b) y por 10 minutos (c). Aumento 100 X. Fotografía: Gervasio, Litt & Pucciarelli (2021).

Polarimetría

Esta tecnología es capaz de cuantificar diferenciadamente azúcares dentro de mezclas, bajo condiciones de trabajo específicas. Esto se fundamenta en el principio de que los azúcares

desvían el plano de la luz polarizada en cierto grado dependiendo de su naturaleza y concentración, el tipo de luz que emita la fuente del polarímetro y la temperatura de trabajo. Como puntos a considerar, además de requerir trabajar en un rango de concentraciones determinado (10 a 15 % p/v), debe tenerse en cuenta la temperatura de medición para poder correlacionar con parámetros de bibliografía.

$$P = \rho_1 C_1 + \rho_2 C_2$$

$$C_{\text{total}} = C_1 + C_2$$

Donde P es la lectura polarimétrica realizada, ρ_1 y ρ_2 son los coeficientes polarimétricos, para una dada longitud de onda y temperatura y C_{total} la concentración total determinada o conocida en g 100 mL⁻¹ (o % p/v). Se despejan entonces C_1 y C_2 , es decir la concentración del azúcar 1 y la del 2.

Cabe mencionar que las ecuaciones han sido simplificadas a una mezcla de dos azúcares, pero podrá haber tantas ecuaciones como variables a despejar.

Índice de refracción

Este índice se determina rápida y sencillamente utilizando un refractómetro. Debe considerarse que el índice de refracción varía con la temperatura y la longitud de onda, por lo que las mediciones se realizan normalmente a una dada temperatura (20 °C) y a una longitud de onda específica (pudiendo variar entre 450 y 1100 nm). Los resultados se expresan en °Brix, que equivalen a una concentración de 1% p/p de sacarosa.



Figura 6.2. Refractómetro óptico. Se coloca una gota de muestra en el extremo izquierdo, se baja la tapa y se lee desde el extremo derecho el valor numérico en una escala graduada.

Fotografía: propia.

Densidad

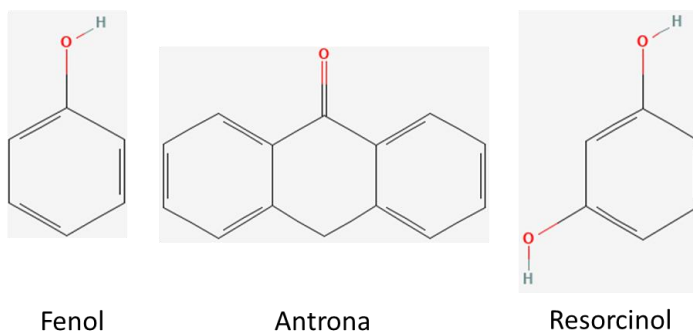
La concentración de carbohidratos puros disueltos en un medio dado, usualmente en agua, y a una determinada temperatura puede determinarse utilizando densímetros o picnómetros y comparando con tablas de referencia para la conversión a unidades de concentración.

Métodos químicos: *colorimétricos*

Métodos basados en la interacción cromóforo-cromógeno

Un cromóforo es la parte de una molécula (por ejemplo, grupos orgánicos no saturados) responsable de la absorción de radiación UV o visible, por lo que puede tener color propio. Los cromógenos son las sustancias que se generan a partir de la deshidratación de los hidratos de carbono de la muestra en medio ácido y bajo ebullición, y los cromóforos son sustancias específicas que se agregan para que condensen con los primeros y se obtenga un determinado producto de color cuantificable en un espectrofotómetro. Para cada caso deberá construirse una curva de calibración que contemple la respuesta de una sustancia patrón de concentración conocida y a su vez contemplarse la lectura de un blanco de reactivos solos (sin la muestra).

CROMÓFOROS



CROMÓGENOS

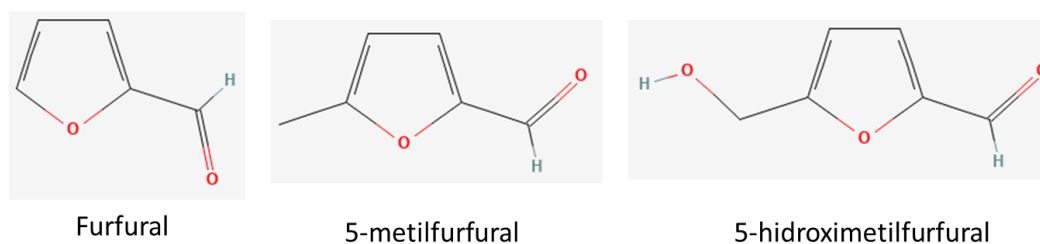


Figura 6.3. Ejemplos de cromóforos (arriba) y cromógenos (abajo), sustancias que condensan para dar coloración.



Figura 6.4. Espectrofotómetro UV-visible (Thermo, Helios). Se fija la absorbancia (a derecha) y esta se lee una vez levantando la tapa, colocando la/s cubeta/s y bajando la tapa (a izquierda).

Fotografía: propia.

~Método de Dubois (espectrofotométrico)

También conocido como Método del fenol-sulfúrico. A diferencia del método anterior, este permite determinar el contenido de azúcares totales (ensayo cuantitativo). Plantea también un tratamiento de la muestra en medio ácido (sulfúrico) concentrado y a ebullición, para la generación de furfurales que condensan con un cromóforo (fenol) para dar, en este caso, un compuesto de coloración amarillo-anaranjado que tiene un máximo de absorción de 480 – 490 nm. Como desventaja, requiere trabajar en condiciones de higiene extrema ya que es muy factible que cualquier traza aparentemente imperceptible sea una interferencia para la coloración final del producto. A su vez, si no hay una previa separación o distinción de los HC del sistema a analizar, sólo permite cuantificar HC totales. Como ventaja, este método tiene una muy alta sensibilidad (0,005-0,050 mg/ml).

~Método de la antrona (espectrofotométrico)

Esta metodología también permite determinar la cantidad total de hidratos de carbono de una muestra, y está basada, a su vez, en una condensación entre furfurales y una sustancia aromática que posee un grupo alcohol, en este caso, la antrona. El medio de reacción es similar al utilizado en el método de Dubois (ácido sulfúrico concentrado, a ebullición). En este caso, el producto de condensación es de coloración verde amarillenta a verde intenso y su absorbancia se registra a los 620 nm. Aunque esta metodología comparte las desventajas de la técnica anterior, posee también una muy alta sensibilidad (0,025-0,200 mg/ml).



Figura 6.5. Colores típicos observados en la cuantificación de azúcares totales por el método de antrona: 1) ausencia de azúcares (amarillo pálido), 2) presencia de azúcares dentro de la recta de calibración (verde característico) y 3) presencia de azúcares en exceso. El medio ácido fuerte deshidrata los azúcares que a 100 °C se ciclan y forman furfurales los cuales condensan con la antrona generando un complejo de color verde que absorbe a 620 nm.

Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

~Método basado en la prueba de Seliwanoff (espectrofotométrico)

Se trata de un ensayo cualitativo que permite identificar la presencia de cetosas en una muestra (por ejemplo, la fructosa). Esta prueba se basa en el tratamiento de la muestra en medio ácido de alta concentración (ácido clorhídrico) y a ebullición, en la que hay hidrólisis, deshidratación de azúcares y generación de furfurales (cromógenos), los cuales condensan con resorcinol (cromóforo) para dar un complejo de coloración rojiza. Es importante mencionar que en esta metodología se aprovecha el principio de que las cetosas reaccionan más rápidamente que las aldosas y, por ello que la presencia de las primeras se distingue en los minutos iniciales (Besir y col., 2021).

Métodos basados en la reducción de Cu^{2+} en medio alcalino

Existen al menos cinco variantes de métodos de determinación de hidratos de carbono que se basan en esta reacción, que, para el caso de los carbohidratos, ocurre en presencia de azúcares reductores. Es importante mencionar que los azúcares de la muestra original pueden ser directamente reductores o, en el caso de las cetosas, adquirir un grupo hemi-acetálico libre mediante equilibrios cetó-enólicos en medio alcalino facilitado por calentamiento. Durante dicho equilibrio se generan muchas especies químicas, derivadas de los azúcares iniciales, que coexisten y que se oxidan, rompiéndose el doble enlace de la especie enediol, con ruptura molecular. Por otro lado, en el caso de disacáridos no reductores o de polisacáridos, se debe realizar una hidrólisis ácida débil o fuerte, respectivamente, neutralizar y luego trabajar bajo alcalinidad para que sus monómeros adquieran carácter reductor. La reacción es no estequiométrica dado que se obtienen diversos productos dependiendo de las condiciones de reacción, por eso es necesario estandarizar rigurosamente dichas condiciones para lograr reproducibilidad y para poder relacionar el resultado obtenido con la muestra frente a un patrón

o referencia conocida. Para la determinación volumétrica, se agrega solución de carbohidratos (patrón o muestra) gota a gota desde bureta sobre un erlenmeyer conteniendo una cantidad conocida de solución de sulfato de cobre en medio alcalino bajo ebullición, facilitada por plato poroso, en presencia o ausencia de azul de metileno como indicador final de óxido-reducción y, dependiendo del método empleado, de reactivos adicionales. Los azúcares reductores reaccionan con el sulfato de cobre presente en el erlenmeyer generando un cambio observable (punto final), ya sea generando un precipitado o mediante un brusco cambio de color (medición volumétrica/titrimétrica). Es importante mencionar que estos protocolos requieren condiciones estrictas de manipulación (temperatura, concentraciones, velocidad de goteo y agitación) y que existen posibles interferentes que debieran eliminarse, ya sea otras moléculas con carácter reductor o metales bivalentes que puedan interferir con el Cu^{2+} . Es necesario también eliminar las proteínas de la solución ya que el Cu^{2+} puede complejarse con enlaces peptídicos de la proteína (es el fundamento de la reacción de Biuret para cuantificar proteínas) resultando así una sustracción del cobre y un error en la determinación. Las proteínas deben ser eliminadas por defecación con subacetato de plomo. El exceso de defecante a su vez se elimina con sulfato de sodio.

A continuación, se presenta el fundamento de cinco métodos basados en la reacción del cobre en medio alcalino y la forma de visualizar el punto final de cada uno.

~Método de Munson and Walker (*gravimétrico o titrimétrico*):

En este, una solución de azúcar se calienta con una cantidad en exceso de reactivo de sulfato de cobre en medio alcalino y el cobre reducido, precipitado en su totalidad como Cu_2O en el punto final, se pesa o se determina titulando con KMnO_4 . La cantidad de óxido cuproso obtenida se relaciona con el contenido de glúcidos a través de tablas obtenidas aplicando la metodología a distintas cantidades de glúcido de referencia.

~Método de Somogyi – Shaffer (*titrimétrico*):

Este se basa en la re-oxidación del Cu^{1+} (obtenido por reducción del Cu^{2+} con el azúcar reductor) utilizando I_2 en exceso y titulado equivalente a equivalente el excedente con $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$. La cantidad de iodo que re-oxidó el Cu^{1+} se calcula restando el excedente al total de I_2 titulado con $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ y se relaciona el resultado con la cantidad de glúcidos a través de tablas.

~Método de Somogyi – Nelson (*SN, espectrofotométrico*)

Este método consiste de 2 etapas: 1) formación de Cu_2O y 2) redisolución del mismo. En la primera etapa los azúcares reductores reducen en medio alcalino al Cu^{2+} a Cu^{1+} ($\text{Cu}_2\text{O}_{(s)}$). En la segunda etapa el arseno molibdato reoxida el Cu^{1+} a Cu^{2+} , obteniéndose el azul de molibdeno de color característico, detectable a 520 nm. Este método posee muy alta sensibilidad, apenas inferior a la del método de antrona (0,050-0,500 mg/ml). Como desventaja, requiere una espera de aproximadamente una hora y las condiciones de calentamiento deben ser rigurosas entre la muestra y la curva de calibración, de modo que deben realizarse en simultáneo sin excepción.



Figura 6.6. *Tubos de ensayo mostrando el color del producto obtenido por el método de SN (azul de molibdeno), cuya intensidad es proporcional a la cantidad de azúcares reductores.*

Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

~Método de Lane-Eynon (*titrimétrico*)

En esta variante, se utiliza un indicador redox como el azul de metileno. Una vez que todo el sulfato de cobre en solución ha reaccionado, cualquier cantidad adicional de azúcares reductores hace que el indicador cambie de azul (forma oxidada) a incoloro (forma reducida). Se registra el volumen de solución de azúcar requerido para alcanzar el punto final. En esta técnica si bien el Cu^{1+} precipita como Cu_2O , la cuantificación de carbohidratos no es gravimétrica sino volumétrica (volumen de titulante). Para ello, es necesario contrastar con una serie de soluciones estándar de un carbohidrato de concentración conocida llevando a cabo la volumetría en las mismas condiciones que con la muestra.

~Método de Fehling - Causse - Bonnans (FCB) (*titrimétrico*):

Al igual que el método de Lane-Eynon, éste determina azúcares reductores. La diferencia es que se agrega ferrocianuro de potasio para complejar al Cu^{1+} , generando ferrocianuro de cobre (de color amarillo pálido), el cual puede apreciarse en el punto final tras la decoloración del azul de metileno. Si bien las técnicas previamente mencionadas tendrían la facultad para cuantificar azúcares de diferente naturaleza, el método de FCB es más conocido y utilizado para ello. Éste permite discriminar a) azúcares directamente reductores, b) azúcares reductores previa hidrólisis ácida y c) polisacáridos como almidón. Vale mencionar que no logra discernir entre distintos azúcares dentro de ninguno de los tres grupos.

El método FCB detecta azúcares reductores, es decir, aquellos que tengan el grupo carbonilo del carbono anomérico intacto, o, dicho de otro modo, poseen un grupo $-\text{OH}$ hemiacetalico libre. Es importante mencionar que en esta técnica el medio de reacción es fuertemente alcalino y en caliente, para facilitar el equilibrio ceto-enólico y lograr así que cetosas, como por ejemplo la fructosa, se tautomerice a glucosa, adquiriendo así carácter reductor. Por otro lado, la técnica también puede utilizarse para otro tipo de azúcares que no son reductores de por sí por tener sus grupos reductores ocupados formando parte de una unión glucosídica, ya sea en un dímero como la sacarosa o en un polímero como el almidón. Para hacer que estos sean reductores, deben romperse los enlaces que los comprometen. Para el caso de la sacarosa, con una

hidrólisis ácida débil será suficiente (baja concentración de HCl, a baño María 30 min), mientras que para el almidón las condiciones deben ser más drásticas (alta concentración de HCl, a reflujo 2 h). Luego, es necesario neutralizar, llevar a volumen y filtrar.

Por otro lado, al momento de preparar la muestra (Figura 6.7), así como para las hidrólisis mencionadas, debe considerarse si hay presencia de proteínas ya que debido a la reacción de Biuret por la presencia de Cu^{2+} en el reactivo de FCB, pasarían a ser una interferencia. Para eliminarlas se hace una defecación con subacetato de plomo (y eliminación del exceso de subacetato con Na_2SO_4), se lleva a volumen con agua en matraz aforado, se deja decantar y se filtra en papel. En el caso de muestras que tienen pre-tratamiento de hidrólisis fuerte la defecación no será necesaria ya que serán hidrolizadas por el medio ácido, aunque sí se hará filtración para asegurar que no haya ningún resto sólido.

Una vez que la muestra fue preparada, es decir, convertida en solución de azúcares reductores, se puede hacer la titulación. Los azúcares reductores reducen al Cu^{2+} (oxidante) que se encuentra inicialmente como tartrato de cobre soluble. De esta forma se genera Cu^{1+} , soluble en dichas condiciones como ferrocianuro de cobre. Cuando ya no queda Cu^{2+} por reducir, el glúcido reducirá el indicador redox azul de metileno (de coloración azul en su forma oxidada), generándose su forma reducida, incolora. Para realizar la volumetría, la solución de azúcares reductores (así sean la muestra o el patrón) se coloca en una bureta y se hace gotear sobre un erlenmeyer que contiene el reactivo de FCB (azul) en ebullición. Al notar una decoloración del color inicial, se agregan unas gotas de azul de metileno para lograr un azul oscuro (mucho más intenso que el del reactivo de FCB) que no varíe su color salvo cuando desaparece bruscamente en el punto final y se logra percibir el color amarillo claro del ferrocianuro de cobre.

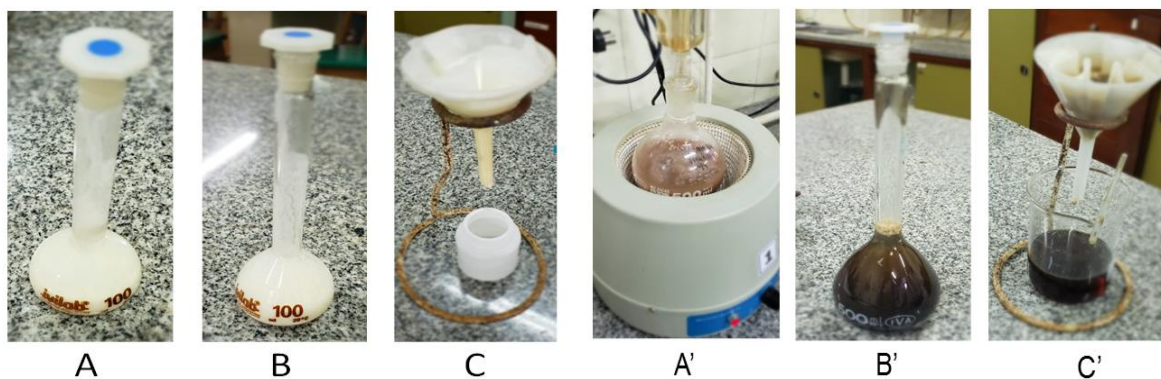


Figura 6.7. Preparación de una solución de muestra con un contenido de azúcares reductores aproximado de 0,5% p/v: disolución acuosa seguida de A) defecación, B) decantación y C) filtración para azúcares directamente reductores (izquierda); Preparación de una solución de muestra para determinar hidratos de carbono totales: agregado de H_2SO_4 (c) seguido de A') hidrólisis a reflujo con manta calefactora, B') enrase luego de neutralizar y c') filtración para azúcares totales (derecha). Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Debido al equilibrio ceto-enólico, el método es no estequiométrico y, por lo tanto, para poder correlacionar las medidas con tenores reales de hidratos de carbono, además de contrastar

contra el patrón de concentración conocida (usualmente glucosa 0,5% p/v) es necesario mantener las condiciones de operación de forma muy rigurosa. Esto se logra manteniendo fijas tantas variables como sea posible: temperatura y agitación (ebullición), velocidad de goteo, cantidad fija de reactivo FCB (pipeta de doble aforo). En la siguiente fotografía (Figura 6.8) se observa un instante de la titulación sobre la muestra que fue preparada previamente para la cuantificación de sus hidratos de carbono. En la Figura 6.9 se observa la secuencia de cambio de color.



Figura 6.8. Cuantificación de azúcares reductores a partir del método de FCB: etapa de titulación. En este ejemplo se agregó a la bureta la glucosa patrón (frasco plástico). En el Erlenmeyer puede observarse el color inicial del reactivo de FCB (azul claro), que además contiene plato poroso. A derecha se encuentra el gotero conteniendo al azul de metileno (indicador redox), de color más intenso que el reactivo. El Cu^{2+} del reactivo de FCB es reducido por los azúcares agregados desde bureta. El indicador facilita la visualización del punto final.

Gasto esperado de patrón (p) y de muestra (m) en bureta: $V_p = 5$ a 6 mL, $V_m = 3$ a 8 mL.

Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

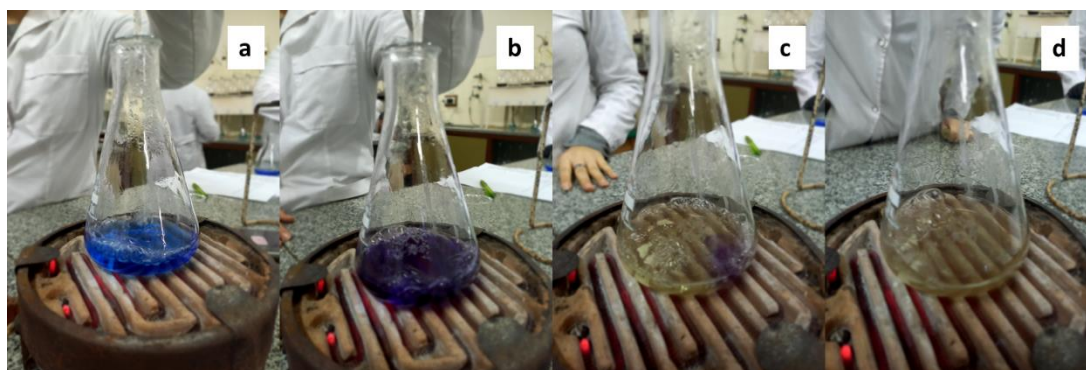


Figura 6.9. Secuencia de cambio de color de la solución de Cu^{2+} . a) Antes del agregado de indicador, b) después de agregado de indicador, c) inicio de la decoloración de azul de metileno, d) decoloración total del azul de metileno y visibilización del color del ferrocianuro cuproso (punto final). Fotografía: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Complementación entre tecnologías físicas y químicas

Cuando la muestra lo requiere, las metodologías de análisis pueden ser complementarias, por ejemplo, para una mezcla de azúcares simples podría ser de utilidad realizar una lectura polarimétrica y contrastarla con el método de Somogyi Nelson (con o sin hidrólisis ácida previa) o alguna de las técnicas de interacción cromóforo-cromógeno previamente citadas. Otro caso sería analizar una muestra que contenga un único polisacárido (ej.: almidón) mediante el método de FCB, realizando previamente una hidrólisis fuerte, y comparar los resultados con alguno de los métodos de interacción cromóforo-cromógeno ya que estos también incluyen una etapa de hidrólisis de los polisacáridos (ej.: método de la antrona). Por otro lado, es posible estudiar una mezcla de azúcares simples (reductores o no) con algún polisacárido, utilizando hidrólisis de azúcares (parcial o completa) en medio ácido en caliente como lo indica el método de FCB y luego contrastar el contenido de HC totales mediante polarimetría, antrona, fenol-sulfúrico, o combinarlos para obtener distinta información. Es importante mencionar que la polarimetría es capaz de cuantificar el contenido de azúcares simples, sean reductores o no, y distinguirlos en una mezcla, mientras que con el resto de las técnicas vistas hasta aquí no, salvo con el método FCB para combinaciones de un azúcar que es directamente reductor con otro que no lo es. Por otro lado, tanto el método de antrona como el del fenol-sulfúrico, a diferencia del resto de las metodologías, no requieren de una precipitación (defecación) de proteínas ya que el protocolo incluye una digestión de la muestra en condiciones ácidas oxidantes y bajo ebullición.

Métodos enzimáticos

Estos se basan en la utilización de kits que contienen enzimas y sustratos específicos para reacciones líticas puntuales que permiten detectar y cuantificar algún hidrato de carbono específico (generalmente mono o disacáridos), ya sea aislados o dentro de una mezcla de ellos. Algunos ejemplos son los que utilizan glucosa oxidasa, invertasa (o sacarasa), glucosidasas (α o β), y galactosa deshidrogenasa.

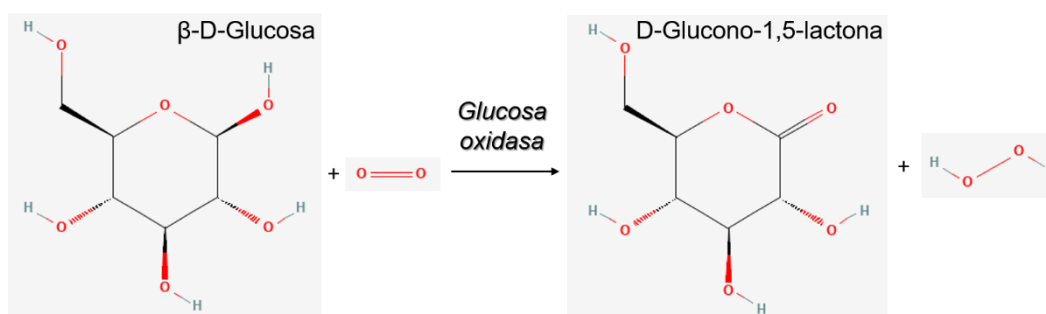


Figura 6.10. Ejemplo de reacción enzimática para el dosaje de azúcares (glucosa oxidasa).

Métodos fisicoquímicos

Por último, dentro de estos métodos se encuentran los cromatográficos, que permiten determinar hidratos de carbono, ya sea de forma separada como en mezclas complejas. Los métodos electroforéticos básicamente mantienen el principio de separación, donde moléculas cargadas corren diferencialmente dependiendo de su carga, aunque pueden basarse en arreglos distintos dependiendo de la fase estacionaria, del solvente de corrida, de la diferencia de potencial aplicado, entre otras variables. Con respecto a las técnicas cromatográficas, estas pueden estar basadas en diferentes principios de separación: en papel, de adsorción líquido-sólido, de partición, de intercambio iónico, de exclusión molecular, de afinidad, y de par iónico (Skoog y col., 2008). Con estas técnicas se pueden separar e identificar hidratos de carbono en una mezcla de ellos.

Cromatografía en capa fina (TLC)

Esta técnica utiliza una fina capa de material adsorbente, ya sea sílice u óxido de aluminio. Sobre un extremo de la placa se siembra la muestra, se coloca de forma vertical en una cámara cerrada con una fase móvil (solvente orgánico). Después de un tiempo, el solvente se mueve hacia arriba por capilaridad, arrastrando a los analitos diferencialmente, según su afinidad por éste y por la fase estacionaria. En otras palabras, la separación se da porque existe competencia por el analito entre los sitios iónicos activos de la sílice y el agua. Una vez que el frente del solvente ha llegado al borde superior de la placa, se retira la misma de la cámara y se seca. Después de ser revelada, los componentes separados aparecen como manchas en la placa, y se evalúa el factor de retención (RF) de cada componente, que representa la distancia recorrida por el analito relativa al inicio respecto a la distancia recorrida por el solvente (Skoog y col., 2014).

Cromatografía en papel (CP)

La separación está dada por el reparto de la sustancia entre la fase estacionaria acuosa retenida por las fibras de celulosa del papel (el papel hace de soporte) y el solvente de corrida (fase móvil). La mezcla de azúcares correrá de acuerdo a su solubilidad relativa entre ambas fases. Las más afines al solvente sólo se desplazarán con éste; las que tengan mayor afinidad con el soporte permanecerán en el punto de siembra o más cerca del mismo. Es uno de los métodos más sencillos y versátiles debido a su bajo costo, simplicidad, tiempo, alta sensibilidad y buena reproducibilidad. La principal diferencia principal entre con la TLC y la CP radica en el principio de separación ya que en este último caso entre las 2 fases líquidas. Además, la CP ofrece tanto modalidad ascendente como descendente (Skoog y col., 2014).

Modalidad ascendente: El papel se sumerge en el solvente en la parte inferior, de modo que las muestras sembradas queden por encima del solvente.

Modalidad descendente: Para que el movimiento sea hacia abajo, el depósito de solvente debe estar en la parte superior del papel. En este caso, la única diferencia respecto de la modalidad

ascendente es que el movimiento del solvente está gobernado por la resultante entre la fuerza de capilaridad y la de la gravedad.

Cromatografía líquida de alta eficacia o de alta presión (HPLC)

En este tipo de cromatografía, la fase móvil, en estado líquido, se utiliza para que la muestra, sea arrastrada a lo largo de una columna determinada, donde la fase estacionaria determinará qué tipo de interacción está involucrada, y de esta forma lograr una separación de sus analitos. Desde su descubrimiento, esta técnica ha sido y se ha transformado en una herramienta poderosísima a nivel de análisis de laboratorio. Esto se debe a diferentes factores, como a su amplia versatilidad, sensibilidad, capacidad de automatización y alta aplicabilidad. Puede utilizarse para la separación, identificación y cuantificación de un gran número de sustancias conocidas, que incluyen además de carbohidratos, proteínas y aminoácidos, ácidos nucleicos, fármacos, hidrocarburos, antibióticos, esteroides, terpenoides, plaguicidas, especies organometálicas, gran variedad de sustancias inorgánicas, entre éstas, sustancias volátiles y no volátiles. Teniendo en cuenta estas características, esta metodología incluye diferentes modalidades o clasificaciones: (1) cromatografía de reparto o de líquido-líquido; (2) cromatografía de adsorción de líquido-sólido; (3) cromatografías iónicas (de intercambio iónico y de par iónico) (4) cromatografía de exclusión molecular; (5) cromatografía de afinidad y (6) cromatografía quiral (Skoog y col., 2018).

(1) Cromatografía de partición (líquido-líquido)

Es el tipo de HPLC más utilizado en donde la fase estacionaria es un segundo líquido, que es inmisible con la fase móvil. La cromatografía de partición se puede subdividir en cromatografía líquido-líquido (CLL) y cromatografía en fase líquida o ligada. La diferencia entre las dos radica en la forma en que la fase estacionaria se mantiene unida al soporte del empaque. En la CLL el líquido se mantiene unido físicamente (por adsorción), mientras que en la cromatografía en fase ligada se une químicamente. Si bien las primeras cromatografías de partición eran exclusivamente líquido-líquido, en la actualidad predominan las de fase ligada debido a su mayor estabilidad y compatibilidad con la elución en gradiente (las CLL han quedado relegadas sólo a aplicaciones especiales como por ejemplo para separar glicósidos de triterpenos).

(2) Cromatografía de adsorción (líquido-sólido)

La cromatografía de adsorción, o líquido-sólido es la clásica forma de cromatografía líquida (CL). En muchas separaciones de fase normal, los procesos de adsorción-desplazamiento gobiernan la retención. Las únicas fases estacionarias que se utilizan para esta técnica son la sílice y la alúmina finamente divididas. Si bien las características de adsorción de ambas son equivalentes entre sí y con ellas los tiempos de retención se alargan a medida que aumenta la polaridad del analito, la sílice es más empleada debido a que posee mayor capacidad de retención de muestra. Cabe mencionar que debido a problemas de reproducibilidad en la retención y/o a la adsorción irreversible, esta cromatografía puede verse relegada en muchos casos.

(3) Cromatografías iónicas: de intercambio iónico y de par iónico

En la cromatografía de intercambio iónico, los iones de la muestra se pueden separar como cationes y aniones por separado. En la cromatografía de pares iónicos, los iones de la muestra se pueden "emparejar" y separar como un par iónico.

(3.1) Cromatografía de intercambio iónico (CII)

Para poder analizar HC por CII estos deben derivatizarse con H_3BO_3 o sales de borato para que adquieran carga (negativa) y que puedan ser retenidos y separados de forma diferencial en una columna cuya fase estacionaria posea carga positiva (columna de intercambio aniónico). A su vez, existe el caso opuesto, en el que la fase estacionaria se carga negativamente (columna de intercambio catiónico).

(3.2) Cromatografía de par iónico (CPI)

Su nombre se atribuye a que sobre la fase móvil (polar) se agrega un reactivo de emparejamiento iónico, como una sal orgánica, conteniendo un contra-ion orgánico de gran tamaño (ej.: ion amonio cuaternario o alquilo sulfonato) que da como resultado un par iónico. Se han sugerido dos mecanismos de separación. El primero propone que el contra-ion anula su carga al interaccionar con un ion de carga opuesta que está en la fase móvil (analito como soluto). Seguidamente, el par iónico formado se retiene en la fase estacionaria, generando así diferencias en el reparto de solutos según su afinidad por ésta y la fase móvil. El otro mecanismo sugiere que la fase no polar adquiere carga al retener fuertemente al contra-ion. Los iones de solutos orgánicos de carga opuesta se separan después, al formar pares iónicos lábiles o fuertes con los contraiones de la fase estacionaria. Esta variante cromatográfica es particular ya que podría separar compuestos iónicos y neutros en una muestra única.

Tabla 6.1. Principales diferencias entre la CII y la CPI.

	CII	CPI
Técnica de separación	Iones individuales (carga $\neq 0$)	Pares iónicos (neutralidad)
Reproducibilidad	Baja	Muy alta
Tiempo de separación	Alto	Bajo
Componentes requeridos	Fase móvil con ion de cierta carga y fase estacionaria no polar con iones añadidos de carga opuesta al analito.	Fase móvil con ion de cierta carga con contraión agregado, de naturaleza hidrocarbonada, afín a la fase estacionaria no polar.

(4) Cromatografía de permeación en gel o de exclusión molecular

Esta técnica separa analitos de baja masa molar respecto otros de alto peso molecular, ya que las moléculas pequeñas penetran en los poros del empaque mientras que las más grandes no pueden hacerlo y salen con el eluyente. Los resultados se comparan con patrones de pesos moleculares y de concentraciones conocidas, permitiendo así no sólo identificarlos sino también cuantificarlos. Permite analizar tanto oligómeros como polímeros de alta masa molar.

(5) Cromatografía de afinidad o bioafinidad

Para la cromatografía por afinidad se requiere el enlace covalente de un reactivo, llamado ligando por afinidad, con un soporte sólido. Los ligandos por afinidad característicos son anticuerpos, inhibidores de enzimas u otras moléculas que en forma reversible y selectiva se enlazan a las moléculas del analito en la muestra. Cuando esta última pasa por la columna, sólo son retenidas las moléculas que se unen de manera selectiva al ligando por afinidad. Las moléculas que no se unen atraviesan la columna con la fase móvil. Después de que se eliminan las moléculas indeseables, los analitos retenidos pueden ser arrastrados cambiando las condiciones de la fase móvil. La fase estacionaria para la cromatografía por afinidad es un sólido como la agarosa o cuentas de vidrio.

(6) Cromatografía quiral

Esta metodología aprovecha las diferencias de interacción o afinidad de un enantiómero y su opuesto con la fase estacionaria, compuesta por un soporte poroso de sílice amorfa, recubierta o enlazada químicamente a diversos selectores quirales como polisacáridos, antibióticos, proteínas, ciclodextrinas, entre otros. Debido al bajo nivel de concentración en el que se encuentran las sustancias quirales, la mayoría de los protocolos utilizados a la fecha, requieren de una HPLC acoplada a un espectrómetro de masas como detector. Es importante mencionar que algunas de las sustancias que componen las fases estacionarias tienen cierto grado de rechazo debido a su potencial de contaminación de aguas cuando son descartadas.

Cromatografía gas – líquido (CG o CGL):

También conocida como cromatografía gaseosa. Esta metodología, requiere que los componentes de una muestra dada sean vaporizados para ser separados luego del reparto entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte o en las paredes de la columna capilar. Un gas inerte se usa como transportador (*carrier*) para movilizar el analito. Es importante mencionar que la única función de la fase móvil es transportar al analito a lo largo de la columna, y no que estos interactúen recíprocamente, como sí se busca en otros tipos de cromatografía. La CG se ha convertido en una técnica de indiscutido uso, debido a su sencillez, aplicabilidad, rapidez, sensibilidad, bajo nivel de interferencias y por el costo de insumos relativamente accesible. Una de las pocas desventajas es que, en muchos casos, las muestras requieren derivatización hacia compuestos volátiles (que además puede llevar a la formación de isómeros) y requiere de estándares internos. Dependiendo del tipo de azúcar se utilizará uno u otro agente derivatizante (Ruiz-Matute y col., 2011). Algunos ejemplos se citan a continuación; para azúcares neutros y polialcoholes: éteres, ésteres, oximas, alditol-acetatos; aldonoitrilos o ditioacetales, en cambio, para azúcares ácidos: pre-tratamientos de reducción y/o de hidrólisis, derivados de trimetilsililo, acilación o derivados de heptafluorobutirato (HFB) (Skoog y col., 2014).

Alternativas para el análisis de almidón

En situaciones especiales, el almidón podría ser separado de una muestra mediante centrifugación / ultracentrifugación o filtración / ultrafiltración y ser determinado por gravimetría. Por otro lado, este polisacárido tiene la particularidad de interactuar con el I₂, ya que este último se introduce en el entorno helicoidal hidrofóbico de la amilosa dando un complejo azul – violáceo. Esto puede servir tanto para detectar la presencia de almidón de una muestra como para cuantificarlo (extrayéndolo y midiendo en un espectrofotómetro). Por último, el almidón puede hidrolizarse de forma parcial o total y ser analizado por cromatografía de permeación en gel, o mediante protocolos más complejos, como espectrometría de masas combinada con espectroscopía infrarroja.

Referencias bibliográficas

- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Editorial: Pearson Educación (Méjico).
- Besir, A., Yazici, F, Mortas, M. y Gul, O. (2021). A novel spectrophotometric method based on Seliwanoff test to determine 5-(Hydroxymethyl) furfural (HMF) in honey: Development, in house validation and application. *LWT*. 139, 110602.
- Gervasio, V., Litt, L. y Pucciarelli, L. (2021). Trabajo práctico final conjunto. Facultad de ciencias exactas, Universidad Nacional de La Plata.

- McClements, D. J. (2007). Analysis of Carbohydrates. En D. J. McClements. *Understanding and controlling the microstructure of complex foods* (pp. 792). Editorial: Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- McMurry, J. (2017). *Química orgánica*. Editorial: Cengage Learning Editores.
- Ruiz-Matute, A. I., Hernández-Hernández, O., Rodríguez-Sánchez, S., Sanz, M. L. y Martínez-Castro, I. (2011). Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. *Journal of Chromatography B*. 879(17-18), 1226-1240.
- Skoog, D. A., Crouch, S. R. y Holler, F. J. (2008). *Principios de análisis instrumental*. Editorial: Félix Varela.
- Skoog, D. A., West, D. M. y Holler, F. J. (2014). *Fundamentos de química analítica*. Editorial: Cengage Learning.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. y Crouch, S. R. (2018). *Principles of instrumental analysis*. Editorial: Cengage Learning.

CAPÍTULO 7

Principales métodos para el análisis de proteínas

Eugenia Alejandra Orosco Condorí

Introducción

En este capítulo se describen los fundamentos de los principales métodos de análisis de proteínas, particularmente las técnicas destructivas no extractivas y las técnicas extractivas, las etapas principales del análisis, así como las limitaciones y ventajas de cada uno. Para introducirnos en el estudio de los temas de este capítulo comenzamos por definir qué son las proteínas y cómo están formadas.

Las proteínas son macromoléculas que están constituidas por muchas unidades de aminoácidos unidos entre sí en una cadena larga. Los aminoácidos son moléculas que contienen, al menos, un grupo amino (básico) y un grupo carboxilo (ácido). El enlace químico entre aminoácidos se produce entre el $-NH_2$ de un aminoácido y el $-COOH$ de otro formando un enlace amida o enlace peptídico. El análisis elemental de las proteínas indica la presencia de carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y azufre, siendo el nitrógeno el elemento distintivo de estas macromoléculas que lo diferencia de los hidratos de carbono y lípidos.

Técnicas destructivas no extractivas

La estimación del contenido de proteína de un alimento es posible realizarla a partir de la determinación del contenido de nitrógeno en la muestra. Cuando se determina el contenido total de nitrógeno se asume que prácticamente todo el nitrógeno es de origen proteico si bien se sabe que una fracción de éste corresponde a otros compuestos nitrogenados como bases púricas y pirimídicas, urea, amoníaco, creatina y creatinina, etc. que se denomina nitrógeno no proteico. Estas técnicas destructivas no extractivas se basan en la transformación del nitrógeno orgánico en formas inorgánicas; por reducción a amoníaco en el método de Kjeldahl o por oxidación a óxidos de nitrógeno o nitrógeno molecular en los métodos de Dumas y de piro-quimioluminiscencia.

Método de Kjeldahl-Arnold-Gunning

En 1883 el químico danés Johan Kjeldahl publicó un trabajo sobre la determinación de nitrógeno en compuestos orgánicos, que para esa época resultó novedosa por la practicidad y versatilidad que tenía el método frente a otros métodos existentes (Kjeldahl, 1883). Con los años este método fue adquiriendo modificaciones como el agregado de sulfato de potasio para elevar el punto de ebullición de la mezcla (Gunning, 1889) o la incorporación de sulfato de cobre (II) como catalizador (Arnold, 1886) que resultaron en mejoras significativas que lo posicionaron como un método de referencia que es adoptado por varios organismos internacionales por ejemplo la Organización Internacional de Normalización (ISO), Federación Internacional de la Leche (FIL), Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) como método estandarizado o norma. El método de Kjeldahl es una técnica no extractiva que mide nitrógeno total y luego mediante un factor de conversión permite obtener el contenido de proteína de la muestra analizada.

En el método de Kjeldahl se pueden distinguir tres etapas. La primera etapa corresponde a la **digestión** de la muestra de alimento y consiste en la transformación del nitrógeno orgánico de la muestra en amonio (NH_4^+) en medio sulfúrico fuerte, en presencia de una mezcla de sales formada por sulfato de cobre (II) y sulfato de sodio. El sulfato de cobre (II) actúa como catalizador de la reacción reduciendo la energía de activación, desplazando la reacción hacia la formación de productos por formación del complejo tetraamincúprico $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{+2}$ con el amoníaco formado. El sulfato de sodio aumenta el punto de ebullición de la mezcla acelerando la reacción y, en consecuencia, reduciendo el tiempo de digestión. El ácido sulfúrico concentrado tiene las siguientes funciones: actúa como agente deshidratante, carboniza la materia orgánica, genera la atmósfera reductora para la reducción del nitrógeno orgánico y finalmente fija el amoníaco formado para que no se volatilice.

Las reacciones involucradas durante la etapa de digestión incluyen la oxidación del carbono orgánico a dióxido de carbono y el pasaje del hidrógeno orgánico a agua mientras que el ácido sulfúrico se reduce a dióxido de azufre generando la atmósfera reductora necesaria para que el nitrógeno orgánico se reduzca a amonio.

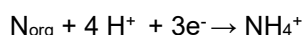
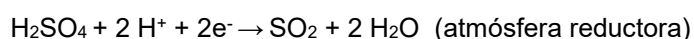
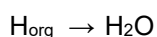
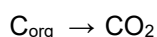




Figura 7.1. Unidad de calentamiento en la que se realiza la etapa de digestión en el método de Kjeldahl. A. Balones conectados a salida de gases, B. Balón en proceso de digestión, C. Balón con la etapa de digestión finalizada. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

En la Figura 7.1 A se observa una serie de balones de Kjeldahl ubicados en la unidad de calentamiento donde se realiza la etapa de digestión conectados a una trampa de vapores bajo campana de ventilación. Los cambios que se producen con el avance de la digestión se pueden distinguir en la Figura 7.1 B, que muestra la oxidación parcial de la materia orgánica, evidenciada por la presencia de material carbonoso sobre las paredes del balón y vapores blancos de dióxido de azufre. Cuando se logra la digestión completa, la muestra se torna verde esmeralda translúcido, color correspondiente al sulfato cúprico en medio sulfúrico (Figura 7.1 C).

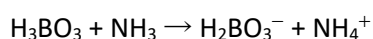
Al mismo tiempo que se analiza la muestra se realiza un ensayo en blanco para determinar la presencia de nitrógeno aportado por los reactivos utilizados. Sobre este ensayo en blanco se realizarán los pasos detallados previamente y en los cálculos finales se tiene en cuenta su aporte para descontarlos de lo encontrado en la muestra.

La segunda etapa consiste en la **neutralización** del contenido del balón seguido de una **destilación** para recuperar el amoníaco formado. Recordando que la solución resultante de la etapa de digestión es una solución fuertemente ácida, se procede a realizar una dilución con 200 ml de agua destilada, previo al paso de neutralización. Dado que la dilución es un proceso exotérmico, el agregado del agua destilada se realiza enfriando el balón de forma externa bajo agua de canilla, evitando así proyecciones. Para realizar la neutralización se utiliza un volumen en exceso de una solución de hidróxido de sodio al 40% p/v. El agregado de esta solución al balón se lleva a cabo de forma lenta, haciendo que la misma deslice por la pared del balón para evitar el mezclado de ambas soluciones. El mezclado también se evita por la diferencia de densidades de las soluciones, siendo la alcalina más densa que la ácida. Una vez que se completa el agregado de la solución de hidróxido, se coloca el balón de Kjeldahl en una unidad de destilación (Figura 7.2 A) que permite recoger el vapor destilado y condensado que contiene el amoníaco proveniente de las proteínas de la muestra.



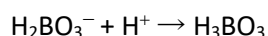
Figura 7.2. Unidad de destilación. A. Balones antes de comenzar el calentamiento. B Erlenmeyers con solución de ácido bórico al inicio del calentamiento. C. Erlenmeyers con solución de ácido bórico de color turquesa dado por el viraje del indicador de Mortimer a medida que el amoníaco de la muestra destila. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Para recoger el destilado se prepara un erlenmeyer con 50 ml de una solución de ácido bórico (H_3BO_3) al 4% para fijar el amoníaco a medida que destila. El amoníaco reacciona con el ácido bórico para dar los iones borato y amonio, según la siguiente reacción:



En el erlenmeyer se agrega un indicador ácido base que servirá luego para detectar el punto final de la titulación. El indicador que se utiliza es el indicador de Mortimer que resulta de la mezcla de los indicadores verde de bromocresol y rojo de metilo, cuyo pH de viraje es 5,1 cambiando de color naranja en la región ácida pasando a celeste turquesa a medida que la solución se alcaliniza; estos cambios de color se pueden ver en las imágenes de la Figura 7.2 B y C, respectivamente.

La tercera etapa corresponde a la **titulación** del amoníaco destilado. Si el amoníaco destilado se recogió sobre una solución de ácido bórico, se utiliza una solución de ácido fuerte como solución titulante, por ejemplo, una solución de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico de concentración conocida. La reacción de titulación corresponde a la protonación del ión borato para volver a formar ácido bórico según la siguiente reacción:



El punto final de la titulación se detecta cuando el color del indicador de Mortimer vuelve al color naranja, correspondiente al pH inicial de la solución de ácido bórico. En ese momento se lee en la bureta el volumen de solución titulante gastado.

Para realizar los cálculos correspondientes al contenido de proteína en la muestra se requiere del uso de un factor de conversión de nitrógeno a proteína, es decir la cantidad de proteína que contiene un gramo de nitrógeno, según su origen. Estos factores se determinan experimentalmente a partir de la composición aminoacídica de cada proteína en diferentes

alimentos según se muestra en la Tabla 7.1. En el caso que la muestra de alimento analizada contenga proteína de distintos orígenes se utiliza un factor general igual a 6,25.

Tabla 7.1. Factores de conversión de nitrógeno a proteína (F) para los métodos que miden nitrógeno total. Las unidades del factor F son [g proteína / g nitrógeno].

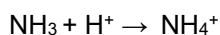
Alimento	Factor de conversión (F)
Carne, huevos	6,25
Maíz, leguminosas	6,25
Leche, productos lácteos	6,38
Cereales y semillas	5,7
General	6,25

Nota. Adaptado de *Factor de conversión que aplicamos para obtener la tasa de proteína bruta a partir del nitrógeno total (Kjeldahl o Dumas)*, Adrian y col., 2000, Análisis nutricional de los alimentos.

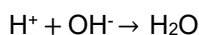
La expresión matemática utilizada para calcular el contenido porcentual de proteína en la muestra analizada mediante el método de Kjeldahl recogiendo el destilado sobre ácido bórico, tiene la siguiente forma:

$$\text{contenido proteína (\%)} = \frac{(V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) \cdot N_{H^+} \cdot P_{\text{meq N}} \cdot F \cdot 100}{m_{\text{muestra}}}$$

donde V es el volumen en ml gastado con la muestra o con el blanco, N_{H^+} es la normalidad del ácido titulante. El peso del miliequivalente de nitrógeno ($P_{\text{meq N}}$) corresponde a 0,014 g N/meq. En la etapa de destilación existe una alternativa al momento de recoger el amoníaco destilado, que consiste en reemplazar la solución de ácido bórico por una solución de un ácido fuerte, de concentración conocida, como por ej. ácido sulfúrico. En este caso se debe utilizar un volumen y una concentración de la solución de ácido fuerte tal que la cantidad de miliequivalentes presentes sea suficiente para fijar los miliequivalentes de nitrógeno que destilan, y la cantidad que esté en exceso sea suficiente para realizar una titulación por retorno con una solución de una base fuerte. La reacción de fijación del amoníaco con el ácido fuerte se puede representar de la siguiente forma:



Luego en la etapa de titulación los miliequivalentes de ácido fuerte en exceso se valoran con una solución de base fuerte de concentración conocida como por ej. hidróxido de sodio. La reacción de titulación resulta ser:



Tener en cuenta que con esta modificación al momento de valorar el blanco de reactivos se producirá un gasto de solución titulante mayor que en la muestra por lo que la expresión para calcular el contenido porcentual de proteína se modifica de la siguiente forma:

$$\text{contenido proteína (\%)} = \frac{(V_{\text{blanco}} - V_{\text{muestra}}) \cdot N_{\text{OH}^-} \cdot \text{Pmeq N} \cdot F \cdot 100}{m_{\text{muestra}}}$$

donde V es el volumen en ml gastado con el blanco o con la muestra, N_{OH^-} es la normalidad del álcali titulante. El peso del miliequivalente de nitrógeno (Pmeq N) corresponde a 0,014 g N/meq. El método de Kjeldahl tiene como ventaja que utiliza reactivos y materiales de laboratorio de uso habitual. Como desventaja se puede mencionar que el método requiere de varias horas, al menos 4 horas, para llevar a cabo todas sus etapas; además requiere la manipulación de reactivos concentrados cuyo consumo también resulta elevado. Sin embargo, existen equipos semiautomatizados que permiten reducir las cantidades de muestra a analizar, reducir el consumo de reactivos y el tiempo de determinación.

Método de Dumas

En 1831 el químico francés Jean-Baptiste Dumas publicó su método de combustión para la determinación cuantitativa de nitrógeno en compuestos orgánicos, incluyendo proteínas (Dumas, 1831). En la actualidad el método de Dumas es un método de referencia para determinación de nitrógeno total y es utilizado como método estandarizado o norma por varios organismos, como por ejemplo AOAC 990.03 (2023) o ISO 16634 (2016). Este método, al igual que el método de Kjeldahl no permite distinguir entre el nitrógeno proteico y el no proteico, pero mediante el uso de factores es posible convertir el resultado a contenido de proteína. El fundamento de este método consiste en transformar la muestra mediante combustión en presencia de oxígeno, utilizando óxido cúprico como catalizador, a temperaturas de al menos 1000°C. Esta reacción de combustión ocurre en una atmósfera inerte dada por la presencia de dióxido de carbono o helio. El resultado de la combustión es una mezcla de gases que incluyen dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno, agua y óxidos de azufre. A continuación, sobre la mezcla de óxidos de nitrógeno remanente se realiza una reducción con cobre a nitrógeno molecular. Posteriormente, los gases generados atraviesan una serie de columnas que permiten la remoción del dióxido de carbono, óxidos de azufre y agua como se muestra en la Figura 7.3. Finalmente, el nitrógeno se puede cuantificar ya sea de forma manométrica, como en los inicios del desarrollo del método, o mediante cromatografía gaseosa acoplada a un detector de conductividad térmica en los métodos automatizados modernos.

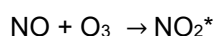
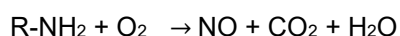


Figura 7.3. Esquema correspondiente a la determinación de nitrógeno por el método de Dumas en métodos automatizados, con cuantificación por cromatografía gaseosa.

A partir del contenido de nitrógeno registrado se calcula el contenido de proteína utilizando los mismos factores de conversión de nitrógeno a proteína que se usan en el método de Kjeldahl. El método de Dumas tiene como ventaja que requiere de poca cantidad de muestra, del orden de los miligramos. Además, en los métodos automatizados el tiempo de medida para cada muestra es menor a los 5 minutos. Como desventajas, este método requiere de un equipamiento especial y de mayor costo, y para el caso de muestras con alto contenido de humedad se requiere un secado previo de la misma.

Piro-quimioluminiscencia

El método de piro-quimioluminiscencia tiene un fundamento similar al método de Dumas que consiste en realizar una pirólisis oxidativa de la muestra, a temperaturas del orden de los 1800°C, en presencia de oxígeno para dar óxido nítrico (NO). Luego el NO es oxidado en presencia de ozono para producir dióxido de nitrógeno en estado excitado (NO₂*). El decaimiento del NO₂* desde el estado excitado al estado fundamental produce una quimioluminiscencia en la región del espectro del rojo e infrarrojo (800 – 3200 nm). La quimioluminiscencia generada puede ser amplificada por un fotomultiplicador y analizada cuantitativamente.



Este método es muy versátil y tiene aplicaciones en otros campos además de la ciencia de alimentos, como el análisis de petróleo y monitoreo ambiental entre otros (Yan, 2006).

Método de Kofranyi o del nitrógeno álcali lábil

A partir del método de Kjeldahl se buscó desarrollar uno que fuera de rutina y adaptable al análisis de grandes cantidades de muestra, en particular sobre leche. Es así como en 1950 se introduce el método de Kofranyi que consiste en una destilación directa de la muestra omitiendo la etapa de digestión. En este método la muestra de leche se alcaliniza con una base fuerte como hidróxido de sodio al 32% p/v junto con una solución de cloruro de bario (BaCl_2) al 10% p/v. En este medio la presencia de Ba (II) despliega las proteínas manteniéndolas solubles mientras que el medio alcalino produce la hidrólisis de los grupos amida presentes en los residuos de los aminoácidos glutamina y asparagina para liberar amoníaco.

En la Figura 7.4 A se muestra el balón con la muestra y los reactivos al inicio de la destilación. El destilado se recoge sobre un erlenmeyer que contiene una solución de ácido bórico al 4% p/v con unas gotas del indicador de Mortimer (Figura 7.4 C). A medida que el amoníaco liberado destila se produce el viraje del indicador del color naranja al turquesa (Figura 7.4 D). En este método el tiempo de destilación está reducido a 9 minutos a contar desde el momento en que se produce el viraje del indicador (Vanderzant, 1961). Una vez finalizada la destilación se realiza la titulación del amoníaco destilado con una solución de ácido sulfúrico 0,1 N hasta volver al color inicial del indicador, es decir, naranja.

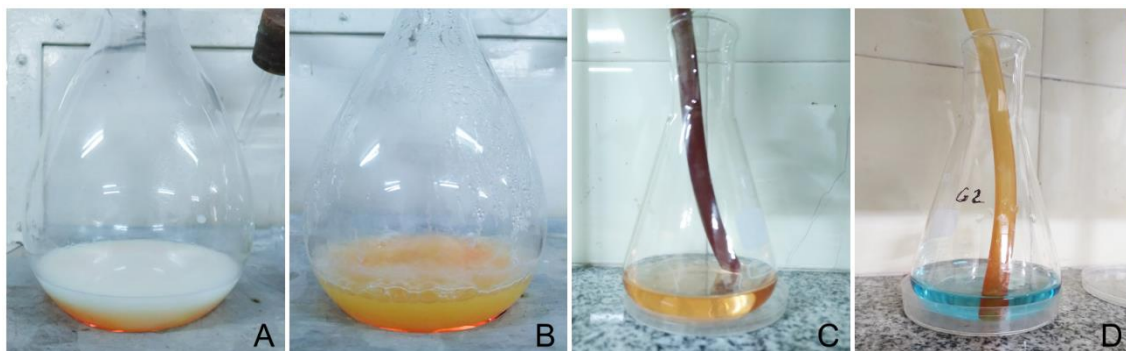


Figura 7.4. Balones ubicados en la unidad de destilación y erlenmeyers con solución de ácido bórico que reciben el destilado en el método de Kofranyi. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Para realizar el cálculo correspondiente al contenido de proteínas en leche se utiliza una curva de calibración preparada a partir de muestras con contenidos de proteína conocidos, sobre las cuales se determina el contenido de proteínas por el método de Kjeldahl, que se representa en el eje de ordenadas (Figura 7.5). Al mismo tiempo las muestras se analizan por el método de Kofranyi registrando el consumo de solución de ácido sulfúrico de concentración 0,1 N en el eje de abscisas. En esta curva de calibración se ingresa por el eje x con el volumen de solución de H_2SO_4 0,1 N gastado en la titulación del amoníaco destilado y se obtiene por interpolación el valor correspondiente al contenido de proteínas en la muestra (eje y).

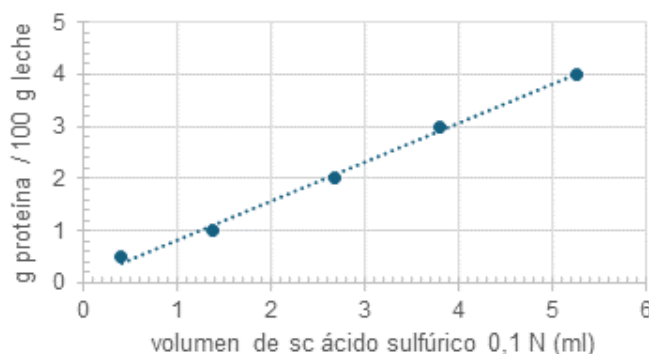


Figura 7.5. Curva de calibración que muestra el consumo de solución de H_2SO_4 0,1 N vs. el contenido de proteínas obtenido por el método de Kjeldahl.

Métodos espectrofotométricos y colorimétricos para la determinación de proteínas

Dentro de las técnicas extractivas hay un grupo de métodos espectrofotométricos y colorimétricos que permiten estimar la concentración de proteínas en una muestra. En estos métodos se requiere que la proteína esté soluble o al menos formando una dispersión. La solubilidad de las proteínas depende del estado fisicoquímico de estas moléculas y en consecuencia hay varios factores que pueden alterar esta propiedad como son los cambios de temperatura, su procesamiento o las condiciones de almacenamiento. También se debe recordar que la solubilidad de las proteínas depende del pH, fuerza iónica, temperatura y presencia de solventes orgánicos; parámetros que se deben definir para cada proteína en particular.

Para cuantificar las proteínas se las hace reaccionar con alguna sustancia coloreada o que desarrolla color, o por reacción con un catión como el cobre (II).

Absorbancia a 280 nm

La presencia de aminoácidos con residuos aromáticos como son la fenilalanina, triptófano y tirosina, hace que la mayoría de las proteínas absorban luz en la región UV (entre 260 y 292 nm) con un máximo de absorción a 280 nm (Pilosof y Bartholomai, 2000). La concentración de proteínas puede ser calculada usando la ley de Lambert-Beer según se muestra en la siguiente ecuación:

$$A = \epsilon_{280} \cdot C \cdot l$$

donde A es la absorbancia medida a 280 nm, ϵ_{280} es el coeficiente de extinción a 280 nm, C es la concentración en %, mg/ml o molaridad dependiendo de las unidades de ϵ_{280} y l es la longitud de la celda en cm.

Este método tiene como interferencias la absorción por otros grupos funcionales en regiones cercanas a la longitud de onda de medida, por ejemplo, ácidos nucleicos y nucleótidos que contengan anillos de purina y pirimidina que absorben a 280 nm. La ventaja de este método es que se puede utilizar la solución de proteínas para otras determinaciones.

Método de Biuret

El método de Biuret es una técnica basada en la interacción de las proteínas con cobre (II). En este caso el color se debe a la interacción de los cationes Cu^{2+} con dos átomos de nitrógeno adyacentes del enlace peptídico formando un complejo de coordinación coloreado. La reacción no es estequiométrica.

Esta reacción ocurre en medio fuertemente alcalino y en presencia de tartrato de sodio que evita la precipitación del cobre (II). El complejo formado tiene un máximo de absorbancia entre 540 y 560 nm desarrollando una coloración púrpura-violácea. La sensibilidad del método permite detectar concentraciones entre 0,1 – 10 mg/ml. Este método requiere de una curva de calibración preparada a partir de una proteína de la misma naturaleza que la que se quiere analizar.

Este método presenta interferencias asociadas a la presencia de iones amonio y sustancias que contienen los grupos amida, amina, entre otros. También interfiere la presencia de azúcares reductores que son capaces de reaccionar con el cobre (II) en medio alcalino según lo mencionado en el capítulo 6 de este libro.

Método de Lowry o del Folin fenol

Este método está basado en la combinación de la reacción del reactivo de Folin – Ciocalteu con fenoles, tales como la tirosina, y la reacción de cobre usada en el método de Biuret. En una primera etapa se forma un complejo entre la proteína y el cobre en medio alcalino, que provoca el desdoblamiento de la estructura de la proteína y la exposición de los grupos fenólicos presentes en los residuos de tirosina. En una segunda etapa el reactivo de Folin, formado por el ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico, es reducido por la tirosina actuando el cobre como catalizador, formándose un complejo de color azul intenso, con un máximo de absorbancia a 750 nm (Figura 7.6). Es posible obtener diferentes grados de color dependiendo principalmente del contenido en tirosina en la proteína que se analiza; esto requiere que la curva de calibración se realice con una proteína similar. La coloración que se genera en este método es el resultado de la suma de la coloración del complejo de coordinación proteína – cobre (II) y la del reactivo de

Folin reducido. La sensibilidad del método mejora y permite detectar concentraciones de proteína más bajas entre 0,01 – 0,50 mg/ml.

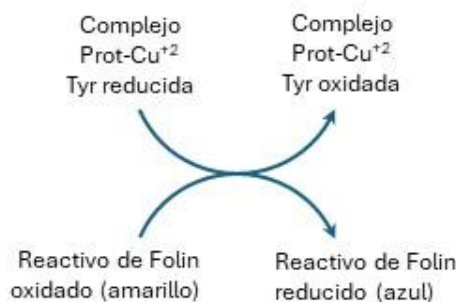


Figura 7.6. Esquema con reacciones de óxido-reducción asociadas al método de Lowry.

Las interferencias asociadas a este método pueden ser sustancias no proteicas que pueden interferir en el desarrollo del color o bien producir color azul. La mayoría de los fenoles (a excepción de los nitrofenoles) reducen el reactivo. Otros interferentes son agentes o buffers que acidifican la solución, sulfato de amonio, quelantes del cobre (EDTA, EGTA) o agentes reductores (β -mercaptoetanol, ditioneitol).

Método del ácido bicinconínico

En solución alcalina las uniones peptídicas y algunos aminoácidos pertenecientes a la cadena, como cisteína, cistina, triptófano y tirosina reaccionan con Cu (II) para reducirlo a Cu (I). En este método, el Cu (I) que se genera forma un complejo con dos moléculas del ácido bicinconínico (ABC) de color púrpura cuyo máximo de absorbancia se registra a 562 nm. La sensibilidad del método permite detectar concentraciones de proteína entre 0,02 – 1,00 mg/ml.

Esta metodología también presenta algunas interferencias, pero estas no afectan tanto como en otros protocolos. Son interferentes habituales los compuestos quelantes como EDTA, EGTA, etc.

Métodos basados en la interacción proteína-colorante

Los grupos laterales de las proteínas que pueden cargarse positivamente a pH inferiores a sus pKa, son capaces de interaccionar electrostáticamente con algunos compuestos coloreados en su forma aniónica. Los aminoácidos implicados en esta reacción son aquellos que poseen grupos protonables como lisina, arginina, histidina y los grupos amino terminales. En estos métodos la proteína se hace reaccionar con un exceso de solución colorante.

El método de Bradford es un método extractivo que requiere que la proteína de interés se encuentre soluble. En este método se utiliza el colorante Coomassie Brilliant Blue G250 en un

medio ácido ($\text{pH} > 1,3$), condición de pH a la cual se encuentra cargado negativamente. Cuando el colorante entra en contacto con la solución de proteína forma un complejo soluble que experimenta un corrimiento de la longitud de onda de absorción a 595 nm respecto al colorante libre que presenta un máximo de absorción a 465 nm. Este método requiere de una curva de calibración que se prepara a partir de soluciones de proteína de distinta concentración; la pendiente de la recta de calibración es positiva.

El método de Amido Black es una técnica que tiene amplia aplicación en la determinación de proteínas lácteas. En este caso se utiliza el colorante Amido Black B10 que también a pH ácido (cercano a 2) se encuentra cargado negativamente, mientras que las proteínas se encuentran cargadas positivamente. El complejo que se forma entre proteína y colorante resulta ser insoluble por lo que se requiere de su precipitación mediante centrifugación para la posterior lectura de absorbancia. En el sobrenadante queda el colorante libre en exceso que tiene un máximo de absorción a 615 nm. En la Figura 7.7 se muestra el gráfico correspondiente a la curva de calibración que resulta tener una relación inversamente proporcional entre Absorbancia vs. Concentración de proteína, es decir que, a mayor concentración de proteína, la absorbancia que se registra es menor. Esto se debe a que la mayor parte del colorante ha precipitado junto a la proteína y el colorante que queda en exceso es el que contribuye a la absorbancia que se mide. Para este método no se requiere que la proteína se encuentre completamente soluble; es suficiente con que esté dispersa.

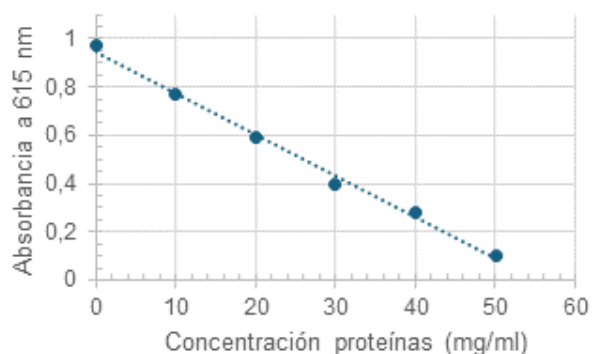


Figura 7.7. Curva de calibración correspondiente al método de Amido Black utilizando concentrado de proteínas de suero lácteo como proteína patrón.

El método de Udy utiliza el colorante Orange G y está desarrollado para ser utilizado con proteínas de cereales. Al igual que el método de Amido Black, el complejo que se forma entre el colorante y la proteína es insoluble. El colorante libre tiene un máximo de absorción a 475 nm.

En la Tabla 7.2 se muestra un resumen comparativo de los métodos de interacción proteína – colorante.

Tabla 7.2. Resumen de las principales características de los métodos basados en la interacción proteína-colorante (Prot-Col).

Método	Colorante utilizado	Aplicación	Complejo Prot-Col	Lectura	Sensibilidad
Bradford	Coomassie Brilliant Blue G250	proteínas solubles (extractivo)	Soluble a tiempos cortos	Absorbancia a 595 nm correspondiente al complejo Prot-Col	0,1-1 mg/ml
Amido Black	Amido Black B10	proteínas lácteas totales	Insoluble	Absorbancia a 615 nm correspondiente al colorante libre	rango normal de contenido proteico en leche (2,5-4,5%)
Udy	Orange G Acid Orange 12	proteínas de trigo totales	Insoluble	Absorbancia a 475 nm correspondiente al colorante libre	10-50 mg/ml

Otras metodologías

Cromatografías HPLC, FPLC

Para el análisis de proteínas existen técnicas cromatográficas que permiten tanto la purificación como el fraccionamiento de mezcla de proteínas o péptidos. Dentro de la Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) hay diversas alternativas de acuerdo con la naturaleza de la interacción entre el soluto y la fase estacionaria. Los métodos cromatográficos de intercambio iónico se basan en la separación por cargas, en el caso de la permeación en geles la separación ocurre por tamaño molecular y en la cromatografía de fase reversa se utiliza la interacción hidrofóbica como principio de separación.

Electroforesis SDS-PAGE

La electroforesis es una de las técnicas más utilizadas para la separación y caracterización de proteínas que se basa en la diferencia de movilidad electroforética de las proteínas según su carga neta, tamaño o conformación en presencia de un campo eléctrico. En particular, en la electroforesis SDS-PAGE se realiza utilizando como soporte geles de poliacrilamida formados por polimerización de acrilamida y bisacrilamida; además, en presencia del detergente aniónico dodecil sulfato de sodio (SDS), todas las proteínas adquieren una alta carga negativa, generando que la separación se realice en función del tamaño de los polipéptidos. En la ciencia de alimentos el uso de la electroforesis SDS-PAGE permite identificar el origen de las proteínas o la detección de proteínas no declaradas en alimentos adulterados; esto se debe a que el perfil electroforético

de una proteína presenta una serie de bandas cuyo número y posición representa una especie de huella dactilar que permite la identificación de la muestra.

Referencias bibliográficas

- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A. y Dauvillier, P. (2000). *Análisis nutricional de los alimentos*. Editorial Acribia S.A.
- AOAC. (2023). *Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA)*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001>
- Arnold, C. (1886). Die allgemeinere Anwendbarkeit der Kjeldahl'schen Stickstoff bestimmungsmethode. *Archiv der Pharmazie, Volumen 224* (18), 785-794. <https://doi.org/10.1002/ardp.18862241803>
- Dumas, J. B. A. (1831). Lettre de M. Dumas à M. Gay-Lussac, sur les Procédés de l'analyse organique. *Annales de Chimie et de Physique, Volumen 47*, 198–213.
- ISO. (2016). ISO 16634 -2. Food products — Determination of the total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of the crude protein content — Part 2: Cereals, pulses and milled cereal products.
- Gunning, J. W. (1889). Ueber eine Modification der Kjeldahl-Methode. *Zeitschrift für analytische Chemie, Volumen 28*, 188-191. <https://doi.org/10.1007/BF01375926>
- Kjeldahl, J. (1883). Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie, Volumen 22*, 366–382 (1883). <https://doi.org/10.1007/BF01338151>
- Kruger, N. J. (2009). The Bradford method for protein quantitation. *The protein protocols handbook*, 17-24.
- Pilosof, A. M. R. y Bartholomai, G. B. (2000). *Caracterización funcional y estructural de proteínas*. Editorial EUDEBA.
- Vanderzant, C., Brown, M. A. y Rupel, I. W. (1961). Determination of the protein content of milk by a modification of the steam distillation method of Kofranyi. *Journal of Food Protection, Volumen 24*, 19-21. <https://doi.org/10.4315/0022-2747-24.1.19>
- Yan, X. (2006). Unique selective detectors for gas chromatography: Nitrogen and sulfur chemiluminescence detectors. *Journal of Separation Science, Volumen 29*, 1931–1945. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500507>

CAPÍTULO 8

Principales métodos para el análisis de lípidos

Pablo Antonio Sobral

Lípidos: Clasificación

De acuerdo a Badui Dergal (2006), la palabra lípido proviene del griego *lipos*, que significa grasa; originalmente se los definía como las sustancias que eran insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo. Sin embargo, el empleo de este criterio de solubilidad implica considerar dentro del conjunto a muchos otros compuestos tales como terpenos, vitaminas y carotenoides. Otros autores consideran que los lípidos son solo aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas. De acuerdo a esta definición basada en la solubilidad, los aceites y las grasas son considerados como lípidos.

Una forma de clasificarlos es dividirlos en grupos, en función de su estructura química.

Los lípidos **simples** abarcan las grasas y aceites, mayoritariamente compuestos por ester de glicerol y ácidos grasos, son los más abundantes e importantes y nos enfocaremos en ellos en este capítulo. Los **compuestos** están integrados por una estructura lipídica unida covalentemente a otra estructura que no lo es, como es el caso de los fosfolípidos y los glucolípidos. Aunque reconocemos la importancia biológica de los lípidos complejos debido a que, forman parte de la membrana celular y se asocian con el colesterol, no los incluiremos, debido a que sus constituyentes, proteínas y lípidos, se enlazan por enlaces hidrofóbicos o electrostáticos.

Finalmente, los lípidos **asociados** son todos aquellos que no se ubican en ninguna de las categorías anteriores; hallándose en este grupo los ácidos grasos libres, carotenoides, vitaminas liposolubles y colesterol entre otros.

En este marco, las grasas y los aceites, que son los lípidos más comunes e importantes, pueden clasificarse en función de su origen y su contenido de ácidos grasos. Podemos dividirlos en: grasas animales: sebo, manteca de cerdo y huevo; aceites marinos y los subproductos de la pesca; grasa de la leche: manteca y grasas vegetales: cacao. Entre los aceites con ácido láurico podemos mencionar al aceite de coco y palmiste; aceites con ácidos oleico y linoleico como el de maíz, girasol y algodón y aceites con ácido linolénico como el de soja (Badui Dergal, 2006).

Estructura de los ácidos grasos

Si bien inicialmente los ácidos grasos fueron considerados como ácidos mono carboxílicos de cadena alifática saturados o no con número par de átomos de carbono, actualmente se incluyen muchos otros, como los ácidos grasos cíclicos, ramificados, hidroxilados, pudiendo tener un número impar de átomos de carbono. Con esta ampliación se incluyen más de 400 ácidos grasos que se encuentran en la leche, algunos vegetales y microorganismos.

Pese a esta gran variedad, en la práctica, la cantidad de ácidos grasos diferentes comúnmente hallados en alimentos es reducida y tienen un número par de átomos de carbono ya que su biosíntesis se lleva a cabo mediante el agregado de moléculas con número par de átomos de carbono como la acetilcoenzima A (Tabla 8.1). Estos ácidos grasos generalmente están esterificados con el glicerol formando parte de los triglicéridos.

Tabla 8.1. Nombres científicos y triviales, fórmula química y punto de fusión de los ácidos grasos saturados más frecuentes. *Ácidos grasos más comunes en alimentos.

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
Butírico	Butanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	-5,9
Caproico	Hexanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	-3,4
Caprílico	Octanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	16,7
Cáprico	Decanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	31,6
Láurico*	Dodecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	44,2
Mirístico*	Tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	54,4
Palmítico*	Hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	63,0
Estearico*	Octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	69,4
Araquídico	Eicosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	76,0
Behénico	Docosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	79,9
Lignocérico	Tetracosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	84,2
Cerótico	Hexacosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$	87,7

Nota: adaptado de Badui Dergal, 2006.

Entre los ácidos grasos más comunes están el láurico, que abunda en los aceites de semilla de la palma y coco, el palmítico hallado en la palma, cacao y manteca de cerdo, y el estearico del cacao y los aceites hidrogenados. La grasa de la leche, también conocida como grasa butírica, contiene ácido butírico que se emplea para identificar y cuantificar la grasa láctea en los productos o su adulteración.

En forma natural, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA en inglés) tienen sus dobles ligaduras separadas por un grupo metileno, como sucede en los ácidos grasos linoleico, linolénico y araquidónico. Otra alternativa a esta distribución es la conjugación, en la que no existe dicho metileno de por medio.

$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ Sistema de dobles ligaduras conjugadas

$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ Sistema de dobles ligaduras no conjugadas

Tal y como ocurre con algunos aminoácidos, el linoleico y el linolénico son ácidos grasos esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por nuestro organismo y deben ser incorporados con la dieta. Se recomienda que representen de 1 a 2 % de los lípidos totales ingeridos ya que forman parte de la membrana de diferentes tejidos celulares, son precursores del ácido araquidónico y son empleados en la síntesis de las hormonas prostaglandinas. Contribuyen al mantenimiento de la piel, del pelo y del sistema reproductivo, así como en la regulación del metabolismo del colesterol; ayudan a la absorción de nutrientes, a la regulación de la contracción muscular y de la presión arterial y fortalecen el crecimiento de las células sanas.

De manera similar a como sucede con los saturados, los ácidos grasos insaturados pueden tener largos de cadena diferentes y clasificarse de acuerdo a esta característica en ácidos grasos insaturados de cadena corta con menos de 20 átomos de carbono; de cadena larga entre 20 y 24 átomos de carbono o de cadena muy larga, con más de 24 átomos de carbono.

Respecto a las insaturaciones, los monoinsaturados (MUFA en inglés) tienen una sola insaturación siendo el ácido oleico el más común presente en cantidades considerables tanto en fuentes de origen animal como vegetal (Tabla 8.2).

Tabla 8.2. Nombres científicos y triviales, abreviaturas y fuentes de los ácidos grasos mono insaturado CIS más frecuentes en grasas y aceites.

Nombre trivial	Nombre científico	Abreviatura	Fuentes
Palmitoleico	cis-9-hexadecenoico	16:1 Δ 9c (9c-16:1)	Aceites de origen marino, aceite de macadamia, la mayoría de aceites animales y vegetales.
Oleico	cis-9-octadecenoico	18:1 Δ 9c (9c-18:1)	Todos los aceites y grasas, especialmente en aceites de oliva, canola, girasol y cártamo ricos en ácido oleico.
cis-Vaccénico	cis-11-octadecenoico	18:1 Δ 11c (11c-18:1)	La mayoría de aceites vegetales.
Gadoleico	cis-9-eicosenoico	20:1 Δ 9c (9c-20:1)	Aceites de origen marino.
	cis-11-eicosenoico	20:1 Δ 11c (11c-20:1)	Aceites de origen marino.
Erúcico	cis-13-docosenoico	22:1 Δ 13c (13c-22:1)	Aceite de semilla de mostaza, y de colza rico en ácido erúcico.
Nervónico	cis-15-tetracosenoico	24:1 Δ 15c (15c-24:1)	Aceites de origen marino.

Nota: adaptado de FAO y FINUT, 2012.

Los PUFA con dobles enlaces separados por un metileno y de configuración cis pueden dividirse en 12 familias diferentes. Las familias más importantes, en relación al grado de frecuencia, la salud y nutrición humanas, son la n-6 y la n-3. A modo de ejemplos el ácido linoleico (Tabla 8.3) es el ácido graso esencial primario o generador de la familia n-6. Posee 18 átomos de carbono y dos dobles enlaces. El primer doble enlace se encuentra a 6 átomos de carbono del extremo metilo de la cadena de ácidos grasos, y por este motivo se lo denomina n-6. El ácido linoleico puede ser desaturado y alargado en humanos para formar series de PUFA n-6.

Tabla 8.3. Nombres científicos y triviales, abreviaturas y fuentes de los ácidos grasos poliinsaturados PUFA n-6 importantes para la nutrición.

Nombre trivial	Nombre científico	Abreviatura	Fuentes
Ácido linoleico	ácido cis-9, cis-12-octadecadienoico	18:2n-6	La mayoría de aceites vegetales.
Ácido γ -linolénico	ácido cis-6, cis-9,cis-12-octadecatrienoico	18:3n-6	Aceites de semillas de onagra, borraja y grosella negra.
Ácido dihomog- γ -linolénico	ácido cis-8, cis-11,cis-14-eicosatrienoico	20:3n-6	Componente en cantidad mínima de tejidos animales.
Ácido araquidónico	ácido cis-5, cis-8,cis-11, cis-14-eicosatetraenoico	20:4n-6	Grasas animales, hígado, lípidos del huevo, pescado.
Ácido docosatetraenoico	ácido cis-7, cis-10,cis-13, cis-16-docosatetraenoico	22:4n-6	Componente en cantidad mínima de tejidos animales.
Ácido docosapentaenoico	ácido cis-4, cis-7,cis-10, cis-13, cis-16-docosapentaenoico	25:5n-6	Componente en cantidad mínima de tejidos animales.

Nota: adaptado de FAO y FINUT, 2012.

Por otra parte, el ácido α -linolénico (Tabla 8.4) es el ácido graso esencial primario o generador de la familia n-3. Cuenta con 18 átomos de carbono, pero posee tres dobles enlaces. A diferencia del linoleico, el primer doble enlace se encuentra en el tercer átomo de carbono partiendo del extremo metilo de la cadena de ácidos grasos, y de ahí el nombre de n-3. También puede ser desaturado y alargado para formar series de PUFA n-3 (Tabla 8.4).

El ácido linoleico y el α -linolénico se encuentran en todas las grasas de la dieta y en mayores proporciones en la mayoría de los aceites vegetales (White, 2008). Entre los PUFA n-6 (Tabla 8.3) el ácido araquidónico puede ser hallado en carnes, huevos, pescado, algas y otras plantas acuáticas (Wood y col., 2008; Ackman, 2008) es el más importante porque es el precursor principal de los eicosanoides derivados de la familia n-6.

Entre los PUFA n-3 (Tabla 8.4) los ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) hallados en la caballa, salmón, sardina, arenque y eperlano (Ackman, 2008) junto con el α -linolénico (ALA) son los ácidos grasos n-3 más importantes de la nutrición humana. Pueden incorporarse mediante los aceites de algunas algas u organismos unicelulares, con algunos los aceites de pescado y en aceites de soja modificados genéticamente.

Tabla 8.4. Nombres científicos y triviales, abreviaturas y fuentes de los ácidos grasos poliinsaturados PUFA n-3 importantes para la nutrición.

Nombre trivial	Nombre científico	Abreviatura	Fuentes
Ácido α -linolénico	ácido cis-9, cis-12-cis-15-octadecatrienoico	18:3n-3	Aceites de lino, perilla, canola y soja.
Ácido estearidónico	ácido cis-6, cis-9, cis-12, cis-15-octadecatetraenoico	18:4n-3	Aceites de pescado, soja modificado genéticamente, semilla de grosella negra y cáñamo.
Ácido eicosatetraenoico	ácido cis-8, cis-11, cis-14, cis-17-eicosatetraenoico	20:4n-3	Componente en cantidad mínima de tejidos animales.
Ácido eicosapentaenoico	ácido cis-5, cis-8, cis-11, cis-14, cis-17-eicosapentaenoico	20:5n-3	Pescado, especialmente salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa.
Ácido docosapentaenoico	ácido cis-7, cis-10, cis-13, cis-16, cis-19-docosapentaenoico	22:5n-3	Pescado, especialmente salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa.
Ácido docosahexaenoico	ácido cis-4, cis-7, cis-10, cis-13, cis-16, cis-19-docosahexaenoico	22:6n-3	Pescado, especialmente salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa.

Nota: adaptado de FAO y FINUT, 2012.

Cuantificación de los lípidos de una muestra

Acondicionamiento de la muestra

En caso de trabajar con muestras puras de aceites y/o grasas se procede de la siguiente manera: Luego de eliminar las impurezas groseras y el agua que pueda contener, se deja a la muestra en reposo en estufa a 50 °C hasta su clarificación si es líquida o para que se funda si es sólida. Se filtra por papel a 50 °C, evitando dejar pasar el agua que pudiera existir debajo de la fase grasa o agregando una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro antes de filtrar la muestra. Se recomienda almacenar la muestra en lugar fresco, al abrigo de la luz y el aire (UNLP, 2023).

Extracción de lípidos

Los lípidos pueden extraerse, mediante métodos tales como la extracción con solvente de forma directa o tras un tratamiento ácido o alcalino. La extracción de los lípidos puede realizarse, para determinar el contenido de materia grasa total en una matriz, como un alimento o para realizar la caracterización de la materia grasa con la idea de realizar ensayos tendientes a determinar la identidad, composición y calidad.

Dado que, algunas caracterizaciones requieren que los lípidos no sufran alteraciones, tienen que descartarse aquellos procesos que puedan involucrar la hidrólisis de los lípidos. La presencia de oxígeno durante la extracción, así como las temperaturas elevadas, deben considerarse, especialmente en muestras con alto contenido de ácidos grasos insaturados.

Los equipos de extracción automatizada pueden realizar la extracción en presencia de un gas inerte, como el nitrógeno, que evita las reacciones de oxidación durante la extracción y en la etapa de secado.

Extracción directa

Puede realizarse mediante extracción en batch o continúa utilizando solventes como el éter de petróleo (fracción 40-60 o 60-80 °C), éter etílico, *n*-hexano, diclorometano, cloroformo y metanol de forma aislada o combinada. Se suele emplear solventes no polares como el éter de petróleo o el *n*-hexano. Se utilizan solventes orgánicos polares como el metanol cuando se quieren extraer lípidos compuestos, como fosfo y glucolípidos.

Una vez extraída la grasa, se evaporan los solventes y se determina por pesada la grasa extraída.

El método de **Soxhlet** está reconocido por la AOAC (*Association of Official Agricultural Chemists*) como un método estándar de determinación de grasa cruda, aunque no es aplicable a alimentos en donde la grasa está interaccionando con proteínas, como en los alimentos lácteos y yema de huevo, ya que en estos casos la materia grasa no es totalmente extraída y se obtiene un resultado por defecto. Es un método eficaz donde la cantidad del solvente utilizado, depende del tamaño del equipo. Existen extractores de Soxhlet, como los utilizados en docencia con espacio para colocar pocos gramos de muestra (10-20 g), mientras que hay otros del tipo preparativo con una capacidad mucho mayor. Sin embargo, el solvente no se descarta, sino que se recupera, ya sea empleando el mismo equipo, retirando el cartucho con la muestra del tubo extractor y recuperando el solvente antes de que sifone o empleando por ejemplo un rota vapor u otra alternativa que evapore y condense el solvente.

El equipo consiste en tres partes principales: un refrigerante que condensa el solvente, el tubo extractor propiamente dicho, que contiene la muestra dentro de un cartucho de celulosa, el cual posee un tubo lateral por el que suben los vapores del solvente al refrigerante, un tubo sifón que descarga el solvente una vez que el nivel del mismo tuvo contacto con la muestra y superó el

nivel de sifón y el recipiente colector que es un balón de vidrio, donde se recibe o deposita la materia grasa (Figura 8.1).

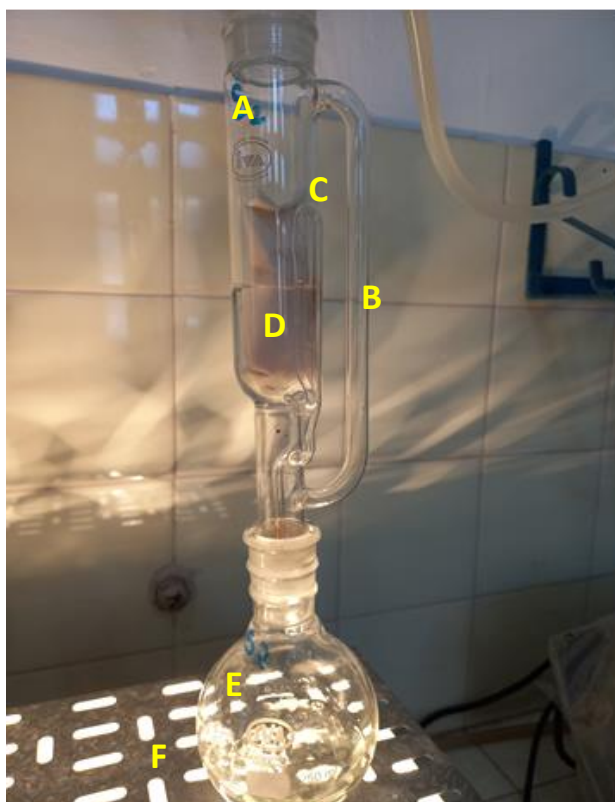


Figura 8.1. Extracción con dispositivo de Soxhlet. A: Tubo extractor B: tubo lateral C: sifón D: cartucho conteniendo la muestra E: balón con solvente F: placa calefactora Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP.

El funcionamiento es el siguiente: el calor aplicado al recipiente colector, evapora el solvente, los vapores ascienden por el tubo lateral, se condensan en el refrigerante y caen sobre la muestra tomando contacto con la muestra y acumulándose. Cuando el nivel del solvente sobrepasa el tubo sifón, se transfiere el solvente cargado de materia grasa al recipiente colector, repitiéndose el ciclo durante el tiempo que dura la extracción. Finalizada la extracción, el solvente puede recuperarse conectando el balón conteniendo la grasa y el solvente a un rotavapor o como se mencionó empleando el propio equipo. Con la masa del balón vacío y la masa de muestra se obtiene el porcentaje de grasa cruda (ya que se extraen todos los lípidos de la muestra). Si el solvente utilizado es éter etílico o éter de petróleo la grasa cruda obtenida también se denomina “extracto etéreo”. Además de la ausencia de interacción lípido-proteína, para ser analizadas por este método, las muestras, tienen que ser sólidas y estar finamente divididas para aumentar la superficie de contacto con el solvente. Si la muestra estuviese en trozos grandes, puede molerse hasta un fino polvo antes de ser introducida en el cartucho de celulosa. Finalmente, las muestras a analizar deben tener un bajo contenido de humedad. El agua impide un buen contacto entre el

solvente y la matriz que se quiere extraer y si el contenido de agua fuese muy alto, podría haber una migración de agua del alimento al solvente inmisible formándose una emulsión. Sin embargo, se pueden procesar muestras con alta humedad mezclando previamente la muestra con Na_2SO_4 , antes de introducirla en el cartucho. En la Figura 8.2 se esquematizan los pasos para esta variante del método. Inicialmente una muestra sin interacción lípido-proteína y finamente dividida, pero con un alto contenido de agua (salchicha, paté o picadillo de carne) se pesa en un vaso de precipitado, se le va agregando Na_2SO_4 mientras se mezcla con varilla de vidrio. Se continúa agregando el desecante hasta la formación de una pasta granulada que se desprenda del recipiente. Luego se carga en el cartucho y se procede como se detalló. Si bien la cantidad agregada de Na_2SO_4 no se tiene en cuenta al momento de hacer los cálculos, ocupa lugar y reduce la cantidad de muestra que puede analizarse.

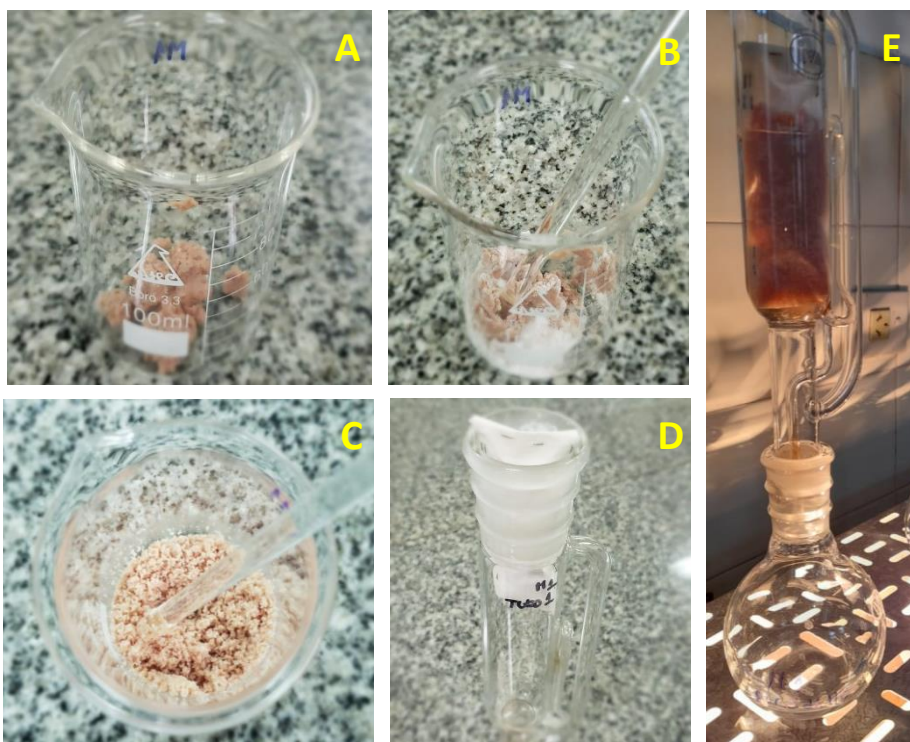


Figura 8.2. Preparación de una muestra tipo paté (A), mezclado con sulfato de sodio (B y C), carga e introducción del cartucho en el cuerpo del extractor (D), armado del equipo (E). Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP.

Una variante no convencional de extracción directa es la **Extracción Supercrítica**, en la que se emplea un fluido en estado supercrítico el cual, posee propiedades intermedias entre un gas y un líquido. Se comporta como un líquido muy móvil con una solubilidad semejante a la fase líquida, con una mayor penetración en la matriz sólida y con las propiedades de transporte del gas. En el caso del CO_2 las condiciones supercríticas son $\sim 1,070$ psi y ~ 31 °C y se trabaja en

el rango 32-49 °C con presiones entre 1,070 y 3,500 psi. El fluido supercrítico es fácilmente recuperable del extracto, los compuestos lábiles pueden extraerse con daño mínimo, pero se requieren de presiones elevadas, siendo muy alto el costo del equipo.

Muestras donde hay interacción lípido-proteína

Cuando existe interacción lípido-proteína se debe romper primero la misma utilizando un medio ácido o alcalino, para luego proceder a la extracción propiamente dicha. En el método de Schmidt-Bodzinky-Ratzlaff se rompe la interacción por calentamiento de la muestra en medio acuoso con ácido HCl y luego se pone en contacto esta fase acuosa con el solvente (usualmente éter etílico) en una probeta graduada con tapa esmerilada, agitando y dejando 24 h. Una alícuota de la fase orgánica sobrenadante (normalmente 10 ml) es separada y secada en un cristizador tarado. A partir del peso de los lípidos residuales se puede calcular el total presente en la fase orgánica, que proviene de la muestra pesada.

En el caso del método de Rose Gottlieb, la ruptura de la interacción lípido-proteína se realiza en medio amoniacal utilizando un dispositivo de vidrio, el tubo Mojonnier cuyo diseño facilita la extracción y la posterior separación de la fase orgánica que contiene los lípidos para su posterior cuantificación. En la Figura 8.3 se observa la secuencia del método. Inicialmente se pesa la muestra posicionando la misma en la base del tubo. Para ello la muestra puede recubrirse parcialmente con papel de aluminio o introducirla con un sorbete descartable adosado al extremo de una pipeta automática. Se agrega NH_4OH , y etanol realizando 2 extracciones sucesivas con solventes diferentes y agitación. Luego se permite la separación de las fases y aprovechando la forma del tubo Mojonnier se colectan las fracciones de solvente en un recipiente previamente tarado, donde posteriormente se evaporará el solvente permitiendo pesar la materia grasa extraída.



Figura 8.3. Secuencia de pasos para la extracción de Rose Gottlieb con Tubo Mojonnier (A) Pesada de la muestra. (B) Etapa de extracción con agitación. (C) Etapa de separación de las fases. (D) Separación y recolección de los extractos. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP.

Índices de caracterización de los lípidos

Existen índices de caracterización que permiten determinar propiedades fisicoquímicas del aceite y compararlas con los valores establecidos por el Código Alimentario Argentino (CAA).

Índice de saponificación (IS)

El **Índice de saponificación** (AOAC Method 920.160) representa la cantidad en mg de KOH necesarios para saponificar 1 gramo de grasa o aceite.

Dado que las grasas y aceites están formados por el glicerol (trialcohol) con sus 3 funciones alcohol esterificadas con ácidos grasos, el peso molecular del triglicérido dependerá del largo promedio de los ácidos grasos que lo componen.

Por ejemplo, si el glicerol está esterificado en sus 3 posiciones con ácido butírico $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ el peso molecular será de 302 g/mol, mientras que si la esterificación se realiza con ácido esteárico $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, el peso molecular del triglicérido será de 890 g/mol.

Como este índice está definido **por gramo de triglicérido**, en cada gramo habrá un mayor número de moles de triglicéridos, si éstos contienen butírico respecto a la cantidad hallada con

ácido esteárico. Una mayor cantidad de moles de triglicéridos implica una mayor cantidad de enlaces a romper y un mayor consumo de KOH para su saponificación.

Por ello este índice es inversamente proporcional al peso molecular promedio del triglicérido, es decir que cuanto menor sea el peso molecular promedio de los ácidos grasos presentes mayor será el IS.

Procedimiento experimental: La grasa o aceite se saponifica con un exceso de potasa alcohólica. El exceso de KOH que se valora con una solución estandarizada de HCl con fenolftaleína como indicador.

Se pesa a la décima de miligramo 5 g de muestra filtrada en un balón de 250 ml, se agrega con pipeta aforada 50 ml de potasa. Se debe hacer simultáneamente un blanco, utilizando la misma pipeta. Se conectan a ambos balones a los refrigerantes y se hierve suavemente 30 min.

La muestra perderá su turbidez. Después de enfriar, se titula con HCl 0,5 N con fenolftaleína como indicador.

El IS se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$IS = [(A - B) \times N \times 56,1] / M$$

A: ml gastados de HCl para valorar el blanco.

B: ml gastados de HCl para valorar la muestra.

N: normalidad de la solución de HCl.

56,1: peso equivalente del KOH.

M: masa de la muestra, en gramos.

Índice de yodo (I₂)

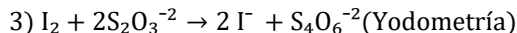
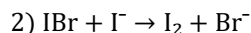
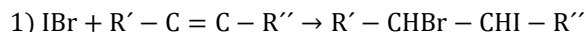
El **Índice de yodo** corresponde a los gramos de yodo adicionados por cada 100 g de grasa o aceite. Es una medida del grado de insaturación de una grasa o un aceite, siendo este índice proporcional al número de dobles enlaces por unidad de masa. Se utiliza para comprobar la pureza y la identidad de una materia grasa. Este ensayo determina también las sustancias acompañantes insaturadas tales como los esteroides.

Dado que el I₂ reacciona lentamente con los dobles enlaces, se utilizan halogenuros de yodo, siendo los más comunes el Método de Hanus o de Wijs.

Método de Hanus con IBr en medio acético (AOAC Method 920.158)

La grasa o aceite disuelto en un solvente orgánico reacciona con un exceso de mono bromuro de yodo (IBr). El exceso de IBr oxida una solución de yoduro a yodo que se valora con una solución normalizada de tiosulfato de sodio. Debe realizarse un blanco, en ausencia de la muestra. La reacción se realiza en oscuridad para evitar que aparezcan reacciones laterales de radicales inducidos por la luz produciendo un gasto aparente mayor de halógeno.

Reacciones



Procedimiento experimental: se pesan a la décima de mg 0,50 g de grasa o 0,25 g de aceite (utilizar 0,10 g si se sabe que la muestra es rica en dobles enlaces) en un frasco con tapón esmerilado de 500 ml, y disolverlos en 10 ml de cloroformo. Si se tiene información sobre el índice de yodo esperado se pueden seguir las recomendaciones de la Tabla 8.5.

Tabla 8.5: *Cantidades recomendadas de triglicéridos a pesar en función del índice de yodo esperado.*

Índice de yodo esperado (g yodo / 100 g triglicérido)	Masa a pesar (g)	Exactitud (mg)
3	10,58-8,46	± 5
10	3,17-2,54	0,2
20	1,59-1,27	0,2
40	0,79-0,63	0,2
80	0,40-0,32	0,2
120	0,26-0,21	0,2
160	0,20-0,16	0,2
200	0,16-0,13	0,2

Se agregan 25 ml del reactivo de Hanus (utilizar un exceso de reactivo no menor al 60%), y se tapa inmediatamente, para que la concentración de bromuro de yodo no varíe sensiblemente. Se deja en reposo durante 30 minutos en oscuridad, con agitación ocasional.

Se agregan 10 ml de solución de KI (15%) y se arrastran con 100 ml de agua destilada (recién hervida y enfriada) cualquier resto de yodo del tapón o cuello del frasco. Se titula el yodo con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N con agitación constante, hasta aclaramiento del color amarillo de la solución. En ese punto se agrega 1 ml de solución al 1% de almidón soluble como indicador y se continua la titulación hasta casi total desaparición del color azul. Se cierra bien y se agita drásticamente para que el yodo remanente en la fase inferior pase a la capa acuosa, y se pueda completar la titulación. Simultáneamente con la muestra problema se deben realizar dos determinaciones en blanco.

El Índice de yodo (I_2) se calcula según:

$$\text{I}_2 = [(A - B) \times N \times 0,1269 \times 100] / M$$

A: ml de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ empleado en la determinación del blanco.

B: ml de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ empleado en la determinación de la muestra.

N: normalidad de la solución de tiosulfato.

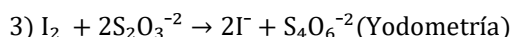
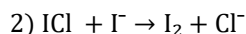
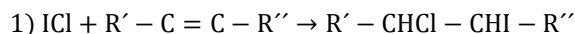
0,1269: peso del mili equivalente de yodo, en gramos.

M: masa de la muestra, en gramos.

Método de Wijs con ICl en medio acético (AOAC Method 920.159)

Este método es similar al Método de Hanus, pero utiliza mono cloruro de yodo como agente halogenante. Los valores de Índice de yodo dados en el Código Alimentario Argentino están determinados por este método.

Reacciones



Índice de refracción

El **Índice de refracción (IR)** (AOAC Method 921.08) de un medio es la relación entre la velocidad de la luz de una longitud de onda en el vacío y su velocidad en el medio de estudio. El índice de refracción varía con la longitud de onda de la luz y la temperatura. Frecuentemente se considera la velocidad de la luz en el aire, empleándose la longitud de onda de la línea D del sodio (589,6 nm). En el caso de un aceite o grasa, es un parámetro de identificación. Dado que existe cierta correlación entre el grado de saturación de los ácidos grasos y el índice de refracción, los procesos en los cuales se modifica el grado de saturación, como la hidrogenación, pueden seguirse mediante el índice de refracción.

Procedimiento experimental: el IR puede determinarse por ejemplo mediante un refractómetro de Abbe que tiene un rango entre 1,3000 y 1,7000 (exactitud $\pm 0,0001$) a 25 °C para aceites que sean líquidos a esta temperatura o a 45, 60 u 80 °C para grasas que sean sólidas a 25 °C. Se utiliza 45 °C para grasas que estén totalmente fundidas a esta temperatura; 60 °C para grasas hidrogenadas y 80 °C o más para ceras. El instrumento puede calibrarse con agua destilada a 20 °C (Índice de refracción = 1,3330) o con otros compuestos de IR conocido. Se abre el doble prisma, se esparce con una varilla una gota de la muestra sobre la cara inferior y se cierran los prismas dejando un minuto para estabilizar la temperatura. Se deben hacer 2 o 3 lecturas, promediarlas y expresarlas a la temperatura descripta (25; 45 o 60 °C) considerando la temperatura a la cual fue tomada la lectura del IR leído. La diferencia entre los resultados de tres determinaciones llevadas a cabo por el mismo operador no deberá exceder de 0,0002.

Insaponificable

El **residuo insaponificable** es toda sustancia que resiste el proceso de saponificación, empleado normalmente para producir jabones. La saponificación es la reacción mediante la cual

se rompe la unión éster. Esta reacción consiste en hacer reaccionar a los lípidos con hidróxidos de potasio o sodio para generar jabones (ésteres de los ácidos grasos). Pueden saponificarse las grasas, aceites, ceras y fosfolípidos, mientras que los insaponificables son básicamente alcoholes y aldehídos de alto peso molecular, esteroides, hidrocarburos (saturados e insaturados), pigmentos, prostaglandinas, derivados de ceras, esteroides, tocoferoles y colorantes liposolubles (Badui Dergal, 2006)

La adulteración de la muestra con aceites minerales contribuye a un aumento de la materia insaponificable. El procedimiento experimental (AOAC *Method* 930.08) consiste en saponificar la muestra con una solución etanólica de un hidróxido alcalino, extraer las sustancias solubles en éter etílico, pesar el residuo y corregir el valor por los ácidos grasos libres que la muestra pudiera contener.

Peso específico y densidad

Con **balanza de Mohr**, que es una balanza que cuenta con 2 brazos (Figura 8.4). El brazo corto termina en una aguja que se mueve sobre una escala graduada y determina cuando la balanza está en equilibrio. El brazo largo tiene un gancho en su extremo de donde se cuelga el inmersor de vidrio que se sumerge en el líquido de estudio, que en nuestro caso es un termómetro. El brazo largo tiene una serie de ganchos en diferentes posiciones donde pueden colgarse unos contrapesos denominados jinetillos. El sumergir el inmersor en el líquido se produce un desbalance debido al empuje que se compensa colocando alguno de los jinetillos en alguna de las 9 posiciones disponibles. Usualmente se realiza la medida a 15°C; en caso de no ser posible la determinación a 15 °C se efectúa una corrección teniendo en cuenta el coeficiente de dilatación. La corrección es de 0,00064 por grado de temperatura que debe sumarse cuando ésta es superior a 15°C y restarse cuando es inferior a 15° C.

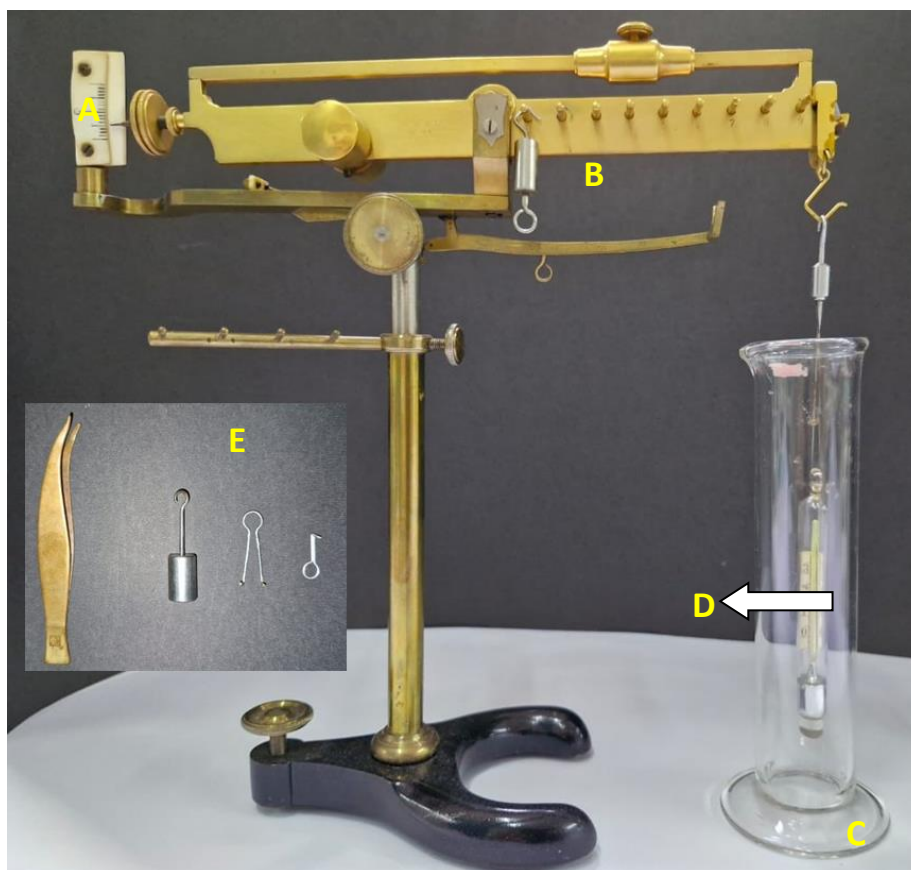


Figura 8.4. Balanza de Mohr. (A) escala graduada (B) jineterillo colocado en una de las posiciones (C) probeta donde se ubica la muestra (D) termómetro (E) inserto con pinza y jineterillos adicionales. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP.

Por **picnometría** (AOAC Method 920.212 y 920.213) se puede determinar la densidad. La densidad relativa de un aceite a 25 °C, con respecto al agua a 4 °C es la relación entre las masas correspondientes a iguales volúmenes de aceite a 25 °C y agua a 4 °C. El ensayo consiste en la determinación de las masas correspondientes a un mismo volumen de agua y aceite a igual temperatura y luego referirlas a la densidad del agua a 4 °C.

Procedimiento experimental: se debe limpiar por varias horas un picnómetro (o matraz aforado) de 50 ml de capacidad con solución sulfocrómica. Luego de vaciarlo, se enjuaga muy bien con agua destilada y se llena con agua destilada recientemente hervida y enfriada a aproximadamente 20 °C. Se deja en un baño de temperatura constante a 25 ± 2 °C. Después de 30 minutos, se enrasa y tapa el picnómetro; se saca del baño, se seca con paño limpio y se pesa al décimo de mg. Finalmente se vacía el picnómetro, se enjuaga varias veces con alcohol y luego con éter, se deja secar completamente y se pesa a la décima de mg. Se determina por diferencia el peso del agua contenida en el picnómetro a 25 ± 2 °C.

Si la muestra tiene algo de humedad, se debe eliminar previamente con sulfato de sodio anhidro, agitando y filtrando a través de papel. Posteriormente se continúa con el procedimiento como ya fue descrito.

La densidad del aceite a 25 °C, relativa a la del agua a 4 °C ($\delta_{25\text{ °C} / 4\text{ °C}}$) se calcula como:

$$(\delta_{25\text{ °C} / 4\text{ °C}}) = [(m_3 - m_1)/(m_2 - m_1)] \times 0,99707$$

m1: masa del picnómetro vacío, en gramos.

m2: masa del picnómetro lleno de agua a 25 °C, en gramos.

m3: masa del picnómetro lleno de aceite a 25 °C, en gramos.

0,99707: densidad del agua a 25 °C, relativa a la densidad del agua a 4 °C.

Grado de alteración de las grasas

El grado de alteración de un aceite o grasa debido al proceso de auto oxidación se puede establecer a través de índices específicos (de conservación) que determinan el nivel de peróxidos (producto primario de la reacción de auto oxidación) o cuantifican distintos productos secundarios (aldehídos) a través de reacciones colorimétricas. Por otro lado, la presencia de ácidos grasos libres (no esterificados) se determina a través de una neutralización con hidróxido.

Índice de acidez (IA)

El **Índice de acidez (IA; AOAC 940.28)** son los mg de hidróxido de potasio necesarios para la neutralización de los ácidos grasos libres presentes en 1 g de grasa o aceite.

Es una medida del contenido de ácidos grasos libres presentes en las grasas y aceites; donde además se determinan los ácidos minerales existentes. A diferencia del índice de saponificación, no se determinan los ácidos grasos ligados en los glicéridos. La importancia de este índice es que da cuenta de los ácidos grasos no esterificados, los cuales son más susceptibles a la oxidación respecto a lo que están esterificados.

Este índice sirve para detectar fallas en el proceso de refinación o reacciones de degradación que se hayan producido por la acción de las lipasas. Puede dar información acerca del peso molecular promedio de los ácidos grasos libres presentes en la muestra.

Procedimiento experimental: se pesan a la décima de mg en un Erlenmeyer aproximadamente 5 g de muestra y se disuelven con 60 ml de la mezcla de alcohol – éter. Se agita y titula con solución de NaOH 0,1N valorada hasta viraje de la fenofaleína.

Si el volumen gastado de solución alcalina es menor a 1 ml, se debe repetir la determinación utilizando una solución de NaOH 0,01 o 0,02 N.

El IA se calcula según la siguiente ecuación:

$$IA = [(56,1 \times V \times N)]/M$$

V: volumen gastado de la solución de NaOH en ml.

N: normalidad de la solución de NaOH.

56,1: peso equivalente del KOH (expresado en mg/mili equivalente).

M: masa de la muestra, en gramos.

Índice de peróxidos (IP)

El **Índice de peróxidos (IP; AOAC Method 965.33)** determina todas las sustancias que oxidan al yoduro de potasio bajo las condiciones del ensayo y se expresa como mili equivalentes de oxígeno activo contenidos en 1 kg de muestra. Es una medida del oxígeno unido a las grasas en forma de peróxido. Como consecuencia de procesos oxidativos, se forman principalmente hidroperóxidos, este método permite -con ciertas limitaciones-, dar una estimación del grado de alteración de un aceite o grasa. Se debe considerar que, si la oxidación está muy avanzada, los peróxidos se degradarán y este índice bajará.

Procedimiento experimental: se pesan a la décima de mg 5 g de aceite en un Erlenmeyer de 250 ml con tapón esmerilado. Se añaden 30 ml de una mezcla de acético: cloroformo (3:1 v/v), para disolver la muestra y luego 0,5 ml de la solución de KI con pipeta de doble aforo. Se espera 1 min. antes de agregar 30 ml de agua destilada.

El yodo liberado se titula con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N mientras se agita, hasta la casi total desaparición del color amarillo del yodo. Añadir entonces 0,5 ml de solución de almidón soluble al 1% y continuar la titulación, agitando vigorosamente, hasta desaparición del color azul. Hacer un blanco solamente con los reactivos.

Si el volumen gastado de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N es menor a 0,5 ml repetir la determinación con solución 0,01 N o 0,02 N. El título del blanco no debe ser mayor que 0,1 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N.

El IP se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{IP} = [(A - B) \times N \times 1000] / M$$

A: volumen gastado (en ml) de tiosulfato de sodio en el ensayo principal.

B: volumen gastado (en ml) de tiosulfato de sodio en el blanco.

N: normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

M: masa de la muestra, en gramos.

Ensayo de Kreis

Este ensayo de evaluación de rancidez oxidativa es un método cualitativo basado en la producción de un compuesto rojo, debido a la reacción extremadamente sensible en medio ácido entre un producto secundario de la oxidación de grasas o aceites, el aldehído epidrínico y la floroglucina. Este ensayo complementa el de IP ya que los productos secundarios se acumulan, no así los primarios como los peróxidos.

Procedimiento experimental: en un tubo de ensayos se colocan 5 ml de aceite y 5 ml de HCl concentrado. Se tapa y se agita por 20 s, y se agregan 5 ml de floroglucina (1% en éter etílico), se tapa nuevamente y se agita por 20 s más. Se observa la coloración a los 10 min. Si la grasa o el aceite está rancio, la capa inferior (ácida) toma un color rosa, violáceo o rojo. Un color naranja o amarillo es negativo.

Modificación de Kerr: se realizan 2 diluciones del aceite original:

- a) un volumen de muestra + 9 volúmenes de vaselina líquida (dilución 1/10 v/v).
- b) un volumen de muestra + 19 volúmenes de vaselina líquida (dilución 1/20 v/v).

Se procede con 5 ml de cada dilución tal como se detalló anteriormente, los posibles resultados se resumen en la Tabla 8.6.

Tabla 8.6. Resultados posibles del ensayo de Kreis con la modificación de Kerr y su interpretación.

Sin diluir	1+9	1+19	Interpretación
-	-	-	No hay rancidez.
+	-	-	No hay rancidez suficiente para producir cambios en el color y sabor, pero pronto se producirán estos cambios.
+	+	-	Rancidez incipiente, acompañada de cambios ya perceptibles en el olor y sabor.
+	+	+	Rancidez definida.

Ensayo del 2-tiobarbitúrico (TBA)

El **ensayo del 2-tiobarbitúrico** (TBA, AOCS CD 19-90) permite la determinación directa sin aislamiento previo en grasas animales y vegetales, ácidos grasos y sus ésteres de los productos secundarios de oxidación. Los productos secundarios de oxidación de grasas y aceites reaccionan con el ácido 2-tiobarbitúrico formando productos de condensación, que tienen un máximo de absorción a 530 nm.

Procedimiento experimental: se pesan 50-200 mg de muestra en un matraz de 25 ml, se disuelven con un pequeño volumen de 1-butanol y se afora. Luego se transfieren 5 ml de la solución a un tubo de ensayo, se agregan 5 ml de TBA (200 mg de TBA en 100 ml de 1-butanol), se tapa el tubo, se mezcla con vórtex e incuba 2 h en un baño a 95° C. Luego de enfriar bajo canilla se mide la absorbancia a 530 nm utilizando agua destilada como blanco. En simultaneo

se realiza el procedimiento con 1-butanol en lugar de la muestra. La lectura no debería ser mayor a 0,1. El valor TBA, se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{Valor TBA} = [50 \times (A - B)/M]$$

A: absorbancia de la muestra.

B: absorbancia del blanco de reactivo.

M: masa de la muestra, en gramos.

50: factor válido cuando el volumen del matraz es de 25 ml y la cubeta tiene 1 cm de camino óptico.

Limitaciones: No es aplicable a muestras que contienen hidratos de carbono y proteínas, los cuales pueden reaccionar con el TBA. Pueden analizarse si se aísla la fracción lipídica por extracción con solventes o si se destilan los compuestos reactivos al TBA por arrastre de vapor. Los hidroperóxidos pueden descomponerse formando compuestos reactivos con el TBA y los antioxidantes pueden reaccionar, disminuyendo el valor de TBA.

Valor de Anisidina (PA)

El **ensayo de p-Anisidina, (PA; AOCS Cd 18-90)** determina la cantidad de aldehídos (principalmente 2-alquenes y 2,4-alcadienos) en grasas vegetales y animales y aceites por reacción de estos compuestos con p-anisidina en una solución. Los compuestos de condensación formados se determinan espectrofotométricamente a 350 nm. El valor de p-anisidina (**PA**) se define como 100 veces la absorbancia (a 350 nm y un camino óptico de 1 cm) de 1 g de aceite en 100 ml de una mezcla de solvente y reactivo, según el método.

Procedimiento experimental: se pesan a la décima de mg entre 0,5-4,0 g de muestra limpia y seca en un matraz de 25 ml. Se disuelve y se lleva a volumen con isooctano. Se mide la absorbancia de la solución (**A_s**) a 350 nm, utilizando el solvente como blanco. Se trasvasan 5 ml de la solución de la muestra (con pipeta aforada) a un tubo de ensayo y se agregan 5 ml de isooctano en otro tubo. Se agrega 1 ml de reactivo de p-anisidina a cada tubo y se agita. Luego de 10 min., se mide la absorbancia de la muestra (**A_m**), usando la solución del segundo tubo de ensayo como blanco. El valor PA, se calcula según la siguiente ecuación:

$$PA = [25 \times (1,2 \times A_m - A_s)/M]$$

A_m: absorbancia de la solución de la muestra después de la reacción con el reactivo de p-anisidina.

A_s: absorbancia de la solución de la muestra.

M: masa de muestra, expresada en gramos.

25: parámetro que tiene en cuenta el volumen del matraz aforado utilizado para la preparación de la muestra.

Limitaciones: La intensidad del color depende de la cantidad de aldehídos y de su estructura. La intensidad de color se incrementa 4-5 veces cuando los dobles enlaces están conjugados; por ello los 2-alquenes y 2,4-alcadienos contribuyen significativamente al valor encontrado. La absorbancia del isooctano, en cubeta de 1 cm de camino óptico, debe ser nula o casi nula en el rango de 350 a 380 nm.

Finalmente, el valor de **TOTOX (Total oxidation value)** es un parámetro muy utilizado en aceites refinados que se calcula como el valor de p-anisidina (PA) más 2 veces índice de peróxido (IP) mediante la siguiente expresión:

$$\text{TOTOX} = \text{PA} + 2 \times \text{IP}$$

Referencias bibliográficas

- Ackman, R.G. 2008. Fatty acids in fish and shell fish. In Chow, C.K., ed., Fatty Acids in Foods and Their Health Implications, pp. 155-185. CRC Press, London, UK.
- AOAC Method 920.212. AOAC Official Method 920.212 Specific gravity (apparent) of oils. Pycnometer.
- AOAC Method 920.213. AOAC Official Method 920.213 Specific gravity of oils. Temperature correct.
- AOAC Method 920.158 Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 920.158 Iodine Absorption Number of Oils and Fats Method). 18 editions.
- AOAC Method 920.159. AOAC (2000), Association of official Analytical chemists, 17th edition, Official Method 920.159-Iodine absorption number of oils and Fats/ISI Handbook of food analysis (part XIII)1984,76.
- AOAC Method 920.160. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 920.160. Saponification Number of Oils and Fats/IUPAC 2.202 I.S. I Handbook of Food Analysis (Part XIII),1984, 17th edition, 2000.
- AOAC Method 921.08. AOAC method 921.08. Refractive index Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, 2000.
- AOAC Method 930.08. AOAC Official Method 933.08 Residue Unsaponifiable of Oils and Fats Ether Extraction Method.
- AOAC Method 940.28. AOAC Official Method 940.28 Fatty Acids (Free) in Crude and Refined Oils.
- AOAC Method 965.33. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 965.33. Peroxide value in oils and fats/Pearson's composition and analysis of food, 17th edition, pp. 641, 2000.
- AOCS Cd 19-90. AOCS Official Method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric Acid Value, Direct Method. Reapproved 2017.
- AOCS Cd 18-90. AOCS Official Method Cd 18-90. p-Anisidine Value.

- Badui Dergal, Salvador (2006). Capítulo 4: Lípidos en Química de los Alimentos Cuarta edición. Editor: Enrique Quintanar Duarte. Pearson Educación. Atlacomulco, México, ISBN: 970-26-0670-5. 736 páginas.
- FAO y FINUT, 2012. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de Expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición ISSN 1014-2916 FAO ISBN 978-92-5-3067336.
- UNLP (2023). Guía de Nutrición y Bromatología- Trabajos Prácticos, TP Grasas y Aceites de la Universidad Nacional de La Plata.
- White, P.J. 2008. Fatty acids in oilseeds (vegetable oils). In Chow, K.C. ed. Fatty Acids in Foods and their Health Implications, pp. 227-262. CRC Press, New York, NY.
- Wood, J.D., Enser, M., Richardson, R.I. & Whittington, F.M. 2008. Fatty acids in meat and meat products. In Chow, C.K., ed. Fatty Acids in Foods and their Health Implications pp. 87-107. CRC Press, London, UK.

CAPÍTULO 9

Determinación de fibra alimentaria. Métodos químicos y enzimáticos

Carlos Gabriel Arp

La fibra, sus definiciones y clasificaciones

La fibra alimentaria es un grupo de componentes presente especialmente en alimentos de origen vegetal, entre los cuales se encuentran diversos tipos de polímeros. En la alimentación, la fibra cumple un rol fundamental en la salud gastrointestinal y en la modulación de la microbiota, influyendo directa e indirectamente en el bienestar general. Es así como, en las últimas décadas, se ha señalado cada vez más la importancia de la ingesta de cantidades adecuadas de fibra como estrategia para disminuir la incidencia de diversas enfermedades crónicas no transmisibles, como las enfermedades cardiovasculares y del metabolismo. Entre estas estrategias se encuentran la obligatoriedad de incluir el valor de fibra en los rótulos de los alimentos, así como la redacción de guías y recomendaciones para promover su consumo, entre otras.

¿Por qué los alimentos contienen fibra?

La fibra alimentaria se relaciona principalmente con alimentos de origen vegetal. En estos alimentos, a nivel celular y por encima de la membrana plasmática, se encuentra una estructura llamada pared celular, encargada de conferir firmeza y resistencia a la célula. Esto es así en frutas, verduras, raíces, tubérculos, legumbres, etc. Estas paredes están conformadas principalmente por varios tipos de polisacáridos con diversas características. Durante el desarrollo de los vegetales, estos polisacáridos se estructuran, permitiendo al organismo mantener su forma y no colapsar por su propio peso. Además, les otorga protección contra daños y ataques durante su crecimiento.

Sin embargo, con el pasar del tiempo y en las condiciones ambientales adecuadas, muchos vegetales (principalmente los frutos) alteran su metabolismo y producen enzimas capaces de modificar e hidrolizar los componentes de las paredes celulares, generando cambios en su estructura, liberación de ácidos y compuestos volátiles, y ablandamiento. Es por esta razón que

los vegetales inmaduros o “verdes”, que se encuentran en etapa de crecimiento y por ende deben mantenerse protegidos, son más firmes y resistentes; y que los frutos maduros, que ya se encuentran desarrollados, son más blandos, aromáticos y delicados, lo que facilita su consumo y por lo tanto la diseminación de sus semillas, garantizando su reproducción.

Por fuera del reino vegetal, podemos encontrar compuestos de similares características en hongos superiores, en bacterias, e incluso en ciertos animales. Pero, en definitiva, todos estos compuestos comparten una característica fundamental: no pueden ser digeridos y absorbidos en forma directa por el sistema digestivo de las personas, ya que no cuentan con las enzimas necesarias para su hidrólisis. El resultado es que estos polisacáridos pueden atravesar el tracto gastrointestinal y llegar al colon sin demasiadas modificaciones, lo que genera ciertos efectos a nivel físico y fisiológico, como veremos más adelante.

Hacia una definición de fibra

Fibra alimentaria (o dietaria) es un término que abarca a aquellos componentes que no pueden ser digeridos en el tracto gastrointestinal de personas sanas debido a la ausencia de enzimas digestivas endógenas capaces de hidrolizarlos. Así, en su definición clásica, la fibra alimentaria consiste en fragmentos remanentes de componentes de las paredes celulares de plantas, entre ellos, diversos polisacáridos no almidonosos y lignina. Entre estos polisacáridos se destacan la celulosa, hemicelulosas y pectinas. La lignina, por su parte, es un polímero complejo formado a partir de numerosos y diversos compuestos fenólicos en un arreglo molecular amorfo, siendo la principal responsable de estructurar y dar rigidez a maderas y cortezas.

A medida que proliferaron los estudios sobre la fibra alimentaria a partir de la década de 1950, esta definición más tradicional comenzó a ser cuestionada, ya que toda una gama de componentes alimentarios no digeribles quedaba excluida de esta definición, ya sea por no ser parte de las paredes celulares vegetales, por pertenecer a la fracción almidonosa o por no ser de origen vegetal. Tanto es así, que en su acepción más general el Código Alimentario Argentino define fibra alimentaria como “... cualquier material comestible que no sea hidrolizado por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano”. Entre estos compuestos se encuentran las gomas y mucílagos exudados de origen vegetal, bacteriano y fúngico; los almidones resistentes, aquellos fragmentos almidonosos que llegan al intestino grueso sólo parcialmente hidrolizados; y la quitina, un polisacárido nitrogenado no digerible presente en hongos y animales (artrópodos, anélidos, cnidarios).

Así, si bien es posible agrupar a todos estos compuestos en una definición amplia, la diversidad de componentes que conforman a la fibra ha hecho que sea un concepto difícil de caracterizar, ya que podemos encontrar diferencias según su origen, composición, propiedades fisicoquímicas y sus efectos fisiológicos, entre otras. Esto ha llevado a que coexistan distintas clasificaciones para la fibra, dependiendo de los criterios utilizados.

Clasificación de la fibra alimentaria

Clasificar la fibra alimentaria es una tarea compleja. En general, no resulta muy útil emplear criterios químicos o estructurales a la hora de diferenciar las fracciones de la fibra debido a la heterogeneidad de sustancias químicas que la integran. Bajo una clasificación de este tipo, habría casi tantas fracciones de fibra como sustancias que la componen. Así, si bien el estudio de las características fisicoquímicas y estructurales es necesario para realizar una caracterización completa de la fibra, en la práctica resulta más útil emplear clasificaciones basadas en otros criterios. Éstos pueden ser metodológicos (por la forma en la que es cuantificada), o estar ligados a propiedades que las agrupen y den una idea más general de sus efectos a la hora de formular un alimento y/o ingerirlo. Entre ellos, se destacan la solubilidad en un entorno gastrointestinal simulado o la capacidad de ser fermentada por la microbiota intestinal, propiedades que, además, se encuentran estrechamente relacionadas entre sí.

En la Figura 9.1 pueden observarse en forma esquemática algunas de las clasificaciones más importantes de la fibra y las relaciones entre algunas de ellas.

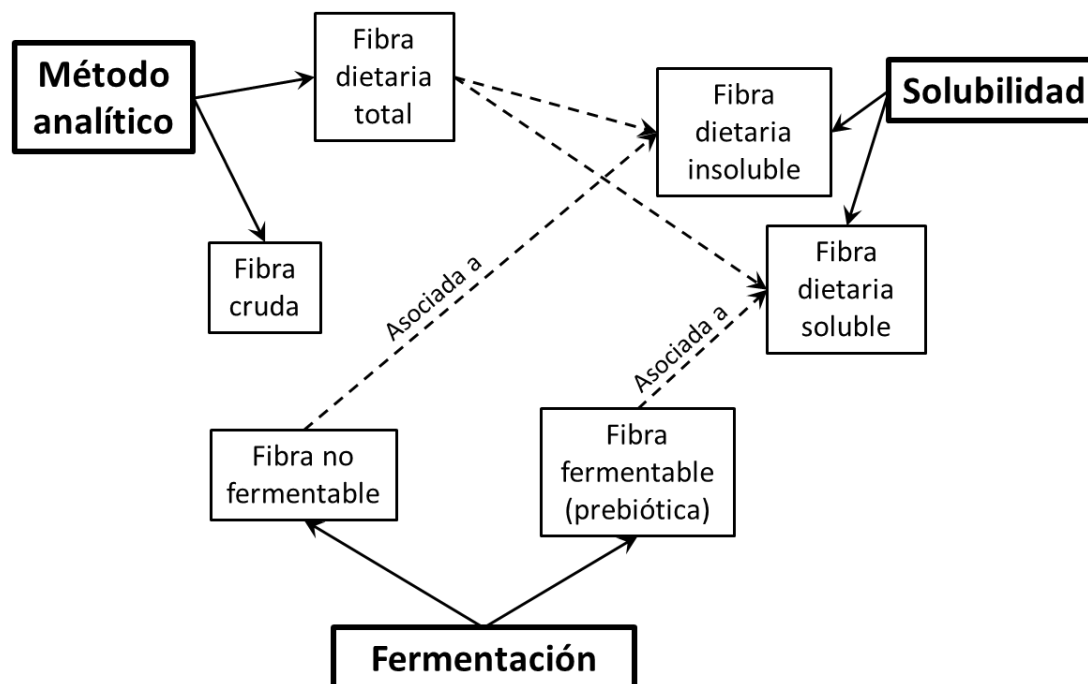


Figura 9.1. Clasificaciones y definiciones de la fibra y sus relaciones.

Propiedades físicas y químicas

Como fue mencionado anteriormente, la química de las sustancias que componen la fibra es un criterio que no resulta demasiado adecuado para clasificarlas. Sin embargo, es y ha sido

sumamente necesaria para establecer y comprender los otros criterios de clasificación que se usan actualmente.

En la Tabla 9.1 se describen, en forma resumida, algunas de las propiedades químicas más elementales de los distintos tipos de fibra. Otras características que influyen en gran medida en estas propiedades y deben ser tenidas en cuenta para una comprensión más exhaustiva son, por ejemplo, su tamaño de partícula, sus propiedades superficiales y su capacidad para unirse a otros componentes. Muchas de estas características, además de determinar sus efectos en la digestión y en la salud, influyen fuertemente en las propiedades tecnológicas y organolépticas de los alimentos, como su textura, estabilidad, humedad, color, sabor, vida útil, etc. Se hará hincapié principalmente en dos de estas características: su solubilidad y su fermentabilidad, teniendo en cuenta otras de las variables cuando resulte pertinente.

Solubilidad, fermentabilidad y sus efectos

La fibra dietaria otorga ciertos beneficios generales en la dieta que son independientes de sus propiedades, como producir un efecto de saciedad y disminuir el apetito. Esto se debe principalmente a que aportan volumen no calórico a los alimentos. Sin embargo, muchas otras propiedades de importancia sí dependen del tipo de fibra y sus características. En particular, la propiedad de la fibra de ligar agua y/o formar soluciones acuosas viscosas se relaciona estrechamente con su potencial para ser fermentada por la microbiota intestinal, y con otros beneficios fisiológicos distintivos. A su vez, la solubilidad en agua de la fibra dietaria impacta en las características y la calidad tecnológica de los alimentos. Por estas razones, resulta útil realizar una caracterización de sus distintas fracciones en función de estos criterios para así predecir sus efectos, ya sean tecnológicos y/o nutricionales, a la hora de evaluar o formular un alimento.

Celulosa, lignina y hemicelulosas: fibra insoluble y poco fermentable

La fibra insoluble se asocia principalmente a la celulosa, la lignina y ciertas hemicelulosas (Tabla 9.1). Este tipo de fibra es capaz de absorber muy poca agua, no forma soluciones viscosas, y carece de capacidad gelificante. En particular, en el caso de la celulosa, la ausencia de enzimas endógenas capaces de hidrolizar sus enlaces glicosídicos β (1 $\rightarrow$ 4) permite que ésta pueda alcanzar el intestino grueso prácticamente intacta. Aún más, su estructura tridimensional fuertemente estabilizada por puentes de hidrógeno hace que sus moléculas permanezcan en un arreglo tridimensional cristalino y compacto, impidiendo que la microbiota colónica pueda fermentarla. La lignina, por su parte, es prácticamente refractaria a cualquier tratamiento químico o enzimático que pueda ocurrir a nivel fisiológico.

Sin embargo, por su incapacidad de ligar agua y aumentar la viscosidad del contenido intestinal, la fibra insoluble aumenta la velocidad del tránsito intestinal. Esto trae aparejado ciertos beneficios. Por un lado, puede contribuir a aliviar malestares y riesgos asociados a la constipación. Por otro lado, la reducción del tiempo de permanencia de las heces en el intestino

grueso puede ayudar a reducir el riesgo de enfermedades graves como el cáncer colorrectal, ya que disminuye el tiempo que las células epiteliales del intestino quedan expuestas a sustancias potencialmente mutagénicas, cancerígenas o tóxicas que puedan estar presentes en las heces.

A nivel tecnológico, la fibra insoluble tiene efectos relativos dependiendo el alimento en el que se desee incorporar. En general, al no absorber agua, no compite por ella con otros componentes de los alimentos. Sin embargo, sus efectos en una matriz alimentaria son altamente dependientes de la cantidad en la que se presente y de su tamaño de partícula, ya que puede interferir físicamente y obstaculizar interacciones entre los distintos componentes de los alimentos, alterando su estructura. Adicionalmente, la incorporación de fibra insoluble a formulaciones alimentarias puede generar modificaciones indeseadas en el perfil organoléptico del producto (textura, sabor, color, etc.), por lo que continuamente se realizan esfuerzos por encontrar y desarrollar fuentes de fibra que no impacten negativamente en los alimentos, como los almidones resistentes o las celulosas modificadas.

Pectinas, gomas, mucílagos y hemicelulosas: fibra soluble y fermentable

La fibra soluble es aquella capaz de absorber cantidades significativas de agua y formar soluciones viscosas, con mayor o menor capacidad gelificante. Es en esta interacción con las moléculas de agua que estos componentes se despliegan, dejando expuestos aquellos sitios a los cuales pueden unirse las enzimas de la microbiota intestinal, permitiendo su fermentación. Entre estos compuestos se encuentran principalmente las pectinas, gomas y mucílagos (Tabla 9.1), pero también algunos tipos de almidón y dextrinas resistentes, celulosas modificadas, ciertas fracciones de hemicelulosa, entre otras.

En general, los componentes de la fibra soluble que consisten en polímeros de cadena muy larga (como la goma guar y la goma tragacanto) generan viscosidades más elevadas, mientras que aquellos polímeros que son muy solubles, y además son más ramificados o de cadena más corta (como la goma arábica), producen viscosidades menores. De todas formas, debe tenerse en cuenta que la viscosidad producida por estos componentes puede depender de otros factores, como la temperatura, el pH, la fuerza iónica del medio, el tamaño de partícula, la presencia de otros componentes y los procesamiento a los que hayan sido sometidos (secado, molienda, extrusión, etc).

La capacidad de estas sustancias de generar soluciones viscosas tiene un efecto retardante en el tránsito intestinal. Esto hace que el quimo (la mezcla del alimento disgregado, bilis, moco y enzimas digestivas que avanza por el intestino delgado) permanezca más tiempo en el intestino. Por otro lado, el incremento de la viscosidad del contenido intestinal también disminuye la difusividad de las enzimas digestivas y otros componentes, lo que puede llevar a reducir en cierta medida la digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes. Esto cobra particular importancia en la digestión de carbohidratos, donde una digestión y absorción lenta contribuye a reducir el riesgo de enfermedades del metabolismo como diabetes mellitus tipo II, obesidad y síndrome metabólico.

Tabla 9.1. Características de las fracciones de fibra más comunes.

Fracción	Descripción	Característica	Fuentes
Celulosa	Homopolisacárido no ramificado de glucosa en unión glicosídica β (1 $\rightarrow$ 4). Principal componente estructural de las paredes celulares de vegetales. Soluble sólo en ácidos concentrados.	Insoluble en agua Poco fermentable	Vegetales, algas y algunas bacterias excretoras (celulosa bacteriana)
Lignina	Heteropolímero no polisacárido, complejo y altamente ramificado, de compuestos fenólicos (fenilpropano). Soluble sólo en álcalis fuertes concentrados.		Principalmente en vegetales leñosos
Hemicelulosa	Heteropolisacárido ramificado de xilosa, glucosa, manosa, galactosa, arabinosa, entre otros, y algunas de sus formas ácidas (ácidos glucurónico y galacturónico).	Solubilidad y fermentabilidad relativas a su composición	Cereales (pentosanos o arabinoxilanos), maderas, plantas forrajeras y algunas algas verdes
Pectinas	Heteropolímeros de ácido galacturónico y sus metilésteres en unión α (1 $\rightarrow$ 4). Se clasifican en función del grado de esterificación. Capacidad gelificante.	Soluble en agua. Más fermentable	Semillas y cáscaras de frutas (manzanas, damascos, cítricos), vegetales, legumbres
Gomas	Variedad de polisacáridos altamente ramificados excretados por distintos vegetales en respuesta a un daño. También producidas por algas y microorganismos. Se componen de pentosas, hexosas y sus ácidos urónicos, en diversa proporción dependiendo de su origen.		Acacia (goma arábiga), <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (goma guar), <i>Ceratonía siliqua</i> (goma garrofin), algas (carragenanos, alginatos), bacterias (goma xántica)
Mucílagos	Polímeros compuestos de pentosas, hexosas y ácidos urónicos. Producidos por plantas para evitar la deshidratación de sus semillas.		Semillas de chía, cactus, suculentas, vegetales, algas y cianobacterias (goma acacia, goma tragacanto, goma karaya)

Por otra parte, las características de la fibra soluble le permiten ser fácilmente fermentadas por la microbiota. En este proceso se generan ácidos grasos de cadena corta (aquellos de menos de 6 átomos de carbono, como el ácido butírico), capaces de regular el pH intestinal, promover el crecimiento de la microbiota beneficiosa (efecto prebiótico), proveer de energía a las células del epitelio intestinal y estimular su crecimiento, mejorar la respuesta inmune, facilitar la absorción de agua y proveer efecto antiinflamatorio y antioxidante, ayudando a aliviar enfermedades inflamatorias en el intestino. Adicionalmente, aquellos componentes de la fibra

con alto contenido de compuestos fenólicos y ácidos urónicos han demostrado ser capaces de secuestrar e incluso unirse a sales biliares, lo cual proporciona un efecto hipocolesterolémico que contribuye a disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

A nivel tecnológico, las propiedades relacionadas a la hidratación de la fibra son determinantes para los atributos del alimento en el que están presentes o son incorporadas. Las gomas y mucílagos son usualmente empleados como aditivos en la formulación de bebidas, postres, untables, panificados y otros alimentos para que ejerzan efectos estabilizantes, espesantes, gelificantes, entre otros. Es también el caso de las celulosas modificadas, cuyos tratamientos químicos le introducen grupos funcionales como carboximetilo, hidroxipropilo y metilo a los residuos de glucosa, modificando su estructura tridimensional, otorgándole solubilidad, capacidad viscosante y gelificante.

Métodos analíticos

La fibra en los alimentos no es detectada por los métodos tradicionales para cuantificar carbohidratos, debido a su heterogeneidad y resistencia a la hidrólisis química empleada en tales métodos (ver Capítulo 6). Por esta razón, se han desarrollado métodos específicos para su cuantificación mediante la separación y/o eliminación del resto de los componentes del alimento, por vías químicas o enzimáticas.

Fibra cruda

Por definición, la fibra cruda es **la pérdida por ignición** del residuo seco obtenido después de la digestión de la muestra con soluciones de H_2SO_4 1,25% p/v y NaOH 1,25% p/v bajo condiciones estandarizadas (AOAC 978.10). Esta clasificación responde a una definición metodológica y comprende a todas las fracciones del alimento que se eliminan mediante este proceso. La metodología fue desarrollada de tal manera que, durante la digestión secuencial en caliente con ácido y base de una muestra desgrasada, se obtenga un residuo libre de proteínas, carbohidratos y otros componentes. El método se sirve de dos etapas de filtración y lavado entre los tratamientos químicos, y emplea asbestos para facilitar el proceso. Posteriormente, este residuo es calcinado hasta obtener sólo las sales y minerales asociados a él. Así, habiéndose separado lípidos, eliminado proteínas y carbohidratos, y descontando minerales, la materia restante (es decir, la que se perdió durante la calcinación) corresponde a la fibra cruda. Puede observarse un esquema simplificado de este procedimiento en la Figura 9.2.

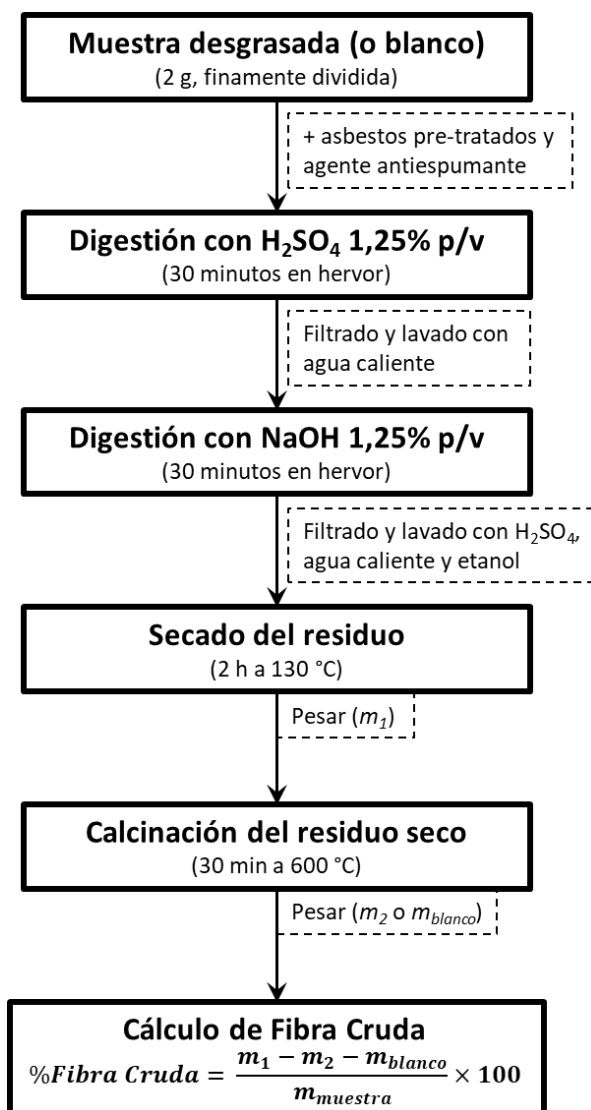


Figura 9.2. Protocolo experimental para la determinación de fibra cruda.

Esta metodología, basada en tratamientos puramente físicos y químicos, no logra reproducir exactamente lo que ocurre tras la ingestión de un alimento. Al contrario, bajo estas condiciones de digestión, fuertemente ácidas y básicas, gran parte de los componentes que definimos como parte de la fibra son hidrolizados y, por lo tanto, eliminados. Ya que sólo la celulosa, parte de las hemicelulosas y la lignina presentan un comportamiento químico capaz de resistir estas condiciones, el contenido de fibra por este método produce, para la mayoría de las muestras, un gran error por defecto respecto a lo que ocurriría con un alimento cuando es ingerido. Esto es particularmente importante en alimentos ricos en fibra soluble. Por esta razón, en la actualidad esta técnica ha ido quedando en desuso, empleándose casi exclusivamente para la caracterización de piensos para alimentación animal. Nuevas metodologías, basadas en

tratamientos enzimáticos, permiten simular con mayor fidelidad lo que ocurre con un alimento ingerido por el organismo humano y, por lo tanto, logran resultados más cercanos a la realidad.

Fibra dietaria total

El método de fibra dietaria total (*TDF* por sus siglas en inglés) desarrollado por Prosky y col. (1985; 1988; 1992), a diferencia del de fibra cruda, incorpora enzimas digestivas a la determinación. Actualmente, es un **método enzimático-gravimétrico** oficial de la AOAC (985.29) y la AACC (32-05.01). Dado que esta técnica se basa en simular las condiciones gastrointestinales de la digestión humana, da un resultado más fidedigno, incluye a las diferentes fracciones de la fibra y da información más confiable respecto al contenido de fibra en alimentos para consumo humano.

Para la determinación, se pesa por duplicado 1,0000 g de muestra (M_{m1} y M_{m2} en la Figura 9.3) desgrasada (si contiene más de 10% de materia grasa) y suficientemente seca como para permitir una molienda fina (0,3 – 0,5 mm) en sendos vasos de precipitados de cuello alto (Berzelius) de 500 ml. Sobre las muestras, se adiciona 50 ml de buffer fosfato a pH 6, y se cubre con film de aluminio. Para la determinación de un único valor de fibra dietaria total en una muestra, debe tenerse en cuenta que este procedimiento debe realizarse indefectiblemente con dos replicados pesados independientemente con una diferencia menor a 20 mg entre ellos.

Una vez preparadas las muestras, el procedimiento siguiente puede dividirse en 3 etapas principales: digestión enzimática, precipitación-filtración y correcciones finales.

La digestión enzimática se realiza en 3 subetapas secuenciales: digestión a 100 °C por 30 min con α -amilasa termoestable a pH 6 en buffer fosfato, con agitación; digestión a 60 °C por 30 min con proteasa a pH 7,5, con agitación; y digestión a 60 °C por 30 min con amiloglucosidasa a pH 4,5, con agitación.

Una vez obtenidos los digeridos, se procede con la precipitación de la fibra soluble. Para esto, se adicionan 4 volúmenes de alcohol 95% v/v precalentado a 60 °C a cada digerido, y se dejan reposar durante 60 min a temperatura ambiente.

Luego del reposo, cada precipitado formado se filtra sobre sendos crisoles con vidrio fritado de poros de 40 – 60 μ m, conteniendo 1 g de celite (óxidos de silicio) a modo de lecho filtrante y previamente secados en estufa a 130 °C por 2 h y pesados (M_{f1} y M_{f2}). Para esto, puede emplearse una bomba de vacío con un kitasato, o una unidad de filtración como la presentada en la Figura 9.4. Durante la filtración, los residuos sólidos retenidos en cada filtro deben ser lavados sucesivamente con etanol 78%, etanol 95% y acetona. El residuo sólido retenido en cada filtro y lavado contendrá la suma de la fibra insoluble y la fibra soluble precipitada, junto con humedad y restos de proteínas y minerales asociados.

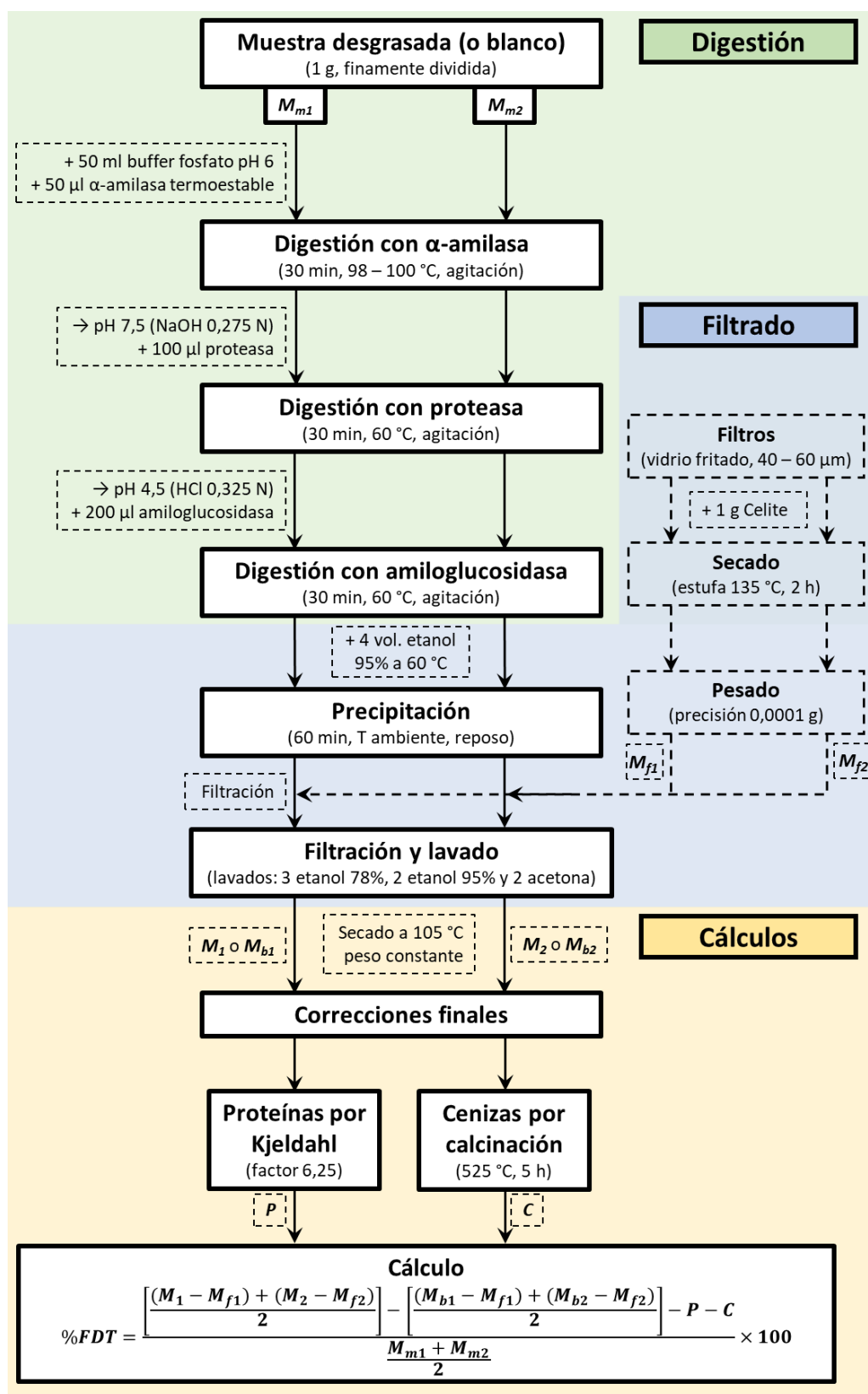


Figura 9.3. Diagrama experimental de la determinación de fibra dietaria total.



Figura 9.4. Unidad de filtración y detalle de filtros para la determinación de fibra dietaria total.

Para realizar el cálculo del contenido de fibra dietaria total, es necesario eliminar la humedad de los residuos y conocer qué cantidad de proteínas y minerales quedaron retenidos para poder descontarlos del valor final, ya que de no hacerlo se cometería un error por exceso por el aporte que hacen estos componentes al peso del residuo. En primer lugar, cada filtro conteniendo su residuo se seca hasta peso constante en estufa a 105 °C, registrándose su peso seco total (M_1 y M_2). Una vez secos, se destinará un residuo a la corrección de minerales (método por calcinación en mufla a 525 °C, 5 h) y el otro a la corrección de proteínas (método Kjeldahl, factor 6,25) (ver Capítulos 5 y 7, respectivamente). Los blancos se determinarán mediante el mismo procedimiento, en paralelo, sin agregado de muestras (M_{b1} y M_{b2}). Una vez determinados estos valores, se realizan los cálculos finales y se obtiene el valor de fibra dietaria total.

Determinación de las fracciones soluble e insoluble

Al método para determinar fibra dietaria total, basado en los métodos 985.29 (AOAC) y 32-05.01 (AACC) explicados en el apartado anterior, se le han incorporado modificaciones que permiten discriminar entre las fracciones solubles (método AOAC 993.19) e insolubles (método AOAC 991.42) de la fibra. Estos nuevos métodos siguen los mismos pasos que el método de fibra dietaria total en lo que respecta a la etapa de digestión enzimática. A partir de este punto, lo que ocurre es una modificación en las etapas de precipitación y filtración, como se detalla a continuación (Figura 9.5).

Una vez digeridas las muestras, las mismas se filtran mediante vacío sobre los filtros preparados para tal fin como fue detallado para la determinación de fibra dietaria total. Tanto los recipientes que contenían los digeridos como los residuos retenidos en el filtro se lavan con 2 alícuotas de agua destilada precalentada a 60 °C. En este punto, los volúmenes de filtrado y el agua de lavado se recolectarán en recipientes adecuados para su análisis posterior, ya que en

ellos se encuentran los componentes solubles de la fibra. Por otra parte, en los residuos sólidos retenidos por los filtros se encuentran sus componentes insolubles.

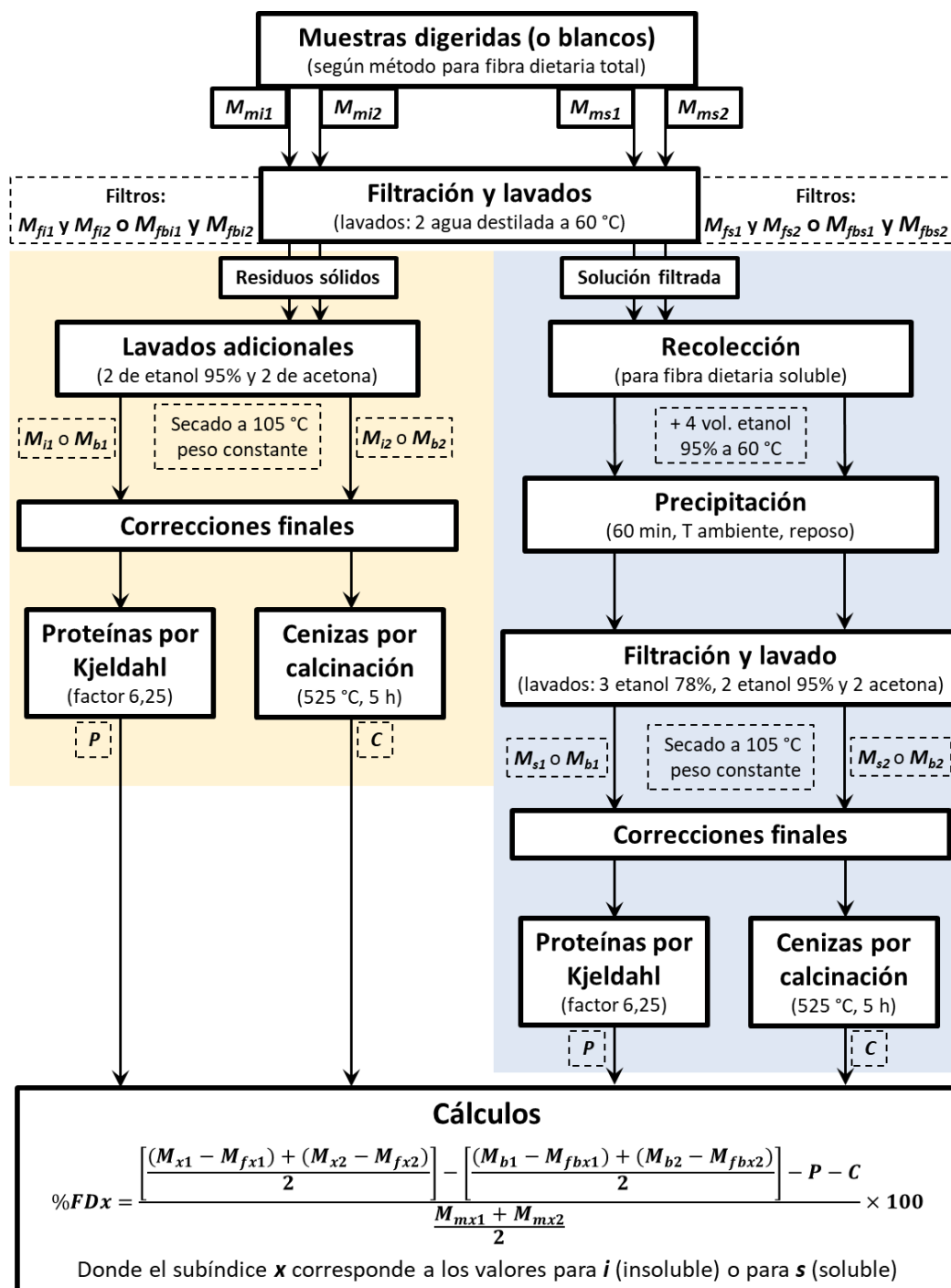


Figura 9.5. Esquema experimental para la determinación de fibra soluble e insoluble.

Continuando con el tratamiento de los residuos (fibra insoluble), luego del lavado con agua, los residuos contenidos en cada filtro se lavarán nuevamente pero ahora con 2 alícuotas de 10 ml de etanol 95% y otras 2 alícuotas de 10 ml de acetona, empleando una bomba de vacío o

unidad de filtración. Estos nuevos volúmenes de lavado no se recolectan ni deben mezclarse con los anteriores. Una vez lavados, los filtros conteniendo los residuos se secan en estufa a 103 °C hasta peso constante. Una vez secos y enfriados, los filtros con su residuo son pesados y, por diferencia con los pesos de los filtros antes del filtrado, se obtiene la masa de cada residuo. Luego, un residuo de cada uno de los dos filtros se destinará a un análisis de proteínas por el método Kjeldahl para la corrección de su peso por contenido proteico, y la otra a una calcinación en mufla por 5 h a 525 °C para la corrección por contenido de sales y minerales. Así, para el cálculo de la fibra dietaria insoluble, puede emplearse la fórmula que se muestra en la Figura 9.5.

Por el otro lado, para determinar el contenido de fibra soluble se deberán analizar los líquidos recolectados durante la filtración. Para esto, en primer lugar, se deberán lavar con etanol 95% los vasos que contenían el digerido inicial, juntando este volumen de alcohol con los líquidos recolectados. Conociendo el volumen o peso de cada solución recolectada (o tomando una alícuota de volumen conocido de las mismas), se le agregarán 4 volúmenes de etanol 95% precalentado a 60 °C. Como ocurre en el método de fibra dietaria total, este paso inducirá la precipitación de la fibra soluble contenida en la solución. Así, la muestra se deja reposar durante 1 h a temperatura ambiente.

Una vez terminado el reposo, las muestras se filtran cuantitativamente, de igual forma que las anteriores, en nuevos filtros previamente preparados con celite, secados y pesados. El residuo y el vaso se lavarán, en primer lugar, con 2 alícuotas de 15 ml de etanol 78%, 2 alícuotas de 15 ml de etanol 95%, y finalmente con 2 alícuotas de 15 ml de acetona. Finalmente, los filtros se secarán en estufa a 103 °C hasta peso constante, se pesarán, y nuevamente se destinará un residuo a la determinación de proteínas por método Kjeldahl y otro a la calcinación en mufla por 5 h a 525 °C para para corregir su peso por proteínas y minerales, respectivamente. Empleando también los valores de los blancos, los cálculos finales se realizan según se muestra en la Figura 9.5.

Fuentes de fibra

La mayor parte de la fibra dietaria proviene de alimentos vegetales, ya sea el caso de frutas, verduras, legumbres, frutos secos y granos, siendo estos últimos los que proveen la mayor concentración de fibra debido a su bajo contenido de agua. Sin embargo, como fuera tratado a lo largo de este capítulo, la fibra no es exclusiva del reino vegetal, sino que puede encontrarse también en el reino fungi (hongos comestibles), en el reino animal (varios grupos de invertebrados como los artrópodos), y en bacterias.

En general, los alimentos con alto contenido de fibra presentan menor densidad calórica, ya que ésta no aporta cantidades significativas de calorías. Esta situación cambia ligeramente en el caso de la fibra prebiótica que, al ser fermentada por la microbiota intestinal, es transformada en metabolitos (ácidos grasos de cadena corta) capaces de ser absorbidos y metabolizados por los enterocitos a nivel del intestino grueso, aportando cierto valor energético de forma indirecta.

Por otro lado, muchos alimentos ricos en fibra son también ricos en micronutrientes asociados a ella. Este es el caso de los granos integrales y los frutos con cáscara, cuya fibra se encuentra generalmente asociada a minerales, vitaminas y antioxidantes. Adicionalmente, estos alimentos generan mayor sensación de saciedad y se ingieren más lentamente debido a que requieren una mayor masticación. La Tabla 9.2 muestra, a modo de resumen, los contenidos típicos de fibra en una variedad de alimentos sin procesar o mínimamente procesados.

Tabla 9.2. *Contenido de fibra de diversos alimentos mínimamente procesados.*

Fuente	Fibra dietaria*	Fuente	Fibra dietaria*
Trigo (grano entero)	12,6	Brócoli (crudo)	3,3
Maíz	13,4	Zanahoria (cruda)	2,5
Arroz (cocido)	0,7	Manzana (con cáscara)	2,0
Avena	10,3	Frutilla	2,2
Arvejas	3,5	Naranja	1,8
Soja	15,0	Pera	3,0
Papas (sin piel)	1,3	Banana	1,7
Espinaca (cruda)	2,6	Maní (seco, tostado)	8,0
Remolacha	7,8	Almendras	11,2
Berenjena	6,6	Semillas de sésamo	7,8
* g/100 g de porción comestible			

Nota. Adaptada de *Dietary fibre content of various food sources*, de Dhingra y col., 2012, *Journal of Food Science and Technology*

Ingesta diaria recomendada y rotulado nutricional

Los organismos internacionales de salud, como la OMS, recomiendan una ingesta diaria de entre 20 y 35 g de fibra, una cantidad que puede ser fácilmente provista por una dieta que incluya granos enteros, que pueden aportar entre 10 y 35 g de fibra por cada 100 g de materia seca dependiendo su origen. Sin embargo, actualmente este valor se encuentra bastante alejado del consumo real en las dietas occidentales, el cual ronda los 16 g diarios, y esto se debe principalmente al elevado consumo de alimentos industrializados formulados a base de harinas refinadas y otros ingredientes con alto grado de procesamiento.

Para ayudar a revertir esta situación, una estrategia ha sido la incorporación obligatoria del contenido de fibra en los rótulos alimentarios (ver Capítulo 1), siempre que esta supere el valor de 0,5 g por porción comestible, así como su contribución al valor diario de referencia (VDR) que, en este caso y para una dieta de 2000 kcal, es de 25 g de fibra.

Asimismo, se ha implementado el uso de la información nutricional complementaria (INC), sobre la cual es posible destacar el contenido de fibra de un alimento como “fuente de fibra”, “con fibra” o “contiene fibra”, cuando el mismo presenta, **en términos de contenido absoluto**, al menos 3 g de fibra cada 100 g (o ml) en platos preparados o 2,5 g por porción, según corresponda. De igual forma, se permite también destacar como alimento con “alto contenido de

fibra”, “rico en fibra”, o con “alto tenor de fibra” cuando este contenga al menos 6 g de fibra cada 100 g (o ml) en platos preparados o 5 g por porción, según corresponda.

Por su parte, **en términos de contenido comparativo**, es posible declarar al alimento como “aumentado en fibra” cuando el mismo sea formulado de tal manera que contenga, al menos, un 25% más de fibra respecto al alimento de referencia, teniendo este último que cumplir previamente con el requisito “fuente de fibra”.

En este punto, es importante destacar que estas declaraciones nutricionales sólo están permitidas para la fibra en forma general, y no para fracciones o componentes particulares de la misma.

Referencias bibliográficas

- AOAC Official Method 978.10 Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food: Fritted Glass Crucible Method', en Dr. George W Latimer, Jr. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 22, <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.1417>, accessed 22 Apr. 2024.
- AOAC Official Method 985.29 Total Dietary Fiber in Foods: Enzymatic–Gravimetric Method', en Dr. George W Latimer, Jr. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 22, <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.3808>, accessed 22 Apr. 2024.
- AOAC Official Method 991.42 Insoluble Dietary Fiber in Foods and Food Products: Enzymatic–Gravimetric Method, Phosphate Buffer', en Dr. George W Latimer, Jr. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 22, <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.2940>, accessed 22 Apr. 2024.
- AOAC Official Method 993.19 Soluble Dietary Fiber in Food and Food Products: Enzymatic–Gravimetric Method (Phosphate Buffer)', en Dr. George W Latimer, Jr. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 22, <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.3809>, accessed 22 Apr. 2024.
- Cho, S.S. (Ed.). (2001). Handbook of Dietary Fiber (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203904220>
- Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. Dietary fibre in foods: a review. J Food Sci Technol. 2012;49(3):255–66. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- Ma, S., Wang, Z., y Zheng, X. (2021). Application of dietary fibers in flour products. Trends in Wheat and Bread Making, 255-277.
- Ministerio de Salud de la Nación. (2022). Normas para la Rotulación y Publicidad de los Alimentos. En Código Alimentario Argentino. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>.

- Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., Devries, J. W., y Furda, I. (1988). Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71(5), 1017-1023.
- Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., Devries, J. W., y Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75(2), 360-367.
- Prosky, L., Asp, N. G., Furda, I., DeVries, J. W., Schweizer, T. F. y Harland, B. F. (1985). Determination of total dietary fibre in foods and food products:

CAPÍTULO 10

Aditivos alimentarios

Ricardo Martín Torrez Irigoyen

Introducción

La selección de un alimento por parte de un consumidor depende por lo general de diferentes factores como, por ejemplo, el color, el aroma, el sabor, la textura, el precio, el valor nutricional, la facilidad de preparación y su tiempo de vida útil. Si bien cada ingrediente del alimento contribuye en cierta medida en alguna de estas características, en ocasiones las mismas deben de reforzarse con el fin de mejorar los resultados y obtener productos más atractivos para los consumidores. En este aspecto, la industria alimentaria cuenta con sustancias denominadas aditivos que pueden contribuir a alcanzar dichos objetivos, en este capítulo se realizará una descripción de los mismos y sus principales usos en alimentos.

Concepto de aditivo alimentario

El Código Alimentario Argentino (CAA), en su capítulo XVIII, define como aditivo alimentario cualquier sustancia o mezcla de sustancias que directa o indirectamente modifiquen las características físicas, químicas o biológicas de un alimento, a los efectos de su mejoramiento, preservación o estabilización, siempre y cuando se cumplan los siguientes principios:

Deben ser inocuos por sí mismos o mediante su acción como aditivos en las condiciones en las cuales son utilizados.

Su empleo debe justificarse por razones tecnológicas, sanitarias, nutricionales o sensoriales.

Tienen que responder a las exigencias de designación y pureza que establezca el código o la legislación vigente.

No obstante, para poder comprender en detalle este y otros aspectos vinculados a los aditivos alimentarios deben de tenerse presentes algunas otras definiciones. En nuestra región el Grupo Mercado Común, perteneciente al MERCOSUR, aprobó las definiciones de ingrediente, aditivo alimentario, coadyuvante de elaboración y contaminante con el propósito de fijar la naturaleza de cada uno y las diferencias entre los mismos.

a) Ingrediente: cualquier sustancia, incluidos los aditivos alimentarios, que se utilice en la elaboración o preparación de un alimento y se encuentre en el producto final sea en su forma original o modificada.

b) Aditivo alimentario: cualquier ingrediente incorporado a los alimentos de forma intencional, sin el propósito de nutrir, con el objeto de modificar las características físicas, químicas, biológicas o sensoriales, durante el procesado, preparación, tratamiento, envasado, acondicionado, almacenado, transporte o manipulación de un alimento; podrá resultar que el aditivo o sus derivados se conviertan en un componente de dicho alimento. En esta definición no se incluyen a los contaminantes o a las sustancias nutritivas que se incorporan a un alimento para mantener o mejorar sus propiedades nutricionales.

c) Coadyuvante de tecnología: toda sustancia, que no se consume por sí sola como ingrediente alimenticio y que se emplea intencionalmente en la elaboración de materias primas, alimentos o sus ingredientes, para alcanzar una finalidad tecnológica durante el tratamiento o elaboración. Después del proceso, deberá eliminarse del alimento o ser inactivado, pudiendo admitirse la presencia de trazas de la sustancia, o sus derivados, en el producto final. Por ejemplo: fermentadores (cultivos de microorganismos); blanqueadores (albúmina), antiespumante (aceite de parafina), entre otros.

d) Contaminante: cualquier sustancia indeseable presente en el alimento en el momento de su consumo, proveniente de las operaciones efectuadas en el cultivo de vegetales, cría de animales, tratamiento zoo o fitosanitario, o como resultado de la contaminación ambiental, o de los equipos de elaboración y/o conservación.

Lista general de aditivos MERCOSUR

En la Fig. 10.1 puede apreciarse de manera sintética algunos de los aditivos más comúnmente utilizados en alimentos.

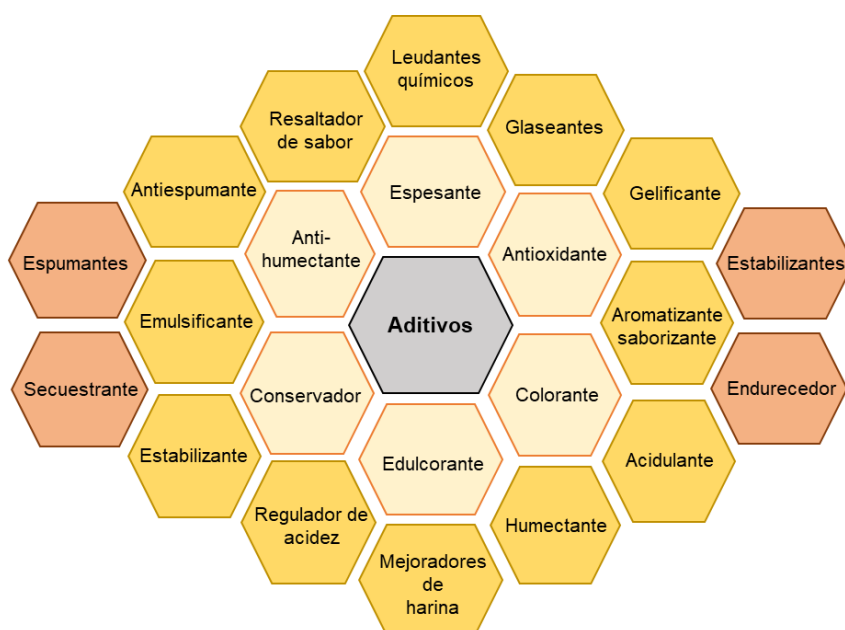


Figura 10.1 Aditivos alimentarios utilizados en la industria alimentaria.

En la Tabla 10.1 se mencionan los principales aditivos, la función que cumplen en los alimentos y algunos ejemplos de ellos.

Tabla 10.1. Principales aditivos utilizados en la industria alimentaria.

Nombre	Función	Ejemplos
Antiespumante	Prevenir o reducir la formación de espuma	Ácido esteárico, alginato de calcio
Antihumectante/ antiaglutinante	Reducir la higroscopicidad de los alimentos y disminuir la adherencia entre partículas individuales	Dióxido de silicio, silicato de calcio
Antioxidante	Retardar la aparición de alteraciones oxidativas en alimentos	Ácido ascórbico, Propil galato
Colorante	Conferir, intensificar o restaurar el color de un alimento	Cúrcuma, Luteína
Conservador	Impedir o retardar la alteración de los alimentos provocada por microorganismos o enzimas	Sorbato de sodio, ácido sórbico
Edulcorante	Aportar sabor dulce a los alimentos	Aspartamo, sucralosa
Espesante	Aumentar la viscosidad de un alimento	Carragenina, goma arabiga
Gelificante	Dar textura a través de la formación de un gel	Goma gellan, pectina
Estabilizante	Mantenimiento de una dispersión uniforme de dos o más sustancias inmiscibles	Alg. de potasio, goma xantan
Aromatizante/ saborizante	Dar o reforzar el aroma, el sabor o ambos, de los alimentos	Acetaldehído, ácido butírico
Humectante	Evitar la pérdida de humedad de un alimento o facilitar la disolución de un polvo en un medio acuoso	Maltitol, fosfato dicalcico
Regulador de acidez	Alterar o controlar la acidez o alcalinidad de los alimentos	Ácido fosfórico, potasio acetato
Acidulante	Aumentar la acidez y/o dar un sabor ácido a los alimentos	Ácido tartárico, ácido fosfórico
Emulsificante/ Emulsionante	Permitir la formación o mantenimiento de una mezcla de dos o más fases inmiscibles en el alimento	Polifosfato de potasio, lecitinas
Mejoradores de la harina	Mejorar la calidad tecnológica de las harinas	Enzimas, ácido ascórbico
Resaltador del sabor	Resaltar el sabor y/o aroma de un alimento	Potasio sulfatos, calcio fosfatos
Leudantes químicos	Liberar gas para aumentar el volumen de la masa	Ácido tartárico, bicarb. de sodio
Glaseantes	Aplicadas en la superficie externa de un alimento imparten una apariencia brillante o proveen un revestimiento protector	Aceite mineral, cera microcrist.
Ag.de firmeza/ Endu./ Textu.	Mantener los tejidos firmes o crocantes; interactuar con agentes gelificantes para producir/fortalecer un gel	Calcio citrato, cloruro de calcio
Secuestrante	Formar complejos químicos con los iones metálicos	Tartrato disodico, bitartrato potásico
Estabilizantes de color	Estabilizar, retener o intensificar el color de un alimento	Carbo. de mag., sulfato de sodio
Espumantes	Favorecer la formación o el mantenimiento de una dispersión uniforme de una fase gaseosa en un alimento líquido o sólido	Quilaya extracto, metiletilcelulosa

La lista de aditivos del MERCOSUR, identifica a cada uno de los aditivos permitidos en la región y el número de orden en el que se encuentran agrupados en el Codex Alimentarius, es decir el Sistema Internacional de Numeración – INS (Codex Alimentarius FAO/OMS, 2023). Es importante mencionar que dicha lista se encuentra abierta permanentemente para altas o bajas que se puedan originar a futuro. En el rótulo de los alimentos existe la obligación de declarar los aditivos al final de la lista de ingredientes, la misma puede realizarse por 1) la función principal o fundamental del aditivo en el alimento o 2) su nombre completo o su número INS.

Rótulo alimentario

En este punto es importante abordar el tema del rotulado o etiquetado nutricional del alimento, dado que es allí donde los aditivos deben mencionarse. Con este fin, definimos al rotulo como toda inscripción, leyenda o imagen adherida al envase de un alimento (ver Figura 10.2). Su función es brindar al consumidor información sobre las características particulares de los alimentos. Está prohibida toda información o mensaje que aparezca en las etiquetas de los alimentos que no sea adecuada y veraz, o que induzca a engaño o error al consumidor (Guía de rotulado en alimentos envasados, 2016).

Información nutricional (Porción 30 g (6 Galletitas))			La información nutricional se expresará por porción, indicando su cantidad en gramos o ml. y su equivalencia en unidades o una medida casera.
	Cantidad por porción	% VD (*)	
Valor energético	121 kcal = 508kJ	6	El Valor Diario es la ingesta recomendada de un nutriente para mantener una alimentación saludable. El valor expresado como % VD es el porcentaje de ingesta diaria recomendada de un nutriente que se cubre con una porción del alimento.
Carbohidratos	1.9 g	6	
Proteínas	3.2 g	4	Es la energía que aporta el alimento por porción.
Grasas totales	3.8 g	7	
Grasas saturadas	0.3 g	1	Nutrientes que deben ser declarados en forma obligatoria.
Grasas trans	0.4 g	-----	
Fibra alimentaria	1.6 g	6	
Sodio	228 mg	10	
(*) Valores diarios con base a una dieta de 2000 kcal u 8400 kJ. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas.			
Ingredientes: dependiendo de sus cantidad, los mismos se ordenan de mayor a menor, deben incluirse en esta sección todos los aditivos utilizados en su elaboración.			

Figura 10.2. Rótulo alimentario

Los rótulos de los alimentos que se ofrecen al consumidor deberán contener obligatoriamente la siguiente información:

1. Denominación de venta del alimento: es el nombre específico que indica las características del alimento. Deberá aparecer en la cara principal del envase del alimento, junto con la marca o logo del producto.

2. Lista de ingredientes: se declaran de mayor a menor, según la cantidad presente en el alimento. Los aditivos alimentarios deberán declararse a continuación de los ingredientes.

3. Contenido neto: la cantidad de alimento contenida en el envase.

4. Identificación del origen: 1) Nombre o razón social del elaborador, fabricante, productor, fraccionador, titular (propietario) de la marca, 2)- Domicilio de la razón social, 3) País de origen y localidad, 4) Número de registro o código de identificación del establecimiento elaborador ante el organismo competente y 5) Para identificar el origen deberá utilizarse una de las siguientes expresiones: “fabricado en...”, “producto ...”, “industria...”.

5. Nombre o razón social y dirección del importador (para alimentos importados).

6. Identificación del lote.

7. Fecha de duración o fecha de vencimiento: es el lapso de tiempo durante el cual el alimento es apto para el consumo.

8. Preparación e instrucciones de uso del alimento, cuando corresponda.

9. Información nutricional: permite al consumidor conocer con más detalle las características nutricionales de cada alimento. Esta información se refiere a una porción determinada, expresada en una medida casera de consumo habitual, por lo que resultará de suma utilidad a la hora de comparar los alimentos.

A modo de ejemplo, en la Figura 10.3 se presenta el rotulado nutricional de una variedad de pan integral.

Información Nutricional		
Porción: 50g (2 rebanadas)		
	Cantidad por porción	% V.D. (%)
Valor energético	121 kcal = 506 kJ	6
Carbohidratos, de los cuales:	22 g	7
Azúcares	0 g	(***)
Proteínas	6.6 g	9
Grasas totales, de las cuales:	0.7 g	1
Grasas saturadas	0.1 g	0
Grasas trans	0 g	(***)
Colesterol	0 mg	(***)
Fibra alimentaria	2.5 g	10
Sodio	183 mg	8

(*) % Valores Diarios con base a una dieta de 2.000 kcal u 8.400 kJ.
 Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas.

INGREDIENTES: Agua, harina integral, harina de trigo fortificada**, levadura, gluten, sal, suero de leche, conservadores: INS 282, INS 200, INS 202, INS 281, acidulantes: INS 270, INS 330, mejoradores de harina: INS 341i, edulcorante: stevia.

Figura 10.3. Rotulado o Etiquetado nutricional de un producto panificado tipo integral.

Nomenclatura de los aditivos alimentarios

Hoy en día, es habitual encontrar en la lista de ingredientes de los alimentos el tipo de aditivo y una serie de letras y números que responden al Sistema Internacional de Numeración (INS) del Codex Alimentarius FAO/OMS. La lista es amplia y su aplicación depende del tipo de alimento y el objetivo que se desee, en la Figura 10.4 se representa a modo de ejemplo algunos alimentos y los aditivos más utilizados mencionados por su respectivo código INS.

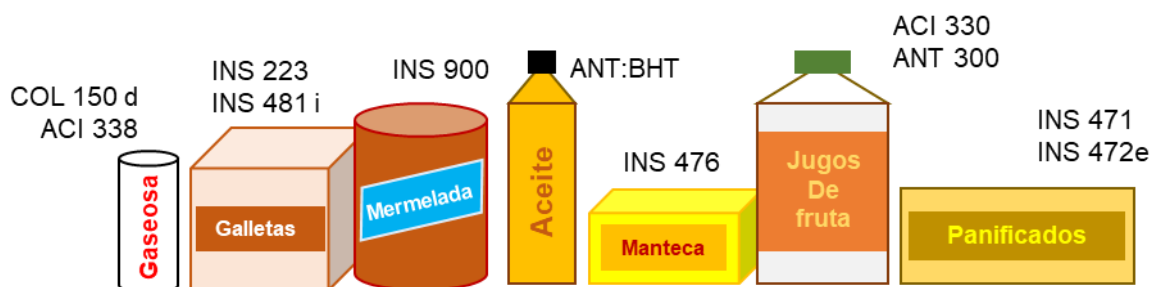


Figura 10.4. Aditivos en alimentos representados mediante sus respectivos códigos de identificación: COL 150 d (colorante caramelo IV); ACI 338 (regulador de acidez, ácido fosfórico); INS 223 (conservante: metabisulfito de sodio); INS 481i (emulsificante: sodio estearoil lactato); INS 900 (antihumectante: dimetilsilicona); ANT: BHT (antioxidante: butilhidroxitolueno); INS 476 (emulsificante: Poliglicerol polirricinoleato); ACI 330 (acidulante: ácido cítrico); ANT 300 (antioxidante: ácido ascórbico); INS 471 (estabilizantes: esteres de mono y miglicéridos de ac. grasos); INS 472e (emulsificante: Esteres de mono y diglicéridos de ácidos grasos con ácido diacetil-tartárico).

En el anexo del Capítulo XVIII de Aditivos Alimentarios de nuestro Código Alimentario, se explican de forma detalla el número de identificación, el nombre y función de todos los aditivos permitidos. En la Tabla 10.2 se presenta una adaptación de lo que se puede encontrar en el anexo mencionado.

Tabla 10.2. Ejemplos de nomenclatura de aditivos permitidos por el Código Alimentario Argentino.

Nº INS Codex	Nombre del Aditivo	Funciones
100 i	Cúrcuma, curcumina	COL
202	Potasio sorbato	CON/ ANT/ EST
321	Butilhidroxitolueno, BHT, hidroxitolueno butilado	ANT
955	Sucralosa	EDU

Nota: Adaptación del Anexo del Capítulo XVII del CAA.

En la Tabla 10.2 puede apreciarse en la primera columna el código INS, en la segunda el nombre del aditivo, es importante mencionar que el CAA tiene los nombres de los aditivos en

español y portugués, esto último se omitió en este capítulo por cuestiones de espacio. Finalmente, en la última columna nos encontramos con la función escrita de forma abreviada para cada aditivo, en este caso: COL para colorantes; CON/ANT/EST significa conservante, antioxidante y estabilizante; ANT antioxidante y EDU para edulcorante (Código Alimentario Argentino, Capítulo XVIII).

Límites máximos o ingesta diaria admitida (IDA)

Hasta el momento, solo hemos discutido acerca de las definiciones vinculadas a los aditivos y sus funciones, su forma de incluirse en los rótulos alimentarios y la nomenclatura utilizada para identificarlos. No obstante, un hecho de gran importancia es la cantidad máxima permitida, es decir, hasta que cantidad pueden agregarse en un alimento o de acuerdo a la definición la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) de cada uno.

El concepto de IDA proviene de las recomendaciones sugeridas por la FAO y la OMS establecidas en el Codex Alimentarius y representa la cantidad o dosis de un compuesto que puede consumir una persona, sin que signifique un riesgo para la salud. Esta cantidad se expresa con respecto al peso corporal, en mg de compuesto/ kg de peso/día. Para determinar dichos valores, suele recurrirse a la rama de la ciencia de los alimentos denominada Toxicología experimental, en la cual se realizan diferentes tipos de ensayos usualmente *in vivo* que permiten determinar el tipo y/o grado de toxicidad aguda o crónica (investigando posibles efectos mutagénicos, teratogénos y cancerígenos) de una sustancia en base a protocolos estandarizados (Cameán y Repeto, 2006). En base a estos resultados usualmente los aditivos pueden clasificarse también en tres categorías, A, B y C; siendo A para los más inocuos y C los que tienen limitaciones para su utilización (Salinas, 2000; Badui Dergal, 2006).

En el CAA, en su capítulo XVII citado anteriormente, existe una tabla en la cual se detallan dichos límites; parte de la misma se presenta a modo de ejemplo en la Tabla 10.3, en este caso para una harina de trigo acondicionada.

Tabla 10.3. *Aditivos nomenclatura, función y límite máximo permitido.*

INS	Nombre de aditivo	Función	Límite máximo (g/ 100 g o 100 ml)
<i>Harina de trigo acondicionada (harina de trigo con adición de aditivos)</i>			
170 i	Calcio carbonato	EST/ ACREG/ EMU	1,0 (como calcio)
262 i	Sodio acetato	ACREG	0,6
270	Ácido láctico (L-, D- y DL-)	ACI/ ACREG	q.s.

Notas: Adaptación del *Anexo del Capítulo XVII* del CAA., q.s., quantum satis hace referencia a la cantidad suficiente para alcanzar el objetivo deseado, EST: estabilizante; ACREG: regulador de la acidez; EMU: emulsificante; ACI: acidificante.

Otro aspecto que despierta el interés en los consumidores es conocer si los aditivos son naturales o artificiales. Los primeros son aquellos que se extraen de la naturaleza, de diferentes tipos de productos, con tecnología de extracción y purificación, mientras que los segundos se obtienen mediante procesos químicos de relativa complejidad como la fermentación u otro tipo de reacciones químicas. Lo importante en este tema es remarcar que sean de origen natural o artificial todos los aditivos autorizados por el CAA están sujetos a estrictas normas de seguridad internacional.

Declaración de alérgenos en alimentos

Un tema que ha sido foco de atención desde hace varios años es el de las alergias alimentarias, un problema creciente a nivel mundial. Este tipo de alergias surgen como una respuesta del sistema inmunológico en personas sensibles a determinados componentes de los alimentos. La ingesta de un alérgeno, aun en pequeñas cantidades, puede provocar reacciones cuya gravedad puede variar desde algo leve hasta ocasionar un shock anafiláctico, lo cual puede terminar en la muerte. Dado que hasta el momento no existe una cura para este tipo de alergias, la manera más efectiva de prevenirlas es eliminar la presencia de los alérgenos de la dieta de las personas sensibles. Por tanto, es necesario contar con una normativa adecuada para que en los rótulos de los alimentos se disponga de la información relacionada sobre su presencia (CONAL, 2017). Antes de continuar, podemos mencionar de forma breve algunas definiciones que pueden ayudarnos a entender un poco este tema:

Alérgeno: sustancias, principalmente proteínas, capaces de provocar una reacción alérgica.

Alergias alimentarias: reacciones adversas generadas por mecanismos inmunológicos específicos que ocurren en individuos sensibles luego del consumo de ciertos alimentos.

Intolerancias: reacciones adversas a determinados alimentos en personas con sensibilidad alimentaria, referidas a ciertos agentes químicos como los sulfitos, las cuales tienen diferentes mecanismos a la alergia.

Contaminación accidental: la presencia de cualquier alérgeno que no sea añadido de manera intencional al alimento. Este tipo de contaminación entraría dentro de la categoría de contaminación cruzada. Es importante tener presente que dicha contaminación puede producirse durante cualquiera de las etapas u operaciones desde el cultivo, transporte hasta su procesamiento, envasado y distribución hasta las góndolas o puntos de venta.

En el Código Alimentario Argentino, en su Capítulo V de rotulado alimentario, se incluye un artículo (235 séptimo) donde se identifican las sustancias capaces de provocar dichas reacciones alérgicas y se establecen las normativas para su declaración en los alimentos. Si bien, es posible encontrar un gran número de compuestos con potencial alergénico, en la industria alimentaria se conocen ocho alimentos como los principales responsables ($\approx 90\%$) de las reacciones alérgicas (CAA, Cap. V). Estos alimentos se presentan en la Tabla 10.4.

Tabla 10.4. *Alérgenos y sustancias capaces de producir reacciones adversas que deben declararse a continuación de la lista de ingredientes del rótulo.*

Grupo	Alimentos alergénicos	Derivados de alimentos alergénicos
1	Trigo, Avena, Cebada, Centeno	Harina de trigo, almidón de trigo, salvado de trigo, proteína vegetal hidrolizada, extracto de malta, etc
	CONTIENE TRIGO, AVENA, CEBADA, CENTENO	CONTIENE DERIVADOS DE TRIGO, AVENA, CEBADA, CENTENO
2	Langostinos, camarones, centolla, langosta, etc.	Quitosano o chitosán (clarificante de cerveza)
	CONTIENE CRUSTÁCEOS	CONTIENE DERIVADOS DE CRUSTÁCEO
3	Huevo entero, fresco, en polvo deshidratado, pasteurizado	Yema, clara, ovoalbúmina, lisozima, lecitina de huevo
	CONTIENE HUEVO	CONTIENE DERIVADOS DE HUEVO
4	Pescado fresco, curado, ahumado, enlatado, en conservas.	Gelatina de pescado, proteína de pescado, etc.
	CONTIENE PESCADO	CONTIENE DERIVADOS DE PESCADO
5	Maní entero, partido, salado, frito, tostado, manteca de maní, pasta de maní, etc.	Aceite de maní, harina de maní, etc.
	CONTIENE MANÍ	CONTIENE DERIVADOS DE MANÍ
6	Porotos enteros de soja, brotes, etc.	Harina de soja, proteína de soja, tofu, concentrados, aislados y texturizados de soja, lecitina de soja, etc.
	CONTIENE SOJA	CONTIENE DERIVADOS DE SOJA
7	Leche fluida, en polvo, entera, descremada, deslactosada, etc.	Lactosuero, proteínas lácteas (caseína, caseinato, lactoglobulina, lactoalbúmina), lactosa, etc.
	CONTIENE LECHE	CONTIENE DERIVADOS DE LECHE
8	Almendra, avellana, castaña de caju y de nuez, nuez, pecán, pistacho.	Harina de almendra, nuez (u otras frutas secas), aceite de almendra, de nuez, etc.
	CONTIENE (INDICAR LA FRUTA SECA QUE CORRESPONDA)	CONTIENE DERIVADOS DE (INDICAR LA FRUTA SECA QUE CORRESPONDA)

Nota: Adaptado de *Plataforma de Alérgenos en Alimentos*.

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla, en el Grupo 1 encontramos al trigo, avena, cebada y centeno; Grupo 2 para crustáceos y derivados; Grupo 3 corresponde al huevo y derivados; Grupo 4 incluye al pescado y derivados; Grupo 5 para el maní y sus derivados; Grupo 6 para la soja y subproductos; Grupo 7 corresponde a lácteos y derivados y el Grupo 7 para los frutos secos. En la misma para cada grupo se aclara en letra mayúscula la forma en la que dicho alimento debe mencionarse en el rótulo alimentario.

Un caso particular lo representan los sulfitos, compuestos que suelen emplearse en ciertos alimentos como conservantes, antifúngicos, antimicrobianos y antioxidantes. Esta familia de compuestos suele encontrarse en diferentes tipos de aditivos como, por ejemplo: INS 220 (dióxido de azufre), INS 221 (sulfito de sodio), INS 222 (bisulfito de sodio), INS 223 (metabisulfito de sodio), INS 224 (metabisulfito de potasio), INS 226 (sulfito de calcio), INS 227 (bisulfito de calcio), INS 228 (bisulfito de potasio). Siempre que la concentración de dichos compuestos sea mayor o igual a 10 ppm (10 mg/Kg o 10 mg/L) debe declararse en el rótulo como: CONTIENE SULFITOS (CAA, Cap. V). La particularidad en este caso se vincula con las reacciones que se producen cuando se consumen este tipo de compuestos, las mismas son variadas, y pueden ser asociadas tanto a casos de alergia como de intolerancia, dado que aún el mecanismo por el cual estos compuestos actúan en el organismo no está completamente dilucidado (Plataforma Alérgenos en alimentos, 2013).

Métodos de cuantificación de aditivos alimentarios.

En este capítulo se ha realizado un breve recorrido por los aspectos más importantes de los aditivos en la industria alimentaria, definiciones, funciones e identificación y forma de declararlos en los rótulos como así también aquellas sustancias que revisten importancia por las implicancias en la salud que representan para un determinado grupo de personas. Por tanto, es relevante contar con metodologías apropiadas para identificarlos o cuantificarlos. Hoy en día, existen numerosas técnicas las cuales, con el avance de la tecnología, son cada vez más precisas. En la Tabla 10.5 se mencionan algunos aditivos y las técnicas empleadas para su determinación, la lista de metodologías es amplia y muy diversa dependiendo del tipo de aditivo y el alimento en el cual se quiera determinarlo.

Tabla 10.5. Metodologías para la cuantificación/determinación de algunos aditivos en alimentos.

Cód. INS	Aditivo	Función	Método de determinación	Referencia
140ii	Clorofilina	COL	Cromatografía líquida de alta performance	Brazeu, J., (2018)
320	Butilhidroxianisol (BHA)	ANT	Cromatografía líquida de alta performance Cromatografía de gases	Wood y col., (2004)
220 -228	Sulfitos	ANT	Método de Monier-Williams optimizado (Destilación/valoración)	Wood y col., (2004)
954	Sacarina	EDU	Cromatografía líquida de alta performance Sublimación Polarografía	Wood y col., (2004)
202 211	Sorbato de potasio Benzoato de sodio	CON	Cromatografía líquida de alta performance	Fuentes López y col., (2015)

Nota: COL: colorante; ANT: antioxidante; EDU: edulcorante; CON: conservante.

Referencias bibliográficas

- Brazeau, J. (2018). Identification and Quantitation of water-soluble synthetic colors in foods by liquid chromatography/ultraviolet-visible method development and validation. ACS, Omega, 3, 6577-6586.
- Cameán, A.M.; Repetto, M. (2006). Toxicología Alimentaria. Editorial Díaz de Santos, Madrid, España.
- Codex Alimentarius. (2023). Norma general para los aditivos alimentarios. Última revisión 2023. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf
- Código Alimentario Argentino. Capítulo XVIII. Aditivos alimentarios. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat-capitulo_xviii_aditivosactualiz_2018-11.pdf
- CONAL. (2017). Directrices para el rotulado de alérgenos y sustancias capaces de producir reacciones adversas en individuos susceptibles de productos alimenticios envasados. Comisión Nacional de Alimentos, Acta N°118.
- Dergal, B.S. (2006). Química de los Alimentos, Capítulo 12: leche. 4ta Ed. Pearson Educación, Distrito Federal, México.
- Fuentes López, A., García Martínez, E., Fernández Segovia, I. (2015). Determinación de sorbato potásico y benzoato sódico en alimentos por HPLC. Artículo Docente, Universidad Politécnica de Valencia. <https://riunet.upv.es/handle/10251/51368>

Guía de rotulado de alimentos envasados. (2016). Ministerio de Agroindustria Presidencia de la nación.

<https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/Guias/GRotulado.pdf>

Plataforma Alérgenos en Alimentos. (2013). Guía para la gestión de alérgenos en la industria alimentaria. Comisión Nacional de Alimentos, CONAL.

<http://www.conal.gob.ar/recomendaciones/items/alergenos.pdf>

Salinas, R.D. (2000). Alimentación y nutrición. Introducción a la bromatología 3ra. Ed. El Ateneo, Buenos aires, Argentina. <http://www.conal.gob.ar/recomendaciones/items/alergenos.pdf>

Wood, R., Foster, L., Damant, A., Key, P. (2004). Analytical methods for food additives. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.

CAPÍTULO 11

Estudio de casos representativos: Pan, un alimento rico en almidón

Carlos Gabriel Arp y Cristina Ferrero

Un alimento ancestral

El pan es un alimento que forma parte de la dieta humana desde tiempos remotos. Según el CAA (Art. 725):

Con la denominación genérica de Pan, se entiende el producto obtenido por la cocción en hornos y a temperatura conveniente de una masa fermentada o no, hecha con harina y agua potable, con o sin el agregado de levadura, con o sin la adición de sal con o sin la adición de otras sustancias permitidas para esta clase de productos alimenticios. (CAA, 2024)

El ingrediente que se ha utilizado tradicionalmente para panificar es el trigo (*Triticum* spp.), cereal que pertenece a la familia de las gramíneas y que es el único cuyo grano convertido en harina puede formar una masa elástica y extensible a la vez. La planta de trigo fructifica en forma de espiga, estructura que agrupa los granos, siendo el grano de trigo el fruto seco e indehisciente que contiene la semilla. La molienda de dicho grano es un proceso complejo que permite separar las cubiertas, el germen y obtener la harina (que fundamentalmente proviene del endosperma de la semilla), la que será utilizada para la obtención del pan. Actualmente se utilizan diversos tipos de harinas, incluyendo harinas integrales, y mezclas con harinas de legumbres y de otros cereales para obtener panes de mayor valor nutricional y funcional. Por otro lado, existe una parte significativa de la población que es intolerante a las proteínas de gluten y que debe mantener una dieta libre de trigo, y también de avena, cebada y centeno, por lo que se han desarrollado panificados sin T.A.C.C.

El trigo es originario de Medio Oriente y de allí se extendió por todo el Mediterráneo. Hay registro de que los egipcios preparaban pan (a partir de un tipo de trigo, el farro), ya que se han encontrado representaciones en frisos y restos de hogazas en las tumbas, conservados por las condiciones climáticas del desierto. Los romanos usaban molinos de piedra para obtener harina, y hornos muy similares a los que se ven en la actualidad en algunas pizzerías (Figura 11.1).

Durante la Edad Media el pan fue un alimento popular, reservándose las harinas refinadas

para uso de la nobleza. El trigo fue traído a América por los españoles. En lo que hoy es territorio argentino, la primera siembra se realizó en el fuerte de Sancti Spiritu, a orillas del río Carcarañá, provincia de Santa Fe, tras la llegada al Río de la Plata de Sebastián Gaboto en 1527. Si bien el fuerte fue abandonado, la siembra continuó en parcelas limitadas. A medida que la colonización avanzaba hacia el sur, el cultivo de trigo se fue extendiendo a la región pampeana. A comienzos del siglo XX comienza el mejoramiento de los trigos a partir del trabajo pionero de los Ingenieros Agrónomos Klein y Buck, y del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (Miralles y González, 2010). El trigo es hoy el tercer cultivo a nivel nacional por volumen y superficie cultivada. La Argentina ocupa un lugar destacado entre los productores mundiales de este cereal, habiéndose producido en la campaña 2023/2024, 13,5 millones de toneladas (Mt). Anualmente, se industrializan alrededor de 6 Mt de trigo en nuestro país, de las cuales la mayor parte se utilizan para la elaboración de productos de consumo habitual en nuestro medio: pan, facturas, pastas, pizzas, milanesas, entre otros (D'Angelo y col., 2023).



Figura 11.1. *Molinos y horno en las ruinas de Pompeya. Fotografía: propia.*

Composición del grano y molienda

En el Capítulo 3 se ha descripto la estructura del grano de trigo (Figura 3.3). Existen dos tipos de trigo, el que permite obtener masas aptas para levar durante la fermentación (trigo-pan) y el que es apto para masas no levadas (trigo-fideo). Estos dos tipos de trigo difieren en varias características como se muestra en la Tabla 11.1.

Tabla 11.1. Características de distintos trigos

Características	<i>Triticum vulgare</i>	<i>Triticum durum</i> (*)
valor panadero	muy bueno	no apto para panificar
forma del grano	elíptico redondeado	elíptico alargado
color	rojizo-amarillento, grisáceo	ámbar claro
aspecto	opaco	translúcido
fractura	almidonosa, no quebradizo	quebradizo
gluten húmedo	elástico y extensible	corto y duro
Peso de 1000 granos	30-40 g	50-60 g

Nota: Adaptado de CAA. (*) variedades Candeal y Taganrock

La composición típica del grano de trigo es: almidón, 63-71%; humedad, 8-17%; proteína, 8-15%; azúcares, 2-3%, fibra, 2-2,5%; lípidos, 1,5-2%; minerales, 1,5-2%. Estos componentes y otros, como las vitaminas, no se encuentran distribuidos uniformemente en el grano. En la Figura 11.2 se muestra cómo se distribuye porcentualmente cada componente en el grano considerando tres partes: endosperma, germen y salvado (tegumentos + aleurona).

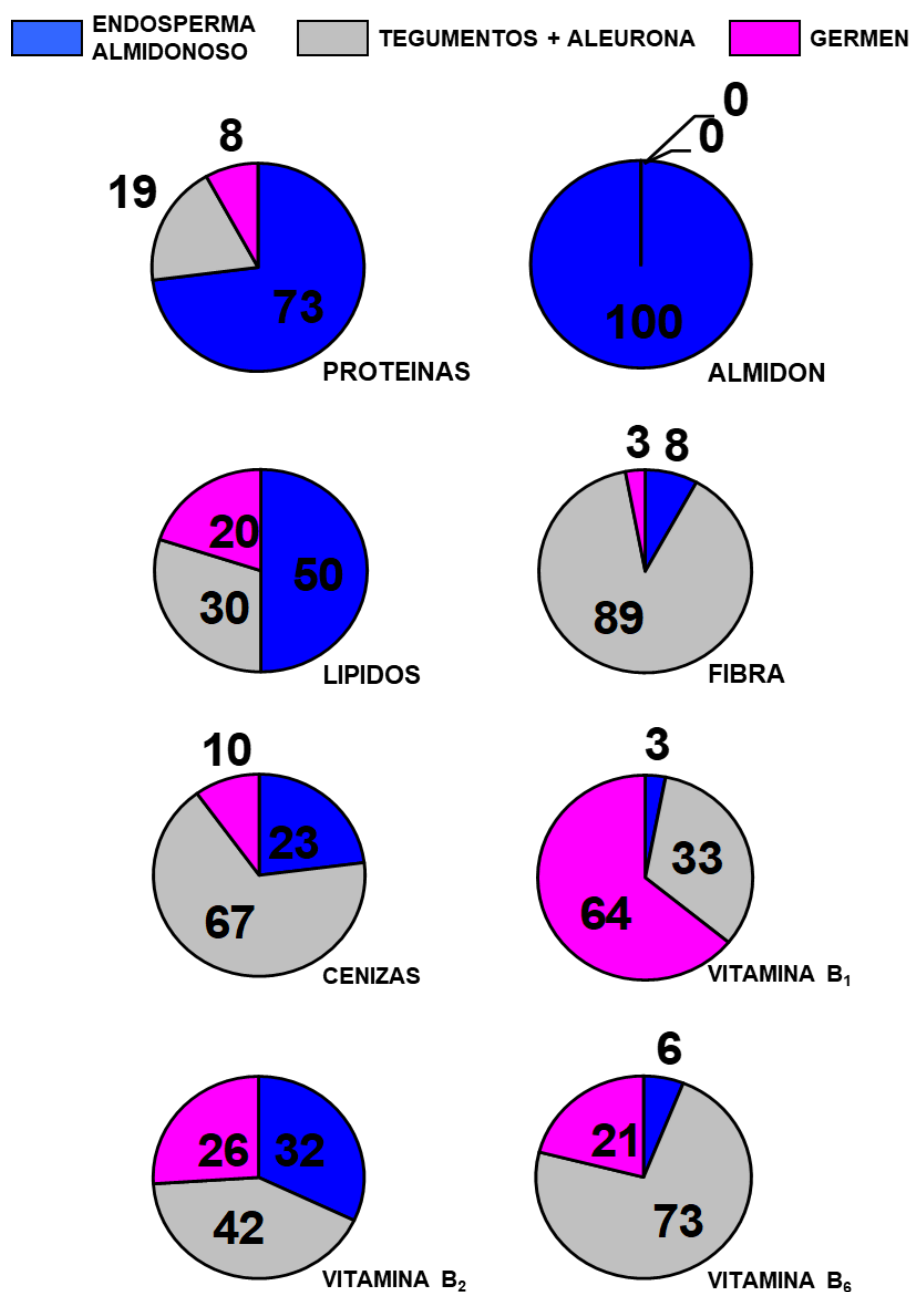


Figura 11.2. Distribución porcentual de distintos componentes (minerales expresados como cenizas) en las principales partes del grano

Como se puede observar en los diagramas, en las cubiertas es donde se concentran principalmente los minerales, vitaminas y fibra. Mientras que el endosperma contiene todo el almidón del grano y las proteínas formadoras de gluten (gliadinas y gluteninas). Durante la molienda, se separarán las cubiertas y el germen. En la medida en que esto ocurre, la harina obtenida tendrá, comparada con el grano del cual proviene, una menor cantidad de proteínas, y una sustancialmente menor cantidad de minerales, fibra y lípidos.

Se define el grado de extracción (o rendimiento de molienda) como:

$$\text{Grado de extracción (\%)} = \frac{g \text{ harina}}{100 g \text{ grano}}$$

Una harina correspondiente a un menor porcentaje de extracción (por ejemplo, 70%) será más refinada que una que corresponde a un mayor grado de extracción (por ejemplo, 90%). Esta última tendrá más minerales, fibra, vitaminas, lípidos y proteínas, y rendirá panes con menor calidad tecnológica por hallarse en menor proporción las proteínas formadoras de gluten. Una harina de menor grado de extracción (más refinada) tiene, en proporción, una mayor cantidad de gliadinas y gluteninas, y dará panes de mejor volumen y textura. Las harinas se tipifican con número de ceros: **a menor rendimiento y mayor refinamiento de la harina**, mayor número de ceros (000, 0000). A las harinas menos refinadas les corresponde un menor número de ceros (1/2 0, 0, 00). La harina integral es la que se obtiene a partir de todo el grano.

En la Figura 11.3 se muestra un esquema muy simplificado de la molienda. Esta se divide básicamente en dos etapas: la molturación, que implica la rotura del grano que se efectúa con rodillos acanalados, y la reducción del tamaño de partículas, que ocurre una vez separadas las cubiertas (salvado) y el germen.

Previo al proceso y tras llegar al molino, los granos se limpian de distintas impurezas (semillas extrañas, trozos de madera, metal, etc.) y se almacenan en silos en condiciones controladas, a baja humedad. Antes de proceder a la molienda se debe humectar el grano (hasta un 17% de humedad) para poder separar más fácilmente las cubiertas. La molturación es una etapa necesaria en el procesamiento de este cereal, ya que el grano de trigo presenta un surco que lo recorre longitudinalmente y que dificulta la separación de las cubiertas. La rotura se realiza haciendo pasar los granos entre pares de cilindros acanalados que giran a distintas velocidades, uno en sentido contrario al otro. Luego, hay un proceso de separación por densidad y tamaño de las distintas partículas obtenidas, utilizando grandes tamices accionados por motores. El salvado, más liviano, es separado en esta etapa y almacenado aparte ya que tiene valor como ingrediente alimentario por ser fuente de fibra. Las partículas más gruesas son vueltas a molturar (reciclado), y las más finas pasan a una etapa de reducción de tamaño que consiste en atravesar varios pares de cilindros de superficie lisa (en el gráfico se ejemplifica con 4 pares de cilindros, pero suelen ser más). Se obtienen así los productos finales: harinas y sémolas. Antes de salir al mercado, la harina es enriquecida en el molino con sulfato ferroso y vitaminas, entre ellas, el ácido fólico (Ley 25630). Este enriquecimiento tiene como objeto vehicular, a través de este producto de consumo masivo, nutrientes necesarios para evitar enfermedades como la anemia y malformaciones del tubo neural.

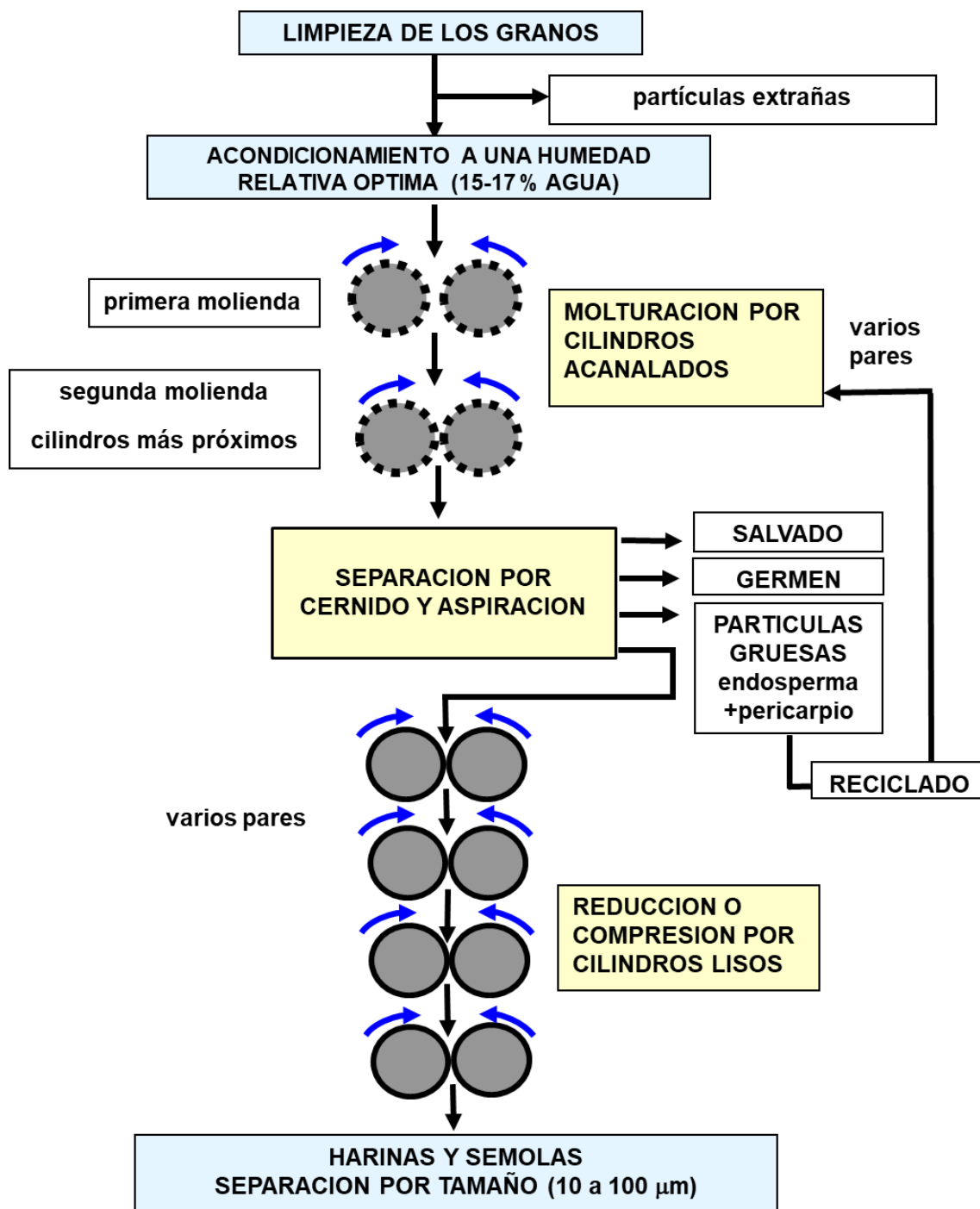


Figura 11.3. Esquema simplificado de molienda. El número de pares de cilindros puede ser mayor al ilustrado

El gluten

Las proteínas vegetales se han clasificado tradicionalmente por su solubilidad (Osborne, 1908) en:

- **Albúminas:** solubles en agua a pH = 6,6.
- **Globulinas:** solubles en soluciones salinas, pH = 7, insolubles en agua.
- **Prolaminas:** solubles en alcohol 70-90% v/v.
- **Glutelinas:** insolubles en agua, soluciones salinas o alcohol, solubles en ácidos (pH = 2) o en álcalis (pH = 12).

En el trigo, las prolaminas se denominan gliadinas y las glutelinas se denominan gluteninas. Estas proteínas pueden formar una red tridimensional hidratada cuando se mezcla harina con agua y se amasa (trabajo mecánico), y son las responsables de las propiedades reológicas únicas de la masa, la elasticidad y la extensibilidad. La elasticidad está vinculada a las gluteninas y la extensibilidad a las gliadinas. En la Tabla 11.2 se resumen algunas características de las fracciones proteicas del trigo, con especial foco en las gliadinas y gluteninas.

Tabla 11.2. Características principales de las proteínas de trigo.

FRACCIÓN PROTEICA	CARACTERÍSTICAS	FUNCIÓN
Albúminas 9%	PM < 30 KD globulares ricas en lisina	coagulan durante cocción
Globulinas 6%		
Gliadinas 47-51%	PM $\cong$ 30-75 KD Bajo contenido de aminoácidos iónicos (histidina, arginina, lisina, ácido aspártico y glutámico). Los ácidos aspártico y glutámico se encuentran casi totalmente amidados. Forman uniones S-S intramoleculares → monoméricas	intercambios S-S durante la maduración (*) de la harina y el amasado; extensibilidad de la masa
Gluteninas 34-38%	De alto PM (HMW-G): PM $\cong$ 60-90 KD 40% de las gluteninas totales muy ricas en ácido glutámico (mayormente amidado, como glutamina), alto contenido de prolina y glicina, bajo contenido de lisina, De bajo PM (LMW-G): PM $\cong$ 10-70 KD 60% de las gluteninas totales ricas en glutamina y prolina, pobres en lisina, HMW-G y LMW-G forman uniones S-S intra e intermoleculares → polímeros de 150-3000 KD	intercambios S-S durante la maduración de la harina y el amasado; elasticidad de la masa

Nota: Basado parcialmente en Gianivelli y col., 2001. (*) cambios químicos, bioquímicos y enzimáticos que ocurren en el período transcurrido entre la molienda y el uso de la harina

Una clasificación más reciente de las proteínas basada en su origen genético y características estructurales es la que se resume en la Figura 11.4. En esta clasificación, las gliadinas α , β y γ , y las subunidades de glutenina LMW-G, se clasifican como prolaminas ricas en S, las ω -gliadinas como prolaminas pobres en azufre y las subunidades de glutenina HMW-G como prolaminas de alto PM.

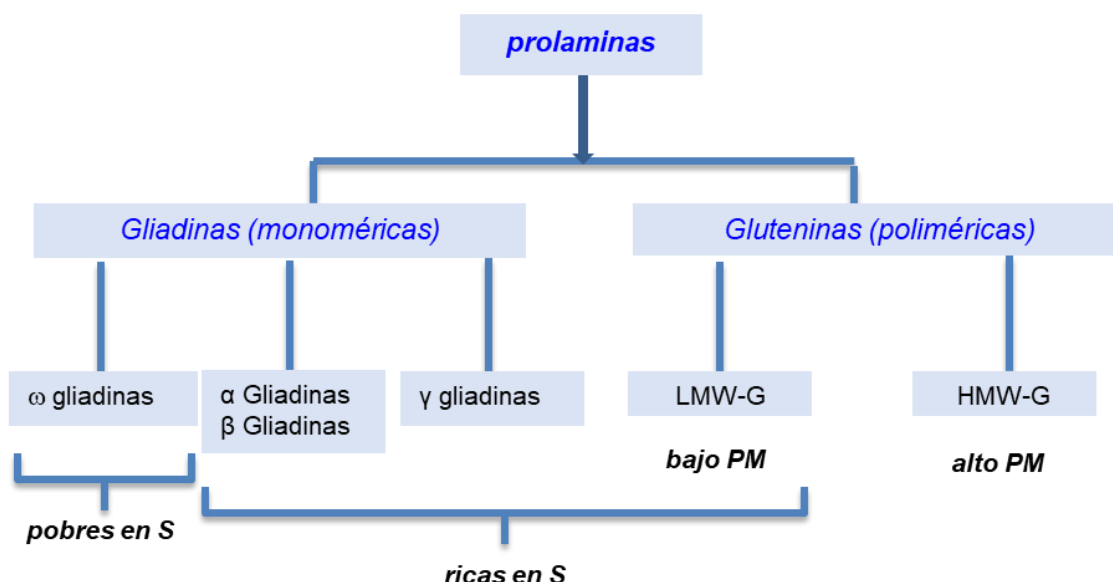


Figura 11.4. Clasificación actual de las proteínas formadoras de gluten. LMW-G: Low molecular weight glutenin; HMW-G: high molecular weight glutenin

En la Figura 11.5 se representa un modelo de la red de gluten basado en evidencias reunidas por un proyecto multilateral europeo (Shewry y col., 2001). Las gluteninas pueden formar puentes disulfuro intra (dentro de) e inter (entre) moleculares, por lo que pueden unirse entre sí y por ese motivo se dice que son poliméricas. Las subunidades de glutenina de alto PM (HMW-G) forman el esqueleto de la red de gluten a través de uniones covalentes (puentes disulfuro) cabeza-cola, formando un macropolímero. Las subunidades de glutenina de bajo PM (LMW-G) también se unen por uniones puente disulfuro a las HMW-G, formando ramificaciones de una o dos unidades. Las subunidades HMW-G están relacionadas con la elasticidad de la red y presentan características estructurales particulares a las que se puede atribuir esta propiedad: poseen secuencias repetitivas que forman giros β organizados en forma de una estructura espiralada regular (espiral β). Los dominios N-terminales de las subunidades HMW-G tienen un número variable de residuos (entre 81 y 104 de acuerdo al tipo de HMW-G), y adoptan una conformación globular con una o más estructuras de α -hélice. Los dominios C-terminales comprenden 42 residuos y adoptan también una conformación globular con una estructura α -hélice (Shewry y col., 2002). Por otro lado, las gliadinas solo pueden formar puentes disulfuro intramoleculares, y por eso se dice que son monoméricas. Se unen de manera no covalente al resto de la red. Este

tipo de interacciones, de menor energía, les da la posibilidad de deslocalizarse y así darle fluidez a la red, por lo que las gliadinas se asocian a la extensibilidad de la masa.

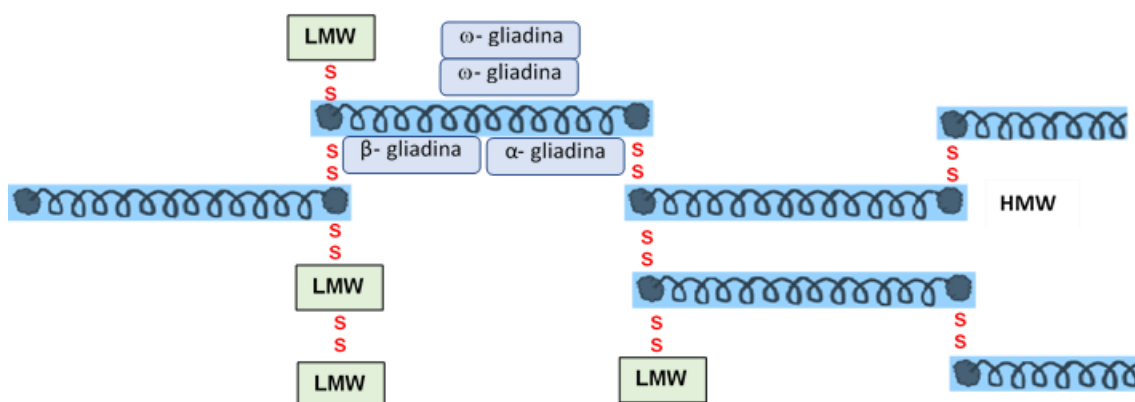


Figura 11.5. Modelo de red de gluten según Shewry y col. (2000). LMW: glutenina de bajo peso molecular; HMW: glutenina de alto peso molecular. En rojo: puentes disulfuro

El almidón

La síntesis de almidón es una de las formas en la que los vegetales pueden almacenar energía. Este componente se presenta en forma de gránulos, que son estructuras semicristalinas constituidas por dos polisacáridos: amilosa (polímero lineal de glucosas unidas por enlaces α -1,4) y amilopectina (polímero ramificado de glucosas unidas por enlaces α -1,4 y enlaces α -1,6 en los puntos de ramificación). Estas moléculas están orientadas radialmente dentro del gránulo, alternándose zonas no cristalinas (amorfos, en estado vítreo) y zonas cristalinas. En el Capítulo 4 se muestran gránulos de almidón vistos con microscopio óptico (Figura 4.1). Los gránulos de diferentes especies vegetales presentan distinto tamaño, morfología, contenido de amilosa y amilopectina, entre otras características. En su forma nativa, el almidón presenta birrefringencia bajo luz polarizada y exhibe una cruz de Malta que lo divide en cuatro secciones.

Cuando los gránulos de almidón son sometidos a calentamiento en presencia de agua en cantidad suficiente, se produce una transición térmica. La estructura se hidrata, aumentando varias veces su volumen, pierde su cristalinidad y parte de las moléculas (particularmente, de amilosa) son lixiviadas. Este proceso se llama **gelatinización** y es lo que permite que el almidón sea digerible, ya que en esta forma es susceptible a la acción de las amilasas. Al enfriarse, se genera un gel donde las moléculas de amilosa forman una red estabilizada por puentes de hidrógeno, y los gránulos o fragmentos de gránulos hidratados “rellenan” dicha red, dándole mayor rigidez al gel. Este proceso, que comienza con el enfriamiento, se denomina **gelificación o gelación**. Finalmente, con el paso del tiempo el gel se rigidiza, contrae y pierde agua, proceso que se denomina **retrogradación**. El fenómeno de retrogradación es causado por la formación

de una mayor cantidad de uniones entre las cadenas de amilosa o entre las zonas lineales de las ramificaciones de amilopectina. La retrogradación de amilosa ocurre en un lapso breve, horas, mientras que la de amilopectina puede tardar varios días. El fenómeno de retrogradación se considera una alteración física (es una cristalización) que ocasiona pérdida de calidad. En el caso de los panificados, la retrogradación es lo que subyace, junto con la deshidratación, en el envejecimiento del pan.

En la masa de harina de trigo y agua, los gránulos se encuentran en estado nativo y, al formarse la red de gluten, junto con las estructuras fibrilares de la red se forman películas de gluten recubriendo los gránulos como se aprecia en la fotografía obtenida con microscopia electrónica de barrido ambiental (ESEM) en la Figura 11.6.

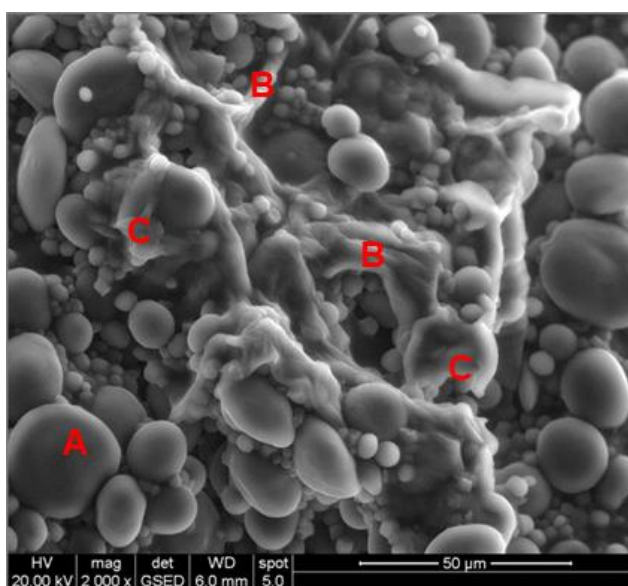


Figura 11.6. Micrografía de una masa de harina de trigo obtenida por ESEM (2000x). Se observan gránulos de almidón (A), filamentos de la red de gluten (B) y fragmentos de películas de gluten (C) que cubren parte de los gránulos. Fotografía: propia.

Calidad de molienda, de harina y panadera

Calidad de molienda

La tipificación de harinas, como se vio anteriormente, se realiza mediante el número de ceros, y esto se relaciona con el rendimiento de molienda. El criterio utilizado para esta clasificación es en base a la cantidad de cenizas obtenidas para una harina dada, ya que el contenido mineral en el grano de trigo es más concentrado en las cáscaras (tegumentos). Así, este parámetro se relaciona en forma directamente proporcional con el rendimiento molinero (mayor contenido de cenizas → mayor rendimiento) e inversamente proporcional con el grado de refinamiento de la

harina (mayor contenido de cenizas → menor refinamiento). La determinación de cenizas, por su parte, se realiza por calcinación de una muestra de harina a 600 °C durante 2 h (método AACC 08-01).

Tabla 11.3. Tipificación de harinas según el CAA

N° Ceros	%Cenizas máximo*
0000	0,492
000	0,65
00	0,678
0	0,873
½ 0	1,350
* porcentaje en base seca	

Otra característica relacionada con la molienda es el color, debido a que los pigmentos se encuentran también más concentrados en las cubiertas del grano. Las harinas integrales son, por lo tanto, más oscuras. El color de una harina se puede determinar empleando un colorímetro de superficie.

Calidad de harina

Estos ensayos están relacionados con la conservación de la harina, el proceso de molienda y su estado sanitario. No reflejan la aptitud para rendir un pan de buen volumen y textura.

Contenido de humedad

El contenido de humedad es un parámetro relevante para la conservación de la harina en condiciones que eviten el desarrollo de mohos, y también es un dato necesario para realizar otros análisis, como los ensayos alveográficos y farinográficos. La humedad se determina por el método 44-19 de la AACC (2000) por secado en estufa a 135 °C durante 2 h, sobre una muestra de $2,0000 \pm 0,0005$ g de harina.

Almidón dañado

El almidón dañado es aquel que ha sido parcialmente fragmentado durante la molienda. Un cierto porcentaje de almidón dañado (8-10%) es conveniente para el proceso de panificación porque el daño en la estructura del gránulo hace que sea susceptible al ataque de amilasas, permitiendo que libere azúcares fermentables que sirven de sustrato a las levaduras. También es conveniente porque absorbe más agua, favoreciendo el rendimiento panadero. Finalmente, la presencia de azúcares favorece la reacción de Maillard en la corteza. Por el contrario, un exceso de almidón dañado conduce a un aumento de la tenacidad de las masas, la exudación de agua durante la fermentación y la generación de roturas y fisuras en galletitas (Ezquerro, 2024). El porcentaje de almidón dañado se puede determinar en forma directa tiñendo los gránulos

dañados con Rojo Congo (los no dañados no se tiñen) y cuantificándolos a través de observación microscópica. Por otro lado, existen métodos enzimáticos basados en la incubación de la harina con amilasas (α -amilasa de malta en el método de Farrand, o β -amilasa de soja en el método de Stewart). Sólo los gránulos dañados son susceptibles al ataque enzimático y pueden generar azúcares reductores para su cuantificación. El resultado se relaciona con la cantidad de almidón dañado mediante tablas.

Análisis del tamaño de partícula

La distribución de tamaños de partícula de las harinas se puede realizar por cernido. Se emplea una torre de cribas que van de mayor a menor tamaño de poro. Éstas se encuentran unidas a un eje accionado por un motor que ejerce un movimiento vibratorio. En cada criba quedará retenida una parte de la harina que se pesará al final del ensayo. Como alternativa, es posible la utilización de una metodología basada en la dispersión de la luz (Light Scattering).

Filth Test (prueba de materia extraña)

Las partículas de materia extraña (insectos o fragmentos de ellos, pelos de roedores, fragmentos plásticos, entre otros) son aisladas y reconocidas mediante microscopía. La presencia de estas impurezas es una medida de la higiene del proceso productivo.

Calidad panadera

Los ensayos de calidad panadera permiten evaluar el desempeño de distintas harinas al momento de emplearlas en panificación. Están destinados a cuantificar de forma objetiva distintos parámetros que permiten, en mayor o menor medida, predecir la calidad de los productos y ajustar variables del proceso para cada propósito.

Volumen de pan

Uno de los parámetros que se puede evaluar es el volumen de pan. Para esto, se realiza una panificación en condiciones estandarizadas para evaluar las características de la pieza obtenida. Se puede realizar con una probeta graduada, donde se colocan semillas (de nabo o colza), se lee el volumen ocupado por las mismas (V_1) y, luego de retirarlas, se coloca la pieza de pan y se vuelven a incorporar las semillas leyendo el nuevo volumen (V_2). El volumen desplazado corresponde a la pieza de pan. Se puede calcular el volumen específico dividiendo el volumen de la pieza por su peso:

$$\text{Volumen específico} = \frac{V_2 - V_1}{g \text{ pieza}}$$

Una forma más precisa de realizar esta determinación es empleando un pan-volumenómetro, como el que se muestra en la Figura 11.7.



Figura 11.7. Pan-volumenómetro. Fotografía: CIDCA

Consta de dos cámaras unidas por un tubo con una escala graduada. Una de esas cámaras tiene una tapa que permite su apertura. Se realizan primero varias lecturas en el tubo graduado sin la pieza de pan, obteniéndose un promedio. Se coloca luego la pieza a evaluar sujeta a la tapa de una de las cámaras. Se invierte el dispositivo y se realiza una medición ahora con la pieza, repitiéndose el procedimiento para obtener un promedio. La diferencia de lecturas (que corresponde a una diferencia de altura) se multiplica entonces por la sección circular del tubo, obteniéndose el volumen desplazado que corresponde al de la pieza de pan.

Determinación de proteína total y gluten

Se determina proteína total por método de Kjeldahl (descrito en los métodos oficiales de la AACC, método 46-10) o de Udy (ver Capítulo 8). Además de la proteína total, interesa la cuantificación del gluten, húmedo y seco, así como el índice de gluten (GI) (AACC, método 38-12). Actualmente, para determinar gluten se utiliza un equipo Glutomatic (Figura 11.8) que consta de dos amasadoras (el ensayo se realiza por duplicado) donde se introducen 10 g de harina y una cantidad estandarizada de agua para que, cuando se ejerza trabajo mecánico, se forme una masa. Luego, la masa es lavada con solución salina, quedando retenido en el compartimento de cada amasadora un residuo viscoelástico de color grisáceo, que es el gluten (que aún contiene un poco de almidón). Este residuo se retira de la amasadora y se centrifuga, colocando la pieza

de gluten en un dispositivo con fondo cribado que, al centrifugarse, permite el paso de una parte del gluten. Al finalizar la centrifugación se pesa la parte del gluten que no atravesó el tamiz (fracción A en la Figura 11.8), el total (A + B en la Figura 11.8), que corresponderá al valor de gluten húmedo, y luego se seca y se pesa para obtener el valor de gluten seco.

El índice de gluten (GI, *gluten index*) es el porcentaje de gluten húmedo que no ha atravesado el tamiz después de centrifugar. Se calcula a partir de la relación de pesos entre A y la suma (A + B). El valor determina la calidad del gluten de esa harina, siendo fuerte para valores de GI alto, o débil para valores de GI bajo.

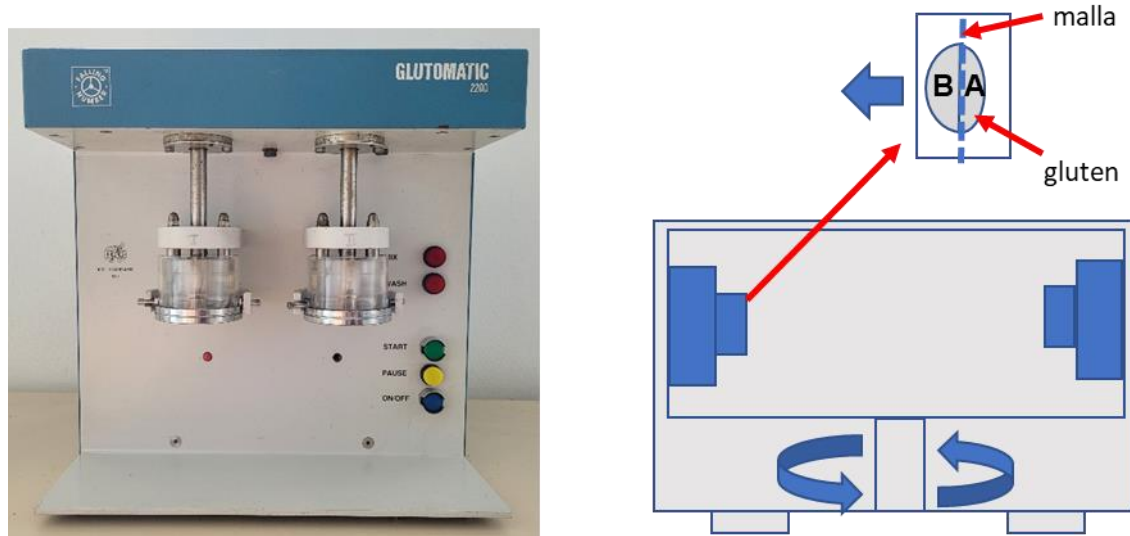


Figura 11.8. Equipo Glutomatic y esquema de la centrifuga y criba para determinación de GI.

Fotografía: CIDCA.

Falling Number (número de caída)

Este ensayo determina la actividad α -amilásica endógena de la harina (AACC, método 56-81). Se prepara una dispersión de harina (7 g) en agua (25 ml) en un tubo que es colocado en un baño termostático (100 °C) para que el almidón gelatinice y pueda ser sustrato de la enzima. Se realiza una agitación vertical con una varilla por 60 segundos, luego de los cuales la varilla se suelta desde su posición más elevada, y se mide el tiempo que tarda en caer hasta el fondo. El tiempo transcurrido se suma a los 60 s de agitación previos para obtener el resultado final, en segundos. Este tiempo se relaciona con la actividad enzimática, ya que si ésta es alta (cosa que ocurre cuando hay germinación prematura de los granos, antes de la cosecha, por factores climáticos) se producirá la degradación del almidón y la pérdida de viscosidad de la suspensión. Por esta razón y en estas circunstancias, el tiempo de caída será corto. Por el contrario, una baja actividad enzimática permite mantener la viscosidad, resultando en números de caída altos.

Ensayo de Zeleny (test de sedimentación)

Este método (AACC, 56-61) se basa en la capacidad de las proteínas del gluten de hidratarse en presencia de ácido láctico. Mide la fuerza relativa del gluten. Los volúmenes de sedimentación reflejan tanto la cantidad como calidad de proteína.

Farinograma

Es un ensayo reológico (AACC, método 54-21) que se realiza en un farinógrafo (originalmente fabricado por Brabender), que consta de una amasadora termostatzada que puede tener capacidad para 10, 50, 100 o 300 g de harina, y a la que se puede agregar agua desde una bureta. En un pre-ensayo, se coloca la harina en el módulo de amasado y, con el equipo en funcionamiento, se agrega agua por goteo hasta que el registro alcanza las 500 UF (unidades farinográficas). Con el volumen de agua registrado se obtiene el parámetro A, que determina la **absorción farinográfica de la harina** y se expresa como porcentaje, en ml H₂O/100 g harina. Esta proporción de agua es la que permitirá, a esa harina en particular, desarrollar una red de gluten de buena calidad. Con este valor de A, se realizan entonces los ensayos propiamente dichos, donde el volumen de agua se agrega de una vez, dando lugar al farinograma completo (Figura 11.9), del que se obtienen distintos parámetros:

- **Tiempo de desarrollo (min):** tiempo que tarda el centro de la banda en llegar al máximo.
- **Estabilidad (min):** tiempo transcurrido entre que el borde superior de la banda toca por primera vez las 500 UF y vuelve a hacerlo cuando desciende.
- **Decaimiento o grado de ablandamiento (UF):** distancia entre el centro de la banda y las 500 UF 12 minutos después del máximo.
- **Ancho de banda (UF):** es la distancia entre la banda superior y la inferior en el máximo.

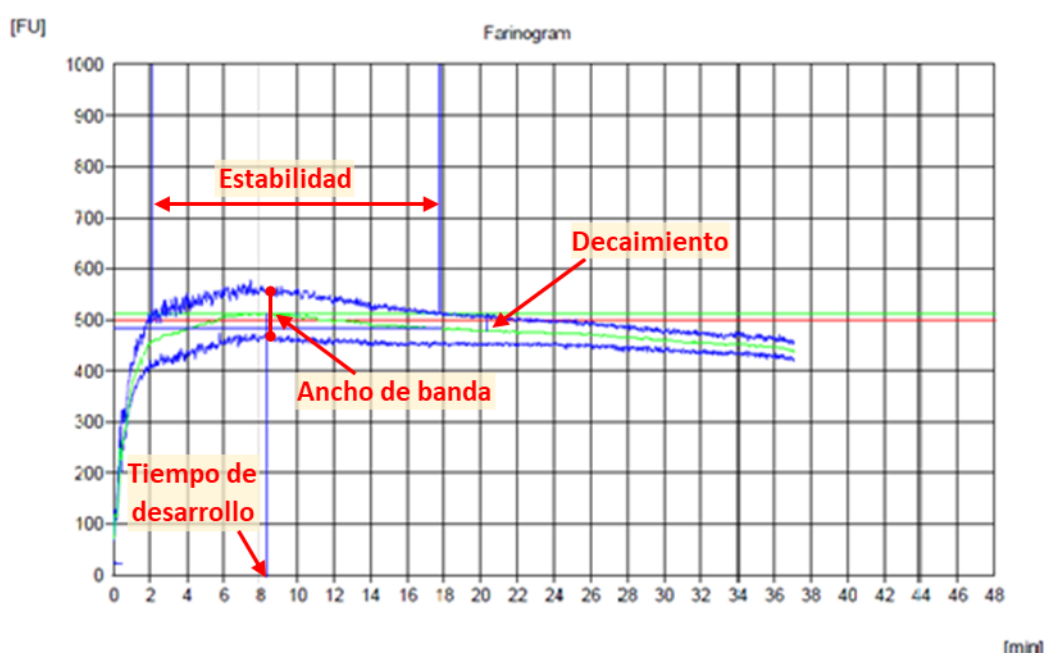


Figura 11.9 Farinograma y principales parámetros. Fuente: Cortesía de *Facundo Bigne*

Alveograma

Este ensayo (AACC, método 54-30) se realiza en el alveógrafo de Chopin. En el alvéografo, se amasa una cantidad de harina (250 g) con la correspondiente cantidad de agua (solución salina), que se obtiene de tablas conociendo la humedad de la harina. La masa se corta en discos (5) que se dejan reposar. Luego, se fijan sobre una platina, donde se les insufla aire desde la parte inferior con un compresor, mientras se registra la presión generada con un manómetro. La masa se inflará, reteniendo el aire. En una primera etapa, la presión dentro del globo de masa aumenta alcanzando un máximo. Luego, decae en la medida que la masa se hace más delgada y ofrece menor resistencia a la expansión. Finalmente, el registro caerá abruptamente cuando se rompa la masa en algún punto.

El tipo de gráficos obtenidos se ilustra en la Figura 11.10. El ensayo se hace con 5 replicados, y el software del equipo calcula la altura (**P**) y el ancho de la base (**L**) de la curva obtenida, que se relacionan respectivamente con la elasticidad y la extensibilidad de la masa. El cociente entre **P** y **L** resulta importante para determinar el uso que se le dará a la harina. Una harina adecuada para pan tendrá una relación $P/L \approx 1$ mientras que una harina para galletas se caracteriza por un $P/L < 1$ y una harina apta para pastas por un $P/L > 1$. El área bajo la curva se relaciona con el trabajo de deformación alveográfico. Si es pequeño, indica una pobre aptitud panadera.

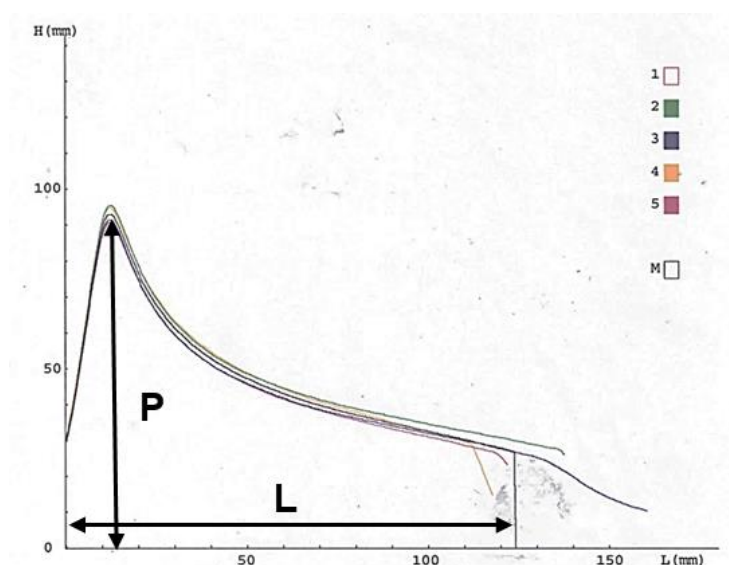


Figura 11.10. Alveograma y parámetros alveográficos *P* y *L*.

Fuente: Cortesía de *Facundo Bigne*

Extensograma

Este ensayo se realiza con un extensógrafo o extensígrafo (AACC, método 54-10), originalmente diseñado por Brabender para ser utilizado en secuencia con un farinógrafo. Se prepara una masa según su absorción y tiempo de desarrollo farinográficos. La masa es moldeada en forma de cilindro, se deja reposar 45 minutos y se sostiene por los extremos mediante unas pinzas que dejan una zona central libre. Luego, el equipo emplea un gancho que se mueve en forma vertical para estirar la masa hacia abajo en esa zona central, hasta que se rompe, mientras registra las UF en función de la distancia. La masa se vuelve a amasar, se deja otros 45 minutos en reposo y se vuelve a repetir el procedimiento. Luego de un total de 3 medidas sobre la misma masa, se obtiene una curva (Figura 11.11), donde la altura máxima del registro es la **Resistencia máxima**, asociada a la tenacidad o elasticidad de la masa, y el ancho de la base es la **Extensibilidad**. Este ensayo proporciona valiosa información sobre el comportamiento de una masa en aquellos procesos en que es sometida a periodos alternados de esfuerzo mecánico y reposo.

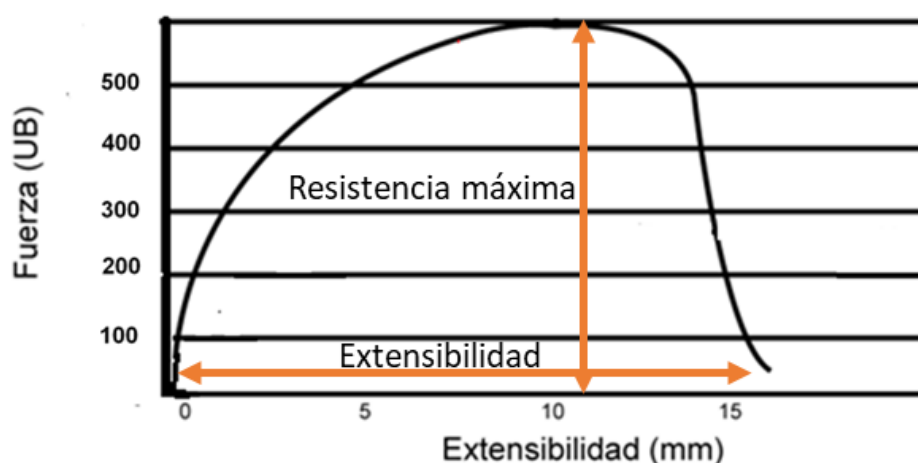


Figura 11.11. Esquema de un extensograma y parámetros

Amilograma

Este ensayo da información sobre el comportamiento del almidón en suspensión acuosa cuando es sometido a un proceso de calentamiento y enfriamiento. El ensayo se realiza en un amilógrafo bajo un programa de calentamiento, mantenimiento de la temperatura y enfriamiento con agitación constante. El almidón nativo gelatinizará, y durante el enfriamiento gelificará. En la Figura 11.12 se esquematizan los cambios que ocurren y cómo se relacionan con la viscosidad de la pasta, que es la variable medida durante el ensayo.

La temperatura en la que comienza el aumento de viscosidad se denomina **temperatura de empastado**. La **viscosidad de pico o viscosidad máxima** coincide con un máximo hinchamiento de los gránulos y lixiviación de amilosa. A medida que prosigue el calentamiento y la agitación, hay más desintegración granular y la viscosidad disminuye hasta un mínimo que coincide con el comienzo del enfriamiento. La diferencia entre la viscosidad de pico y el mínimo es un parámetro importante, que se denomina “**inestabilidad**” (*breakdown* en inglés), e indica cuán resistente es la pasta de almidón frente al proceso combinado de calentamiento con agitación. La **viscosidad final** permite estimar la tendencia a retrogradar del almidón evaluado: cuanto mayor sea esa viscosidad final, mayor tendencia a retrogradar. Esta tendencia se puede analizar mejor a través del **valor de asentamiento**, que es la diferencia entre viscosidad final y mínima (*setback*).

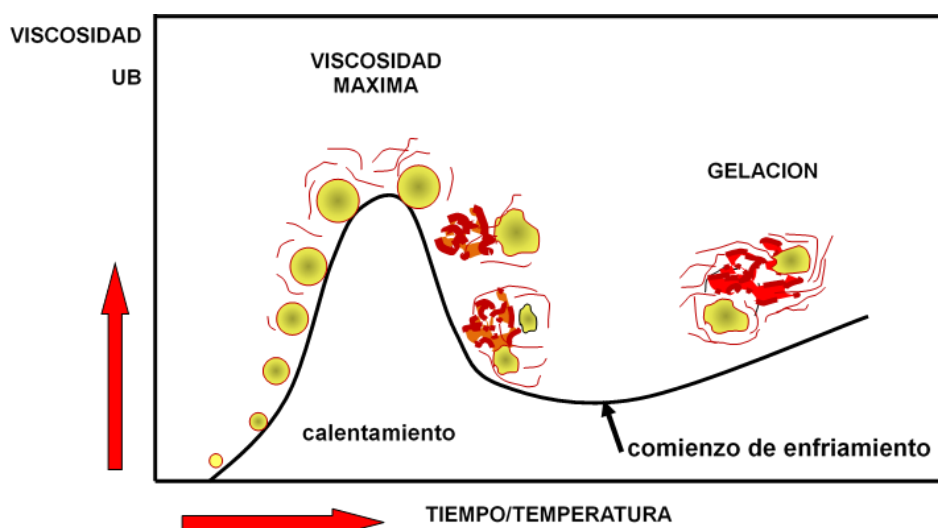


Figura 11.12. Esquema de los cambios que ocurren durante el amilograma

Este tipo de ensayo permite seleccionar el almidón más adecuado para una formulación alimentaria. Si se incluirá como ingrediente para alimentos que van a ser refrigerados, se tratará de elegir un almidón que tenga poca propensión a retrogradar (bajo *setback*, baja viscosidad final). Si se lo usará como espesante en un producto que debe resistir altos cizallamientos y temperaturas (por ejemplo, ser bombeado en caliente), se buscará tener la menor inestabilidad posible.

Panificación

En la Tabla 11.4 se resumen los principales procesos físicos, químicos y bioquímicos que ocurren durante el proceso de elaboración del pan, en la corteza y en la miga.

Composición y valor nutricional del pan

Existen muy diferentes tipos de panes por lo que su composición será variable. El pan es un producto versátil, que admite la incorporación de ingredientes que mejoren su perfil nutricional. La composición típica de un pan blanco común, de producción artesanal, de acuerdo a datos de la Fundación Española de Nutrición (2024) es: 58% de carbohidratos (mayoritariamente almidón), 7,8% de proteínas, 2,2% de fibra, 1% lípidos, 31% de humedad. En cambio, un pan integral puede, de acuerdo a la misma fuente, tener 49% de carbohidratos totales, 8% de proteínas, 8,5% de fibra, 1,4% lípidos, 33,1% de humedad y un mayor contenido mineral. El aporte calórico es mayor en el caso del pan blanco (277 kcal/100g vs 258 kcal/100g). Desde el punto de vista nutricional, un pan obtenido a partir de harina refinada tiene menos nutrientes que uno integral y su principal aporte es energético. No obstante, la tendencia actual es al consumo

de productos panificados donde se han incorporado otros nutrientes o bioactivos, por ejemplo, panes con aporte incrementado de fibra (panes con salvado u otras fuentes de fibra) o con ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) o con harinas de leguminosas. Estas últimas tienen una composición aminoacídica complementaria a la de la proteína de trigo: las proteínas de leguminosas pueden aportar lisina (que es deficiente en el trigo y cereales en general) y los cereales aportan aminoácidos azufrados (metionina+cisteína) que son deficitarios en las leguminosas. La mezcla de harinas conduce así a una mezcla proteica de mejor perfil aminoacídico.

Tabla 11.4. Etapas de la panificación.

Etapas	Fenómenos
tamizado de la harina	eliminación de partículas extrañas
mezclado de los ingredientes y amasado 10-20 minutos	absorción de agua desarrollo de elasticidad y extensibilidad del gluten $-SH + HS- \leftrightarrow -S-S-$ interacción proteínas-glicolípidos-almidón
corte y moldeado	
fermentación T= 23-28 °C 2-3 h humedad relativa controlada (≥ 75%)	dilatación de la masa evaporación de agua dilatación del aire atrapado en la masa generación de CO ₂ por acción de levaduras o leudantes químicos
cocción en horno T externa ≈ 230 °C T interna < 100 °C T superficie ≈ 195 °C	en corteza: deshidratación pardeamiento no enzimático (reacciones de Maillard) formación de maltol (flavor) en miga: gelatinización parcial del almidón pérdida de vitamina B ₁ muerte de levaduras inactivación de amilasas coagulación de proteínas (albúminas y globulinas) pérdida de agua (contenido final = 45%)
enfriamiento T = 21 °C humedad relativa controlada (80%)	evitar cambios de textura por migración de agua evitar pérdida de peso
envejecimiento del pan	retrogradación de amilosa y amilopectina pérdida de humedad

Referencias bibliográficas

- American Association of Cereal Chemists (2000) AACC Approved Methods of Analysis 11th edition
- Arp, G (2019) Panificados con almidón resistente aptos para regímenes especiales: formulación y caracterización fisicoquímica, sensorial y nutricional. Tesis Doctoral (UNLP)
- Código Alimentario Argentino. Capítulo IX
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_capitulo_ix_harinas.pdf
- D'Angelo, G., Rodríguez Zurro, T., Di Rico, M., Terré, E. (2023). El aporte fundamental del trigo a la economía argentina. Artículo de Agrositio <https://www.agrositio.com.ar/noticia/232348-el-aporte-fundamental-del-trigo-a-la-economia-argentina.html>
- Ezquerria, Mariano. (2024) Efecto del almidón dañado en la harina de trigo. Granotec. Ingresado <https://www.granotec.com.ec/efecto-del-almidon-danadoen-la-harina-de-trigo/>
- Fundación Española de Nutrición (2024). Pan blanco. <https://fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/panblanco.pdf>
- Fundación Española de Nutrición (2024). Pan integral. <https://fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/panintegral.pdf>
- Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F., & Wrigley, C. W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Cereal Chem*, 78(6), 635-646.
- Kent, N. L. (1994). Kent's Technology of Cereals: An introduction for students of food science and agriculture. Elsevier.
- Miralles, D. J., & González, F. G. (2010). El trigo en Argentina: Perspectivas ecofisiológicas del pasado, presente y futuro para aumentar el rendimiento. In XVII Congreso de AAPRESID, La era del Ecoprogreso. Rosario, Santa fe, Argentina (pp. 1-11).
- Shewry, P. R., Popineau, Y., Lafiandra, D., & Belton, P. (2000). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science & Technology*, 11(12), 433-441.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., Belton, P. S., & Tatham, A. S. The structure and properties of gluten: an elastic protein from. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 2002 357, 133-142
- Osborne, T. B. (1908). Our present knowledge of plant proteins. *Science*, 28(718), 417-427.

CAPÍTULO 12

Estudio de casos representativos: Leche, un alimento con proteína de muy alta calidad

Eugenia Alejandra Orosco Condorí

Introducción

En una dieta balanceada de un individuo adulto, el 15 % de las calorías totales diarias consumidas corresponden a la ingesta de proteínas. Dentro de los alimentos ricos en proteínas de origen animal se incluyen la leche junto con las carnes y el huevo. En este capítulo se realizará una breve introducción de aspectos de la producción, composición y legislación correspondiente a la leche. Además, se plantearán los protocolos para el análisis de los distintos componentes y se evaluará el valor nutricional y funcional de este alimento.

En el Capítulo VIII del Código Alimentario Argentino (CAA) se define:

Artículo 554 - Con la denominación de Leche sin calificativo alguno, se entiende el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales deberá denominarse con el nombre de la especie productora. (CAA, 2024)

Además de esta definición legal que establece el CAA también es posible definir a este sistema alimentario desde otros puntos de vista. Desde el punto de vista biológico, la leche es una sustancia segregada por la hembra de los mamíferos con la finalidad de nutrir a sus crías. Desde el punto de vista legal es el producto del ordeño de un mamífero sano y que no representa un peligro para el consumo humano. Finalmente, desde el punto de vista técnico o fisicoquímico la leche es un sistema en equilibrio constituido por tres sistemas dispersos: **emulsión** correspondiente a los glóbulos grasos, **suspensión** de las micelas de caseína junto a minerales en estado coloidal y **solución** de lactosa y minerales.

Biosíntesis de la leche

La leche es el producto de la glándula mamaria. En los animales bovinos este órgano es altamente productivo para la biosíntesis alcanzando rendimientos promedio entre 17 y 24 litros de leche por día para vacas en ordeño en tambos argentinos (OCLA, 2023). La leche se origina en los alvéolos que son las unidades productoras. Éstos contienen el tejido secretor y un lumen donde se almacena el producto sintetizado. A su vez se encuentran conectados a una red de conductos que van aumentando de calibre hasta la cisterna, para desembocar en el pezón del animal. A las células epiteliales de secreción que son altamente orientadas, con su núcleo cerca de la membrana basal, y que están en contacto con la sangre y la linfa, llegan los componentes simples para realizar la síntesis de proteínas, lípidos y lactosa.

Dentro de estas células secretoras se sintetizan las proteínas propias de la leche: caseínas, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina, mientras que la albúmina sérica y las inmunoglobulinas provienen directamente desde la sangre y se transportan a través de la célula epitelial mediante receptores específicos. La síntesis de proteínas comienza en los ribosomas citoplasmáticos que luego pueden asociarse al retículo endoplásmico para continuar la síntesis. Cuando la síntesis finaliza, los ribosomas se separan del retículo endoplásmico. A continuación, en el aparato de Golgi ocurren las modificaciones postraduccionales como la fosforilación y glicosilación de ciertos residuos de las proteínas. Aquí dentro es donde se produce el ensamblaje de las caseínas para dar lugar a las **micelas** y se produce la síntesis de la lactosa. Desde el aparato de Golgi se forman las vesículas que contienen los productos de la síntesis que se dirigen hacia la membrana apical para luego fusionarse con esta y volcar su contenido al lumen alveolar para su almacenamiento (Swaigood, 2019).

La grasa también se sintetiza en el retículo endoplásmico formando gotas lipídicas que se encuentran cubiertas por lípidos polares y proteínas. Estas gotas se trasladan hacia la membrana apical de la célula epitelial, donde son transportadas al lumen alveolar por pinocitosis, es decir, rodeadas por membrana plasmática formando el denominado **glóbulo graso** (Argov y cols., 2008). La asociación entre la materia grasa y la membrana plasmática tendrá impacto durante el procesamiento de la leche en la etapa de homogeneización, así como también en los procedimientos utilizados para la determinación cuantitativa de este macrocomponente como se mencionará más adelante.

Los electrolitos de la leche se transportan desde la sangre a través de bombas y canales ubicados en la membrana basolateral de las células epiteliales. La concentración de iones sodio y calcio resulta ser menor que en el plasma sanguíneo dado que la leche es isoosmótica con el plasma y la presencia de lactosa aporta a la osmolaridad.

Finalmente, en el momento del ordeño se produce la liberación de la hormona oxitocina al torrente sanguíneo. Esta hormona se une a las células mioepiteliales que rodean al alvéolo produciendo que éste se contraiga, expulsando la leche almacenada en el lumen que recorre todo el sistema de conductos hasta su salida por el pezón.

Componentes de la leche

La composición de la leche puede variar por diversas causas entre las que se incluyen la especie y raza del animal, la alimentación, los cambios estacionales, entre otros. La leche es un alimento adaptado a las necesidades de cada cría en particular, según su especie. En la Tabla 12.1 se muestra la composición de la leche de vaca, búfala y humana.

Tabla 12.1. Composición química de la leche de diferentes especies (por cada 100 g).

Nutriente	Vaca	Búfala	Humana
Agua (g)	88,0	84,0	87,5
Energía (kcal)	61,0	97,0	70,0
Proteína (g)	3,2	3,7	1,0
Grasa (g)	3,4	6,9	4,4
Lactosa (g)	4,7	5,2	6,9
Minerales (g)	0,72	0,79	0,20

Nota. Adaptado de *Composición de la leche y valor nutritivo*. Infocarne.com.

Microestructura de la leche

Como se mencionó anteriormente desde el punto de vista fisicoquímico los componentes de la leche están formando sistemas dispersos: la materia grasa formando parte de una emulsión, las proteínas conformando una dispersión o en solución.

En el caso de las proteínas hay dos fracciones presentes. Por un lado, la fracción caseínica que está presente como dispersión y las proteínas del suero que son proteínas solubles. Las diferentes caseínas representan alrededor del 80 % del contenido total de proteínas, mientras que las proteínas del suero representan el 20 % restante. En la Tabla 12.2 se detallan las características de las proteínas de la leche.

Las caseínas se caracterizan por tener fósforo que se incorpora a grupos laterales del aminoácido serina como grupos fosfato, en distintas proporciones (Tabla 12.2). La α_s1 -caseína y α_s2 -caseína son las que más fósforo contienen, seguidas por la β -caseína, mientras que κ -caseína y γ -caseína tienen muy poco fósforo. Esta diferencia en el contenido de fósforo afecta a la susceptibilidad frente al calcio para precipitar. Las caseínas no son proteínas globulares por lo que necesitan agruparse entre sí para formar una dispersión estable; estos agregados se denominan **micelas**. Las proteínas del suero son proteínas globulares solubles por lo que forman una solución verdadera en la leche.

Tabla 12.2. Características de las proteínas de la leche de vaca.

Fracción	Participación (%)	Punto isoiónico	Contenido de fósforo (%)
<i>Caseína</i>	80		
α_s1 -caseína	34	4,92-5,35	1,1
α_s2 -caseína	8	-	1,4
κ -caseína	9	5,77-6,07	0,2
β -caseína	25	5,20-5,85	0,6
γ -caseína	4	5,8-6,0	0,1
<i>Proteínas del suero</i>	20		
β -lactoglobulina	9	5,35-5,41	
α -lactoalbúmina	4	4,2-4,5	
Seroalbúmina	1	5,13	
Inmunoglobulinas	2		
Proteosa-peptona	4	3,3-3,7	

Nota. Adaptado de *Bovine milk proteins*, Belitz y cols., 2004, Food Chemistry.

La estructura de la **micela de caseína** se puede explicar por diversos modelos que fueron evolucionando a lo largo del tiempo sobre la base del desarrollo de nuevas técnicas analíticas que aportan nuevas evidencias experimentales (Ferrandini y col., 2006). La estructura de las caseínas se puede analizar considerando la carga neta en diferentes partes de la cadena polipeptídica y registrando la hidrofobicidad de las distintas porciones de la cadena. De esta forma se puede estimar qué porción de cada caseína se orientará hacia el suero por tener carga neta debida a fosforilaciones o glicosilaciones como en la κ -caseína, y cuales dominios se orientan hacia el interior de las micelas. El primer nivel de organización de la micela corresponde a la formación de submicelas.

Actualmente el modelo aceptado indica que primero ocurre la formación de submicelas que es el primer nivel de organización. Las submicelas tienen una composición variable dependiendo de la ubicación dentro de la micela, ya que se observa que las submicelas más externas en contacto con el suero son más ricas en κ -caseína lo que favorece la estabilización global de la micela. Las submicelas se unen entre sí mediante puentes químicos de fosfato de calcio formando una estructura que no es compacta sino porosa.

En el modelo de Walstra (1984) ya se menciona la presencia de submicelas más ricas en κ -caseína orientadas hacia el exterior de la micela además de incorporar la orientación de las colas glicosiladas hacia el suero contribuyendo a la estabilización de la micela. Según este modelo las submicelas se unen entre sí mediante puentes químicos de fosfato o carboxilato de calcio.

Los modelos más actuales de estructura interna (Holt, 1992) y de enlace dual (Horne, 1998) tienen en cuenta la interacción entre dominios hidrofóbicos entre sí.

La materia grasa de la leche se encuentra como **glóbulos grasos** que están formados por triglicéridos que, además de contener ácidos grasos de cadena larga, tienen cantidades significativas de ácidos grasos saturados de cadena corta de 4, 6, 8, 10 y 12 átomos de carbono. Los ácidos grasos mayoritarios son 14:0, 16:0, 18:0 y 18:1. Además, en la leche hay lipasas que es necesario inactivar durante la pasteurización para evitar reacciones de lipólisis.

Un criterio de genuinidad correspondiente a la grasa láctea se establece en el artículo 555 bis del CAA que indica el cumplimiento de ciertas relaciones de ácidos grasos determinados por cromatografía gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

$$14:0 / 18:1 = > 0,30$$

$$12:0 / 10:0 = (0,95 - 1,3)$$

$$14:0 / 12:0 = (3,0 - 4,1)$$

$$10:0 / 8:0 = (1,85 - 2,3)$$

Respecto del contenido mineral de la leche, en el caso del calcio y del fósforo, una parte se encuentra en fase soluble y otra parte en fase coloidal asociada a las micelas de caseína. En el caso del calcio, el 33 % se encuentra en fase soluble y el 67 % restante en fase coloidal. Para el caso del fósforo, el 45 % se encuentra en fase soluble y el 55 % en fase coloidal.

La lactosa se encuentra completamente en la fase soluble.

Procesamiento de la leche

En el tambo se realiza el ordeño de los animales en condiciones higiénico - sanitarias que aseguren la mínima contaminación del producto. Posteriormente la leche se trasporta hasta la usina láctea en camiones refrigerados en donde se realizan los procesos de pasteurización, normatización y homogeneización.

Pasteurización

El tratamiento de pasteurización consiste en realizar un tratamiento térmico a la leche para prolongar su vida útil. En este proceso se realiza un calentamiento para inactivar enzimas y eliminar microorganismos patógenos. Este tratamiento no elimina microorganismos alteradores por lo que la leche debe ser enfriada inmediatamente después del tratamiento térmico, a una temperatura no superior a 5°C.

El tratamiento térmico se realiza en dos momentos durante el procesamiento. El primer tratamiento térmico se realiza en un intercambiador de placas que permite la inactivación de enzimas. Posteriormente la leche ingresa a un sistema de refrigeración para continuar con el proceso de normatización. Finalmente hay un segundo tratamiento térmico, usualmente en

intercambiador de placas, a continuación del proceso de homogeneización. En este paso se realiza la inactivación de microorganismos patógenos para obtener la leche pasteurizada.

Normatización

A continuación de la pasteurización se realiza la separación de crema mediante una centrifuga continua que permite la separación de la crema o nata, obteniéndose así la leche descremada. Esto permite que se puedan volver a mezclar la crema y la leche descremada en determinadas proporciones según lo que establece el CAA. Esto último, permite clasificarla según su contenido de materia grasa en:

- Leche entera, con un mínimo de 3,0 % p/v.
- Leche semidescremada o parcialmente descremada, entre 0,6 a 2,9 % p/v.
- Leche descremada, con un máximo de 0,5 % p/v.

La leche entera que ha pasado por este proceso y se ajusta su contenido de materia grasa a un 3 % se denomina leche normatizada.

El remanente de crema extraído se utiliza para la elaboración de otros productos como crema, manteca, quesos o dulce de leche entre otros.

Homogeneización

En la leche la materia grasa se encuentra bajo la forma de glóbulos grasos que tienen un tamaño que varía entre menos de 1 μm hasta 15 μm . Éstos forman una emulsión que dependiendo del tamaño de los glóbulos puede presentar una estabilidad variable ya que con el paso del tiempo pueden ocurrir los fenómenos de agregación o floculación de la materia grasa, que cambian la apariencia de la leche. Para evitar estos fenómenos y aumentar la estabilidad del sistema la leche se realiza un proceso de homogeneización. Este proceso consiste en hacer pasar la leche a través de una válvula en donde las gotas de grasa se rompen y convierten en partículas de menor tamaño haciendo que el producto sea más estable. Al romper los glóbulos grasos también se rompe la membrana plasmática que los rodea, aumentando la superficie expuesta de la materia grasa, que entra en contacto con micelas de caseína que se agregan sobre la superficie (Huppertz y col., 2020).

Análisis de leche y productos lácteos

El análisis de la leche nos da información acerca de las condiciones higiénico-sanitarias, su procesamiento y también pueden arrojar indicios de una posible adulteración. Según el artículo

555 del CAA la leche destinada a consumo o a la elaboración de productos lácteos debe presentar las características fisicoquímicas que se detallan en la Tabla 12.3.

Tabla 12.3. Características físicas y químicas que debe presentar la leche destinada a ser consumida como tal y la destinada a elaborar productos lácteos.

Requisito	Valores aceptados
Densidad a 15° C (g/ml)	1,028 – 1,034
Materia Grasa (g/100 cm ³)	Mín. 3,0
Extracto Seco No Graso (ESNG) (g/100 g)	Mín. 8,2
Acidez Dornic (g ácido láctico/100 cm ³)	0,14 – 0,18
Descenso crioscópico	Máx. -0,512 °C
Proteínas totales (N x 6,38) (g/100 g)	Mín. 2,9

Nota. Adaptado del Código Alimentario Argentino, art. 555.

Preparación de la muestra

La muestra de leche se debe llevar a 15 °C y mezclar por trasvase entre recipientes limpios para asegurar su homogeneidad. En caso de que la muestra presente grumos de crema o nata que persisten luego del mezclado, se debe entibiar la leche en un baño de agua a 37 °C y mezclar hasta homogeneidad. Luego se vuelve a enfriar hasta 15 °C para continuar con las determinaciones.

Evaluación de caracteres organolépticos

Se puede describir la leche fresca obtenida en circunstancias normales, de color blanco intenso, completamente opaca, de olor débil y sabor suave, pastoso y débilmente azucarado. Desde el momento que la muestra ingresa al laboratorio, si bien se trata de un alimento, no se debe probar (comer o beber) por lo que el análisis se realizará prescindiendo del sentido del gusto. En este caso la evaluación de caracteres organolépticos se realiza utilizando el resto de los sentidos para describir los atributos asociados a la apariencia, aroma y consistencia (IDF-ISO, 2023).

En cuanto al olor de la leche, hay descriptores correspondientes a aromas esperados y aromas no deseados según se muestra en la Tabla 12.4.

Tabla 12.4. *Descriptoros correspondientes a distintos aromas en una muestra de leche.*

Aromas esperados	Aromas no deseados
Caramelo A crema A hierba Láctico A cocido	Ácido A quemado Fermentado A moho Rancio Butírico A animal Metálico

Dentro del análisis visual también hay descriptoros asociados al color y a la apariencia; estos se presentan en la Tabla 12.5.

Tabla 12.5. *Descriptoros asociados al color y apariencia de una muestra de leche*

Color	Apariencia
Blanquecino Tostado Beige Amarillento Opaco o brillante	Granulosa Con capas o grumos de crema Cuajada Presencia de cuerpos extraños Sedimentación Separación de fases Grasa libre Proteína libre Presencia de hongos

Finalmente, sobre los atributos de consistencia se puede decir si la leche es lisa o espesa.

Una vez que se definen los descriptoros es posible cuantificarlos mediante una escala graduada para indicar la intensidad de cada parámetro.

Análisis fisicoquímico

Densidad

La densidad de la leche se puede determinar mediante el uso de un picnómetro o un lactodensímetro, informando el resultado a 15 °C según se establece en la normativa.

La determinación utilizando un picnómetro consiste en medir el peso de la leche que se introduce dentro de un picnómetro de volumen conocido.

Otra forma de medir la densidad es utilizando un lactodensímetro que es un instrumento de vidrio calibrado para medir la densidad en muestras de leche y en algunos casos también tiene incorporado un termómetro para medir en simultáneo la temperatura de la muestra (Figura 12.1). El procedimiento consiste en colocar un volumen de leche dentro de una probeta. A continuación,

se suelta el lactodensímetro con un giro suave sin que toque las paredes de la probeta. Una vez estabilizado se leen las escalas de temperatura y densidad. Si la lectura de densidad se realiza a temperaturas distintas de 15 °C, en el intervalo ± 5 °C, se debe realizar una corrección para informar el valor correspondiente a 15 °C según la siguiente expresión,

$$D^{15} = D^T \pm \Delta T \cdot 0,0002$$

Donde:

D^{15} = densidad a 15 °C

D^T = densidad a la temperatura T dentro del intervalo 15 ± 5 °C

ΔT = diferencia de temperatura con el valor de referencia

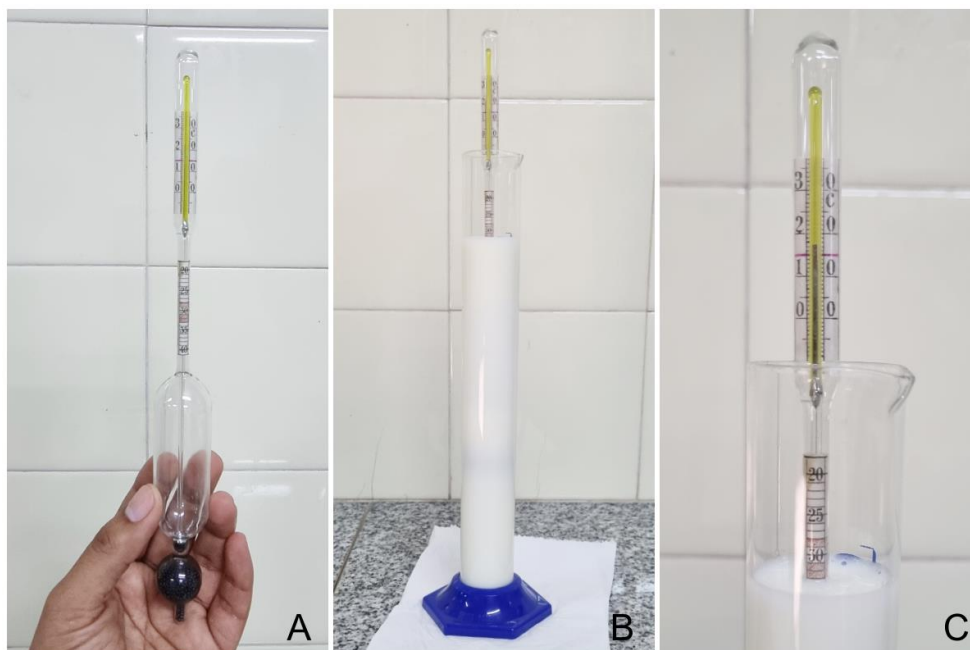


Figura 12.1. A. Lactodensímetro con escala para densidad y temperatura, B. Medida de la densidad de una muestra de leche, C. Lectura de escala, $T = 17$ °C y densidad = $1,033 \text{ g/cm}^3$.

Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Si la temperatura es mayor a 15 °C se aplica el signo + para el cálculo y si es menor se usa el signo negativo. Para el ejemplo de la Figura 12.1 C, la temperatura medida es de 17 °C (escala superior, en °C) y la densidad medida es de $1,033 \text{ g/cm}^3$ (escala inferior, que indica el valor del segundo y tercer decimal). Aplicando la corrección por temperatura, la densidad a 15 °C resulta igual a 1.0334 g/cm^3 .

Conocer la densidad de la leche nos permite realizar alguna inferencia acerca de la posible adulteración de la muestra cuando el valor encontrado se aleja del rango aceptado por el CAA (Tabla 12.3). En caso de medir una densidad menor a $1,028 \text{ g/cm}^3$ se puede sospechar la adulteración por el agregado de agua, denominada “aguado”. Para confirmar esta posible adulteración debe verificarse la dilución de otros componentes de la muestra. Por el contrario, si la densidad medida resulta ser mayor a $1,034 \text{ g/cm}^3$, este aumento de densidad puede darse por

el desgrasado, ya que, al tener la materia grasa una densidad menor a 1, una menor proporción de esta en la leche causa un incremento de la densidad. La otra razón para un aumento de la densidad es el agregado de solutos.

Extracto seco total

El extracto seco total (EST) consiste en cuantificar los sólidos totales presentes en la leche: lactosa, proteínas, grasa y minerales. El procedimiento consiste en pesar en balanza analítica el volumen correspondiente a 5 ml de muestra, medidos con pipeta de doble aforo, en una caja de Petri (CP) cuyo diámetro sea de al menos 5 cm. Es habitual preparar las cajas de Petri con arena calcinada para favorecer la transferencia de calor y pérdida de agua durante el calentamiento según lo mencionado en el Capítulo 5.

A continuación, la caja de Petri con la muestra se calienta en un baño de vapor durante al menos 15 minutos para producir una evaporación lenta. Posteriormente la caja se lleva a estufa a 100 °C para continuar con el secado hasta peso constante. Finalmente, la placa se retira de la estufa y se deja enfriar en un desecador para su posterior pesada en balanza analítica. El valor correspondiente al EST se calcula de la siguiente forma:

$$\text{EST} = \frac{(\text{peso CP con arena} + \text{muestra después de secado a } 100\text{ }^{\circ}\text{C} - \text{peso CP con arena}) \cdot 100}{\text{cantidad de leche (g o cm}^3\text{)}}$$

Extracto seco no graso

El extracto seco no graso (ESNG) es un parámetro calculado que resulta de la diferencia entre el valor de extracto seco total y el contenido de materia grasa (MG) de la muestra, representando al extracto sólido que no es materia grasa.

$$\text{ESNG} = \text{EST} - \text{MG}$$

El ESNG tiene un valor mínimo según el CAA igual a 8,2 g/100 cm³. Este parámetro presenta menos variación que el EST ya que de todos los componentes sólidos de la leche, la materia grasa es el que presenta más variación.

Lactosa

Para la determinación de lactosa en leche se puede utilizar el método de Fehling – Causse – Bonnans (FCB) descrito en el Capítulo 6 de este libro, aplicando el protocolo para glúcidos solubles reductores. El procedimiento consiste en preparar una solución a partir de la muestra de leche que tenga una concentración equivalente a 0,5 % p/v como glucosa, siguiendo los pasos de defecación, decantación y filtración para obtener la solución adecuada para valorar el reactivo de FCB.

La lactosa es un disacárido reductor que frente al reactivo de FCB reacciona manteniendo la siguiente relación de masas con la glucosa:

50 mg de glucosa ~ 66 mg de lactosa anhidra

Esta equivalencia habitualmente la denominamos factor empírico de la lactosa. Este factor se utiliza para realizar el cálculo del contenido de lactosa en la muestra cuando se utiliza como patrón una solución de glucosa al 0,5 % p/v.

Proteínas

Para la cuantificación de proteínas en muestras de leche se puede realizar el método de Kjeldahl que es uno de los métodos de referencia. También se puede utilizar el método de Kofranyi o del nitrógeno álcali lábil, o el método espectrofotométrico de Amido Black de interacción proteína – colorante. Todos estos métodos fueron introducidos en el capítulo 4 y descriptos en detalle en el Capítulo 7.

Materia grasa por el método de Gerber

Recordando que la materia grasa de la leche tras ser sintetizada es rodeada por membrana plasmática y que durante el proceso de homogeneización también se produce la agregación en la superficie de micelas de caseína, esto representa una dificultad para utilizar los métodos de determinación de lípidos basados en la extracción directa con solventes. Por esto, la determinación de materia grasa en muestras de leche requiere de métodos alternativos en los que primeramente se rompa la interacción lípido – proteína para luego realizar la separación o extracción con solventes.

La materia grasa en la leche y productos lácteos se determina por el método de Gerber. En esta metodología se utiliza una solución de ácido sulfúrico Gerber (concentración 90 % p/p) para producir la carbonización de las proteínas y otros componentes, y así romper la interacción con los lípidos. Además, se utiliza un dispositivo de vidrio denominado butirómetro, el cual tiene una escala graduada para leer el contenido de grasa obtenido. Hay butirómetros disponibles para leche, crema, manteca, suero de leche y helado, que difieren en el rango numérico de la escala graduada.

El procedimiento experimental consiste en colocar dentro del butirómetro 10 ml de ácido sulfúrico de concentración 90% p/p, 11 ml de leche con pipeta aforada y 1 ml de alcohol amílico. El alcohol amílico tiene por función proteger a los lípidos de la carbonización y favorecer la separación de fases para realizar la lectura de la materia grasa. Una vez que se colocan la muestra y reactivos dentro del butirómetro se tapa el dispositivo para realizar el mezclado teniendo la precaución del calentamiento por el calor liberado en la reacción. A continuación, se lleva el butirómetro a un baño de agua a 65 – 70 °C durante 5 minutos. Posteriormente, se realiza la centrifugación en equipos diseñados especialmente para estos dispositivos (Figura 12.2 A y B), durante al menos 5 minutos a 2000 rpm para lograr la separación de las fases acuosa y grasa.

Al finalizar la centrifugación, los butirómetros se vuelven a llevar al baño de agua para ajustar la temperatura y realizar la lectura correspondiente a 65 °C (Figura 12.2 C). Para realizar la lectura se ajusta el tapón del butirómetro de modo de hacer coincidir la interfase con el cero de la escala del vástago graduado.

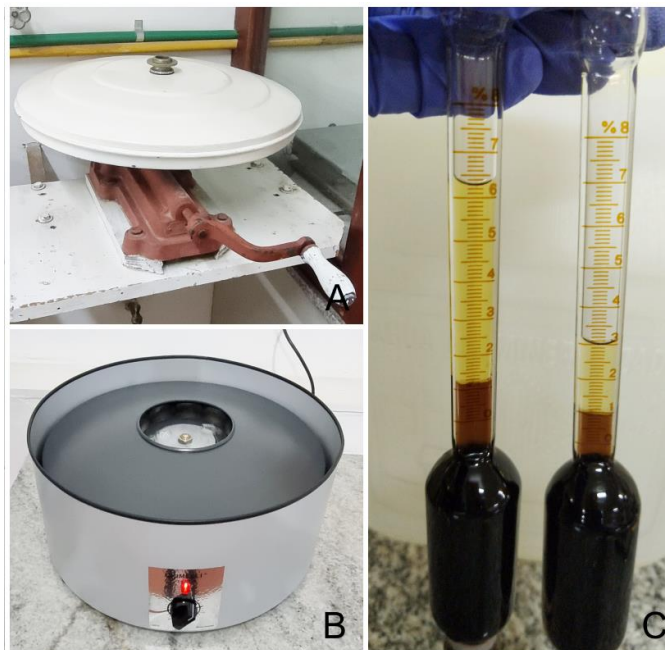


Figura 12.2. A. Centrifuga para butirómetros manual, B. Centrifuga para butirómetros eléctrica, C. Butirómetros que muestran la materia grasa separada para realizar la lectura. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

Descenso crioscópico

Consiste en determinar el punto de congelación de la leche, en un equipo denominado crioscopio. El punto crioscópico debe estar dentro de los valores estipulados por el CAA. Si los valores son mayores a los aceptados se sospecha la adición de agua. Valores más alejados de cero que los aceptados indican que puede haber habido agregado de sustancias por ejemplo para enmascarar la acidez producida por microorganismos.

Control del estado de conservación

El estado higiénico – sanitario de la leche se puede verificar mediante determinaciones como la medida de pH, el ensayo de azul de metileno o reductasimetría y la acidez Dornic. Estos ensayos pueden dar cuenta de la contaminación microbiana de la leche que puede producirse por infección de la vaca, ya sea por vía ascendente desde el pezón o por el torrente sanguíneo. También puede ocurrir por contaminación externa una vez que la leche ha sido ordeñada.

Ensayo del azul de metileno o reductasimetría

Este ensayo determina la actividad reductora presente en la leche dada por las bacterias que por un lado consumen el oxígeno disuelto en la leche reduciendo el potencial redox y también por producción de un sistema de reducción propio de las bacterias. La actividad reductora depende del número de bacterias y de las especies presentes. Algunas especies como las coliformes son muy activas y otras influyen poco en el potencial como las bacterias termorresistentes y las esporuladas. En las leches fuertemente contaminadas el descenso de potencial es rápido.

Para esta determinación se utiliza un indicador redox que cambia de color o se decolora cuando el potencial alcanza un determinado valor mínimo. Un ejemplo de este tipo de indicadores es el azul de metileno, cuya forma oxidada presenta una coloración azul y la forma reducida es incolora. El procedimiento consiste en colocar dentro de un tubo de Nessler unos 40 ml de leche a la que se agrega 1 ml de solución del indicador azul de metileno. Los tubos se tapan con un tapón de algodón y se homogenizan suavemente para evitar la incorporación de oxígeno a la leche. A continuación, los tubos se ubican en estufa o baño termostático a 37 °C (Figura 12.3).

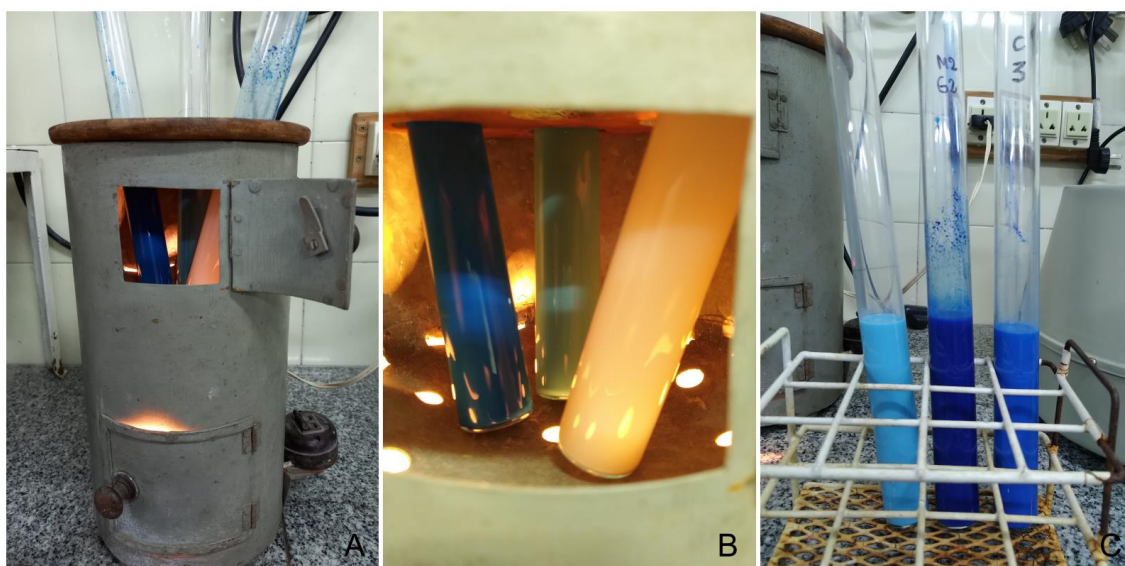


Figura 12.3. A. Estufa a 37 °C utilizada para la determinación del tiempo de decoloración del azul de metileno, B. Interior de la estufa, C. Tubos de muestra con distintos niveles de decoloración. Fuente: Laboratorio del Área Bioquímica y Control de Alimentos.

En este ensayo se registra el tiempo en que el azul de metileno se decolora. A partir del tiempo registrado se interpreta la calidad de la leche según la clasificación que se muestra en la Tabla 12.6 teniendo en cuenta que un aumento en la carga microbiana reduce el tiempo de decoloración.

Tabla 12.6. Interpretación de resultados y clasificación de la leche según el tiempo de decoloración del azul de metileno registrado.

Tiempo de decoloración	Clasificación
Antes de los 20 min	Muy mala
Entre 20 min y 2 h	Mala
Entre 2 y 5 h	Mediocre
Más de 5 h	Buena

Acidez Dornic

La medida de la acidez es una medida indirecta de la calidad sanitaria de la leche. La leche fresca recién ordeñada carece de ácido láctico. La acidez natural tiene varios aportes como la presencia de caseínas, la debida a ácidos orgánicos como el cítrico y por reacciones asociadas a los grupos fosfatos presentes en la leche. El ácido láctico y otros ácidos pueden aparecer por degradación microbiana de la lactosa generando un defecto higiénico – sanitario.

La acidez Dornic consiste en la determinación de la acidez titulable con una solución de hidróxido de sodio de concentración N/9 (equivalente a 0,111 N, también denominada Dornic) utilizando fenolftaleína como indicador del punto final. El procedimiento experimental requiere de 10,00 ml de muestra que se diluyen con agua destilada libre de dióxido de carbono. Se agregan unas gotas del indicador y se titula con la solución de hidróxido de sodio hasta coloración rosa débil. A partir del volumen de solución gastado se calcula el % p/v de ácido láctico en la muestra, según las siguientes equivalencias,

$$0,1 \text{ ml NaOH Dornic} = 1^\circ \text{Dornic} \equiv 1 \text{ mg ácido láctico/10 ml de leche}$$

Otra unidad para expresar la acidez es el grado Dornic ($^\circ\text{D}$), que tiene la equivalencia mencionada anteriormente. Los valores aceptados según el CAA corresponden a 14 – 18 $^\circ\text{D}$.

Control del procesamiento

La fosfatasa alcalina (FAL) es una enzima con actividad hidrolasa presente naturalmente en la leche cruda. Esta enzima es inactivada durante el tratamiento térmico que ocurre durante una correcta pasteurización, por esto la ausencia de actividad enzimática permite asegurar que el proceso de pasteurización se realizó a una temperatura suficientemente alta para asegurar la destrucción de los microorganismos patógenos que ocurren en este alimento. Si en cambio, se detecta que la enzima FAL está activa en la leche significa que esta no fue pasteurizada o que el proceso no fue realizado correctamente.

La actividad de la FAL se determina utilizando un kit colorimétrico cualitativo que incluye un sustrato sintético que al hidrolizarse da una coloración a la muestra de leche. El ensayo consiste

en incubar la muestra con un sustrato de la enzima en condiciones de temperatura y pH adecuados para la reacción enzimática de hidrólisis. Debe realizarse un ensayo en blanco en las mismas condiciones con la misma leche previamente hervida y enfriada. El desarrollo de color en el tubo de muestra indica la presencia de la enzima.

Aspectos nutricionales de la leche

Valor nutricional

La leche contiene proteínas de alto valor biológico y de buena digestibilidad como la caseína, la α -lactoalbúmina y la β -lactoglobulina. Los parámetros biológicos para las proteínas lácteas muestran una digestibilidad (D) de 1,00, un valor biológico (VB) de 91 y una utilización proteica neta (UPN) de 82 (Hoffman y Falvo, 2004). Además, aporta las vitaminas liposolubles A y D junto con las hidrosolubles C, tiamina (B_1), riboflavina (B_2), niacina (B_3) y ácido fólico (B_9) (Alimentos Argentinos, 2013). También es la principal **fente de calcio** y de otros minerales como fósforo y zinc.

Intolerancia a la lactosa

Los humanos consumen leche materna durante sus primeros meses de vida ya que aporta los nutrientes fundamentales para su crecimiento y desarrollo. Posteriormente, se incorpora la leche de vaca como alimento complementario durante la infancia junto con otros productos lácteos. La incorporación de la leche, y sus productos derivados, a la dieta humana requiere que el organismo mantenga la síntesis de la enzima lactasa que es la encargada de hidrolizar a la lactosa en sus monosacáridos para su correcta utilización como fuente de energía. Es común que parte de la población pierda la actividad de esta enzima a medida que crece haciendo que estas personas desarrollen una intolerancia a la lactosa que genera algunos malestares gastrointestinales debido a que la lactosa no es hidrolizada en el duodeno y queda disponible para la microbiota del intestino grueso. Este hecho ha derivado en el desarrollo de leches deslactosadas que tienen un tratamiento enzimático para hidrolizar la lactosa.

Productos lácteos. Quesos

Uno de los productos derivados de la leche son los quesos. Dada la amplia variedad, en el CAA se los define:

Artículo 605 - Se entiende por Queso el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física, del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario; con o sin el agregado de sustancias alimenticias y/o especias y/o condimentos, aditivos específicamente indicados, sustancias aromatizantes y materiales colorantes. (CAA, 2024)

Asimismo, se define lo que se entiende por Queso Fresco que es aquel que está listo para el consumo poco después de su fabricación. Y en contraposición, se define al Queso Madurado como aquel que ha experimentado los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos de la variedad de queso.

Se puede encontrar la clasificación de quesos según su contenido de materia grasa (Tabla 12.7) o según su humedad (Tabla 12.8).

Tabla 12.7. Clasificación de quesos según su contenido de materia grasa.

Denominación	Contenido de materia grasa (% p/p)
Extra graso o doble crema	No menos del 60 %
Grasos	Entre 45,0 y 59,9 %
Semigrasos	Entre 25,0 y 44,9 %
Magros	Entre 10,0 y 24,9 %
Descremados	Menos de 10,0 %

Tabla 12.8. Clasificación de quesos según su contenido de agua o humedad.

Denominación	Contenido de agua (% p/p)
De baja humedad (pasta dura)	Hasta 35,9 %
De mediana humedad (pasta semidura)	Entre 36,0 y 45,9 %
De alta humedad (pasta blanda o macíos)	Entre 46,0 y 54,9 %
De muy alta humedad (pasta muy blanda o mole)	No menor a 55,0 %

Hay dos formas de fabricar quesos, por vía enzimática o por vía ácida.

En la fabricación de queso por vía enzimática se necesita la inoculación de la leche con cuajo. Otros inóculos incluyen cultivos lácticos para acidificar, esporas de mohos o bacterias propiónicas que generan CO₂ para desarrollar ojos en los quesos. El cuajo contiene la enzima renina que es una proteasa que corta la κ -caseína entre los residuos 105-106 separando el glicomacropéptido soluble, que es el fragmento que contiene las glicosilaciones, de la para- κ -caseína que queda asociada a la micela. De esta forma la micela se desestabiliza y en presencia de calcio forma la

cuajada o coágulo enzimático. Luego de la etapa de coagulación se realiza el corte de la cuajada mediante el uso de liras para desuerar. El suero que se genera es rico en proteínas y se utiliza como ingrediente alimentario. Sobre el producto desuerado con menor humedad se realizan las operaciones de molienda y salado para su posterior moldeo y prensado para obtener las formas de queso. A continuación, el queso se lleva a una etapa de maduración, durante la cual ocurre crecimiento microbiano en el caso de quesos inoculados, reacciones químicas y cambios físicos como la deshidratación. También ocurren diversas reacciones de maduración sobre cada uno de los macrocomponentes según se muestra en la Figura 12. 4. Los productos que se generan como ácidos orgánicos, ácidos grasos de cadena corta y péptidos son moléculas que contribuyen al flavor de los quesos otorgando el perfil característico de aroma y sabor.

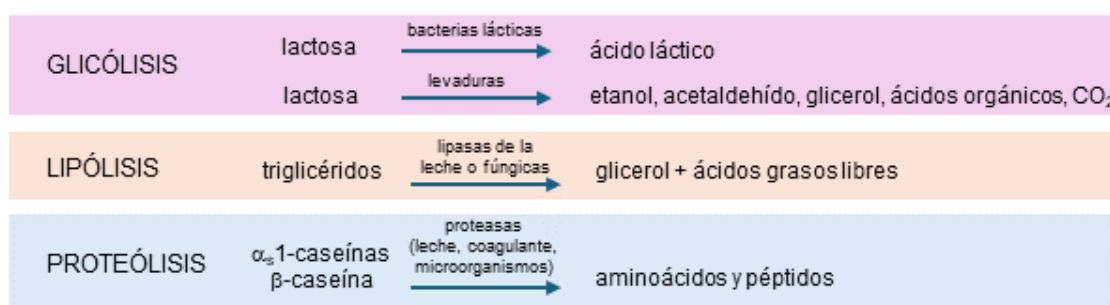


Figura 12.4. Reacciones que ocurren durante la maduración de quesos obtenidos por vía enzimática.

En los quesos obtenidos por vía enzimática se forma un gel enzimático que tiene ciertas características como ser flexible y elástico, además es compacto y tolera la acción mecánica es decir que no se desgrana y es contráctil. Ejemplos de estos quesos son el queso tipo Mar del Plata, Gruyère, reggianito, sardo, quesos azules, Brie, etc.

Por otro lado, la fabricación de quesos por coagulación ácida consiste en la acidificación del medio hasta alcanzar el punto isoelectrico (pI) de las caseínas a un pH alrededor de 4,6, momento en el que precipitan estas proteínas. La acidificación del medio puede ser debido al crecimiento microbiano o mediante el agregado de ácido cítrico, jugo de limón o vinagre (Zimmermann-Stein y Ruiz-Espinosa, 2010). Este gel ácido tiene propiedades distintivas resultando ser firme, poroso y poco contráctil ya que se desgrana al comprimir. Además, es de difícil deshidratación y no tolera bien el procesamiento que puede provocar el desuerado. Un ejemplo típico de este tipo de gel es la ricota.

Referencias bibliográficas

- Alimentos Argentinos. (2013). Ficha 22: Leche fundamental en todas las etapas de la vida. *Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca*.
https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/seguridad-alimentaria-y-nutricion/fichaspdf/Ficha_22_Leche.pdf
- Argov, N., Lemay, D. G. y German, J. B. (2008). Milk Fat Globule structure & function; nanoscience comes to milk production. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 19, 617-623.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2004). Milk and dairy products. *Food chemistry*, 505-550.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo VIII
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_viii_lacteosactualiz_2023-04.pdf
- Ferrandini, E., Castillo, M., López, M. B., & Laencina, J. (2006). Modelos estructurales de la micela de caseína. In *Anales de veterinaria de Murcia* (Vol. 22, pp. 5-18).
- Hoffman, J. R. y Flavo, M. J. (2004) Protein – Which is the best? *Journal of Sports Science and Medicine*, 3, 118-130.
- Holt, C. (1992). Structure and stability of bovine casein micelles. *Advances in Protein Chemistry*, Volume 43, 63-151.
- Horne, D. S. (1998). Casein interactions: casting light on the black boxes, the structure in dairy products. *International Dairy Journal*, 8, 171-177.
- Huppertz, T., Uniacke-Lowe, T., & Kelly, A. L. (2020). Physical chemistry of milk fat globules. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids*, 133-167.
- IDF-ISO. (2023). IDF 99-2 - ISO 22935-2. Milk and milk products – Sensory analysis. Part 2: Recommended methods for sensory evaluation.
- Infocarne. (s.f.). Composición de la leche y su valor nutritivo.
https://www.infocarne.com/bovino/composicion_leche.asp
- OCLA. Observatorio de la Cadena Láctea Argentina. (2023). Producción por Vaca en Ordeño y por día: evolución anual. Recuperado el 27 de abril de 2024.
<https://www.ocla.org.ar/portafolio/17/#cbp=/grafico/16643635>
- Swaigood, H. E. (2019). 14, Características de la leche. En Damodaran, S. y Parkin, K. L. (Eds.), *Química de los Alimentos* (pp. 995-1038). Editorial Acribia S. A.
- Zimmermann-Stein, K. y Ruiz-Espinoza, H. (2010). Estructura y funcionalidad de proteínas lácteas: Efecto de modificaciones inducidas por medios físicos, químicos y enzimáticos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. Vol. 4, 24-37.
- Zogbi, A. P. y Vico, J. P. (2018). Capítulo 6, Análisis de leche y productos lácteos. En Aleu, G. (Ed.), *Guía para el aseguramiento de la calidad en industrias de alimentos de origen animal* (pp. 117-142). Baez Ediciones.

Capítulo 13

Estudio de casos representativos: Margarina, un alimento con alto contenido de lípidos

Pablo Antonio Sobral

Historia

Su origen se remonta a mediados del 1800 cuando el emperador Napoleón III, ofreció una recompensa, a quién elaborara un sustituto satisfactorio a la mantequilla para las clases bajas y las fuerzas armadas francesas. Hippolyte Mège-Mouriés consiguió el premio con la invención de la margarina. En ese momento los aceites y grasas eran productos a los cuales sólo tenían acceso las clases más acomodadas. Se piensa que la receta original era en una mezcla de sebo de vaca, agua y leche emulsionados con un agente alcalino dando un producto untable y de consistencia parecida a la de la manteca. Este producto acabó extendiéndose por toda Europa y Estados Unidos donde obtuvo una patente en el año 1873. Posteriormente y con el desarrollo de la hidrogenación, que permitía el endurecimiento de los aceites vegetales, que eran mucho más económicos que las grasas animales, la margarina se hizo más común.

La hidrogenación, que revolucionó la industria de la margarina, presentaba el problema del llamado “olor de hidrogenación” que se solucionó con la adopción de un proceso de desodorización que consistía en hacer pasar una corriente de vapor a través de la grasa para eliminar los malos olores y sabores (Jiménez Rubio, 2017).

El término margarina se aplica hoy día tanto al producto utilizado en el hogar para untar panes o tostadas como así también a la mezcla de grasas utilizadas en la industria repostera. La margarina actual es un producto alimenticio a base de materia vegetal y excepcionalmente, grasa animal, a la cual se le añade una fase acuosa y que puede contener otros componentes.

En la margarina actual (Asagir, 2003) la fase acuosa contiene agua, sal, saborizante, conservante y opcionalmente leche. En las margarinas tradicionales la fase grasa varía en el rango entre 80 y 82%, mientras que las denominadas livianas o *light* tienen contenidos entre el 25 y 60% de materia grasa. En la Tabla 13.1 se compilan las formulaciones más frecuentes.

Las margarinas pueden clasificarse en las destinadas para uso doméstico y las de uso industrial. Entre las primeras están las de mesa o untables, en las cuales se requiere un sabor óptimo ya que se las consume directamente sobre pan, galletitas o tostadas calientes. Por ello se utiliza mayoritariamente aceite de girasol por la delicadeza del sabor, el cual se lo utiliza parcialmente hidrogenado.

Entre las industriales podemos hallar las margarinas para distintos usos: masas y tortas, hojaldre, cremas y batidos, tapas de empanadas y pascualinas. Aquellas destinadas a su empleo en establecimientos, que preparan productos de repostería tales como facturas, masas finas, panes de molde, tortas, bizcochuelos, cremas, masa hojaldre o bizcochitos, la materia grasa que se utiliza requiere condiciones especiales para lograr las características que más lo identifican en el producto final.

Desde luego que, además de utilizar la margarina correcta, resulta importante respetar los otros componentes de la receta, así como la técnica que el maestro repostero utiliza para trabajarla.

Tabla 13.1: Ejemplos de formulaciones clásicas de margarinas domésticas. Fuente: Asagir (2003).

Formulaciones clásicas Margarinas domésticas			
	Untable	Untable <i>light</i>	Cocina
Fase oleosa	80-84	25-60	80-84
Aceite vegetal hidrogenado	40	40	55
Aceite de algodón o de palma hidrogenado	10	10	15
Aceite de girasol líquido	50	50	35
Emulsionantes, antisalpicales, para aplicación			
Fase acuosa (%)	16-20	40-75	16-20
Agua	Max 16	22-37	Max 16
Sal	0,5-1,0	1,0-1,5	0,5-1,0
Sólidos de leche	0-1	0-1	0-0,5
Acidulantes, saborizantes, estabilizantes, otros en csp aplicación			

Legislación

Según el Art. 551 de Código Alimentario Argentino (CAA) la margarina, es una emulsión plástica formada por una fase acuosa, mezclada íntimamente con una fase grasa alimenticia.

La fase grasa podrá estar constituida por aceites vegetales comestibles (enteros o fraccionados), aceites y/o grasas comestibles hidrogenados.

Los aceites hidrogenados no podrán conformar la totalidad de la fase grasa, debiéndose incluir obligatoriamente aceites o grasas no hidrogenados. Se podrán utilizar aceites y grasas interesterificados y/o transesterificados, así como la mezcla de las sustancias grasas mencionadas anteriormente.

La cantidad máxima de grasa de leche en una margarina no podrá superar el 5,0% en peso, pudiendo incluirse en su elaboración: leche pasteurizada, leche en polvo (entera, parcial o totalmente descremada) y/o crema de leche pasteurizada, edulcorantes nutritivos autorizados (Max. 2% p/p), proteínas comestibles tales como suero, o componentes del suero en cantidades mínimas para lograr el efecto deseado.

Podrá contener sal (Máx. 3% p/p), colorantes vegetales de uso permitido o sus equivalentes sintéticos, diacetilo (Máx. 1 ppm), aromatizantes y antioxidantes sintéticos autorizados.

Para aumentar su vida útil, está permitido la utilización de conservantes como el ácido sórbico y/o ácido benzoico o sus sales en cantidades no mayores a 1 g/kg expresados como ácidos; el agregado de agentes emulsionantes (Art. 550) en las mismas proporciones y lecitina (Máx. 0,2% p/p). En las margarinas para untar se autoriza el agregado de vitaminas A y D y reguladores de la acidez en las cantidades permitidas.

El Art. 551 reglamenta que la materia grasa no superará el 80,0% p/p, el agua no será mayor al 16% p/p, permitiéndose un punto de fusión para la fase grasa no mayor a 42 °C (margarinas para untar) y 48 °C en las de uso culinario.

La margarina deberá ser sólida, de textura lisa y homogénea y sin cámaras de agua o aire a 20 °C y con una distribución y tamaño razonablemente uniforme de los glóbulos de agua (examen microscópico entre porta y cubreobjetos).

Tendrá que presentar un color amarillento uniforme, sin sabores y olores extraños con un contenido de metales no superior al indicado en el Art. 548.

La denominación de venta será “Margarina” la cual deberá estar en caracteres de color rojo, con buen tamaño y realce que le den visibilidad, indicando cuando corresponda si es para untar o para repostería. Deberá contar con recipientes o envolturas impermeables (autorizados), consignarse con caracteres visibles el mes y año de elaboración, y la leyenda conservar refrigerado o similar.

En caso de utilizar papel impermeabilizado como envase de venta, la fecha deberá ser bien legible, ya sea que este impresa o perforada. En este último caso la perforación no debe exponer el contenido al medio ambiente y en caso de agregarse vitamina A y/o D deberán ser claramente declaradas en el rotulado junto a su concentración.

Composición e ingredientes

El principal ingrediente de la margarina es la materia grasa que es el resultado de la unión entre una molécula de glicerol con uno, dos o tres ácidos grasos, dando lugar a los monoglicéridos, di glicéridos y triglicéridos respectivamente. Estos últimos representan normalmente más del 95% p/p de cualquier grasa o aceite refinados. La materia grasa utilizada para la fabricación de la margarina puede caracterizarse mediante una serie de índices: índice de yodo, índice de saponificación, índice de refracción y otros parámetros tales como el residuo insaponificable, peso específico y densidad detallados previamente en: Principales métodos para el análisis de lípidos (capítulo 8).

De acuerdo a Jiménez Rubio (2017), el aporte de materia grasa vegetal en las margarinas suele ir de la mano del agregado de aceites siendo los más utilizados los de girasol, maíz, oliva, coco, linaza y soja. Sin embargo, los aceites naturalmente líquidos no tienen la consistencia semisólida que idealmente se requiere para la preparación de una margarina. Para conseguir que los aceites, adquieran esta consistencia, se modifican de modo de conseguir una reducción

en el punto de solidificación. Esto se logra mediante el proceso de hidrogenación que consiste en la adición de hidrógeno a los dobles enlaces de las cadenas de los ácidos grasos.

Este proceso persigue dos objetivos, por un lado, permite transformar los aceites líquidos en grasas semisólidas o plásticas a la vez que aumenta la estabilidad del aceite frente a la oxidación. La hidrogenación puede realizarse mezclando el aceite con un catalizador adecuado (como el níquel) y calentando entre 140 y 225 °C empleando presiones de hidrógeno de unos 450 kN/m² en condiciones de agitación. Estas condiciones facilitan la disolución del hidrógeno y permiten disipar el calor (Samodaran y col. 2010). La reacción se optimiza si el aceite está decolorado, exento de agua y el hidrógeno está seco. El catalizador debe ser selectivo en la hidrogenación, mantener su actividad durante largo tiempo y ser fácil de eliminar mediante filtración. El progreso de la reacción se sigue midiendo el índice de refracción (relacionado con el grado de saturación de la grasa).

Para formular un producto con un amplio rango de temperaturas de fusión (5 a 40 °C), pueden combinarse aceites líquidos, grasas semisólidas y la fracción denominada *hardstock*. La función de esta última fracción es formar una red de cristales de grasa que podrá alojar las fases líquidas: agua y grasa. El *hardstock* pese a ser la fracción con la mayor temperatura de fusión tiene que fundirse en la boca, caso contrario se obtendrá una sensación de arenosidad. Sin embargo, se admite hasta un 2% sin fundir y esta fracción con alto punto de fusión de hecho, favorece el proceso de cristalización de la parte sólida y otorga buenas propiedades reológicas en un amplio rango de temperaturas.

La selección de las materias grasas utilizadas en la formulación final del producto se llevará a cabo a partir de las materias primas (Tabla 13.2) más adecuadas y económicamente convenientes en el momento de formular el producto realizando ajustes en la formulación basado en datos experimentales que dan cuenta de los rangos de fusión para una amplia gama de mezclas de materias primas.

Tabla 13.2. Materias primas sin hidrogenar utilizadas en la elaboración de margarinas. MG: materia grasa. AGS: Ácidos grasos saturados. AGM: Ácidos grasos mono insaturados. AGP: Ácidos grasos poliinsaturados.

Materia grasa	Energía (Kcal)	MG (g)	AGS (g)*	AGM (g)*	AGP (g)*	Vit. E (mg)*
Oliva	900	100	13,5	73,7	8,4	12,4
Girasol	899	99,9	11,9	20,2	63,3	48,7
Soja	899	99,9	14,1	20,5	60,5	10,1
Colza	900	100	7	58,9	29,6	20,95
Maní	899	99,9	18,8	47,8	28,5	17,2
Maíz	900	100	12,7	24,2	58,7	17,2
Algodón	900	100	25,9	17,8	51,9	38,26
Palma	900	100	49,3	37	9,3	21,76
Sésamo	900	100	14,2	39,7	41,7	4,09
Germen de trigo	899	99,9	18,8	15,1	61,7	215,4
Pepita de uva	899	99,9	12,2	15,6	66,7	32

Nota: adaptado de Jiménez Rubio (2017).

(*) cada 100 g

Se suelen evitar materias grasas como el aceite de palma, que produce margarinas con una textura dura, quebradiza y arenosa.

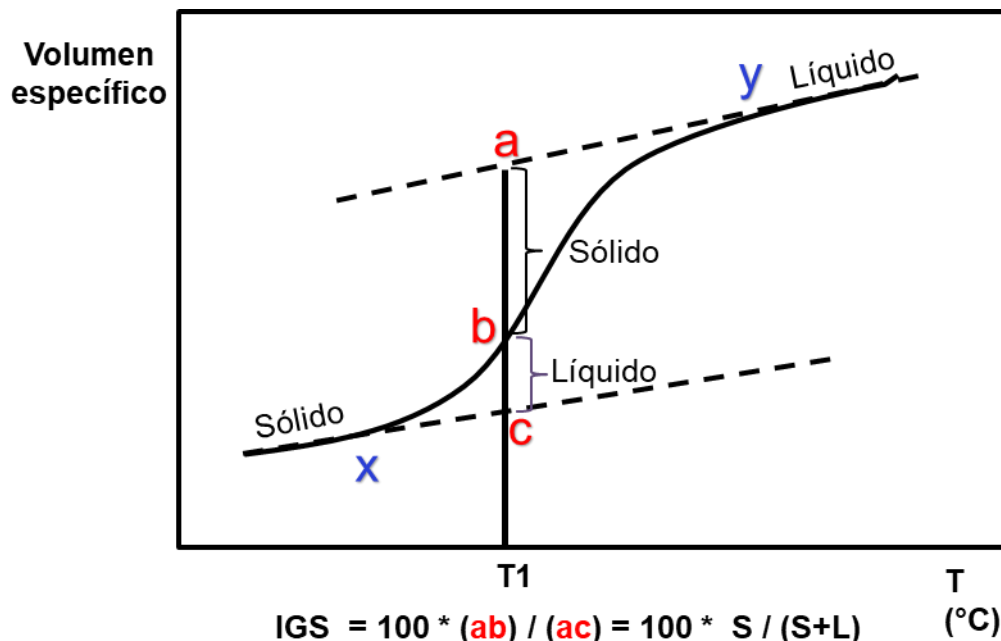


Figura 13.1. Esquema dilatométrico de una materia grasa. Fuente: Propia. La curva continua ascendente corresponde al cambio en el volumen específico con la temperatura. IGS: Índice de grasa sólida. S: Contenido de sólido. L: Contenido de líquido.

Se puede conocer el porcentaje de sólidos de los triglicéridos mediante algunos ensayos tales como la calorimetría diferencial de barrido (**DSC**) o la dilatometría.

En la dilatometría se determina y grafica el volumen específico (que es la inversa de la densidad) de una materia grasa en función de la temperatura. Con esto se pueden cuantificar los cambios de fases debido a que, la dilatación por fusión es varias veces mayor que la debida a la expansión térmica. Cabe mencionar que existe una correspondencia entre los cambios de volumen específico (dilatación, D) y en el contenido calorífico (H) ya que durante la fusión se absorbe calor.

Inicialmente (**Figura 13.1**) y partiendo de una temperatura baja, (parte izquierda de la curva) hasta el punto X (comienzo de la línea punteada correspondiente a la extensión del estado sólido) la materia grasa está en su totalidad en estado sólido. El leve aumento (escasa pendiente) observado da cuenta del pequeño cambio de volumen debido a dilatación de la grasa sólida por el aumento de la temperatura.

Cuando comienza la fusión y coexisten las fases líquidas y sólidas la pendiente aumenta drásticamente.

A partir de gráficos dilatométricos como los de la **Figura 13.1** y con la ayuda de una línea vertical trazada a la temperatura T1 y línea punteada X -extensión del estado sólido- y línea punteada Y -extensión del estado líquido-, puede calcularse un parámetro denominado Índice de

Grasa Sólida (**IGS**) que es la relación porcentual entre el contenido de sólidos (S) y la suma del contenido de sólidos (S) y el contenido de líquido (L) a una dada temperatura.

Como en la práctica puede considerarse que el IGS es una propiedad aditiva de las grasas plásticas, conociendo el IGS de cada componente y la proporción en la mezcla se puede conocer el IGS para cada temperatura.

En los ensayos por DSC la muestra a analizar es colocada dentro de una cápsula de aluminio y sellada herméticamente para evitar cambios durante el análisis. Se utiliza como referencia una segunda cápsula generalmente vacía o llena con alguna sustancia inerte en el rango de temperaturas ensayado.

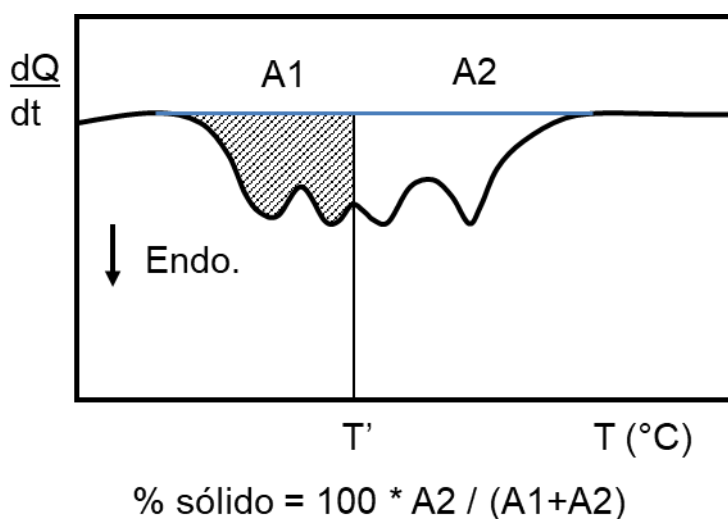


Figura 13.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC). Fuente: Propia. Se representa el flujo de calor (dQ/dt) en función de la temperatura (T °C). Los picos hacia abajo son endotérmicos. A1: el área rayada ubicada a la izquierda de T' corresponde a la fracción que ya se encuentra fundida. A2: ubicada a la derecha corresponde a la fracción que aún no se funde.

El estudio consiste en realizar un programa de calentamiento fijando la velocidad de calentamiento (típicamente se usa 10°C/min) que se cumple para ambas cápsulas, por eso es un estudio diferencial. Lo que se mide es la diferencia en el flujo de calor dQ/dt necesario para mantener la muestra y la referencia a la misma temperatura, graficándose respecto al tiempo o temperatura (inter convertibles ya que la rampa de calentamiento es conocida). Esta técnica permite determinar si el cambio que experimenta la muestra es exotérmico donde se libera calor como en la cristalización, agregación, glicosilación o interacciones hidrofóbicas o endotérmico como la ruptura de puentes de hidrógeno, desnaturalización o fusión como en el caso de introducir una materia grasa en estado sólido.

Idealmente durante todo el estudio la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia es cero. Cuando la muestra experimenta un cambio endo o exotérmico que tendería a crear una diferencia de T °C el equipo lo compensa y mide el calor entregado. El resultado de este ensayo es un termograma (Figura 13.2).

A partir de un termograma se puede saber si el proceso es exotérmico o endotérmico (una flecha indica la dirección de uno u otro proceso), la temperatura a la que se produce el proceso (está asociado a la estabilidad), la entalpía o calor puesto en juego en el proceso analizado (se relaciona con el área del pico) y el grado de cooperatividad del proceso relacionado con el ancho a la mitad de la altura del pico.

En el caso de las materias grasas donde se funde es importante las T_{onset} y la T_{endset} que dan cuenta del inicio y finalización del proceso de fusión. La T_{pico} corresponde al máximo del pico, se ubica entre ambas, dando cuenta de la temperatura a la que se formó una cantidad apreciable de líquido. Algunos ejemplos de grasas comestibles se indican en la Tabla 13.3.

Tabla 13.3. Temperaturas características obtenidas mediante DSC de diferentes materias grasas comestibles.

Muestra	T_{onset} (°C)	T_{pico} (°C)	T_{endset} (°C)
Grasa vacuna	26	51,5	60
Aceite vegetal hidrogenado	15	37,2	45
Aceite de soja hidrogenado	5	47,1	55
Aceite de maíz hidrogenado	8	40,4	53
Aceite de gallina	-12	-0,6	47

Nota: adaptado de Grompone y col., 1999.

El segundo ingrediente más importante en la elaboración de la margarina es el agua. Con el agua se agregan los componentes solubles, tales como la sal que exalta el sabor y evita la proliferación de bacterias. Se emplean sales de alta pureza con bajos contenidos de calcio, magnesio y con un contenido de cobre menor a 1 ppm. Si bien la sal reduce las salpicaduras cuando se fríe con margarina, las cantidades utilizadas dependen de las preferencias del público que las consume. Mientras que EEUU prefieren margarinas con un contenido mayor de sal, en Europa se inclinan por lo contrario.

Debido a la inmiscibilidad de las fases grasa y acuosa, se requiere de un agente emulsionante. En la receta original de la margarina, patentada en Alemania en 1884, se utilizaba yema de huevo como emulsificante. En la actualidad se utilizan agentes emulsionantes como mono y diglicéridos, lecitinas o fosfolípidos. Estos últimos reciben este nombre por poseer un grupo fosfato en su composición.

Los agentes emulsionantes por su carácter anfífilico (una parte de la molécula tiene afinidad por la grasa y otra por el agua) tienen la capacidad de orientarse en la interfase entre el agua y las sustancias no polares reduciendo la tensión superficial entre ambas fases y minimizando la superficie de contacto. Un ejemplo es el fosfoglicérido, donde el glicerol tiene esterificado los carbonos 1 y 2 con dos ácidos grasos, mientras que el carbono 3 se une con ácido fosfórico.

Uno de los emulsionantes más utilizados es la lecitina que es un subproducto de la refinación de aceites (soja, maíz o girasol) y es una mezcla de fosfolípidos, glicolípidos, azúcares, triglicéridos y ácidos grasos. Disminuye la tensión superficial entre las fases, posibilitando la mezcla, evita las salpicaduras y previene la separación de las fases cuando se la usa en margarinas para freír. Como también tiene propiedades antioxidantes, mejora las propiedades

durante el amasado retrasando el endurecimiento de los productos horneados. La lecitina se agrega mezclada con aceite (1:1 v/v) para reducir la viscosidad. Las cantidades utilizadas pueden ubicarse en el rango del 0,10 al 0,50 %.

Algunas margarinas incorporan fuentes proteicas que mejoran el aporte nutricional y pueden conferir características tecno-funcionales particulares. Las fuentes más utilizadas son las proteínas lácteas en polvo provenientes de leche descremada, suero o crema de leche. Las proteínas tienen acción emulsionante y contribuyen a la liberación del sabor de manera significativa. Algunas margarinas incorporan gelatina en un rango del 3 al 15%, obtenida del colágeno con un 15% de nitrógeno (min.) y un 3,5% ceniza (max.) para aumentar la viscosidad de la fase acuosa y estabilizarla.

Entre los colorantes podemos hallar a los carotenos obtenidos de la alfalfa, aceite de palma o las zanahorias que le otorgan un color amarillo muy parecido al de la mantequilla. En ocasiones se agrega annato, colorante natural extraído de la semilla de la planta *Bixa Orellana*. También se obtiene el Bixin ($C_{16} H_{26} O_2$) anaranjado y carotenoides amarillos. Y antioxidantes, naturales o de origen químico.

El agregado de ácido cítrico, se realiza para regular el pH y evitar el crecimiento de hongos y bacterias, sobre todo en las margarinas con mayor contenido de agua. El conservante que se utiliza con mayor frecuencia es el ácido sórbico o sus sales que resultan muy eficaces contra hongos y bacterias.

La margarina es una excelente fuente de vitaminas, ya que tiene las vitaminas propias de la materia prima como las vitaminas A y E, a las cuales se le añaden también vitaminas como la A, D, E, B₂, B₆ o B₁₂.

Elaboración de la margarina

La elaboración de la margarina puede ser dividida en 3 etapas (Figura 13.3), una primera etapa donde las materias primas son acondicionadas y mezclada de acuerdo a su solubilidad, una segunda etapa correspondiente a la formación de la emulsión y la homogeneización y una tercera etapa donde se forman los cristales obteniendo el producto que posteriormente se envasa y comercializa.

Mezclado y acondicionamiento

Las materias grasas líquidas utilizadas son almacenadas en tanques equipados con sistemas de control de temperatura y agitación para garantizar la homogeneidad de esta materia prima y prevenir la separación. Al momento de ser utilizadas, son bombeadas a un tanque de pre mezcla donde se agregan los componentes liposolubles tales como las grasas sólidas, realizándose el mezclado y un tratamiento térmico que garantice su total fusión. Luego se agregan los productos minoritarios (colorantes, saborizantes, vitaminas y antioxidantes) en función de su solubilidad.

En otro tanque con capacidad de calefacción y agitación, se mezclan los componentes hidrosolubles: agua, sólidos de leche, salmuera, proteínas comestibles, almidón (para diferenciarla de la manteca) y conservantes como el ácido sórbico o benzoico y otros componentes solubles en este medio. Se prefiere salmuera en vez de sal cristalina, porque esta última puede cambiar el perfil de sabor del producto y afectar los tubos del intercambiador de calor.

Emulsión y la homogeneización

Una vez preparadas ambas fases, la fase acuosa es bombeada al tanque conteniendo la fase grasa formándose una emulsión semisólida mediante agitación y calor. Las cantidades pueden ser dosificadas mediante el control del caudal o de pesada, siendo más preciso este último donde el tanque esta sobre células de carga que pesan los ingredientes agregados.

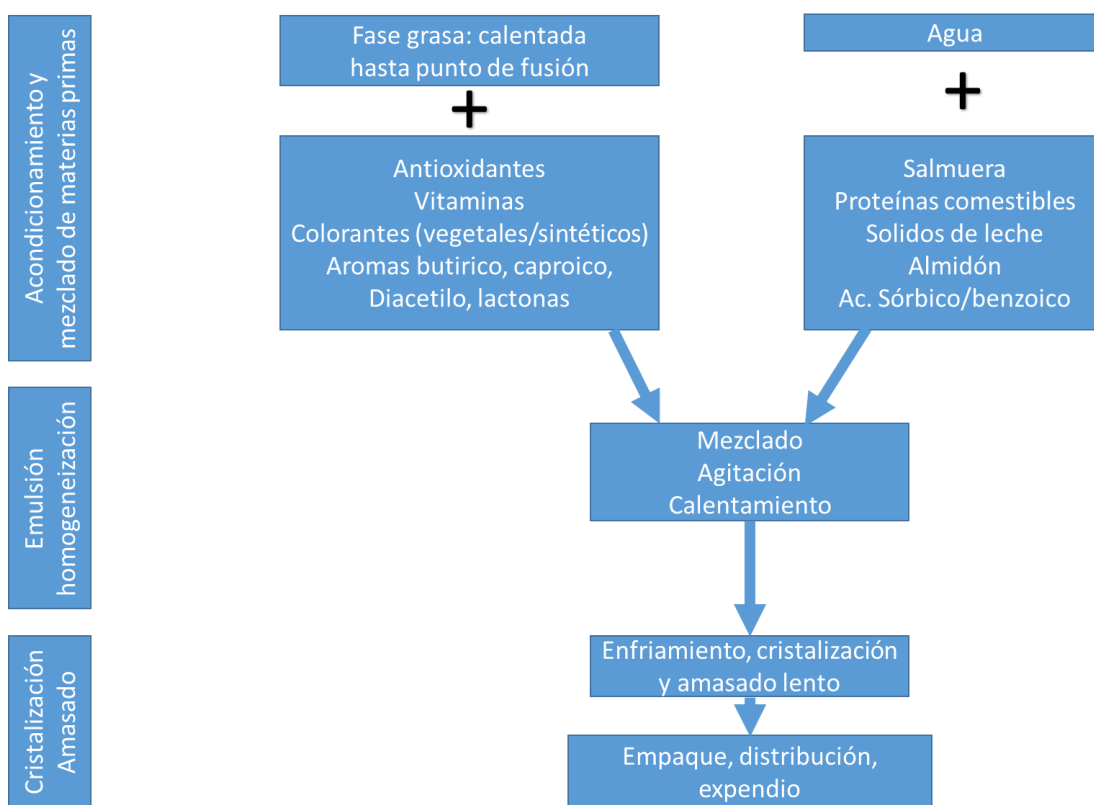


Figura 13.3. Esquema de elaboración de la margarina.

Cristalización y envasado

Debido a que, la forma cristalina adoptada determina en gran medida las características del producto, analizaremos los factores que determinan el modo en que las materias grasas pueden cristalizar.

Es bien sabido que los ácidos grasos que forman los triglicéridos son polimórficos (Samodaran y col. 2010). Esto significa que, un mismo ácido graso puede adoptar diferentes formas cristalinas que al fundirlas dan fases líquidas idénticas. Cada forma polimórfica tiene distancias reticulares, volumen específico, punto de fusión y otros parámetros que le son característicos.

Si bien se han identificado siete formas de empaquetamiento o arreglos cristalinos, los más comunes se denominan: hexagonal, triclinico y ortorrómbico y se designan como α , β y β' .

Si una grasa es enfriada rápidamente, se forman cristales α en forma de plaquitas frágiles y transparentes con un tamaño de alrededor de 5 μm . Estos cristales son inestables y se transforman en cristales β' , con una morfología acicular y menor tamaño (1 μm). Los cristales β' son los más adecuados para la confección de shortenings plásticos y margarinas. A su vez, dependiendo de la composición y de la historia térmica, tienden a transformarse en la forma β de hasta 50 μm o más (Lawson, 1999). Un resumen de algunas características de los empaquetamientos más comunes hallados en triglicéridos formados por un solo tipo de ácido graso se encuentra en la Tabla 13.4.

La forma polimórfica finalmente obtenida dependerá de factores tales como la pureza, temperatura, velocidad de enfriamiento, presencia de núcleos cristalinos y tipo de disolvente.

Tabla 13.4. Características de las formas polimórficas de los triacilglicéridos formados por un solo ácido graso.

Características	Forma α	Forma β'	Forma β
Empaquetamiento	Hexagonal	Ortorrómbico	Triclinico
Distancia reticular corta ($\text{\AA}$)	4,15	4,2 y 3,8	4,6; 3,9; 3,7
Espectro infrarrojo	Una sola banda a 720cm^{-1}	Banda doble a 727 y 719cm^{-1}	Banda simple a 717cm^{-1}
Densidad	Menos densa	Intermedia	Más densa
Punto de fusión	Más bajo	Intermedio	Más alto

Nota: adaptado de Samodaran y col., (2010).

Como es de esperar, los triglicéridos son más complejos y contienen ácidos grasos diferentes. De acuerdo a Badui Dergal (2006) si los triglicéridos están formados por un solo tipo de ácido graso se forma un empaquetamiento muy compacto; por el contrario, en las grasas naturales el empaquetamiento no será tan homogéneo debido a que los ácidos grasos son distintos, tienen diferentes tamaños, poseen insaturaciones e isomería entre otras variables. Estos factores interrumpen el orden obteniéndose varios tipos de cristales.

La creación de los cristales es un proceso dinámico y los patrones cristalinos cambian hasta llegar al estado termodinámicamente más estable. Los cristales han sido estudiados por difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear y por calorimetría diferencial de barrido.

Muchas de las materias grasas frecuentemente utilizadas en la elaboración las margarinas cristalizan en forma β , entre ellos se encuentran los aceites de girasol, soja, maní, maíz, sésamo, oliva, coco y cártamo, como así también la manteca de cacao y la manteca de cerdo.

Por el contrario, los aceites de semilla de algodón, palma, colza, grasa de leche, sebo y las mantecas de cerdo modificadas tienden a producir cristales β' persistentes.

De esta forma es posible introducir pequeñas cantidades de este último tipo de grasas durante la elaboración de las margarinas a fin de orientar la cristalización del resto de materia grasa y obtener cristales β' .

Los cristales β' son preferidos no solo en las margarinas donde facilitan retención de triglicéridos y agua en estado líquido, sino que también son buscados en otros productos de panadería, debido a que facilitan la incorporación de gran cantidad de aire en forma de pequeñas burbujas, lo que permite lograr productos con mejores propiedades reológicas y sensoriales.

Debe considerarse que, dado que las grasas naturales son mono trópicas es decir que, hay formas más estables que otras, serán posibles transformaciones entre formas polimórficas sin necesidad de llegar a la fusión. La transformación será siempre hacia la forma estable.

Hay varias estrategias para lograr los cristales deseados. De acuerdo a Jiménez Rubio (2017), hay disponibles varias tecnologías. El método tradicional de cristalización para las margarinas consiste en un sistema abierto con un tambor de enfriamiento.

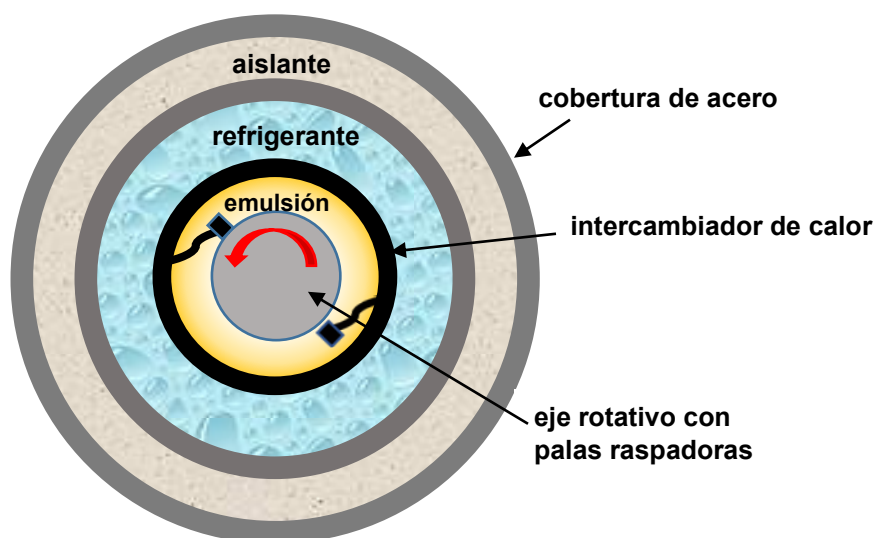


Figura 13.4: Esquema de un intercambiador de calor de superficie raspada. Adaptado de Jiménez Rubio (2017).

Actualmente se utilizan sistemas continuos y cerrados denominados intercambiadores de calor de superficie raspada (ICSR, Figura 13.4) que consta de un tornillo sin fin, una sección donde el producto puede reposar y el ICSR propiamente dicho donde se enfría y cristaliza la emulsión.

El sistema es simple: 2 tubos de acero separados por un espacio de 5-10 mm donde se introduce con bombas la mezcla con que se preparará la margarina. El tubo exterior se encuentra

enfriado a -5°C , en ocasiones por amoníaco líquido, y el interior gira a 500 rpm y tiene unas palas que raspan los cristales del cilindro exterior.

Este sistema permite ir retirando de las paredes el producto ya cristalizado dejando paso a un nuevo ciclo de enfriamiento y amasado. La elevada presión y fuerzas de cizalla favorecen una rápida nucleación durante el tiempo de residencia (5-10 s). Se emplea un tiempo de cristalización próximo a los 6 min. Durante el rápido enfriamiento, la emulsión cristaliza en forma α que rápidamente se transforma β' . La forma β' crea una red tridimensional que atrapa las pequeñas gotas de agua y aceite líquido, es así como se forma un producto de naturaleza plástica semisólida. Una vez formada la margarina con la red cristalina deseada, pasa a una segunda máquina que la amasa y permite que los cristales crezcan para conseguir el producto con la consistencia deseada.

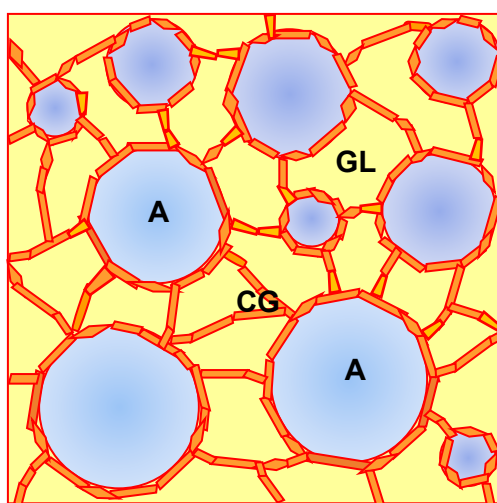


Figura 13.5. Esquema de la microestructura de una margarina A: gotas de agua, GL: matriz de grasa líquida (color claro) y CG: cristales de grasa (barras más oscuras) Adaptado de Arellano y col (2015).

Son muy importantes las condiciones y tiempo de las etapas. Si la red cristalina resulta prematura, el amasado posterior la destruirá quedando un producto muy líquido. Por el contrario, si los cristales crecen prematuramente dará un producto duro y quebradizo. La última etapa es la de cristalización, donde la margarina pasa por una malla a un recipiente refrigerado y se lo deja en reposo unas horas para que adquiera la rigidez necesaria para el envasado.

El envase debe ser una barrera contra la luz y el oxígeno del aire y ser impermeable para evitar perder producto. Se suele usar papel antiadherente o combinado con aluminio para las margarinas de mayor consistencia o en envases que la contienen para los productos de menor consistencia.

Características fisicoquímicas y propiedades tecno-funcionales

Son varias las propiedades funcionales y los atributos sensoriales que son deseables en una margarina. Una de las primeras cosas que observa el consumidor al abrir el envase es el **color**. Si bien hay preferencias y variantes entre países, es deseable un color amarillo similar al de la manteca. En relación a la **textura**, es deseable que la margarina presente una textura sin grumos, de aspecto suave, cremoso y desde luego sin materia grasa separada (Jiménez Rubio, 2017). También es deseable que, cuando el consumidor decida extender la margarina sobre un pedazo de pan o una tostada, el producto sea lo suficientemente blando, como para no aplastar el pan o romper la tostada; esto es lo que se conoce como **untabilidad**. Las propiedades reológicas de este producto típicamente se evalúan mediante una sonda que se introduce en la margarina en condiciones controladas, registrando la fuerza que opone la margarina contra la sonda.

A partir de los gráficos obtenidos, se pueden estimar parámetros tales como la dureza o untabilidad, parámetros que dependen tanto de la viscosidad de los componentes líquidos como del tipo y tamaño de los cristales de la fase grasa.

La fase grasa continua contiene a la fase acuosa, la cual está dispersa en forma de pequeñas gotas con un tamaño promedio entre 3-10 μm . El tamaño de la gota es importante ya que los microorganismos se encuentran en esta fase, y su multiplicación puede ser inhibida si el tamaño de la gota es suficientemente pequeño.

De la misma forma que como sucede con el color, hay variaciones en las preferencias de los consumidores en torno al sabor. Mientras que en América Latina se desean sabores afrutados, en Europa y muchas otras partes del mundo, se desea que el sabor sea lo más parecido al de la manteca fresca. Aunque inicialmente los sabores se conseguían mediante el uso de saborizantes sintéticos, la tendencia actual es la investigación y el empleo de los saborizantes naturales.

Finalmente, la “**sensación en boca**” da cuenta de todos los aspectos sensoriales relacionados con el proceso de degustación, y se relaciona con las modificaciones que el producto experimenta al ser colocado en la boca. Las grasas de la margarina están formadas por una gran cantidad de triglicéridos, cada uno con sus características particulares, que interactúan entre sí dando un producto que no tiene un punto de fusión definido, sino más bien un rango de temperatura donde se produce el ablandamiento.

Es deseable que la margarina se descomponga y funda entre los dientes mezclándose con la saliva, disolviéndose por completo dando una sensación de un producto de textura suave y agradable. La manera en que se descompone y liberan los diferentes componentes de la margarina al paladar condiciona la sensación que percibe el consumidor. Para una correcta e imparcial evaluación se recurre a ensayos de evaluación sensorial a cargo de paneles de expertos entrenados en la cata de este producto. Una de las formas de cuantificar qué sucede con la margarina en la boca, puede realizarse el denominado “test de liberación de la sal”. En este ensayo, se mide la conductividad en un medio acuoso mientras se incrementa la temperatura. En la medida que la margarina se va fundiendo, se separan las fases, se libera la sal de la fase acuosa, aumentando la conductividad. El rango de temperatura en que se

incrementa la conductividad, se ubica entre 33 y 37 °C para una margarina convencional, que es la temperatura de la boca. Un rango por encima de los 40 °C dará una sensación arenosa.

Aspectos nutricionales

Los avances realizados a principios del siglo XX, tales con el desarrollo de la hidrogenación por el químico alemán Wilhelm Norman, que permitía solidificar los aceites y grasas vegetales líquidos modificaron el proceso de fabricación de la margarina.

Hasta mediados del siglo XX, la industria alimentaria utilizaba a la grasa, como una simple fuente de energía sin tener en cuenta que, el proceso de hidrogenación, aumenta el contenido de ácidos grasos saturados y de ácidos insaturados trans Jiménez Rubio (2017).

Posteriormente las investigaciones revelaron que algunos ácidos grasos deben ser incorporados en la dieta ya que no pueden ser sintetizados por el organismo. Dicho impedimento en la síntesis endógena se debe a que nuestro organismo simplemente no cuenta con las enzimas necesarias para generar dobles enlaces en las posiciones 3 y 6 del ácido graso, es decir, los ácidos grasos de la familia omega n-3 y omega n-6.

Además, comenzó a aparecer evidencia que puso de manifiesto el riesgo que supone para la salud el consumo elevado de grasas saturadas y trans, que puede desembocar en enfermedades cardiovasculares. Las grasas saturadas y las grasas trans incrementan los niveles del colesterol-LDL, el cual en exceso puede depositarse en las arterias. Además, las grasas trans también reducen el nivel de colesterol-HDL que transporta el colesterol hasta el hígado, regulando los niveles en sangre.

Tras estos descubrimientos, la industria optó por eliminar o reducir este tipo de grasas de las margarinas; los rangos se redujeron del 1 al 17% a cifras en torno 1 al 2%.

Los Comités Internacionales de Nutrición y Alimentación convocados por la OMS establecieron que, para las personas adultas las grasas en la dieta no deben aportar más del 30% de las calorías totales consumidas, recomendando una distribución equitativa entre los aportes de ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos mono insaturados (AGMI) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).

Referencias bibliográficas

Arellano, M, Norton, I.T. Norton, Smith, P. (2015) 10 - Specialty oils and fats in margarines and low-fat spreads, Editor(s): Geoff Talbot, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition, Woodhead Publishing, pp 241-270.

- ASAGIR, 2003. Asociación Argentina de Girasol. (www.asagir.org.ar). Cuadernillo Informativo N°3. Agosto / 2002. Diseño: HORACIO SABALZA/ESTUDIO Impresión: Chivilcoy Continuos S. A.
- Badui Dergal, S. (2006). Cap. 4: Lípidos en Química de los alimentos Cuarta edición Pearson Educación. Editor: Enrique Quintanar Duarte. Naucalpan de Juárez, México. ISBN: 970-26-0670-5.
- Código Alimentario Argentino (CAA), Artículo 551 - (Resolución Conjunta SPReI N° 203/2013 y SAGyP N° 296/2013).
- Grompone, M.A., Correa-Cabrera, R. y Irigaray, B (1999). Calorimetría Diferencial de Barrido: Un método moderno para la caracterización de materiales grasos. Ingeniería Química (Montevideo). ISSN: 0797-4930. N° 17 pp 45-55.
- Jiménez Rubio. D. (2017). Estudio del proceso industrial para la fabricación de margarina. Tesis final de grado. Escuelas de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid. España.
- Lawson, H. (1999) Aceites y grasas alimentarios. Tecnología, utilización y nutrición Ed Acribia, Zaragoza, España.
- Samodaran, S., Parkin, K.L. y Fennema, O. R. (2010). Cap. 5: Lípidos en Introducción a la química de los alimentos. Tercera edición. Edit. Acribia. España. ISBN: 978-84-200-1142-4.

CAPÍTULO 14

Nutrición enteral y parenteral

Julia María Rodríguez Bugeiro

Nutrición enteral

La **Nutrición enteral (NE)** consiste en el suministro de nutrientes al tubo digestivo habitualmente mediante accesos enterales (Figura 14.1) para cubrir total o parcialmente los requerimientos nutricionales mediante un producto nutricional o fórmula diseñada específicamente para dicho fin, llamada “fórmula enteral”.

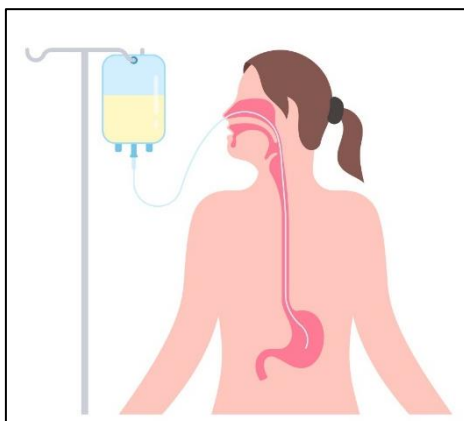


Figura 14.1. *Aporte de nutrición enteral*

Una **Fórmula enteral** es un producto constituido por una mezcla definida de macro y micronutrientes.

Estas fórmulas deben estar inscritas en el registro sanitario de alimentos como “alimentos para usos médicos especiales”. La nutrición enteral se utiliza cuando una persona no puede cubrir sus requerimientos nutricionales con la ingesta de alimentos vía oral y tiene el aparato digestivo funcionando. Para poder infundir la misma se necesita una vía de acceso.

Vías de acceso para infundir la nutrición enteral

La nutrición se puede realizar a través de una sonda de alimentación llamada sonda nasointestinal. Estas sondas son de diferentes materiales: PVC, látex, silicona, etc. Y de diferentes longitudes. La longitud dependerá del lugar en el que se alojen.

Pueden ubicarse en estómago o en yeyuno; las sondas naso gástricas (llegan hasta el estómago) tendrán una longitud menor que las sondas naso yeyunales, donde finaliza su trayecto al intestino delgado. Siempre que sea posible, se preferirá la sonda nasogástrica para que la persona presente una digestión mayor y más fisiológica respecto de las nasoyeyunales.

Las sondas de alimentación presentan diferentes diámetros que se miden a través de los french (1 french = 1 mm/3 o 0,33 mm). Para la población adulta la sonda comúnmente utilizada es la sonda k108. Cuando se prolonga el tiempo de utilización de la sonda k108 por más de 4-6 semanas (según la bibliografía consultada), se recomienda la realización de una **ostomía**. Esto fundamentalmente está basado en que el excesivo tiempo de utilización de una sonda k108 puede producir infección o irritación donde está colocada la sonda, y presentar mayor riesgo de desplazamiento de ésta. Aunque esto está descripto en la bibliografía, en la práctica clínica, el tiempo de utilización de la sonda k108 suele ser mucho mayor a las 4-6 semanas.

La ostomía es una cirugía en la que se crea una abertura artificial en el cuerpo llamada estoma, desde un área interior del cuerpo hacia el exterior. Las sondas utilizadas para la misma son de una longitud mucho más corta que las sondas y su diámetro es casi el doble de una sonda k108.

Clasificación de fórmulas enterales

Hay muchas maneras de clasificar a las fórmulas enterales, pero una forma sencilla y practica es diferenciar aquellos productos “listos para usar” de los que deben reconstituirse para ser administrados y cuya presentación es en polvo.

Características generales de los productos “listos para usar”

- Es un sistema cerrado que como su nombre lo indica, está listo para ser administrado al paciente a pie de cama.
- La formulación se presenta en un envase estéril, líquida, en envases de 500 o 1000cc
- Presentan una formulación nutricional predeterminada, con macro y micronutrientes que se encuentra detallada en el envase del producto.
- Existen una multiplicidad de fórmulas diseñadas para diferentes poblaciones y/o situaciones clínicas.
- La gran mayoría de estas fórmulas son para la población adulta existiendo en Argentina muy pocos “listos para usar” para población pediátrica.

Fórmulas para reconstituir

- Sistema abierto.
- Su presentación es en latas en polvo y deben mezclarse con agua para reconstituirse y poder ser administrados.
- Presentan una formulación nutricional predeterminada, con macro y micronutrientes que se encuentra detallada en el envase del producto.
- Existen una multiplicidad de fórmulas diseñadas para diferentes poblaciones y/o situaciones clínicas tanto para adultos como para población pediátrica.

Desde el punto de vista microbiológico, los productos listos para usar son más seguros. Esto se debe a que se encuentran en envases sellados herméticamente y estériles, lo que reduce significativamente el riesgo de contaminación. En cambio las fórmulas en polvo, al requerir manipulación por parte de un operario está expuesta a diferentes fuentes de contaminación durante el proceso de mezcla. No sólo eso, sino que tampoco se puede garantizar con exactitud la composición final de sus macro y micronutrientes ya que dependerá de la reconstitución que se utilice. En resumen, los productos listos para usar son de elección primaria como formula nutricional a utilizar.

Módulos nutricionales

Los módulos nutricionales son preparados constituidos por un solo macronutriente (hidratos de carbono, proteínas o grasas). En la práctica clínica diaria, el módulo proteico sea tal vez el de mayor utilización, pero en líneas generales no se utilizan tan frecuentemente reservándose para casos muy puntuales.

Suplementos nutricionales orales

Son productos diseñados para **complementar la alimentación oral habitual** cuando ésta es insuficiente para cubrir las necesidades de la persona. No deben constituir una fuente exclusiva de alimentación (para ello deberían utilizarse formulas nutricionales listas para usar). Presentan las siguientes características:

- Presentación en latas o botellitas de 200 a 300 cc o también pueden presentarse en polvo para reconstituir.
- Presentan una composición nutricional específica que se encuentra detallada en el envase del producto.
- Aportan elevado valor de saciedad.
- Existen para patologías específicas: pacientes diabéticos, adultos mayores, hiperproteicos, etc.

Antes de comenzar a desarrollar la nutrición parenteral y para terminar con la nutrición enteral es importante conocer los beneficios que presenta ésta por sobre la nutrición parenteral

Beneficios de la nutrición enteral

- Más fisiológica.
- Mantiene estructura y función gastrointestinal.
- Evita traslocación bacteriana.
- Menor costo y vigilancia que una nutrición parenteral.
- Complicaciones menos graves que la nutrición parenteral.

Nutrición parenteral

La **Nutrición parenteral (NP)** es la provisión de nutrientes directamente a la circulación sistémica, evitando el tracto gastrointestinal (Figura 14.2)

La palabra parenteral viene del prefijo griego para, que significa "junto a, a un lado, contra, al margen de" y la palabra también griega énteron, "intestino", es decir, 'a un lado o cercano al intestino, pero no en el intestino'.

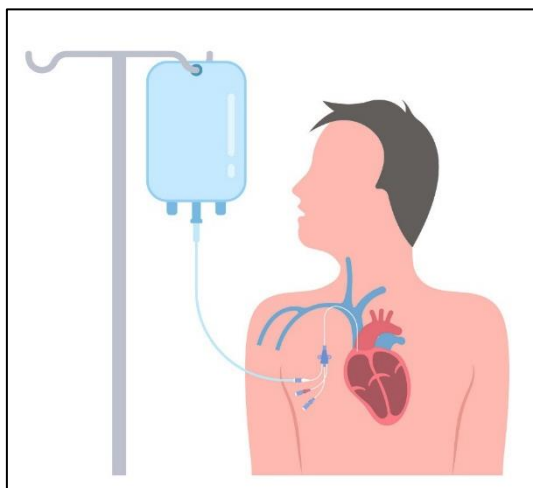


Figura 14.2. *Aporte de nutrición parenteral*

Clasificación

Existen muchas maneras diferentes de clasificar a la nutrición parenteral: según la vena utilizada para su administración (vía central o periférica), según el aporte calórico-proteico que

reciba (NP total o complementaria), según el tipo de formulación que sea (magistral o industriales) etc. Las mismas no son excluyentes.

A los fines prácticos se explicarán las clasificaciones más habitualmente utilizadas en la práctica clínica.

✓ **Según el tipo de vena utilizada**

➤ **NP central**

- La NP se administra a una vena de gran calibre como puede ser la vena cava superior.
- En estas venas se pueden aportar todos los requerimientos nutricionales necesarios por lo que podemos garantizar que el paciente cubra todas sus necesidades calórico-proteicas, por eso también suele llamarse a este tipo de NP total.
- Recibe soluciones hiperosmolares de $> 800 \text{ mosm/l}$
- Duración mayor a 7-10 días.

➤ **NP periférica**

- Se utilizan venas periféricas para su administración. La principal limitante de este acceso es que el sitio de venopunción debe rotarse cada 72-96 horas.
- Tolera soluciones con una osmolaridad máxima de $< 800-900 \text{ mosm/l}$, superada esta osmolaridad, el riesgo de flebitis y extravasación aumenta, pudiendo por ello perder el acceso.
- La NP se prevé que sea de corta duración $< 7-10$ días por lo que generalmente se utilizan como complemento de la NE o vía oral para alcanzar los requerimientos nutricionales o bien pacientes desnutridos severos en el perioperatorio.
- Habitualmente en este tipo de formulaciones y por las características mencionadas no se cubren requerimientos nutricionales de los pacientes.

✓ **Según el tipo de formulación**

➤ **Fórmulas industriales o de tres cámaras o estándar**

- Son bolsas envasadas en forma industrial con los macronutrientes separados en 2 o 3 compartimentos o “cámaras”. Y finalmente esterilizada.
- En el momento de usarlas se rompen los compartimentos manualmente y se mezclan.
- Tienen composición definida de macronutrientes. No poseen vitaminas y minerales y sólo presenta algunos oligoelementos, pero en cantidades inferiores a las recomendadas.
- Existen fórmulas para administrar por vía central o vía periférica
- Tienen como ventaja que se pueden almacenar durante largos periodos de tiempo (hasta 2 años a temperatura ambiente).
- Una vez mezcladas duran colgadas a temperatura ambiente 24 horas.

➤ **Fórmulas magistrales**

- Son formulaciones preparadas específicamente para un paciente individual, con una formulación específica a cargo de un farmacéutico preparado para dicho fin. En dicha formulación se puede indicar la dosis exacta de macro y micronutrientes que se consideren necesarios para la persona.
- Deben utilizarse en un periodo breve de tiempo. Si no se utilizan inmediatamente se deben conservar en heladera a 4°C y pueden durar hasta 1 semana dependiendo el laboratorio que lo fabrique y la presencia o no de lípidos de la bolsa.
- Son mucho más costosas que las fórmulas de tres cámaras.
- Una vez colgadas, al igual que las fórmulas estándar, duran 24 horas.

Accesos Venosos

Para administrar la NP se necesita que el paciente cuente con un acceso venoso. Los catéteres venosos son sondas que se introducen en los vasos con fines diagnósticos o terapéuticos. Según el tipo de vena utilizada se pueden dividir en:

➤ **Accesos venosos periféricos (ACP):** son catéteres de calibre fino y materiales biocompatibles. Son cortos (2,5 cm) y están indicados en tratamientos de hasta 7 días aproximadamente.

➤ **Accesos venosos centrales (CVC):** el acceso puede ser subclavio, yugular o femoral, pero el extremo distal debe quedar alojado en una vena de gran diámetro y flujo, como puede ser vena cava superior o inferior. Son los utilizados con mayor frecuencia para infundir NP a corta y mediana duración (15-30 días). Existen de 1-4 lúmenes (Figura 14.3).

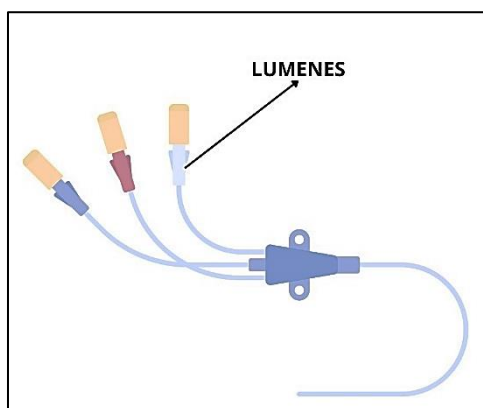


Figura 14. 3. *Gráfico de un catéter trilumen.*

Los catéteres para los accesos venosos centrales se pueden dividir en tres grandes grupos. (Tabla 14.1). En cualquier tipo de acceso venoso central realizado debe ser confirmada su correcta colocación con rayos.

Tabla 14.1. Clasificación de los catéteres para vía central.

NO TUNELIZADOS	TUNELIZADOS	IMPLANTABLES
• Son catéteres de corto plazo. (15 a 30 días) • Son los más frecuentemente usados en las unidades de terapia intensiva • Se insertan por punción percutánea a pie de cama y puede ser realizado por el médico terapeuta • Comparativamente más baratos que los otros, fáciles de retirar y fácilmente recambiables	• Catéteres de largo plazo (más de 3 meses) • Deben colocarse en quirófano y realizado por un cirujano vascular • Ventajas: menor salida accidental y de infección del catéter • Este tipo de catéteres posibilitan realizar una NP crónica domiciliaria (con desconexión), permiten el auto-cuidado, son de duración prolongada y se pueden reparar en caso de roturas accidentales	• Se implantan totalmente bajo la piel y tiene un reservorio que se compone de una capsula de titanio o poliuretano con una membrana de silicona conectada a un catéter de silicona o poliuretano • Son ideales para quienes reciben tratamientos endovenosos intermitentes en forma crónica. Ejemplos: quimioterapia (port a cath)

Composición de la NP

Al igual que lo que sucede con los alimentos que comúnmente se ingieren, la NP contiene macro y micronutrientes: vitaminas, minerales y oligoelementos.

Se explicarán las generalidades de los macronutrientes.

✓ **Glucosa o dextrosa o también llamada glucosa monohidratada**

- Es el principal componente energético de la NP.
- Aporta entre el 40 y el 60% de las calorías no proteicas, o alrededor del 50% del valor calórico total (VCT).
- A diferencia de los alimentos que se consumen en forma habitual donde un gramo de hidrato de carbono aporta 4 kcal; 1 g de glucosa en la NP aporta 3,4 kcal. Ello se debe a que la dextrosa se administra en forma de solución acuosa al 70-80%. Esta concentración implica

una mayor cantidad de agua por gramo de dextrosa, lo que reduce su densidad calórica a 3,4 kcal

- Para evitar gastar aminoácidos como sustratos para la gluconeogénesis y así preservar las proteínas corporales y la masa muscular se debe aportar un mínimo de dextrosa por kg por día, siendo el mismo de 1,5 g/kg/día o 120 -150 g/día.
- De igual manera, la glucosa en exceso se convierte en ácidos grasos y se almacena en los tejidos adiposos o en el hígado, que luego deriva en la infiltración de grasa en el hígado lo que inducen una resistencia a la insulina periférica. En consecuencia, una administración excesiva de la glucosa puede ser perjudicial. Por ello se debe respetar un aporte máximo de glucosa/kg/día.
- Aporte máximo 5 gramos/kg/día.
- Bibliografía más reciente sugiere que dicho punto de corte no debería ser mayor a los 3,5 g/ kg/día.

✓ **Aminoácidos**

- Es el componente estructural y funcional de todos los tejidos del cuerpo.
- Representan del 15-20% del VCT.
- Son la fuente proteica de la NP.
- 1 gr de aminoácidos representan 4 kcal.
- Aporte diario recomendado: 1- 2 g /kg/día.

Un aminoácido que cobro mucho interés en los últimos años es la glutamina. Es el aminoácido más abundante en el cuerpo humano y constituye aproximadamente el 60% de la reserva de aminoácidos libres del cuerpo. Es un importante combustible metabólico y precursor para la síntesis de proteínas, nucleótidos y ácido nucleico. Al considerarse como un aminoácido “condicionalmente esencial”, la glutamina debe proporcionarse con la NP. Sin embargo, las preparaciones convencionales de aminoácidos no contienen glutamina debido a que la glutamina libre es poco soluble e inestable. Como alternativa, se desarrollaron dipéptidos con glutamina, por ejemplo, L-alanil-L-glutamina (AlaGln), con uso exitoso en la rutina clínica.

✓ **Emulsiones lipídicas**

- Fuente de energía y de ácidos grasos esenciales (AGE).
- Las emulsiones lipídicas contienen una determinada cantidad de glicerol (aporta 4,3 kcal/gr) para lograr isotonicidad y es la razón por la que un 1 gramo de grasa no aporta 9 kcal como lo es en la nutrición normal, sino que se puede resumir diciendo que 1 gr de emulsión lipídica aportará 10 kcal.
- Se debe garantizar un aporte mínimo de lípidos: 50-100 g/semana o para ser más específico omega 6 de 0,1-0,25 gr/kg/día y omega 3 de 0,02-0,05 g/kg/día para aportar los AGE que son fundamentales para un normal funcionamiento del cuerpo.

- Aporte máximo 1-1,5 g/kg/día. Se aconseja no superar dicho aporte, sobre todo en pacientes con NP prolongadas por el riesgo de generar principalmente problemas hepáticos, y biliares.

Evolución de las emulsiones lipídicas

A lo largo de la historia de la NP, las emulsiones lipídicas son el macronutriente que más ha evolucionado. La primera emulsión que se utilizó en la NP era 100% de triglicéridos TAG (**lípidos de primera generación**) lo que los hacía muy inestables al momento de utilizar esa fórmula, por lo que al poco tiempo y para mejorar dicho punto, la industria farmacéutica incorporó a los triglicéridos de cadena media (TCM), siendo entonces 50% TAG y 50%TCM (**lípidos de segunda generación**). Las emulsiones lipídicas de tercera generación presentan un perfil lipídico más favorable ya que a menudo contienen una mezcla de lípidos que incluyen los ácidos grasos de cadena media (AGCM) junto a ácidos grasos omega 3 y/o 9, considerados lípidos anti-inflamatorios.

Estas mezclas son consideradas más estables y menos propensas a causar complicaciones como la toxicidad hepática además de tener un rol en la modulación inflamatoria por el tipo de lípidos incorporados.

✓ **Electrolitos, oligoelementos y vitaminas**

- Las fórmulas industriales o de tres cámaras no cuentan con aporte de vitaminas y oligoelementos. Dependiendo la marca de la misma, puede contener electrolitos, pero en dosis mucho menores a las recomendadas.
- En el caso de las fórmulas magistrales de NP, se pueden aportar las cantidades necesarias de vitaminas, oligoelementos y electrolitos que requiera el paciente.
- Los requerimientos diarios van a ser variables dependiendo de la enfermedad de base del paciente y de su condición clínica, déficits o excesos previos, ionogramas, etc.
- Por lo generales existen valores basales, que pueden modificarse o no.
- Existen algunas particularidades con alguno de los oligoelementos.
- El manganeso se elimina principalmente en la bilis.
- La acumulación de manganeso en pacientes con falla hepática puede traer aparejados problemas neurológicos. Al igual que el cobre, donde altas concentraciones pueden causar daño hepático, si existe insuficiencia hepática para eliminarlo, se restringe el aporte de estos en la NP.
- Algo muy similar sucede respecto del selenio, cromo y molibdeno en la insuficiencia renal ya que la capacidad para excretar estos oligoelementos se encuentra comprometida.

Rol del farmacéutico en la nutrición parenteral

El farmacéutico cumple un rol fundamental dentro del equipo de soporte nutricional, siendo clave en la elaboración magistral de la NP.



Figura 14.4. Esquema de abordaje interdisciplinario.

Las preparaciones de mezclas de nutrientes deben desarrollarse en un servicio de farmacia, y es responsabilidad del farmacéutico garantizar la esterilidad, estabilidad y compatibilidad, así como, la composición y dosis establecidas. Tomando como base *el Consenso Español sobre Preparación de Mezclas de Nutrientes Parenterales*, se desarrollarán de manera sintética algunas de las principales injerencias del farmacéutico.

Control de las causas de inestabilidad o incompatibilidad de la fórmula

Estabilidad de la emulsión lipídica

Las emulsiones lipídicas intravenosas pueden desestabilizar la fórmula por múltiples causas. Cuando las partículas de lípidos son mayores a 5 micras pueden generar consecuencias adversas para el paciente por ejemplo un embolismo pulmonar. La floculación de dichas partículas se realiza por inspección visual ya que la misma se desplaza a la parte superior de la bolsa formando un “creaming”.

Los factores que tienen mayor influencia son:

- La disminución del PH
- La composición de las soluciones de aminoácidos
- La concentración de la glucosa
- Orden de adición

- Tipos de lípidos

Precipitación calcio-fósforo

Es uno de los principales problemas de compatibilidad que se puede producir en una fórmula de NP. Sus consecuencias pueden ser fatales ya que al igual que las partículas lipídicas, la administración IV de precipitados mayores de 5,6 micras, puede desencadenar embolia pulmonar en el paciente. La precipitación en solución de NP sin lípidos puede visualizarse fácilmente, pero ante la presencia de lípidos no puede detectarse el precipitado por inspección visual.

Los factores que tienen mayor influencia son:

- Mayor concentración de calcio y fósforo
- Aumento del pH de la solución
- Bajas concentraciones de glucosa y aminoácidos
- Aumento de la temperatura
- Tipo de calcio y de fosfato utilizado.

Degradación de aminoácidos

Algunos aminoácidos son fotosensibles y se deterioran si se exponen a la luz por periodos de tiempo prolongados. El aminoácido más sensible es el triptófano.

Cuando la glucosa y los aminoácidos se almacenan a T ambiente, puede tener lugar la formación de productos de la reacción de Maillard. Esta reacción da un color característico, marrón oscuro que se puede ver a simple vista. El aminoácido que participa en una reacción Maillard se pierde desde el punto de vista nutricional, con lo que disminuye la calidad nutricional de la mezcla, por lo que es muy importante evitar que esto suceda por los efectos anti nutricionales de la misma.

Degradación de vitaminas

Las vitaminas son sustancias muy sensibles a diferentes factores como luz, temperatura, presencia de oligoelementos y bisulfitos y tipo de material del envase utilizado.

El uso de bolsas multicapa formadas por tres o más capas, siendo las dos internas de un material químicamente inerte y la externa de un polímero impermeable al oxígeno, al vapor de agua y fotoprotector protege la oxidación de vitaminas y emulsiones lipídicas.

Como este efecto no es completo, también se aconseja la utilización de bolsas fotoprotectoras que retienen las radiaciones ultravioletas, evitando reacciones de degradación como la peroxidación lipídica y la degradación de vitaminas fotosensibles.

Procesos de peroxidación

El aumento de éstos se ha relacionado con aumento de la mortalidad. La generación de peróxidos en solución de NPT es el resultado de una reacción entre el oxígeno y diferentes donadores de electrones (AGPI, vitaminas) en presencia de la luz. La cantidad de peróxidos

formados es proporcional a la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Las recomendaciones para evitar esta alteración son:

- Almacenar las bolsas de NP a 2-8°C.
- Utilizar bolsas multicapas.
- Utilizar lípidos con bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).
- Evitar en la medida de lo posible el contacto con el aire en la preparación de la NP.

Orden de adición

El orden de adición de los distintos componentes a la mezcla final es un factor muy importante a tener en cuenta para garantizar la estabilidad de la emulsión lipídica y evitar incompatibilidades entre los otros componentes.

Aditivación de fármacos

Existen fármacos que se pueden administrar conjuntamente con la mezcla de NP ya que hay estudios de estabilidad que avalan esta práctica. Hay fármacos incompatibles con NP y otros de los que no existen estudios. Es importante que el farmacéutico tenga presente cada uno de los casos mencionados.

Control de calidad

Por último, y no menos importante, este consenso señala que: “El farmacéutico ha de asegurar la calidad de las NP elaboradas o manipuladas en el Servicio de Farmacia. La Sociedad Americana de Farmacéuticos de Hospitales (ASHP) y la Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN), en sus recomendaciones responsabilizan al farmacéutico de la correcta preparación de las mezclas de NP, así como del control durante su procesado, y de su producto final”

Ejemplo de cálculo para la preparación de una fórmula parenteral

Existen muchas formas de realizar una nutrición parenteral magistral. Aquí se explicará la manera más sencilla de hacer.

- 1) Estimar la meta calórica del paciente.
- 2) Dividir las kcal totales entre sus macronutrientes, procurando, en la medida de lo posible, que sea armónico.
- 3) Comprobar que los gramos totales de cada macronutriente no superen el tope máximo permitido, para lo cual se dividen los gramos totales por el peso del paciente.

Paciente con 80 kg en asistencia respiratoria mecánica (ARM) que necesita NP

Requerimiento calórico final: $25 \text{ kcal/kg/día} = 25 \text{ kcal} \times 80 \text{ kg} = 2000 \text{ kcal /día}$

2000 Kcal	{	50% Dextrosa →	1000 KCAL →	1g = 3,4 kcal	294,1 g
		20% Aminoácidos →	400 KCAL →	1g = 4 kcal	100 g
		30% Lípidos →	600 KCAL →	1g = 10 kcal	60 g

Comprobación:

$294,1 \text{ g} \div 80 \text{ kg} = 3,67 \text{ gramos de dextrosa}$ (Aporte máximo: 5 g/kg/día)

$100 \text{ g} \div 80 \text{ kg} = 1,25 \text{ gramos de aminoácidos}$

$60 \text{ g} \div 80 \text{ kg} = 0,75 \text{ gramos de lípidos}$ (Aporte máximo 1,5 g/kg/día)

→ Se solicita una bolsa de NP magistral con 294,1 gr de dextrosa, 100 gramos de aminoácidos y 60 gr de lípidos + vitaminas, minerales y oligoelementos

Referencias bibliográficas

Nota: Se han priorizado las ediciones en español, y por excepción versiones en inglés de libros de los que no existe aún traducción.

- Alimentos y Nutrición. Introducción a la Bromatología. Salinas, R. D. Editorial El Ateneo. 2000
- Alimentos, Cocina y Salud. Lupano, C.E. Ed Dunken, 2023.
- Análisis de los Alimentos. Fundamentos- Métodos-Aplicaciones. Matissek, R. Schnepel, F. M., Steiner, G. Editorial Acribia. 1992.
- Análisis nutricional de los alimentos. Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A.; Dauvillier, P. Editorial Acribia. 2000.
- Código Alimentario Argentino. De La Canal y Asoc. www.anmat.gov.ar
- Consenso español sobre preparación de mezclas nutrientes parenterales. Farm. Hosp: 33(supl.1): 81-107, ene. 2009
- Elementos de tecnología de alimentos. Desrosier, N. W. CECOSA, México, 1998.
- Fundamentos de Nutrición Normal. López, L. B., Suárez, M. M. Editorial El Ateneo. 2003.
- Methods in Food Analysis A.O.A.C.
- Modern food analysis. Hart, F. L., Fisher, H. J. Springer Science & Business Media. 2012.
- Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. Lupano, C. E. EDULP. 2013.
- Proteínas alimentarias. Cheftel, J.C, Cuq, J.L., Lorient, D. Ed Acribia. 1989.
- Química de los alimentos. Badui Dergal, S. 4ª edición, Pearson Educación, México. 2016
- Química de los alimentos. Belitz, H.D., Grosch, W., López Buesa, M.O. 2ª Edición. Ed Acribia. 1997
- Química de los alimentos. Fennema, O. R., Damodaran, S., & Parkin, K. L. (Eds.). 3ª edición Ed. Acribia. 2010

Autores *(Por orden alfabético)*

Arp, Carlos Gabriel

Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas, área Cs. Biológicas, y Licenciado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas (FCEEx), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Ayudante Diplomado en las Cátedras Nutrición y Bromatología (Farmacia), Propiedades Físicas y Químicas de Alimentos I (Lic. en Ciencia y Tecnología de Alimentos) y Bromatología (Bioquímica) de la FCEEx, UNLP (2015 – 2016 y 2020 – 2022); Profesor Instructor en la Cátedra Laboratorio de Análisis Bromatológico (Tecnatura Universitaria en Química) de la Universidad Nacional de Quilmes (2018 - 2020). Investigador Asistente de CONICET en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Autor de artículos científicos en el campo de almidones resistentes, fibra dietaria e hidrocoloides para uso en panificación. Actualmente, se dedica al estudio y desarrollo de alimentos a base de insectos comestibles.

Ferrero, Cristina

Licenciada en Química, orientación Bromatología, egresada de la Facultad de Cs Exactas de la UBA. Doctora en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de La Plata. Investigadora Principal del CONICET hasta 2024. Se desempeñó como docente en el Área Bioquímica y Control de Alimentos desde 1989, siendo Profesor Adjunto entre 2004 y 2018 y Titular entre 2018 y 2024. Profesora de la Maestría en Tecnología e Higiene de los Alimentos de la Universidad Nacional de La Plata. Ha dirigido numerosos proyectos de investigación en temas de alimentos, y fue directora de tesis de doctorado y maestría. Autora de más de 70 trabajos publicados en revistas internacionales refereadas y libros. Ha participado en proyectos de extensión vinculados con alimentos y con la enseñanza de la ciencia. Ha sido jurado de concursos docentes, evaluadora de proyectos, de investigadores y revisora de trabajos científicos.

Massolo, Facundo

Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (FCE, UNLP). Licenciado en ciencia y tecnología de alimentos (FCE, UNLP). Docente del área de Bioquímica y Control de Alimentos, con cargo de JTPDE (FCE, UNLP). Investigador Asistente de CONICET, área de Postcosecha de frutas y hortalizas (Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales, LIPA). Publicaciones más recientes: “Brassinosteroid biology, potential uses in post-harvest technology and future challenges” (2024), “Low-dose pre-storage 24-epibrassinolide

spray enhance postharvest chilling tolerance in zucchini by eliciting peroxidase and phenolic antioxidants” (2022). Beneficiario de beca de movilidad europea Erasmus Mundus (6 meses), Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia (IIAD, UPV, España), de cuyo trabajo surgió un concepto que se ubicó en la oficina de Vinculación tecnológica de CONICET.

Orosco Condorí, Eugenia Alejandra

Especialista en Gestión de la Educación Superior, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Licenciada en Ciencia y Tecnología de Alimentos, UNLP. Actualmente se desempeña como Ayudante Diplomada en el Área Bioquímica y Control de Alimentos del Departamento de Ciencias Biológicas y como Jefe de Trabajos Prácticos en el Área Química Analítica Aplicada del Departamento de Química en la Facultad de Ciencias Exactas (FCEX), UNLP. También se desempeña como Prosecretaria de Asuntos Académicos en la FCEX. Ha publicado en la temática de Seguimiento y vinculación con graduados (2021). Participa en actividades de investigación en el área de tecnología de alimentos en la FCEX. Participa en actividades de extensión en el área de educación y vinculación con el nivel medio en la FCEX.

Patrignani, Mariela

Doctora en Ciencias Exactas, Área Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Especialista en Docencia Universitaria (UNLP), Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (UNLP). Actualmente se desempeña como Jefa de Trabajos Prácticos en el Área de Bioquímica y Control de Alimentos de la Fac. de Cs. Exactas UNLP e Investigadora adjunta del CONICET en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Es autora de más de 20 artículos científicos relacionados a la temática de alimentos y realizó estancias internacionales en la universidad Aristotélica de Salónica (Grecia), la Universidad de Granada (España) y la Universidad de Texas A&M (Estados Unidos). Fue galardonada por la UNLP como egresada distinguida de grado en el año 2012, del posgrado en el año 2017 y ganó el premio Dr. Pedro Cattaneo en el año 2018.

Rodríguez Bugeiro, Julia María

Licenciada en Nutrición. Universidad de Buenos Aires (UBA). Experta en soporte nutricional. Asociación Argentina de Nutrición Enteral y Parenteral (AANEP). Docente JTP de planta de la materia “Nutrición y Regulación”. Carrera de Medicina. Universidad Nacional Arturo Jauretche (UNAJ). 2017-2023. Jefa del Servicio de Nutrición del Hospital de Alta Complejidad “El Cruce”

Autora principal de “Política Nutricional Activa en la Implementación del Soporte Nutricional Hospitalario; resultados de un estudio observacional”, *Nutr. Hosp.* 2014; 30 (2): 447-452.

Coautora de “Soporte nutricional en pacientes críticos con patologías pulmonares” de la sección XIII Nutrición y Metabolismo del Libro de Terapia Intensiva, de la Sociedad Argentina de terapia Intensiva, 5ta edición. Editorial panamericana S.A. Editorial Médica (2015), “Valoración del Estado Nutricional en el paciente crítico adulto” del libro Valoración del estado nutricional en diversas situaciones clínicas. Universidad Privada del Norte, Lima, Perú (2017), “Prognostic capability of the Maximum Acute Gastrointestinal Injury Score and of caloric intake in patients requiring vasopressors: A multicenter prospective cohort study”, *J Crit Care*; 58:41-47 (2020).

Sobral, Pablo Antonio

Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Magíster en Tecnología e Higiene de los Alimentos. (UNLP). Bioquímico (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos de Nutrición y Bromatología para la carrera de Farmacia (UNLP). Profesional de Apoyo Adjunto. Comisión de Investigaciones Científica (C.I.C.). Director Técnico del Laboratorio UPL. Starch nanocomposite films: migration studies of nanoparticles to food simulants and biodegradation in soil. *Polymers* (2022). Effect of isolation conditions on structural properties and surface behavior of soy-whey proteins. *International Journal of Food Research* (2018). Integrante Investigador proyecto temática: análisis químico de muestras de origen ambiental. (UNLP). Mención especial al mérito científico. Cuarto Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos. INNOVA 2009.

Torrez Irigoyen, Ricardo Martín.

Doctor en Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Licenciado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de Universidad Nacional de Jujuy (UNJu). Jefe de Trabajos Prácticos en la asignatura Nutrición y Bromatología para la carrera de Farmacia, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP hasta 2023. Profesor Adjunto de Simulación de Procesos I y Procesamiento de Alimentos, Facultad de Ingeniería, UNLP. Investigador Adjunto, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) en el tema Diseño de procesos de agregado de valor para pulpa de frutilla (fragaria x ananassa) proveniente del Cinturón Hortícola Platense. Publicaciones destacadas: Extraction kinetics of saponins from quinoa Seed (*Chenopodium quinoa* Willd) (2018); Experimental study and modelling of the sublimation and desorption periods for freeze drying of apple, banana and strawberry (2023). Integrante del Grupo de Ingeniería de Procesos del Proyecto Planta de Alimentos, UNLP.

Arp, Carlos Gabriel

Nutrición y bromatología: guía práctica enfocada a la carrera de farmacia / Carlos Gabriel Arp; Cristina Ferrero; Coordinación general de Cristina Ferrero ; Pablo Antonio Sobral ; Ricardo Martín Torrez Irigoyen. - 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata; La Plata : EDULP, 2026. Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-950-34-2693-7

1. Análisis de los Alimentos. 2. Lípidos. 3. Proteínas. I. Ferrero, Cristina , coord. II. Sobral, Pablo Antonio, coord. III. Torrez Irigoyen, Ricardo Martín, coord. IV. Título.
CDD 353.997

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata

48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina

+54 221 644 7150

edulp.editorial@gmail.com

www.editorial.unlp.edu.ar

EduLP integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2026

ISBN xxx-xxx-xx-xxxx-x

© 2026 - EduLP