CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

Los alimentos proporcionan al hombre la fuente de energía necesaria para vivir y para las reacciones químicas que se producen en su cuerpo, así como las sustancias químicas necesarias para el crecimiento, para la restauración de las células dañadas o gastadas y para la reproducción (Banwart, 1982).

El concepto clásico de nutrición adecuada que aporta los nutrientes suficientes para satisfacer las necesidades orgánicas, tiende a ser sustituido por el de nutrición óptima, que incluye además la potencialidad de los alimentos para promover la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades (Consumer, 2003).

1.1 Alimentos funcionales

Al iniciarse el nuevo milenio una nueva área dentro de la ciencia de los alimentos y de la nutrición se ha hecho presente con cada vez mayor intensidad, el área de los "alimentos funcionales", que se definen como "cualquier alimento al que se le ha añadido (o que se le han eliminado) uno o varios ingredientes; o cuya biodisponibilidad de nutrientes se ha modificado con la particularidad de que algunos de sus componentes (sea o no nutriente) afecte a funciones vitales del organismo de manera específica y positiva (Fuller, 1994). En

la tabla I se muestra cómo se modifican los alimentos para convertirse en alimentos funcionales.

Tabla I. Modificaciones que sufren los alimentos para convertirse en alimentos funcionales.

Modificación en el alimento	Ejemplos de posible funcionalidad
Adición de fitoquímicos (como ingredientes de plantas o extractos de plantas)	Antioxidantes, reduce los riesgos de cáncer, reduce la presión sanguínea.
Adición de péptidos bioactivos	Reforzar la función inmune, reforzar la biodisponibilidad de minerales, hipotensivos.
Adición de fibra dietética	Prevención de constipación, reduce los riesgos de desarrollar cáncer en el colon, disminución del colesterol en la sangre.
Adición de ácidos grasos 3-3 poliinsaturados	Reduce los riesgos de ataques al corazón, de ciertos tipos de cáncer y refuerza el sistema inmune
Adición de prebióticos	Efectos favorables sobre la digestión, aumentan la absorción de minerales.
Adición de probióticos	Promueve las funciones gastrointestinales, refuerza al sistema inmune, disminuye los riesgos de cáncer en el colon.

Adaptado de Berner y O'Donnell (1998)

La idea de los "alimentos funcionales" fue desarrollada en Japón durante la década de los 80's (Vasconcelos, 2002). Clasificaron a los "alimentos funcionales" en tres categorías:

- 1. Alimentos a base de ingredientes naturales.
- 2. Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria.

- 3. Alimentos que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano incluyendo:
 - a) Mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica
 - b) Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica
 - c) Control de las condiciones físicas y mentales
 - d) Retardo en el proceso de envejecimiento

Los componentes de los alimentos enriquecidos se hallan también en los alimentos convencionales, por lo que una persona que sigue una dieta equilibrada y mantiene hábitos de vida saludable no necesita consumir alimentos funcionales, ya que ingiere todos los nutrientes que su organismo necesita.

Existe la creencia de que los alimentos funcionales "curan" enfermedades, sin embargo la propiedad funcional está relacionada con el papel metabólico estructural o fisiológico sobre el crecimiento, desarrollo, mantenimiento y otras funciones normales del organismo; y no con la capacidad de tratar una patología. Los alimentos funcionales pueden prevenir pero no curar (Consumer, 2002).

1.2 Probióticos

1.2.1 Definición

La palabra "probiótico" significa "para la vida", proviene del griego y en el pasado tuvo muchas definiciones. Una de las primeras fue sugerida en 1965 por Lilly y Stilwell

(citado por O'Sullivan et. al, 1992) en la cual los probióticos se describen como sustancias producidas por un protozoario que estimulaban el crecimiento en otro.

Sin embargo, esta definición se ha ido modificando a través de los años. En 1974, Parker (citado por O'Sullivan, 2002) definió a los probióticos como organismos y sustancias que tienen un efecto benéfico en el animal huésped contribuyendo al balance en su flora intestinal. Sin embargo, estas definiciones no son muy adecuadas ya que la palabra "sustancia" incluye suplementos químicos, como antibióticos y los probióticos carecen de dichas sustancias (O'Sullivan et. al, 1992).

En 1989, Fuller (citado por O'Sullivan et. al, 1992) redefinió a los probióticos como "suplementos microbianos vivos que influyen de forma benéfica sobre el animal huésped, mejorando su balance microbiano intestinal", haciendo notar la importancia de las células vivas como componentes esenciales de los probióticos.

Huis in't Veld y Havenaar (1991), ampliaron la definición al decir que los probióticos son "la mezcla o el microorganismo(s) aplicado al hombre o al animal que afecta benéficamente al huésped mejorando las propiedades de la flora intestinal". Esta definición implica que los probióticos contienen microorganismos vivos.

1.2.2 Diferencias entre prebióticos y probióticos

Gibson y Roberfroid (citado por Schmidl y Labuza, 2000) definen a los prebióticos como "ingredientes de los alimentos no digeribles que afectan benéficamente al huésped

estimulando selectivamente el crecimiento y /o la actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon, que tienen el potencial para mejorar la salud del huésped". Esta definición da lugar a muchas consideraciones. Los prebióticos se dedican a la modulación de la población bacteriana del colon y ellos constituyen una categoría específica de lo que se ha llamado como alimentos colónicos. A pesar que las características moleculares de los prebióticos no se han definido todavía, solo los carbohidratos (oligosacáridos, fibra dietética, fructo-oligosacáridos y almidón) cumplen con lo establecido por esta definición (Schmidl y Labuza, 2000).

En términos de seguridad, no se han alcanzado grandes conclusiones relacionadas con los prebióticos. Pueden ser considerados básicamente como macronutrientes porque se ingieren en cantidades relativamente altas. Algunos se encuentran de forma natural en frutas, hierbas, hortalizas y en general se puede decir que los prebióticos pueden cambiar la composición de la microflora del colon promoviendo el crecimiento de bifidobacterias, pero cambios en la actividad metabólica de la microflora no han sido detectados (Schmidl y Labuza, 2000)

En contraste a los prebióticos, la actividad de los probióticos se cuestionó cuando Metchnikoff (1908) postuló que las bacterias ácido lácticas proveían beneficios en la salud y en la longevidad. Hoy en día se sabe que las bacterias probióticas no se limitan a las ácido lácticas. Existen datos experimentales que sugieren el uso potencial de cepas de hongos como probióticos en situaciones clínicas (Schmidl y Labuza, 2000).

Dado que la microflora del intestino es un componente constitutivo de las mucosas intestinales, los probióticos dan una oportunidad para reforzar las defensas contra las infecciones del tracto gastrointestinal. La teoría del mejoramiento de las mucosas se puede encontrar en la capacidad directa de combatir patógenos y/o en la capacidad de modular los mecanismos de defensa (Schmidl y Labuza, 2000).

1.2.3 Flora bacteriana del aparato digestivo

La cantidad y composición de la flora bacteriana varía según la región anatómica del tubo digestivo. En la cavidad oral del adulto existen 10⁷ bacterias por gramo de saliva, predominando especies Lactobacillus, Coliformes, Veillonella y Enterococcus. El ácido presente en el estómago reduce la cantidad de estas especies a 10²-10³ bacterias por gramo de jugo gástrico. En el intestino delgado proximal el número de bacterias varía entre 10³-10⁴ (Heller et al, 2001).

A lo largo del intestino se encuentran alrededor de 100 trillones de bacterias viables de 100 especies diferentes. Flora principalmente de bacterias ácidolácticas: Bifidobacterium, Lactobacillus. Streptococcus; bacterias anaerobias: Bacteroidaceae. Clostridium. Eubacterium, Megasphaera, Streptococcus, Bacillus, Corynebacterium, Pseudomonas y levaduras (Heller et al, 2001). La Tabla II muestra los microorganismos que se encuentran en la vía gastrointestinal humana.

Tabla II. Microorganismos representativos en la vía gastrointestinal humana.

	Estómago	Yeyuno	Ileón	Materia Fecal
Total de bacterias	$0-10^{3}$	0-10 ⁵	10 ³ -10 ⁷	$10^{10} \text{-} 10^{12}$
Aerobias o Anaerobias facultativas				
Bacterias entéricas	0-10 ²	0-10 ³	10 ² -10 ⁶	10^4 - 10^{10}
Estreptococos	$0-10^3$	0-10 ⁴	$10^2 - 10^6$	$10^5 - 10^{10}$
Estafilococos	$0-10^2$	$0-10^3$	$10^2 - 10^6$	$10^4 - 10^7$
Lactobacilos	$0-10^3$	0-10 ⁴	$10^2 - 10^5$	$10^6 - 10^{10}$
Hongos	$0-10^2$	$0-10^2$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^6$
Bacterias anaerobias				
Bacteroides	Raras	0-10 ²	$10^3 - 10^7$	10^{10} - 10^{12}
Bacterias bífidas	Raras	$0-10^3$	$10^3 - 10^5$	$10^8 - 10^{12}$
Cocos gram-positivos	Raras	0-10 ³	$10^2 - 10^5$	10^{8} - 10^{11}
Clostridia	Raras	Raras	$10^2 - 10^4$	$10^6 - 10^{11}$
Eubacteria	Raras	Raras	Raras	10 ⁹ -10 ¹²

Adaptada de Centro de Investigación Nestlé Laussane (Suiza).

1.2.4 Bacterias probióticas

Las especies comúnmente usadas para la preparación de los probióticos son: Bifidobacterium bifidum, B. Infantis, Lactobacillus casei spp, L. acidophilus, Enterococcus faecium y Propionibacterium freudenreichii subs. shermanii (O'Sullivan et. al, 1992). Con dos excepciones, todas estas son cepas intestinales. Las dos excepciones L. bulgaricus y Streptococcus thermophilus, organismos indicadores que están incluidos en la elaboración de yoghurt. La Tabla III muestra las especies de probióticos más usadas.

Tabla III. Especies bacterianas más importantes usadas como cultivos probióticos.

Especie	Сера
Lactobacillus acidophilus	La2, La5, Johnsonii, NCFM, DDS-1,SBT-2062
L. bulgaricus	Lb12
L. lactis	La1
L. plantarum	299v, Lp01
L. rhamnosus	GG, GR-1, 271, LB21
L. reuteri	SD2112
L. casei	Shirota, Immunitass, 744, 01
L. paracasei	CRL 431
L. fermentum	RC-14
L. helveticus	BO2
Bifidobacterium adolescentes	-
B. longum	B536, SBT-2928
B. breve	Yakult
B. bifidus	Bb-11
B. essensis	Danone, (Bio Activia)
B. lactis	Bb-02
B. infantis	Shirota, Immunitass, 744, 01
B. laterosporus	CRL 431
B. subtilis	-

Adaptada de Krishnakumar y Gordon (2001).

1.2.5 Efectos benéficos de los microorganismos probióticos

A pesar de que a los probióticos se les ha atribuido una serie de beneficios en la salud, sus acciones anticarcinogénicas, hipocolesterémicas y su acción en contra de patógenos entéricos y otros microorganismos han recibido gran atención hoy en día (Mital y Garg, 1995). Algunos de estos beneficios son los siguientes:

Propiedades Antimicrobianas: La microflora intestinal ejerce una barrera importante frente a las infecciones. Los mecanismos de acción son muy variados:

a) Modificando los niveles de adhesión celular,

- b) Produciendo sustancias antimicrobianas o
- c) La estimulación de órganos linfoides asociados al tracto intestinal (Marquina y Santos, 2002),
- d) Colonización competitiva (que priva a los patógenos de nutrientes de nichos de implantación),
- e) Inhibición de adhesión y crecimiento de patógenos, que resulta de la producción de ácidos orgánicos (ácido láctico y acético), peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono y sustancias antimicrobianas conocidas como bacteriocinas (Heller et. al, 2001).

Los ácidos orgánicos disminuyen el pH del contenido intestinal y ejercen una acción tóxica directa sobre la flora patógena. Los ácidos láctico y acético penetran la membrana celular y trastornan su potencial, ocasionando la inhibición del transporte de nutrientes y actividad de ATPasa. El peróxido de hidrógeno inactiva biomoléculas esenciales por reacción en cadena del anión superóxido. El dióxido de carbono, además de hacer el medio más anaerobio, inhibe la descarboxilación enzimática y rompe la membrana celular por acumulación gaseosa. Las bacteriocinas, en su mayoría identificadas en cepas de *Lactobacillus*, son un grupo heterogéneo de compuestos proteicos con actividad, modo de acción, peso molecular, origen genético y propiedades bioquímicas variables (Heller et.al, 2001).

La cepa CRL-431 de *Lactobacillus casei* ha mostrado su capacidad para eliminar microorganismo patógenos del intestino, como cepas enterotoxigénicas de *E. coli, Listeria monocytogenes, Shigella sunnei y Salmonella typhimurium* (Marquina y Santos, 2002). Las

bacterias probióticas muestran propiedades contra bacterias Gram-positivas como *Sthapylococcus aureus y Clostridium perfringes* (Shah, 2001).

Propiedades Anticarcinogénicas. Las bacterias ácido lácticas y los productos fermentados hechos de ellas tienen una actividad potencial anticarcinogénica. *B. longum* y *B. infantis* son agentes efectivos contra los tumores. Su mecanismo de acción se debe a la supresión de las enzimas bacterianas, a la activación del sistema inmune del huésped y a la reducción del pH intestinal. Las bacterias probióticas pueden remover las fuentes procarcinogénicas o las enzimas que desarrollan la formación de carcinógenos (Shah, 2001).

Reducción del Colesterol. Estudios recientes han mostrado que el consumo de ciertos cultivos de productos lácteos puede reducir el nivel de colesterol en la sangre. El consumo de leches fermentadas conteniendo un gran número de bacterias probióticas (~10⁹) por personas hipercolestéremicas pueden reducir los niveles de colesterol de 3.0 a 1.5 g/L (Homma, 1998 citado por Shah, 2001). El efecto de las bacterias probióticas sobre la reducción y mecanismo del colesterol sanguíneo son desconocidos. Una hipótesis sugiere que algunas cepas de *L. acidophilus* pueden asimilar la molécula del colesterol, esta actividad ha sido reportada *in Vitro* (Gilliland et al., 1985 citado por Sanders, 1999). La capacidad de ciertos lactobacilos y bifidobacterias probióticas para la desconjugación enzimática de los ácidos biliares se ha sugerido que tiene un papel en la regulación de niveles del colesterol sanguíneo en humanos. Los ácidos biliares desconjugados son más fáciles de excretar (De Smet et al, 1994, citado por Sanders, 1999).

<u>Salud Urogenital</u>. El tracto urogenital de las mujeres está altamente colonizado por bacterias y es altamente susceptible a infecciones. El consumo oral de ciertos probióticos puede disminuir el desarrollo de infecciones provocadas por *Candida* y otras bacterias de la vagina. Diferentes estudios han correlacionado la salud vaginal con la presencia de lactobacilos, específicamente con lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno (Sanders, 1999).

Alergias. Se han reportado estudios preliminares de la modulación de ciertas reacciones alérgicas debido a los probióticos. El rompimiento de las mucosas intestinales permitiendo el intercambio de antígenos puede ser un factor para desencadenar ciertas reacciones alérgicas. Desde que las bacterias probióticas han mostrado el mejoramiento de las funciones de protección de las mucosas, la hipótesis de que ellas juegan un papel en la moderación de la respuestas alérgicas han sido cuestionadas (Sanders, 1999).

Reducción de la intolerancia a la lactosa. La intolerancia a la lactosa es un problema que padece un gran porcentaje de la población (50-70%) y se debe a la indigestión de productos que contienen lactosa y los bajos niveles de β-D-galactosidasa intestinal. La lactosa es una sustancia osmóticamente muy activa y su presencia en el intestino ocasiona la salida de fluidos e iones de la mucosa intestinal hacia el exterior hasta alcanzar el equilibrio osmótico, provocando diarrea profusa (Marquina y Santos, 2002). Los cultivos tradicionales para la elaboración del yoghurt, L. Delbrueckii spp.bulgaricus y S. Thermophilus, contienen cantidades suficientes de β-D- galactosidasa, el cual se ha visto puede ayudar a aliviar los síntomas de la mala absorción de la lactosa. También su función es debido a que una cierta cantidad de lactosa es hidrolizada por bacterias del yoghurt durante la fermentación. Otra

razón se le atribuye a que la viscosidad del yogurt que es elevada, por lo cual, el lento tránsito por el tracto digestivo ayuda a que la lactosa pueda ser digerida (Sanders,1999)

Estimulación del sistema inmune: Se ha observado inmunomodulación por L. Acidophilus y bifidobacterias, pero el mecanismo no es claramente entendido (Schiffrin et al., 1995, citado por Shah, 2001). Se ha reportado que ingiriendo los probióticos del yoghurt, se estimula la producción de citosina en células sanguíneas y aumento en la actividad de macrófagos (Marteau et al., 1997, citado por Shah, 2001), incrementan la actividad natural de las células del hígado e incrementan los niveles de inmunoglobulinas en especial las secretoras de IgA (Sanders, 1999)

Mejoramiento del valor nutricional de un alimento. Los efectos nutricionales de los probióticos han sido muy estudiados en las leches fermentadas con lactobacilos. Estos productos tienen un menor contenido de lactosa y un alto contenido de aminoácidos libres y ciertas vitaminas, que otros productos fermentados. Se ha reportado que los Lactobacilos y Bífido bacterias producen ácido fólico, niacina, tiamina, riboflavina, piridoxina y vitamina K (O'Sullivan et al, 1992).

Los efectos benéficos que un determinado microorganismo probiótico puede provocar en el huésped se presentan en la Tabla IV con una posible explicación de su mecanismo de acción.

Tabla IV. Efectos potenciales establecidos de las bacterias probióticas.

Beneficio en la salud	Mecanismo postulado		
Ayuda en la digestión de la lactosa	La lactasa bacterial hidroliza la lactosa		
Resistencia a las bacterias	Alteración de las condiciones intestinales para ser		
patógenas	menos favorable para patogenicidad.		
	Influencia en las poblaciones de la flora intestinal.		
	Fijación a la mucosa intestinal		
Efectos contra el cáncer en el colon	Inhibición de productos enzimáticos carcinogénicos		
	de los microbios colónicos		
	Respuesta inmune		
	Inflluencia en la concentración de las sales biliares.		
Crecimiento de las bacterias del	Influencia en la actividad de crecimiento de la flor		
intestino delgado	disminuyendo la producción de metabolitos tóxicos		
Modulación del sistema inmune	Efectos coadyuvantes en respuestas inmunes		
	antígenas específicas		
Alergias	Prevención de la translocación de antígenos dentro del		
	torrente sanguíneo		
Lípidos en la sangre, enfermedades	Asimilación del colesterol dentro de células		
del corazón	bacterianas.		
	Efectos antioxidativos		
Efectos antipertensivos	Los componentes de la pared celular actúan como		
	inhibidores enzimáticos.		
Infecciones urogenitales	Fijación a las células del tracto urinario y vaginal		
Infecciones causadas por	Producción de inhibidores de H. pylori (ácido lácticos		
Helicobacter pylori	y otros)		

Adaptada de Sanders y Huis in't Veld (1999)

1.3 Lactobacillus casei como probiótico

L. casei son bacterias Gram positivas con forma de bastón. Difiere de otros lactobacilos en muchos aspectos. Su tamaño es más pequeño en comparación con L. bulgaricu, L. acidophilus y L. helveticus. Son mesófilos heterofermentadores facultativos. Pueden fermentar una mayor

variedad de carbohidratos en comparación con la mayoría de lactobacilos encontrados en las leches fermentadas (Danone World Newsletter 7).



Fig 1. Lactobacillus casei shirota

Las cepas de *L. casei* se encuentran de forma natural en vegetales fermentados, leche, carne, así como en el intestino, la boca del ser humano y el ambiente. El nombre de *L. casei* se usó por primera vez en 1919 y se relaciona con queso: *casei* y *caseína* (proteína de la leche) provienen de la palabra caseus que significa queso (Danone World Newsletter 7). *L. casei* se divide en diversas subespecies. La tabla V muestra su clasificación taxonómica.

Tabla V. Taxonomía de Lactobacillus casei

Taxonomía anterior	Taxonomía reciente	Propiedades metabólicas	
		Temperatura de crecimiento	Fermentación de azúcares
L. casei subsp.casei	L. casei	10-40 °C	Ribosa, Sacarosa
L. casei subsp.paracasei	L. paracasei subsp.paracasei	10-40 °C	Metaboliza gran variedad de azúcares
L. casei subsp.tolerans	L. paracasei subsp.tolerans	10-37 °C resistente hasta 72° C, 40 minutos	Metaboliza gran variedad de azúcares
L. casei subsp.ramnosus	L. ramnosus	15-45 °C	Ramnosa

Adaptada De Danone World Newsletter 7.

Lactobacillus casei es una bacteria ácido láctica que se encuentra en diversos productos distribuidos mundialmente incluyendo las tradicionales leches fermentadas como Yakult, Kefier, Actimel, Gefilus y Vifit; en quesos como el parmesano y manchego, entre otros (Danone World Newsletter 7, 1995). La Tabla VI muestra la variedad de productos fermentados en los que L. casei se encuentra como probiótico.

Tabla VI. Productos fermentados con L. casei.

Nombre	País de origen	Descripción	Сера
Actimel	Bélgica	Bebida fermentada con saborizantes, consistencia líquida, de agradable sabor y olor. Refuerza las defensas naturales	S. termopilus, L.bulgaricus, L.casei
Gefilus®	Finlandia	Leche fermentada con lactosa hidrolizada y bebida con sabor hecha del suero de la leche. Favorece el balance de la flora intestinal	L.casei
Smetanka	Unión Soviética	crema ácida, de consistencia viscosa, buen balance de sabor y olor	Acetobacter lactis, L.acidophilus o L.casei, L.cremoris
Vifit	Noruega	Bebida natural o de sabor. Refuerza las defensas naturales	L.casei, S. thermophilus, L.bulgaricus, Bifidobacterium bifidum
Yakult	Japón	Leche fermentada de sabor, consistencia líquida, sabor y aroma agradable. Equilibrio del balance intestinal y bienestar	L.casei

Adaptada de Danone World Newsletter 7.

1.4 Criterios para desarrollar un producto probiótico

Los criterios que deben cumplir los probióticos para poder ser usados en humanos son: deben ser cepas de origen humano para que tenga el potencial de colonizar la vía y ser capaz de sobrevivir; viables y resistentes; estables en presencia de ácido y bilis; capaces de adherirse a la mucosa intestinal y producir componentes antimicrobianos así como el de poseer beneficios clínicamente demostrados y ser seguros (Heller et. al, 2001).

El mayor objetivo en el desarrollo de alimentos funcionales a partir de probióticos parece ser su establecimiento en la parte superior del tracto gastrointestinal (intestino delgado y estómago) de un ecosistema con una barrera rígida contra los efectos de los microorganismos patógenos (Schmidl y Labuza, 2000). Para lograr esto, se necesitan considerar una serie de factores en el desarrollo de estos productos:

<u>Viabilidad</u>. Para promover beneficios en la salud, las bacterias probióticas deben ser viables y disponibles en altas concentraciones, típicamente 10⁵-10⁶ ufc/g de producto. Hay muchos factores que se consideran como responsables de la pérdida de viabilidad de los organismos probióticos: la acidez de los productos, la producción de ácido durante el almacenamiento, el nivel de oxígeno en los productos, su sensibilidad a antimicrobianos, entre otros (Dave y Shah, 1997). La Tabla VII muestra ejemplos de los factores de estrés a los que están expuestos los probióticos.

Shah (2001) ha sugerido diversas estrategias para mejorar la viabilidad de los organismos probióticos considerando los siguientes factores:

<u>Tolerancia al ácido y a la bilis</u>. Los probióticos deben ser capaces de sobrevivir en el ambiente ácido del estómago, donde el pH puede alcanzar valores tan bajos como 1.5. Además deben

ser capaces de sobrevivir en las concentraciones biliares usualmente encontradas en el intestino.

Tabla VII. Factores de estrés a los que están expuestas bacterias probióticas.

Durante su producción

Grandes concentraciones de los productos de la fermentación (ej. Ácido láctico en el medio de cultivo)

Congelación

Secado

Exposición al oxígeno

Presiones osmóticas (sales)

En el tracto gastrointestinal

Rehidratación en un ambiente ácido

Largos periodos de tiempo de exposición a la acidez del estómago

Compuestos antimicrobianos

Acidos biliares

Exposición al oxígeno

Adaptada de Siuta-Cruce y Goulet, 2001.

Oposición a las bacterias. Además de ácido láctico y acético, los organismos probióticos producen otros ácidos como el ácido cítrico y el hipúrico. Las bacterias ácido lácticas también producen peróxido de hidrógeno, diacetil y bacteriocina como sustancias antimicrobianas.

Estas sustancias inhibitorias crean ambientes hostiles para el desarrollo de patógenos y la contaminación por microorganismos.

<u>Propiedades de Adherencia</u>. Es uno de los criterios más importantes en la selección de bacterias probióticas. Los efectos deseados de los microorganismos probióticos solo se producen cuando son capaces de adherirse, colonizar y multiplicarse en el intestino.

Actividad Proteolítica. *L. acidophilus y las bificobaterias* crecen lentamente en la leche debido a que inhiben la actividad proteolítca. Si sólo se usan bacterias probióticas para la fermentación del yoghurt, el proceso puede durar hasta 24 horas, mientras que el uso de bacterias del yogurt puede reducir el tiempo a 4 horas (Dave y Shah, 1998). Como resultado, las bacterias del yogurt se están usando como cultivos de inicio y las bacterias probióticas se adicionan en conjunto como cultivos iniciales (Shah, 2001).

Otro factor importante es la dosis, o la concentración de células vivas que deben ser proporcionadas. Las velocidades a las que mueren las bacterias probióticas son del 90-99% de la concentración inicial por lo que se recomienda una ingesta de 1-10 billones de células vivas para asegurar que lleguen al tracto intestinal, por lo menos 100 millones (10⁸) (Siuta-Cruce y Goulet, 2001).

En la actualidad, se están probando nuevos métodos encaminados a reforzar la supervivencia de los probióticos como la encapsulación de células vivas para aumentar su vida útil, incrementar la resistencia al calor y mejorar la resistencia a ácidos. También se han usado recubrimientos protectores en los que se han usado materiales lipídicos como triacilgliceroles,

ceras y ésteres orgánicos (Siuta-Cruce y Goulet, 2001). Así podemos decir que un probiótico se puede considerar como útil si es capaz de satisfacer los siguientes criterios (Fuller 1991 y 1992 citado por Gibson y Roberfroid, 1995).

- a) El probiótico debe poder ser preparado de manera viable y a gran escala (fines industriales).
 - b) Durante su uso y su almacenamiento, el probiótico debe permanecer viable y estable.
 - c) Debe ser capaz de sobrevivir en el ecosistema intestinal
 - d) El animal huésped deberá obtener beneficios por dar cobijo al probiótico.

1.5 Características y propiedades de la Manzana

El nombre científico de la manzana es *Malus sylvestris*. El manzano se cultiva por sus frutos desde hace muchos siglos. La manzana ha sido llamada la "reina de las frutas" por todas las propiedades que se le atribuyen. Se cultiva en más partes del mundo que cualquier otra fruta. Ha sido cultivada desde los más remotos tiempos y hasta es mencionada en algunos de los más viejos libros de la Biblia. La manzana fue traída al Norte de América por los primeros colonizadores. Hacia 1800 John Chapman comenzó plantando manzanas en el Medio Oeste de E.U.A., siendo ahora éste uno de los principales productores de este fruto (Schneider y Scarborough, 1966).



Fig 2. Manzana var. Golden delicious

Los primeros cultivadores seleccionaron variedades mejores a partir de semillas de forma silvestre y las reprodujeron mediante injerto. Actualmente se obtienen muchas variedades por medio del cruce controlado de parentales escogidos. Donde mejor crece el manzano es en zonas en las que la temperatura es igual o inferior a cero grados centígrados durante al menos dos meses. Las necesidades de frío exactas dependen de la variedad, el árbol soporta hasta 40° C de temperatura (Hernández, 2001).

Las manzanas y otros frutos como las pera, durazno, cereza, fresa, entre otras, provienen de la misma familia, Rosaceae, o familia de las rosas. Cada fruta difiere una de la otra, en su estructura. Las Rosaceae están dividas en cuatro grupos, la Spiraeoideae, Pyroideae, Prunoideae y Rodoideae. Las últimas tres son las más importantes de los frutos comestibles. Las manzanas están colocadas en el grupo de Pyroideae (Guerrero, 1996). La manzana es rica en pectina, una fibra soluble que ayuda al cuerpo a eliminar el colesterol. Estudios en Francia, Italia e Irlanda han demostrado que dos manzanas al día pueden reducir en un 10% el nivel de colesterol, al mismo tiempo que la pectina ayuda a nuestro cuerpo a eliminar metales nocivos tales como el plomo y el mercurio.

La composición de las manzanas varía según su tipo de cultivo, región de crecimiento, clima, madurez y prácticas culturales (Lee & Mattick, 1989). La manzana está compuesta en su mayor parte por agua. Según la USDA reporta un valor promedio de 84% de agua de la parte comestible del fruto. Su contenido de proteína es de 0.2 g y de grasa de 0.6 por 100 g de fruta (Guerrero, 1996). Así mismo 100g de esta fruta aportan 58 calorías (Beryl, 1986). La mayor parte del peso de una manzana fresca es agua, al remanente se le considera materia seca o peso seco. Esta materia seca se compone principalmente de azúcares, ácidos, sorbitol, almidón, proteínas y materiales estructurales como celulosa, hemicelu losa y sustancias pépticas.

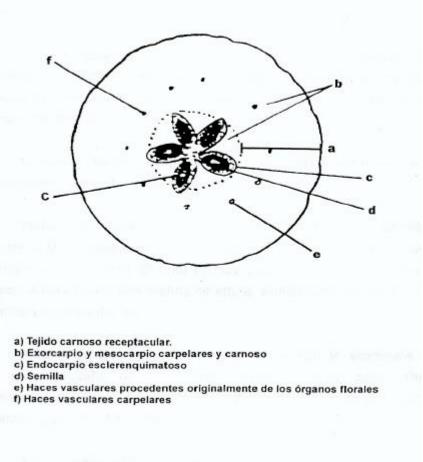
Las manzanas contienen ácido málico y tartárico, que son especialmente eficaces como ayuda en la digestión de alimentos ricos en grasas. La vitamina C que se encuentra en dicha fruta ayuda a reforzar el sistema inmunológico. El azúcar de las manzanas es en su mayoría fructosa, un azúcar simple que se descompone lentamente en el cuerpo y ayuda a mantener un nivel equilibrado de azúcar en la sangre.

En cuanto a su madurez presenta cambios de textura por el aumento en la cantidad de pectinas solubles, disminuye la acidez por el decremento del ácido málico (Kays, 1991). Al principio de la maduración, la pulpa tiene un aumento en el contenido de azúcares reductores, llega a un máximo y empieza a disminuir; al mismo tiempo el contenido de almidón decrece constantemente. Mientras que en la piel se presenta disminución en el contenido de clorofila y un incremento en el contenido de xantofilas (Leopold y Kriedemmann, 1975)

La manzana es un fruto carnoso. Se le clasifica como pomo, ya que la carne procede del receptáculo que rodea a un comportamiento coriáceo que contiene las semillas

(Duckworth,1996). Su estructura celular tiene espacios intercelulares formados por la unión de seis u ocho o más células empaquetadas. Esto se debe a que la región interna de las células es de forma elíptica y hay un mayor número de células, que en la zona cercana a la epidermis de la fruta. En este tipo de frutos el espacio intercelular tiende a ser más grande, sin embargo la longitud de estos depende de la variedad de la manzana (Reeve, 1953). En la figura 3 se muestra la estructura de la manzana.

Tomando en cuenta las características y composición de la manzana, se observa que es un vehículo favorable para la impregnación de probióticos y prebióticos en su estructura intracelular. Se puede utilizar la impregnación al vacío para la penetración de *Lactobacillus* sin afectar su estructura interna. En frutas, el producto obtenido por impregnación al vacío muestra mejores propiedades sensoriales que las obtenidas a presión atmosférica a la misma temperatura, además de una mayor estabilidad en las reacciones deteriorativas (oscurecimiento y oxidación). Las ventajas de usar el vacío en un proceso de deshidratación osmótico son múltiples, en donde encontramos una menor ganancia de azúcares, se conserva mejor el color y se mejora en algunos, conservación del sabor y aroma de producto fresco.



Adaptada de Delgado (2002).

Fig 3. Estructura de la manzana.

1.6 IMPREGNACIÓN AL VACIO

Las operaciones unitarias que implican sistemas sólido-líquidos son muy habituales en la industria de alimentos; como ejemplos podrían citarse las industrias de encurtidos, conservas, extracción de aceites, deshidratación osmótica, salado de quesos por inmersión, etc. La

impregnación juega un papel muy importante en la eficacia de estas operaciones (Guerrero,1996)

La impregnación al vacío involucra mecanismos de transporte que no son muy bien conocidos debido a que se acopla con otros mecanismos (Peppas y Brannom-Peppas, 1994). Sin embargo, se han encontrado muy buenos resultados cuando se aplica junto con la deshidratación osmótica para la obtención de frutas deshidratadas osmóticamente y productos mínimamente procesados (Mata, 1992). Las principales ventajas que ofrece el trabajar en condiciones de vacío son:

- a) Cinéticas de deshidratación (pérdida de agua) mucho más rápidas
- b) Menor ganancia de azúcares
- c) Mejor conservación de color y mejora del mismo en algunos productos.
- d) Conservación del sabor y aroma del producto fresco

El principal obstáculo es el alto costo del equipo, pero el efecto más importante del mecanismo hidrodinámico es muy rápido y ocurre justo cuando el sistema es colocado de nuevo a presión atmosférica. La impregnación de un material poroso está influenciado por:

- a) La estructura del tejido (forma y distribución del tamaño de los poros).
- b) Velocidad de transporte por el mecanismo hidrodinámico (HDM), que está en función de la estructura (tamaño y forma de los poros).
- c) Tamaño y forma de la muestra (Fito, 1994, citado por Guerrero).

Recientes investigaciones sobre la aplicación de la impregnación al vacío se dirigen a la obtención de productos mínimamente procesados (Consuegra, 1995) e incluso en procesos de

crio-protección (Fito,1990, citado por Guerrero, 1996). La crio-estabilización es una forma de proteger a los productos almacenados durante largos periodos de tiempo a temperaturas de congelación, de cambios de textura, estructura y composición química. En este tipo de procesos, la impregnación a vacío podría constituir una mejora para la introducción de sustancias crioprotectoras en la matriz sólida de los alimentos porosos.

1.6.1 Relación entre la microestructura y los fenómenos de transferencia de masa

La mayoría de los alimentos sólidos son porosos. La porosidad es una propiedad de los alimentos para poder utilizar su estructura como vehículo de componentes que regularmente no contienen o están en baja concentración (Gilibert, 2002). La estructura porosa del alimento juega un papel fundamental en la transferencia de masa que se lleva acabo en procesos a vacío en alimentos porosos (Fito, 1994). La presencia de poros en los alimentos se debe a la separación de las células a lo largo de la lamela media, resultando en la formación de espacios intercelulares rellenos de aire, donde pueden ir desde 1% (papa) hasta más del 25% (manzana) del volumen total del tejido parenquimal (Duckworth, 1979)

Es sabido que para algunos de estos alimentos, el modo y la velocidad de transferencia de masa cambia durante los procesos térmicos; esto es debido a que ocurren cambios estructurales, normalmente cambios geométricos: abultamiento y contracción. La membrana y la pared celular al ser unidades biológicas vivas, puede encogerse o estirarse bajo la influencia del crecimiento o de la turgencia generada dentro de la célula (Bolin, 1983) y por ello se pueden modificar por efecto de la temperatura o de la presión, aspecto que facilita la entrada de soluto por difusión (Levi y col., 1983). Por esta razón, resulta a menudo difícil determinar valores

individuales de parámetros tales como el coeficiente de difusividad en este tipo de materiales (Hallstron, 1992 citado por Guerrero, 1996).

La impregnación al vacío es un nuevo método de deshidratación osmótica que toma como ventaja la microestructura porosa de los alimentos permitiendo la ocurrencia de un fenómeno específico de transferencia de masa llamada mecanismo hidrodinámico (Fito y Chiralt, 1995). El mecanismo hidrodinámico se presenta cuando se sumergen estructuras porosas en líquidos bajo condiciones de vacío. Este mecanismo describe la transferencia de masa entre la parte interna de los poros y la fase líquida externa, como resultado de las diferencias de presión actuando como fuerzas impulsoras controladas por la compresión o expansión del gas ocluido en los poros de la estructura (Andres y Fito citados por Hernández, 2001).

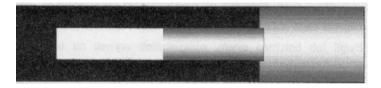
La rapidez en la cinética de transferencia de masa se debe al mecanismo hidrodinámico y al correspondiente incremento producido en el área interfacial sólido-líquido cuando los poros del alimento llegan a ser ocupados por la solución osmótica. Por lo tanto es importante considerar a la estructura porosa de la fruta. La determinación de la porosidad ayuda a determinar el volumen de aire que en la fruta se encuentra. Para entender mejor este efecto se explicara a continuación en la figura 4.



Etapa 1. Inicio de penetración de la solución en el poro de la fruta, por capilaridad



Etapa 2. Comienza la salida del aire ocluido en el poro (P < P atmosférica) al aplicar vacío en la fruta



Etapa 3. Entra la solución al poro sin aire solo por capilaridad (P < P atmosférica)



Etapa 3. La capilaridad y la presión externa impulsan a que exista una penetración en gran cantidad de la solución al poro (P= P atmosférica)



Fig 4. Representación gráfica del mecanismo de impregnación al vacío. Adaptado por Youshimatz, 2001

Etapa 1: El sólido se encuentra sumergido en el líquido a presión atmosférica, la penetración de la solución en los poros es pequeña, de tal forma que los poros pequeños succionan la solución osmótica.

<u>Etapa 2</u>: La presión del sistema se lleva hasta un valor pequeño, donde producirá una expansión del gas existente en los poros provocando que se escape de la fruta y por último de la solución osmótica, a veces puede arrastrar líquido de la misma fruta. El gas deja de salir cuando la presión interna del poro es igual a la presión externa.

Etapa 3: El sistema se mantiene a la presión de trabajo por un tiempo determinado. En este instante se lleva a cabo el mecanismo hidrodinámico, que actúa como consecuencia del gradiente de presiones entre la presión interna del gas ocluido en los poros y la presión del sistema, provocando que los espacios intercelulares se llenen parcialmente de líquido. Esta impregnación dependerá de la cantidad de gas que salga del alimento poroso que está en función de la presión de trabajo

Etapa 4: Al restaurar la presión atmosférica se genera un potencial de presión en el poro y permite la entrada rápida de la solución a los poros. En este instante el mecanismo hidrodinámico se presenta, pero como resultado del efecto de la diferencia entre la presión interna y externa. Esto significa que en el equilibrio a un tiempo determinado, cierta cantidad del líquido es transportado dentro del alimento, efectuando un aumento de peso.

Se ha encontrado que en frutas (Tabla VIII) según la teoría del fenómeno hidrodinámico, entre mayor es la porosidad del alimento, mayor será la transferencia de masa al usar vacío

(Fito, et al, 1996). Así mismo, el vacío significativamente incrementa la pérdida de agua comparada con la presión atmosférica, mientras que, la ganancia de sólidos no parece afectarse con la presión del sistema, de tal forma que las propiedades sensoriales no se ven afectadas por la alta concentración de azúcares. Se ha visto que el uso del vacío no influye en la velocidad de ganancia de azúcares (Mata, 1992).

Tabla VIII Representación de porosidad efectiva en algunos frutos.

Fruto	Porosidad efectiva	Fuente bibliografica
Manzana	33.6	(Mujica, et al, 2001)
Champiñón	32	(Fito, el al, 1994)
Plátano	8	(Cito, el al, 1994)
Melón	7.07	(Mujica, et al, 2001)
Fresa	6	(Fito, el al, 1994)
Papaya	4.2	(Mujica, et al, 2001)
Durazno	1.84	(Mujica, et al, 2001)
Mamey	1.62	(Mujica, et al, 2001)
Mango	1.61	(Mujica, et al, 2001)

Obtenido de Youshimatz, 2001

Los cambios de composición y estructura que experimentan los alimentos como consecuencia del proceso de impregnación al vacío son importantes y afectan las propiedades físico-químicas del producto y por tanto a sus atributos de calidad y estabilidad. (Fito, 1994). Este mecanismo hidrodinámico es muy interesante para procesos como rehidratación, impregnación, deshidratación osmótica y algunos otros. El conocimiento de la porosidad de las frutas puede utilizarse como un indicador de la posibilidad de someter a las frutas a la deshidratación osmótica al vacío (Andrés y Fito, 1992) y determinar que cantidad de líquido puede impregnarse en su interior.

La impregnación al vacío es una herramienta muy útil como proceso previo a la utilización de otros mecanismos de conservación. Un proceso mínimo de conservación es la deshidratación del producto con el cual las principales características fisicoquímicas de la fruta se conservan durante un tiempo prolongado.

1.7 SECADO

1.7.1 Generalidades de secado

La deshidratación es una técnica de conservación de alimentos que se basa en la eliminación de agua de los mismos para darles estabilidad microbiana, reducir las reacciones químicas deteriorativas y reducir los costos de almacenamiento y transporte (Welti, 2001)

Los procesos de deshidratación se pueden dividir en:

- 1.- Concentración: Es un proceso en el cual la materia prima normalmente es un líquido, y el contenido final de agua es de 30%
- 2.- Secado: En donde el contenido de agua es reducido a menos de 10% y el producto inicial pueden ser placas o menos rígidas, gotas o partículas de cualquier forma.

Los tipos de secado se pueden clasificar con base al procedimiento por el cual se elimina el agua. En general son tres los procedimientos:

- a) Aquellos en los que el agua se elimina por evaporación
- b) Aquellos en los que el agua se elimina por sublimación
- c) Aquellos en donde se elimina el agua por medios mecánicos

Si la eliminación del agua se lleva a cabo por evaporación pueden usarse dos técnicas diferentes:

- 1.- Contacto con aire caliente y/ o de humidificación (túnel, spray, lecho fluidizado o estático)
- 2.- Contacto con superficies calientes (rodillos, tambor)

El secado es tradicionalmente definido como una operación unitaria mediante la cual se convierte un alimento, líquido, sólido o semisólido en un producto sólido que tiene un contenido de humedad significativamente bajo (Castañeda, 1998). El secado de productos se lleva a cabo con el objetivo de incrementar su estabilidad y disminuir los costos de transporte, manejo y almacenamiento por reducción de volumen y/o peso; además las frutas deshidratadas correctamente, que logran una humedad final menor al 5%, tienen una mayor disponibilidad aún cuando no están en temporada y se obtienen tamaños y formas determinadas (Woodroof y Lu, 1975)

Generalmente la fruta debe ser preparada para la deshidratación mediante operaciones como lavado, pelado, cortado, sulfitado y/o escaldado. Las operaciones empleadas dependen del tipo de fruta que se va a trabajar. Las frutas a deshidratar deben cumplir ciertas especificaciones comunes como la madurez y la calidad inicial de la fruta (Belseira, 1992).

1.7.2 Liofilización

En años recientes la liofilización ha alcanzado un desarrollo muy notable. La liofilización puede emplearse para deshidratar alimentos líquidos sensibles y costosos, como el café y los jugos, pero más comúnmente se usa para secar alimentos sólidos costosos como fresas, camarones enteros, champiñones rebanados, entre otros (Potter, 1978).

La liofilización es un proceso de estabilización en donde una sustancia o alimento se congela y luego, la cantidad de solvente (generalmente agua) se reduce, primero por sublimación (proceso de secado primario) y luego por desorción (proceso de secado secundario) hasta valores que no permitan la actividad biológica (Goldbith, 1975). Este proceso es explicado en la figura 5.

Si se lleva a cabo un adecuado control del proceso, la mayoría de los productos pueden mantenerse estables casi por un periodo de tiempo ilimitado, al mismo tiempo que se conservan sus propiedades físicas, químicas, biológicas y organolépticas iniciales (Goldbith, 1975).

La sublimación del agua solo puede llevarse a cabo cuando la presión de vapor y la temperatura en la superficie del hielo en la cual se llevaba a cabo la sublimación son muy cercanas al punto triple (Goldbith, 1975), como se observa en la figura 6.

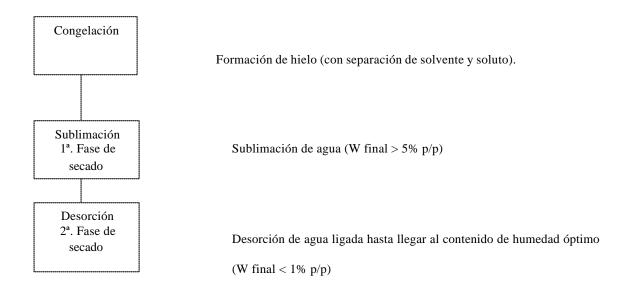


Fig 5. Diagrama de flujo del proceso de liofilización (Delgado, 2002)

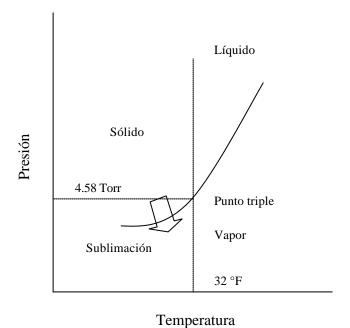


Fig. 6 Diagrama de fases del agua y representación del proceso de sublimación (Goldbith,1975).

Este proceso tiene ciertas ventajas y desventajas (Troller, 1978)

Ventajas: a) No hay encogimiento

- b) Importante retención de aromas y nutrientes.
- c) Excelente calidad organoléptica (color, sabor)
- d) Alta velocidad de rehidratación

Desventajas: a) Alto costo por unidad de masa de H₂O removida

- b) Susceptibilidad a la oxidación
- c) Pérdida de jugosidad de tejidos animales
- d) Colapso
- e) Fragilidad del alimento deshidratado

1.7.2.1 Costos de la Liofilización

Los costos del proceso de liofilización son 2 a 5 veces mayores que el de los de otros métodos de deshidratación, por lo que se emplea sólo en alimentos caros y delicados: fresas, camarones, champiñones rebanados, espárragos y, en ocasiones, chuletas y bistecs. Estos alimentos, además de colores y sabores delicados, tienen atributos de textura y apariencia que no pueden conservarse con los métodos convencionales de secado por calor (Ramírez, 2002).

1.7.3 Secado con aire caliente

Un factor importante a considerar en este tipo de secado es la apariencia del material que depende de las velocidades del secado. Si el secado es lento, se llevará mucho tiempo el proceso de secado teniendo un gasto energético muy alto. Si el secado es muy rápido, la superficie de la fruta se secará más pronto que el centro provocando quemaduras de ésta o una separación indeseable de la membrana exterior del resto de la fruta Martínez, 2000). El oscurecimiento o daño por calor es considerado como un defecto de calidad y es uno de los factores más importantes para tomar en cuenta y está relacionado con la temperatura de secado. El oscurecimiento es resultado de diferentes reacciones químicas. Dos de los factores que influyen en el oscurecimiento es la combinación de temperatura, tiempo y la cantidad de humedad que hay en el producto (Martínez, 2000).

Durante el secado existe migración de los constituyentes solubles. Conforme se realiza el proceso de secado el movimiento de agua con componentes como azúcares se lleva a cabo del centro a la superficie de la fruta dependiendo de la permeabilidad de las membranas del producto, el agua se evapora y los compuestos quedan en la superficie. Existen otros componentes que son las moléculas pequeñas y en lugar de tener un movimiento hacia la superficie, tienen un movimiento hacia el centro. Ambos movimientos son simultáneos al momento de llevarse a cabo el proceso de secado. Al evaporarse el agua también existe una pérdida de los componentes volátiles principalmente de sabor y aroma (Martínez, 2000)

Durante el secado con aire caliente existen además otros factores físicos como la pérdida de densidad, la alteración de forma, tamaño y porosidad, cristalización, cambio en

solubilidad, rehidratación disminuida; químicos como la pérdida de actividad química y la descomposición de algunos constituyentes químicos y bioquímicos como la degradación de estructuras celulares y biomoléculas, oxidación de lípidos y desnaturalización de proteínas (Baker, 1997)

El secado tiene su representación gráfica conocida como la curva de secado. La curva de secado se obtiene graficando el contenido de humedad del producto durante el proceso de secado en el que la muestra húmeda es expuesta a una corriente de aire caliente. La temperatura, velocidad y dirección del flujo de aire se mantienen constantes. La curva de secado también puede representarse como una curva de velocidad de secado contra humedad. En este tipo de curva se pueden definir bien los tres periodos en los que se divide el proceso de secado:

- a) Periodo de calentamiento (No se toma mucho en cuenta para el análisis del proceso ya que es muy corto el tiempo y es donde ocurre únicamente el calentamiento del material.)
- b) Periodo de secado a velocidad constante
- c) Velocidad decreciente (Balseira, 1992)

Durante el periodo a velocidad constante, el cual no se encuentra en todos los productos, está basado principalmente en la evaporación de agua del alimento. El agua se encuentra disponible para ser evaporada fácilmente por lo que en este periodo los factores que influyen son la temperatura, la humedad relativa, la humedad inicial del producto, la superficie del producto a secar y el flujo del aire (Woodroof y Luh, 1975). En este periodo la velocidad de secado es alta y el contenido de agua en las moléculas se considera constante ya que la velocidad a la cual las moléculas de agua llegan a la superficie desde el interior del alimento,

es mayor o igual que la velocidad a la cual se evapora desde la superficie hacia el aire de secado. Todo el calor suministrado es utilizado para evaporar agua por lo que la temperatura también se mantiene constante (Kosegarten, 1998, citado por Astorga, 2002).

El periodo a velocidad decreciente empieza en el momento que el agua superficial ha sido en su mayoría removida y el agua interna tiene que difundir del interior del alimento a la superficie volviéndose este periodo más lento. Este periodo es importante tomar en cuenta la resistencia interna del alimento a la transferencia de masa. Esta etapa puede ser de uno o más periodos, dependiendo del alimento y es la etapa más importante durante el proceso de secado. En esta etapa es donde se presenta una resistencia interna del alimento por lo que es importante la estructura interna del material a secar. El punto donde comienza esta etapa se conoce como humedad crítica (Woodroof y Luh, 1975).