

5. LAS ENZIMAS

5.1. Introducción

Las enzimas son proteínas globulares que actúan como catalizadores biológicos, es decir, incrementan la velocidad de una reacción bioquímica. No se consumen durante la misma y, en general, presentan un alto grado de especificidad: **cada enzima cataliza un único tipo de reacción química**, o en el caso de ciertas enzimas, reacciones muy semejantes.

La mayoría de las reacciones en organismos vivos no ocurrirían a velocidad apreciable sin catálisis. Las enzimas incrementan la velocidad de las reacciones bioquímicas entre 10^8 y 10^{20} veces, comparado con la velocidad a la que ocurriría la reacción espontáneamente.

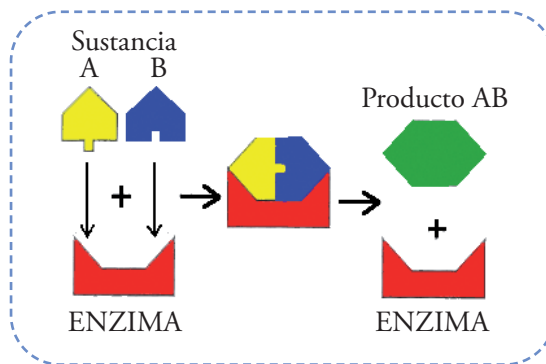
En una reacción catalizada enzimáticamente, la enzima se combina temporalmente con el reactivo o el **sustrato** (S), formando un **complejo enzima-sustrato** (E—S). Entonces, a medida que la reacción avanza, el **producto** (P) se libera y la **enzima** (E) vuelve a su estado original:



La enzima es, generalmente, más grande que el sustrato y la combinación de la enzima y el sustrato depende, normalmente, de fuerzas débiles, tales como puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas para unir la enzima con el sustrato. La pequeña parte de la enzima a la que se une el sustrato se conoce como el **sitio activo** de la enzima.

En forma general, cada molécula de enzima es capaz de transformar, en cada segundo, de 100 a 1000 moléculas de sustrato en producto. El número de estas moléculas transformadas en producto por molécula de enzima en cada segundo, se conoce como **número de recambio**.

Algunas enzimas se asocian con estructuras de carácter no proteico, denominadas cofactores, que son necesarias para su funcionamiento. Entre ellos encontramos iones metálicos como el Zn^{2+} o el Fe^{2+} , y también moléculas orgánicas que se denominan **coenzimas**.



5.2. Nomenclatura

En general, se han nombrado a las enzimas de manera empírica y poco sistemática, ya sea, tomando como base el sustrato sobre el que actúa y colocando la terminación *-asa* (por ejemplo proteasa, que es una enzima que hidroliza proteínas destruyendo en enlace peptídico entre dos aminoácidos) o haciendo alusión a la reacción química genérica que cataliza (reductasa, hidrolasa, que aceleran reacciones de reducción química e hidrólisis, respectivamente).

5.3. Modelo de la acción de las enzimas

La forma en que se une la enzima con el sustrato para catalizar las distintas reacciones ha sido explicada por distintos modelos. Entre ellos mencionaremos los dos siguientes:

5.3.1. El modelo de la "llave-cerradura"

La alta especificidad de las enzimas condujo a Emil Fisher en 1894 a deducir que ambas moléculas (enzima y sustrato) se complementan geoméricamente, y sus formas moleculares encajan, exactamente, una con otra. Esto se conoce, comúnmente, como el modelo de "llave-cerradura", en el que la enzima es una especie de cerradura y el sustrato una llave que encaja de forma perfecta en la cerradura. Sin embargo, si bien este modelo explica la especificidad de las enzimas (una enzima para cada sustrato y para cada reacción en condiciones definidas de temperatura, fuerza iónica y pH), falla al explicar la estabilización del estado de transición (E-S) que las enzimas logran.

5.3.2. El modelo del encaje inducido

En 1958 Daniel Koshland sugiere una modificación al modelo de la llave-cerradura. Postula que las enzimas son estructuras bastante flexibles y, entonces, el sitio activo puede ser reformado por la interacción con el sustrato. Como resultado de esto, la estructura proteica que compone el sitio activo puede ser modificada en su estructura espacial, para lograr posiciones precisas que permitan a la enzima encajar en el sitio activo y llevar a cabo su función catalítica.

De manera sistemática, miembros de la IUPAC (Internacional Union of Pure and Applied Chemistry) y del IUB (Internacional Union of Biochemistry) y posteriormente de la IUBMB (Internacional Union of Biochemistry and Molecular Biology), idearon un sistema de identificación, de modo tal que cada enzima puede ser identificada por un código numérico, encabezado por las letras EC (Enzyme Commission), seguidas de cuatro números separados por puntos.

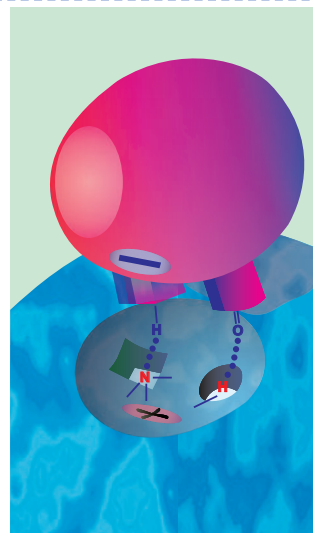


Figura 1. Modelo de llave-cerradura.

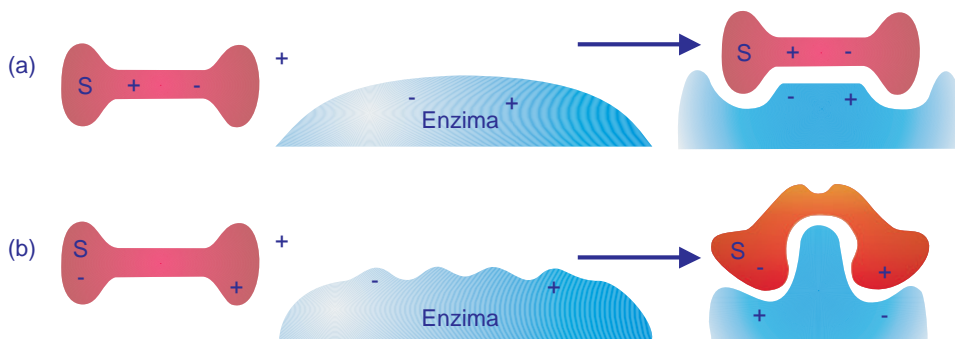


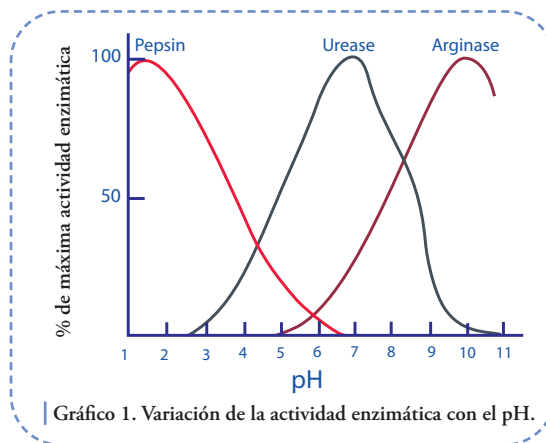
Figura 2. Modelo del encaje inducido.

5.4. Cuantificación de la actividad enzimática

La velocidad de una reacción enzimática se mide por la cantidad de producto formado en unidad de tiempo. Hay muchas variables que pueden influir en la actividad enzimática. Las más importantes son:

5.4.1. pH y concentración iónica

La actividad enzimática se halla vinculada con el estado iónico de la molécula y, especialmente, de la parte proteica, puesto que las cadenas polipeptídicas contienen grupos que pueden ionizarse (principalmente grupos carboxilos y aminos de los aminoácidos constituyentes) en un grado que depende del pH existente. El pH óptimo de las enzimas varía ampliamente, pero la gran mayoría tiene su pH óptimo entre 4 y 8. Por otra parte, mientras algunas enzimas muestran una amplia tolerancia a los cambios del pH, otras trabajan bien, sólo, en un rango estrecho. Cualquier enzima que se someta a valores extremos de pH, se desnaturaliza



5.4.2. La temperatura

La temperatura óptima para la mayoría de las reacciones enzimáticas se halla entre 30°C y 40°C. Al aumentar la temperatura, la velocidad de reacción aumenta y, para casi todas las enzimas, un incremento de 10°C duplica e incluso triplica la velocidad de reacción. Sin embargo, ese mismo aumento de temperatura acelera también la inactivación de la enzima por desnaturalización térmica.

Habitualmente la desnaturalización a alta temperatura es irreversible, debido a que se rompen las fuerzas débiles de enlace al aumentar la vibración térmica de los átomos componentes, fenómeno que daña la estructura tridimensional.

La mayoría de las enzimas son, pues, muy termolábiles y, habitualmente, es suficiente aplicar una temperatura de 40 a 80°C por 2 a 5 minutos, a fin de destruir su actividad.



Figura 3. Papines, coliflor y chanchas supercongelados, blanqueados previamente.

La reversión de la desnaturalización es un proceso lento, pero durante el almacenamiento prolongado de los alimentos procesados, existe tiempo suficiente para la regeneración detectable de algunas enzimas. De esta manera, la estabilidad de los alimentos con respecto al daño de estos por las enzimas es una función tanto de la "profundidad" de la inactivación térmica como del tiempo y condiciones de almacenamiento.

5.4.3. La disponibilidad de agua

La disponibilidad de agua, medida como actividad de agua (ver capítulo “La Química en los Alimentos”), tiene una fuerte influencia sobre la velocidad de las reacciones. La actividad enzimática aumenta al aumentar el contenido de “agua libre” y ello ocurre, no sólo en las reacciones hidrolíticas en las que el agua es uno de los reactantes obvios, sino también en las reacciones no-hidrolíticas.

En la práctica es de gran importancia el efecto de la cantidad de humedad de los alimentos sobre la velocidad de la reacción enzimática. Incluso en los alimentos denominados desecados la acción enzimática procede a una velocidad medible.



Figura 4. Pollo (alta aw, alimento perecedero) y azúcar (baja aw, alimento no perecedero)

5.5. Las enzimas en los alimentos

Las enzimas pueden ejercer, según las circunstancias del caso, una acción deseada o no deseada desde el punto de vista de la tecnología de alimentos. La diferencia entre un efecto beneficioso o desfavorable sobre los alimentos que pueden resultar de estas acciones enzimáticas puede ser, a veces, sutil, dependiendo de la intensidad de la reacción enzimática.

5.5.1. Efectos beneficiosos de la acción enzimática

Entre estos pueden mencionarse las complejas reacciones enzimáticas que determinan la rigidez cadavérica y la posterior maduración de la carne y productos derivados, con las respectivas modificaciones de las características de su tejido muscular. Por otra parte, la preparación de la malta o cebada germinada, primer paso de la elaboración de la cerveza, se basa en la acción de las amilasas y proteasas propias del cereal en germinación. La elaboración de la masa del pan, por acción de las enzimas del cereal y de la levadura y la maduración de la crema, de los quesos y de las frutas, son otros tantos ejemplos de procesos que serían imposibles sin la valiosa intervención de enzimas.



Figura 5. Las enzimas intervienen en la fermentación de masas panarias.

5.5.2. Efectos no deseados o deterioros producidos en alimentos por acción enzimática

Entre estos efectos, deben mencionarse los fenómenos de pardeamiento de los alimentos (ver actividad experimental N° 28), los cuales se manifiestan por la aparición de manchas oscuras en el tejido vegetal (pardeamiento enzimático). Los compuestos de la reacción no son tóxicos pero, la preocupación de los tecnólogos es el aspecto, color y presentación de frutas y verduras, que indudablemente tienen gran importancia comercial y culinaria.

Durante el procesamiento de productos tanto animales (matanza) como vegetales (frutas, hortalizas, molienda de cereales), la destrucción de los tejidos por acción, generalmente me-

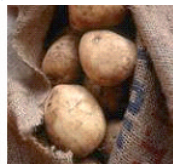


Figura 6. El Pardeamiento de papas. Mantener cortadas es un efecto no deseado.

cánica, puede liberar enzimas de sus estructuras tisulares. Las consiguientes transformaciones metabólicas no controladas pueden conducir entonces, a veces, a reacciones enzimáticas que van en desmedro de la calidad del alimento. Así, la lipoxidasa puede dar origen a productos de oxidación de los lípidos que generan sabor rancio o amargo en derivados de cereales y también destruir los carotenos (pigmentos de color naranja presente en vegetales). También, una excesiva proteólisis enzimática puede conducir a un deterioro del tejido, como sucede en la putrefacción de productos cárneos y marinos.

Por otra parte, el reblandecimiento exagerado o la pérdida de consistencia de frutas y hortalizas que han sobrepasado su estado de madurez, tienen su origen en una pectinólisis no controlada por pectinasas. En el fruto fresco e intacto, estas enzimas se encuentran separadas de su sustrato, las pectinas (polisacárido que brinda estructura rígida a las paredes celulares de los vegetales) Pero, al producirse la ruptura celular en el fruto alterado se genera, entonces, su reacción de deterioro.

5.6. Uso de enzimas exógenas en industrias de alimentos

A continuación se describe el uso de enzimas agregadas en diferentes etapas del procesamiento de alimentos, en la industria molinera y panadera, la industria de carnes y derivados y la lechera.

5.6.1. Industria molinera y panadera

• Alfa y beta-amilasa.

La enzima alfa-amilasa cataliza la hidrólisis de la cadena lineal (amilosa) y la ramificada (amilopectina) del almidón, rompiendo enlaces 1,4 interiores (endoamilasa) para formar una mezcla de dextrinas; por ello, se la conoce como enzima dextrinogénica con poca producción de maltosa.

Por su acción, la alfa-amilasa genera fragmentos menores que pueden ser utilizados por la enzima beta-amilasa.

La beta-amilasa actúa sobre la amilosa y amilopectina del almidón hidrolizando las uniones α (1-4), dando maltosa (disacárido reductor formado por la unión α (1-4) de dos moléculas de glucosa). Mientras la amilosa es transformada totalmente en maltosa, la cadena ramificada de la amilopectina se conserva en un 40-45% sin hidrolizar.

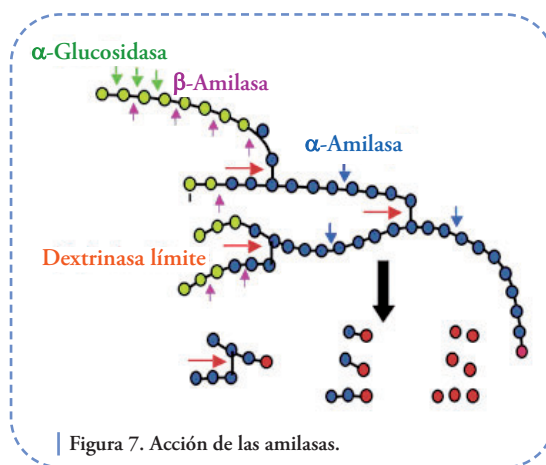


Figura 7. Acción de las amilasas.

El uso de la alfa-amilasa para mejorar el valor panificador de harinas se basa en el hecho de que un adecuado y mantenido desprendimiento de dióxido de carbono depende de la cantidad de maltosa y glucosa fermentables que estén presentes en la masa, cuya formación

depende, a su vez, de la acción sincronizada de la alfa- y la beta-amilasa.

La presencia de una cantidad suficiente de alfa-amilasa durante el esponjamiento y fermentación de la masa, promueve la producción de mayor contenido de azúcares fermentables en la masa, lo que conduce a una aceleración de la fermentación, un mayor desprendimiento gaseoso y un aumento del volumen y textura del pan con una miga de porosidad más fina y de costra más uniforme y coloreada.

Su adición debe ser bastante cuidadosa para evitar una sobreproducción de dextrina residual y con ello una miga gomosa y pegajosa.

• Proteasas

Generan el desdoblamiento hidrolítico de proteínas y péptidos hasta aminoácidos. La conveniencia de agregar proteasa queda, generalmente, restringida a harinas de trigo duro, ricas en gluten; mientras que, en harinas pobres o medianamente ricas en gluten puede originar un reblandecimiento exagerado de la masa.

En los casos en que la adición de proteasa es conveniente, se produce una mayor extensibilidad y elasticidad de la masa. El pan resultante adquiere mayor volumen por una mejor retención de gas, mejorando su textura y simetría, como también sus condiciones de conservación y aún de aroma.

5.6.2. La industria de la carne y derivados

• Proteasas microbianas

Producen la ruptura de enlaces peptídicos promoviendo la producción de carnes más blandas.

Durante el proceso de maduración de la carne, que sigue al de rigidez cadavérica, las transformaciones causadas por las catepsinas (proteasas) suministran a la carne una textura blanda, jugosa, masticable, de sabor agradable y apta para la cocción y digestión. Como esta maduración natural suele ser prolongada (12 días), se puede acelerar artificialmente mediante la adición de proteasas tales como la papaína, para así aumentar la ternura de la carne. Al atacar por proteólisis las fibras musculares y/o los componentes del tejido conectivo (por ejemplo colágeno) se logra una ruptura de los enlaces peptídicos de las proteínas y con ello el ablandamiento de la carne.

En la carne liofilizada la aplicación de estas proteasas tiene el efecto de facilitar la rehidratación, al aumentar, por la proteólisis, la capacidad de fijación de agua.



Figura 8. "Falling number", instrumento que mide la actividad de las amilasas.



Figura 9. "Gluten index", aparato que permite medir la cantidad y calidad del gluten de una harina.



Figura 10. Las carnes envasadas al vacío pueden mejorarse por agregado de proteasas.

5.6.3. La industria lechera

- **Renina y pepsina**

Por maceración de trozos de estómagos de terneros (alimentados sólo con leche) en agua salada, se obtiene el llamado cuajo, cuyo principio activo es la enzima renina. Si los terneros ingieren leche y también forraje, se va formando pepsina, la cual constituye en el animal adulto la proteasa más activa del estómago.

El empleo de estas enzimas en la elaboración de quesos genera la coagulación de la leche en presencia de sales de calcio, con formación de la "cuajada".



Figura 11. Acción de las amilasas.

- **Enzimas coagulantes de origen microbiano**

Debido a la mayor demanda mundial de carne como alimento, no resulta, actualmente, muy económico matar terneros aún no destetados para obtener el cuajo. Además de la pepsina, a veces, en mezcla con la renina, se están aplicando en quesería, cada vez en mayor escala, enzimas coagulantes de origen microbiano.

- **Enzimas auxiliares de la maduración de quesos**

Para abreviar el proceso de maduración y mejorar la calidad de los quesos se recurre a la aplicación adicional de lipasas y proteasas. Las primeras hidrolizan triglicéridos liberando ácidos grasos y las proteasas hidrolizan proteínas produciendo péptidos y aminoácidos. Cuando los aminoácidos, péptidos y ácidos grasos son de bajo peso molecular, generan aromas característicos que son atributos muy apreciados en un buen queso.



Figura 12. Proteasas y lipasas afectan la calidad de quesos maduros.

- **Lactasa**

Cataliza la hidrólisis de la lactosa (disacárido) en glucosa y galactosa (monosacáridos), siendo estos últimos, más dulces que la lactosa y más fácilmente asimilables. Esto se aplica en la elaboración de leches deslactosadas, destinadas a personas que presentan intolerancia a la lactosa por déficit de su lactasa intestinal.



Figura 13. Envase de leche parcialmente deslactosada.

5.6.4. La industria cervecera

- **La preparación de la malta**

Tiene por objeto lograr la transformación de los componentes proteicos y amiláceos insolubles de la cebada en otros tantos solubles en el proceso de germinación. Estos compo-

nentes solubles pasarán, posteriormente, al caldo de fermentación (mosto indirecto). Mientras que esto sucede en la malta verde, por la actividad ejercida por las proteasas y amilasas propias del cereal, durante la germinación de la malta y la posterior incorporación de agua, resulta conveniente una suplementación enzimática (enzimas exógenas), tales como amilasas y proteasas.

• Proteasas

Otra aplicación importante de proteasas vegetales o microbianas tiene lugar en la cerveza ya terminada, susceptible de experimentar enturbiamientos de origen no biológico que le pueden comunicar un aspecto desagradable. Los factores causantes de estos enturbiamientos son el oxígeno, la luz, el calor, trazas metálicas y, especialmente, la presencia de proteínas de alto peso molecular, provenientes ya sea de la cebada o de la levadura. Estas proteínas coagulan por influencia del oxígeno y también de los taninos y carbohidratos existentes, especialmente, después del almacenamiento en frío de la cerveza ya terminada.

Mediante la adición de proteasas, como la papaína, estas proteínas se desdobl原因 en sus componentes hidrosolubles (péptidos hasta aminoácidos), que ya no causan precipitaciones o enturbiamientos.

• Amilasas

También puede recurrirse a una adición de amilasas a la cerveza para mejorar su estabilidad y lograr, a la vez, un desdoblamiento mayor de las dextrinas.



Figura 14.
Enzimas en la elaboración de cervezas.

Actividad Experimental N° 26: Efecto de la ptialina en la hidrólisis de almidón

Materiales:

- 6 tubos de ensayos aptos para ser calentados
- un recipiente para calentar agua a 37°C (vaso de precipitados de 250 ml o jarro chico de metal)
- un termómetro que permita controlar 37°C
- una pipeta de vidrio o plástica
- reactivo de Fehling (se compra en droguerías)
- solución de yodo iodurada (lugol)

Desarrollo

1. Colocar media cucharadita, tamaño café, al ras de almidón de maíz en un tubo de ensayos rotulado Tubo A que contenga agua hasta su cuarta parte. Homogeneizar suavemente.
2. En un segundo tubo rotulado, Tubo B, mezclar la misma cantidad de almidón del ensayo anterior, la misma cantidad de agua y aproximadamente 1 ml de saliva. Homogeneizar.
3. Colocar ambos tubos en un baño de agua a 37°C durante 30 minutos.
4. Tomar luego de finalizado el calentamiento dos porciones de 1 ml. del tubo A y transferirlos a los tubos de ensayos N° 1 y 2 y tomar también dos porciones de 1 ml del tubo de ensayos B y transferirlos a los tubos 3 y 4.

5. Efectuar las reacciones que se detallan a continuación:

	REACCIÓN DE FEHLING	REACCIÓN CON IODO
TUBO N° 1	X	
TUBO N° 2		X
TUBO N° 3	X	
TUBO N° 4		X

Consignar en cada caso lo que se observa

Reacción de Fehling

1. Agregar 1 ml del reactivo de Fehling a los tubos de ensayos N° 1 y 3.
2. Colocar en un vaso o jarro conteniendo agua en ebullición.
3. Observar el color de la solución y la presencia o no de precipitado al cabo de 5 a 10 minutos de calentamiento.

Reacción de iodo

1. Agregar 3 ó 4 gotas de la solución de lugol a los tubos de ensayos N° 2 y 4.
2. Observar el color de la solución.

Análisis de resultados

- a. Comparar los resultados de la reacción con solución de yodo de los tubos 2 y 4.
- b. Comparar los resultados de la reacción con solución de Fehling de los tubos 1 y 3.
- c. Explicar los resultados analizando lo que ha ocurrido con la dispersión de almidón en cada uno de los tubos de ensayos.

Actividad experimental N° 27: “Efecto de la papaína sobre la gelatina”

Materiales:

- una jarro de metal
- una jarra para medir volúmenes
- 4 vasos descartables
- 1 kiwi bien maduro
- 1 sobre de postre de gelatina en polvo.

Desarrollo

1. Preparar un postre de gelatina de tamaño chico de acuerdo con las indicaciones del envase.
2. Dividir la preparación en 4 partes iguales y transferirlas a 4 vasos descartables, preferentemente, de material transparente.
3. Llevar a heladera hasta que estén bien firmes.

4. Retirar, luego, de la heladera y colocar sobre la superficie de ellos una cucharada de las siguientes preparaciones:

Vaso 1	Puré de kiwi bien maduro
Vaso 2	Puré de kiwi bien maduro hervido durante dos minutos
Vaso 3	Puré de kiwi bien maduro
Vaso 4	Puré de kiwi bien maduro hervido durante dos minutos

Luego continuar con el siguiente procedimiento:

5. Cubrir los vasos con papel film y dejar el vaso 1 y el vaso 2 a temperatura ambiente y los vasos 3 y 4 en la heladera.
6. Realizar observaciones a intervalos regulares de tiempo, por ejemplo cada tres horas y anotar lo observado cada vez.

Análisis de resultados

Sobre la base de las anotaciones realizadas explicar y justificar las diferencias observadas entre:

- a. vaso 1 y vaso 2
- b. vaso 3 y vaso 4
- c. vaso 1 y vaso 3
- d. vaso 2 y vaso 4

Actividad experimental N° 28: “Efecto del blanqueado sobre peroxidasas en vegetales”

Materiales:

- papas y manzanas frescas (peladas y cortadas en rodajas de diferente grosor y en cubos de diferente tamaño)
- guayacol (solución al 1% v/v en etanol 95 %)
- peróxido de hidrógeno (0,5 % v/v)
- pipetas plásticas o goteros
- un jarro para calentar (o un vaso de precipitados de 500 ml)
- reloj con segundero

Desarrollo

1. Blanquear unos trozos de papa y manzana de la siguiente manera:
 - llevar a ebullición aproximadamente 300 ml de agua,
 - sumergir piezas de cada una de las muestras en el agua hirviendo y dejarlas en contacto durante 2 minutos. Luego sacarlas y sumergirlas en un recipiente que contenga agua helada.
2. Ensayar la presencia de peroxidasa para evaluar el proceso de blanqueo realizado, de la siguiente manera:
 - cortar un pedazo de muestra y agregarle 2 ó 3 gotas de guayacol al 1% y 2 ó 3 gotas de agua oxigenada al 0,5 %. La actividad de peroxidasa se indica por el desarrollo de un

color rojo parduzco. Si no se observa la aparición del color en tres minutos y medio, se puede considerar que el proceso de blanqueado ha sido realizado en forma correcta.

3. Ensayar la presencia de peroxidasa en una muestra sin blanquear.

Análisis de resultados

- a. Sobre la base de lo observado en el laboratorio, explicar cómo se conservan vegetales súper congelados, tales como zanahoria, brócoli, chauchas, ensalada rusa, arvejas (prestar especial atención al tamaño de las porciones, envases y temperaturas).
- b. Explicar por qué es importante conservar la “cadena de frío” para estos productos.

Para investigar

- a) Encontrar los motivos por los cuales las frutas son más blandas a medida que van madurando.
- b) Averiguar por qué motivo los tomates “larga vida” mantienen su pulpa firme durante más tiempo.
- c) Describir el proceso de “blanqueado” de hortalizas previo a su almacenamiento en congelación y justificarlo.

Bibliografía de referencia:

- Badui Dergal, S. *Química de los Alimentos* (2006). Editorial Pearson Educación, México.
- Fennema, O. *Química de los Alimentos* (2000). Ed Acribia. España.
- The Nuffield Foundation, *Química avanzada Nuffield*. Ciencia de la alimentación, Capítulo 2, Editorial Reverte.