

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**



**Enzimas vegetales proteasas, aplicadas para el ablandamiento de carne (bromelina ficina, y papaína).**

**Por:  
ISMAEL EDEN JIMÉNEZ CRUZ**

**MONOGRAFÍA  
Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Título de:**

**Ingeniero en Ciencia y Tecnología en Alimentos**

**Buenvista, Saltillo, Coahuila, México Diciembre de 2009**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**Enzimas vegetales proteasas, aplicadas para el ablandamiento  
de carne (bromelina ficina, y papaína).**

**Por:  
ISMAEL EDEN JIMÉNEZ CRUZ**

**Que somete a consideración del H. jurado Examinador como  
Requisito parcial para obtener el título de**

**Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

  
**Lic. Laura Olivia Fuentes Lara  
Asesor Principal**

  
**Dra. Ana V. Charles Rodríguez  
Vocal**

  
**Dr. Antonio F. Aguilera Carbó  
Vocal**  
Universidad Autónoma Agraria  
"ANTONIO NARRO"

  
**Ing. José Rodolfo Peña Oranday  
Coordinador de la División de Ciencia Animal**



**COORDINACION DE  
CIENCIA ANIMAL**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Diciembre de 2009**

## DEDICATORIAS

### A MI MADRE

Marcelina Cruz Clavel

*A quien le debo todo lo que soy, por haberme dado la vida y darme la oportunidad de formarme como profesionalista, por el apoyo tanto moral como económico, por su incomparable amor y comprensión ni hay palabras para terminar de agradecerle solo le digo que la quiero infinitamente.*

*A MIS FAMILIARES: por estar conmigo en los buenos y malos momentos, por apoyarme incondicionalmente y darme su cariño: A mi hermana Miriam, A mi abuela la Sra. Julia Clavel S. A mis tías Divina y Rosa Clavel, A mis primos Carlos Joaquín, Luis Alberto, Lupita, Iván y Gilberto.*

*A MIS MEJORES AMIGOS: con quienes pase los mejores momentos en el transcurso de mi carrera, les deseo un éxito rotundo en sus vidas, Jesús Budar Calderón, Benjamín Serrano P. Roberto A. Velasco, Jorge Silva, Carlos Viruel, en especial al Ing. Julio Cesar Arellanes Oliveros.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios: por haberme regalado la existencia y darme las fuerzas necesarias para ver realizado uno de mis mas grandes anhelos, el poder tener una carrera, y que aunque hay momentos difíciles siempre nos das la luz en la oscuridad para salir adelante.*

*A La “UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO”: por haberme recibido en sus instalaciones y darme la oportunidad de lograr uno mis objetivos.*

*AL DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y ALIMENTOS: Porque es un enorme orgullo haber pertenecido durante mi carrera y al que agradezco por todo su apoyo brindado.*

*A La LIC. LAURA O. FUENTES LARA: por su confianza y amistad, pero sobre todo por su paciencia y colaboración en la realización de este trabajo.*

*A La Dra. ANA V. CHARLES RODRIGUEZ: Por su confianza, pero sobre todo por al apoyo, el tiempo y los conocimientos que me brindo para la elaboración y revisión de este trabajo.*

*AL Dr. ANTONIO F AGUILERA CARBO: por apoyarme en la revisión, corrección y sugerencias para poder realizar este trabajo.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>II</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO .....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS .....</b>	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>VII</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>OBJETIVO .....</b>	<b>5</b>
1. INDUSTRIA DE LA CARNE EN MÉXICO .....	6
1.1 Producción nacional de carne .....	6
1.2 Composición de la carne .....	7
1.2.1 Agua .....	8
1.2.2 Grasa .....	8
1.2.3 Proteínas .....	9
1.2.3.1 Proteínas sarcoplasmicas .....	9
1.2.3.2 Proteínas miofibrilares.....	10
1.2.3.3 Proteínas Insolubles.....	11
1.2.4 Carbohidratos.....	11
1.2.5 Vitaminas.....	11
1.2.6 Minerales.....	12
1.3 Unidad de medida de las enzimas proteolíticas .....	13
2. GENERALIDADES DE LAS ENZIMAS.....	13

2.1 Clasificación .....	14
2.2 Nomenclatura .....	14
3. MADURACIÓN DE LA CARNE .....	15
3.1 Cambios químicos .....	16
3.1.1 Compuestos fosforilados ricos en energía .....	16
3.1.2 Glicólisis .....	16
3.1.3 Ácido láctico .....	17
3.1.4 La contracción muscular y su importancia en la maduración de la carne .....	20
3.2 Influencia de las modificaciones del rigor mortis y la maduración en las propiedades de la carne .....	25
3.2.1 Acortamiento por el frío .....	25
3.2.2 El rigor de la descongelación .....	26
3.2.3 Carne de vacuno oscura al corte .....	27
3.2.4 Carne pálida, blanda y exudativa (PSE) y oscura, firme y seca (DFD) de cerdo .....	27
3.2.4 La acción enzimática sobre el músculo después de la muerte del animal y su importancia en la maduración de la carne .....	28
4. Uso de Ablandadores en Carne .....	35
4.1 Mecanismos de acción de las enzimas proteolíticas .....	36
4.2 Aplicación de las enzimas proteolíticas .....	36
4.3 Problemas de aplicación de las enzimas proteolíticas .....	37
5. ENZIMA PAPAÍNA .....	37
5.1. Características de la enzima papaína .....	37
5.1.2 Aplicaciones de la papaína en la industria .....	38
5.2 Actividad enzimática de la papaína sobre las carnes .....	39
5.3 Obtención de la papaína .....	39
5.3.1 Descripción del proceso de obtención de la papaína. ....	39
6 ENZIMA BROMELINA.....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
6.1 Característica de la enzima bromelina .....	<b>¡Error! Marcador no</b>

**definido.**

6.2 Aplicación de la bromelina en la industria.....	41
6.3 Bromelina de fruto .....	42
6.4 Bromelina de tallos .....	42
6.5 Hidrólisis de carne de ave y vacuno por bromelina .....	42
6.6 Producción de la bromelina .....	43
6.6.1 Descripción del proceso de obtención de bromelina.....	43
6.7 La degradación específica de la miosina en la carne por bromelina y su comparación con la actividad de la papaína.....	45
7. ENZIMA FICINA.....	51
7.1 Características de la ficina .....	51
8. NOMBRE COMERCIAL DE ENZIMAS UTILIZADAS PARA EL ABLANDAMIENTO DE CARNES.....	52
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>54</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>55</b>
CITAS INTERNET .....	57

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1 Efecto de diversas enzimas en algunas proteínas de la carne. ....	4
Cuadro 1.2 Composición química aproximada de la carne (%) .....	8
Cuadro 1.3 Principales proteínas miofibrilares del musculo esquelético .....	10
Cuadro 1.4 Composición en aminoácidos de las proteínas musculares.....	12
Cuadro 1.5 Enzimas utilizados en la industria alimentaria.....	35
Cuadro 1.6 Efecto del tratamiento de Bromelaina en la cantidad de proteína. Extraído de carne secada por congelamiento antes y después del tratamiento térmico. ....	49



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Valores de ph en carne normal PSE y DFD.....	19
Figura 2 Esquemas: A) de la estructura de una fibra muscular, B) de la miofibrilla y C) del sarcómero. ....	22
Figura 3 Modificación de la extensibilidad muscular a lo largo del periodo post-mortem.....	23
Figura 4 Descenso de la concentración de ATP muscular a lo largo de los fenómenos post.mortem. ....	24
Figura 5 Efecto de la temperatura muscular en el descenso del ph. ....	26
Figura 6 Proceso de obtención de la papaína.....	40
Figura 7 Densitograma SDS.PAGE correspondiente a los perfiles de la extracción de proteínas con Urea 6 Molar, 2% de la solución SDS para el tratamiento de carne con papaína y bromelina a 24°C de 0-60 minutos. La actina y miosina fue designada cadena pesada por A y M, respectivamente. ....	48

## RESUMEN

El presente trabajo es una investigación de tipo documental, el cual tiene como objetivo conocer sobre las características, obtención y aplicación de las enzimas vegetales de tipo proteasas aplicadas para el ablandamiento de carnes como en su caso específico son: bromelina, ficina y papaína.

La producción de carne en México en canal de ganado bovino en 2001 fue de 1.44 millones de toneladas que representa aproximadamente el 32 % del total de carne producida en el país. La composición de la carne o sus derivados depende de la especie animal de procedencia, cantidad de grasa del animal, corte o pieza específica, grado de división o corte, curado y/o tratamiento de procesado y está representado de acuerdo a su porcentaje contenido como agua (65-80 %), proteína (16-22 %), grasa (3-13 %) y cenizas, aunque también posee pequeñas cantidades de otras sustancias, como las nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, creatinina), carbohidratos, ácido láctico, minerales y vitaminas.

La transformación del músculo en carne, se realizan por sucesos químicos que ocurren en el animal en vivo y las alteraciones que sufre este sistema tras el sacrificio. Actuando las enzimas naturales que se encuentran en la carne; como calpainas y catepsinas que por procesos naturales realizan un ablandamiento de la carne mediante cambios químicos que surgen en el proceso *post mortem*.

El ablandamiento de la carne tiene sus inicios muy remotos con técnicas que al principio se dieron envolviendo la carne en hojas de plantas, el golpeo de

la carne y recientemente el uso de enzimas como la papaína que se obtiene de las ciertas partes de la papaya, la ficina obtenida del higo y la bromelina que se extrae de las partes de la piña; ya que poseen una capacidad hidrolítica que permiten degradar las proteínas miofibrilares del músculo.

La papaína es una enzima proteolítica que se extrae de la papaya (*Carica papaya*), se activa entre pH 5 y 9 siendo estable a una temperatura de 80 a 90°C constituida por 212 aminoácidos y que degrada actina y miosina. Utilizada en la industria de la carne, de la cerveza y la cosmética.

La bromelaina enzima obtenida de la piña (*Ananás comosus*) activa a un pH de 5 a 9 y su inactivación se da a 70 °C actúa sobre la actomiosina siendo eficaz sobre la miosina.

La ficina una enzima proteolítica del higo *Ficus (Moraceae)*, con condiciones óptimas de pH 6.5, con peso molecular de 26,000 Da y punto isoelectrico de 9.

La cual en conclusión la enzima bromelaina tiene una mejor especificidad sobre la proteína miosina dando así una óptima textura en la carne que las otras enzimas vegetales proteasas como son papaína y ficina.

**PALABRAS CLAVE:** Papaína, Bromelina, Ficina, Ablandamiento de carnes, Enzimas vegetales.

## INTRODUCCIÓN

La práctica del almacenamiento de la carne después de la muerte del animal para mejorar la textura ha sido llevada a cabo desde hace siglos, ya que se tienen reportes de que los aztecas cubrían la carne con hojas de papaya durante su cocimiento, con el fin de ablandarla. Más no fue sino hasta el siglo XX cuando el mecanismo de ablandamiento fue conocido. Más tarde, la proteólisis de las proteínas musculares fue propuesta como un mecanismo primario en la maduración de la carne. (<http://biotecnologiad sobremesa.blogspot.com/2009/05/enzimas-para-la-terneza-y-madurez-de-la.html>).

Para reducir la dureza de la carne, se ha recurrido a métodos mecánicos con los que se pretende golpear la carne. También se puede ablandar la carne sometiéndola a presiones y temperaturas elevadas (Ordoñez *et al.*, 1998).

Por otra parte, se ha recurrido de manera más eficaz a métodos enzimáticos. Con ello, se utilizaban enzimas proteolíticas que, con posterioridad, se han descubierto en ciertas plantas (papaína, bromelaina, ficina). Esta actividad proteolítica, que también se ha encontrado en diversos hongos y bacterias, se ha empleado comercialmente en el ablandamiento de la carne. El cuadro 1 se muestra algunas de las enzimas utilizadas con este objetivo.

En un principio, se sumergía la carne en soluciones de estas enzimas. Este procedimiento no resultó adecuado debido a que la superficie de las

porciones cárnicas se ablandaba en exceso, la textura se perdía y a veces se adquirían sabores anómalos, mientras que el interior de las piezas mantenía la dureza original. La rehidratación de porciones deshidratadas en soluciones muy diluidas de enzimas proteolíticas dio buenos resultados. Para conseguir una distribución más uniforme de las soluciones enzimáticas se recurrió a su inyección múltiple en la carne y a bombearlas a través de los vasos sanguíneos de las porciones cárnicas. Las enzimas proteolíticas de origen bacteriano y no fúngico utilizadas digieren, en primer lugar, el sarcolema y seguidamente causan la desaparición de los núcleos que degradan las miofibrillas provocando, a veces, la desaparición de las estriaciones transversales. Las enzimas de origen vegetal, sin embargo, actúan con mayor preferencia sobre las fibras del tejido conectivo (Ordoñez *et al.*, 1998).

**Cuadro 1.1 Efecto de diversas enzimas en algunas proteínas de la carne.**

Tipo de enzimas	Intensidad del efecto		
	Actomiosina	Colágeno	Elastina
<b>Bacterianas y fúngicas</b>			
Proteasa 15	+++	-	-
Rhozyma	++	-	-
Amilasa fungica	+++	Vestigial	-
Hidrolasa D	+++	Vestigial	-
<b>Vegetales</b>			
Ficina (higo)	+++	+++	++++
Papaína (papaya)	++	+	++
Bromelaina (piña)	Vestigial	+++	+

++++ muy intenso

+++ intenso

++ medianamente intenso

+ ligero

-Sin efecto aparente

FUENTE: Ordoñez *et al.*, 1998

## **OBJETIVO**

Recopilar, analizar y sistematizar información sobre las características, obtención y aplicación de las enzimas de origen vegetal (papaína, bromelina y ficina) utilizadas para el ablandamiento de carnes.

## **1. Industria de la carne en México**

La ganadería bovina para la producción de carne es de gran importancia socioeconómica para el país. El inventario nacional en el 2001 fue de 28.4 millones de cabezas con una producción en pie de 2.75 millones de toneladas (SAGARPA, 2003). De acuerdo con la misma fuente la carne en canal de ganado bovino producida por el mismo año fue de 1.44 millones de toneladas que representa aproximadamente el 32 % del total de carne producida en el país. De la década de los ochentas hasta mediados de los noventas la carne de bovino represento la mayor proporción de la carne producida, aportando aproximadamente el 42 % del total nacional.

En términos generales, la totalidad de la producción nacional se destina al abasto interno, para un mercado demandante de cortes populares tipo español. Además, existe un segmento limitado de consumidores exclusivos (que adquieren un volumen menor de cárnicos de alto valor económico) y que son demandantes de productos cuya especificidad no siempre puede cubrirse con la producción nacional, por lo que frecuentemente se complementa con productos de EUA.

### **1.1 Producción nacional de carne**

Las condiciones bajo las que se desarrolla la ganadería mexicana son extensivas, aunque existe la finalización en corral de engorda, esta se realiza de manera limitada por los altos costos de alimentación.

Aproximadamente el 35 % de la producción nacional de carne de bovino procede de corrales de engorda (SAGARPA, 2003).

La mayoría del ganado producido en México se finaliza en pastoreo. Como resultado de las condiciones económicas, muchos ganaderos y engordadores no pueden adquirir ingredientes importados. La modernización e implantación de tecnologías de producción modernas es limitada.

Aproximadamente el 60 % de la carne producida en el país se comercializa en forma de canal caliente, lo que afecta la calidad y la inocuidad para consumidor (SAGARPA, 2003).

## **1.2 Composición de la carne**

La composición de la carne o sus derivados depende de la especie animal de procedencia, cantidad de grasa del animal, corte o pieza específica, grado de división o corte, curado y/o tratamiento de procesado (Ordoñez *et al*; 1994).

Los componentes mayoritarios de la carne son agua (65-80 %), proteína (16-22%), grasa (3-13 %) y cenizas, aunque también posee pequeñas cantidades de otras sustancias, como las nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, creatinina), carbohidratos, ácido láctico, minerales y vitaminas (Cuadro 1.2).



Cuadro 1.2 Composición química aproximada de la carne (%)

Animal	Pieza	Agua	Proteína	Grasa	Ceniza
Cerdo					
	Paleta	74.9	19.5	4.7	1.1
	Chuleta*	54.5	15.2	29.4	0.8
	Jamón	75	20.2	3.6	1.1
	Panceta	40	11.2	48.2	0.6
Vacuno					
	Pierna	76.4	21.8	0.7	1.2
	Lomo*	74.6	22	2.2	1.2
Pollo					
	Muslo	73.3	20	5.5	1.2
	Pechuga	74.4	23.3	1.2	1.1

\*Con tejido adiposo adyacente  
Fuente: (Ordoñez et al, 1994).

### 1.2.1 Agua

En el aspecto cuantitativo es el componente más importante de la carne, la carne roja magra contiene alrededor de 65-80% de agua. Al ser tan abundante, el agua influye profundamente en la calidad de la carne, afectando en primer término a su jugosidad, pero también a la suavidad, color y sabor. Puesto que el agua es el medio universal de las reacciones biológicas, su presencia influye poderosamente en los cambios que ocurren en la carne durante la refrigeración, almacenamiento y procesado (Ordoñez *et al*; 1994).

### 1.2.2 Grasa

La grasa se acumula principalmente en cuatro depósitos: cavidad corporal,

zona subcutánea y la localizada inter- e intramuscularmente.

Cada uno de estos depósitos juega un continuo e importante papel en el metabolismo energético. La grasa animal está compuesta por distintos tipos de lípidos, aunque predominan los lípidos neutros que se localizan, en forma de triglicéridos.

Los principales ácidos grasos saturados de la carne son de mayor a menor concentración, palmítico, esteárico y mirístico. El ácido oleico es el monoinsaturado más abundante, seguido del palmitoleico. Los ácidos linoléico, linolénico y araquidónico son los principales ácidos grasos poliinsaturados. Los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados presentan habitualmente configuración *cis*, aunque la forma *trans* también se ha descrito pero es mucho más rara. Los ácidos grasos saturados y monoinsaturados son mayoritarios en los triglicéridos de la grasa de la carne (Ordoñez *et al*, 1994).

### 1.2.3 Proteínas

La mayor parte de las sustancias nitrogenadas de la carne están constituidas por las proteínas que son de los componentes más abundantes de la carne, pudiéndose clasificar en tres grandes grupos: proteínas sarcoplásmicas, miofibrilares e insolubles.

#### 1.2.3.1 Proteínas sarcoplasmicas

Son solubles en agua de poca fuerza iónica, representa del 30-35 % del total de las proteínas. A este grupo pertenecen dos tipos principales de proteínas el primero compuesto de enzimas y el segundo de sustancias que participan en el color de la carne, como la mioglobina y pequeñas cantidades de hemoglobina (Ordoñez *et al*, 1994).

### 1.2.3.2 Proteínas miofibrilares

Son las más abundantes, constituyendo el 65-75 % del total de las proteínas musculares. En este grupo se incluyen un gran número de proteínas asociados con filamentos gruesos y delgados del tejido muscular, fundamentalmente actina y miosina, que cuando están asociadas se encuentran como actomiosina; en menor cuantía se encuentran tropomiosina, troponina, actininas y proteínas C y M (Cuadro 1.3). Las cuales son insolubles en agua.

Cuadro 1.3. Principales proteínas miofibrilares del musculo esquelético

Proteína	Masa molecular (kDa)	% (p/p)	Localización
<b>FILAMENTOS GRUESOS</b>			
Miosina	480	43	Banda A
Proteína C	135	2	Banda A
Miomesina	165	2	Banda A
Proteína F	121	<1	Banda A
Proteína I	50	<1	Banda A
Proteína X	152	<1	Banda A
<b>FILAMENTOS DELGADOS</b>			
Actina	43	22	Banda I
Troponina (C, I, T)	70	5	Banda I
Tropomiosina (a, b)	70	5	Banda I
β-actinina	35+32	<1	Final de la actina
γ-actinina	35	<1	Banda I
Nebulina	800	4	Banda I
Vinculina	130	<1	Una banda I con sarcolema
<b>FILAMENTOS INTERMEDIOS</b>			
Desmina	53	1	Periferia de miofibrillas y entre líneas Z
Vimentina	55	1	
<b>FILAMENTOS ELASTICOS</b>			
Titina	1000	10	Unión línea Z y M
<b>DISCO Z</b>			
α-actinina	95	2	Línea Z
Eu-actinina	43	<1	Línea Z
Proteína Z	50	<1	Línea Z
Filamina	250	<1	Línea Z

*Fuente: Ordoñez et al., 1998*

### 1.2.3.3 Proteínas Insolubles

Son totalmente insolubles en agua constituyen las fibras extracelulares de colágeno, elastina y reticulina que forman las membranas musculares: epimisio, perimisio y endomisio (López, 1991).

El colágeno es la proteína más abundante en los animales de abasto pudiendo alcanzar el 30 % del total de las proteínas corporales en los individuos adultos. Los tejidos ricos en colágeno son: huesos, cartílagos, tendones y piel.

Las proteínas de la carne están constituidas por una mezcla de unos 20 aminoácidos, la diferencia entre especies son pequeñas, pero hay que destacar la diferencia en composición entre distintos tipos de proteínas (Cuadro 1.4) dos tipos distintos de músculos (vacuno y ave). La calidad de la carne no deriva solo de su riqueza de proteínas sino también de una gran calidad biológica ya que contiene aminoácidos esenciales (Ordoñez *et al.*, 1998).

### 1.2.4 Carbohidratos

La carne no es una buena fuente de carbohidratos. Contiene alrededor de un 0.8-1% de glucógeno y muy bajas cantidades de otros carbohidratos. Aunque constituyen una pequeña porción del peso corporal, ejercen importantísimas funciones en los fenómenos *post mortem* (Ordoñez *et al.*, 1998).

### 1.2.5 Vitaminas

Las carnes son excelentes fuentes dietéticas de vitaminas del complejo B la cantidad de cada una de las diversas vitaminas que contienen una pieza de carne depende de la especie, la edad, el grado de cebamiento y el tipo de la

alimentación del animal que se produce, así como también de la situación del corte en la canal (Ordoñez *et al.*, 1998).

Cuadro 1.4. Composición en aminoácidos de las proteínas musculares (g/16 g N\*).

<b>Aminoácido</b>	<b>Musculo de vacuno</b>	<b>Musculo de ave</b>	<b>Miosina</b>	<b>Actina</b>	<b>Colágeno</b>
Aspargina	9.8	10.2	10.9	10.4	5.4
Tropomiosina	4.8	4	4.7	6.7	2.1
Serina	4.3	–	4.1	5.6	2.9
Ácido glutámico	16	17	21.9	14.2	9.7
Prolina	3.5	–	2.4	4.9	13
Hidroxiprolina					10.5
Glicina	5.3	5.6	2.8	4.8	22.5
Alanina	6.2	–	6.7	6.1	8.2
Cisteina	1.4	–	1	1.3	0
Valina	5.1	4.8	4.7	4.7	2.9
Metionina	4.3	–	3.1	4.3	0.7
Isoleucina	5.2	4.9	5.3	7.2	4.8
Leucina	8.4	7.6	9.9	7.9	
Tirosina	3.9	–	3.1	5.6	1.2
Fenilalanina	4.1	3.8	4.5	4.6	2.2
Lisina	9.3	8.5	11.9	7.3	3.9
Hidroxilina					1.1
Histidina	3.8	2.2	2.2	2.8	0.7
Arginina	5.4	5.9	6.8	6.3	7.6
Troponina	–	–	0.8	2	0

La carne es una buena fuente de tiamina, riboflavina, niacina y vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> y es pobre en vitamina A y C. La mayor parte de las vitaminas de la carne son relativamente estables al procesamiento industrial o culinario.

#### 1.2.6 Minerales

El calcio, el fósforo y el hierro han recibido la máxima atención en las investigaciones relativas al contenido mineral de la carne; en algunos casos se ha determinado el contenido de la carne en sodio, potasio y magnesio (Price,

1976).

### **1.3 Unidad de medida de las enzimas proteolíticas**

En la actualidad, la bromelina se mide en MCU (unidades de coagulación de la leche) o GDU (unidades de disolución de la gelatina). Una GDU equivale a aproximadamente 1.5 MCU.

## **2. Generalidades de las Enzimas**

Las enzimas son proteínas solubles que intervienen en todas las reacciones del metabolismo permitiendo que estas se produzcan. Actúan en secuencia organizada en reacciones de degradación de nutrientes y en la síntesis de macromoléculas a partir de precursores sencillos. Se definen como biocatalizadores autógenos, ya que son propios de cada organismo que sintetiza los suyos según sean sus necesidades para actuar específicamente en una clase de reacción (Montes, 1998).

Tienen gran importancia en diversas áreas que permiten reducir los costos de producción, mejora en la calidad de productos, desarrollo de procesos más eficiente, y generación de ganancias y mayores rendimientos en procesos industriales (Magaña, 1993).

En el área de alimentos se ha utilizado el cuajo (renina) en la elaboración de quesos, es una de las enzimas más antiguas, está formada por la mezcla de dos enzimas, quimosina y pepsina; que se obtiene del cuajar de terneras jóvenes. Estas enzimas rompen la caseína de la leche y producen la coagulación (Camperi, 1996).

En el procesamiento de jugos de frutas el producto obtenido generalmente es viscoso debido a la pectina disuelta y turbio por los fragmentos de pared celular en suspensión, cuando se agregan pectinasas, la viscosidad disminuye y las partículas pueden eliminarse fácilmente centrifugando el líquido o filtrándolo (Camperi, 1996).

## **2.1 Clasificación**

Muchas enzimas han sido designadas añadiendo el sufijo “asa” al nombre del sustrato, es decir, a la molécula sobre la cual la enzima ejerce su acción catalítica. Esta nomenclatura ha ocasionado que muchas enzimas hayan recibido nombres que químicamente son poco informativos como por ejemplo la quimiosina, renina.

Se han propuesto o utilizado varios sistemas de clasificación enzimática. La mayoría de las enzimas pueden clasificarse en forma general respecto a los sustratos. Por ejemplo: las carbohidrasas actúan sobre los carbohidratos; las proteasas sobre las proteínas; las lipasas sobre los lípidos, entre otros. Sin embargo, la mayoría de las enzimas presentes en los alimentos o utilizadas para propósitos tecnológicos pertenecen a la clase de las oxireductasas, como es la peroxidasa o catalasa y las hidrolasas como la amilasa, proteasa o fosfatasa (Toporek, 1984).

## **2.2 Nomenclatura**

La Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica desarrolló un método de identificación, cada una con cuatro dígitos.

En primer término, se hicieron seis grupos que incluyen a todas las

enzimas.

Oxidoreductasas: Catalizan reacciones de oxidación o reducción.

Transferasas: Catalizan la transferencia de variedades químicas específicas.

Hidrolasas: Hidrolizan los sustratos con una absorción concomitante de las moléculas de agua.

Liasas: Eliminan o adicionan variedades químicas específicas a sus sustratos.

Isomerasas: Catalizan la isomerización.

Ligasas: Catalizan la síntesis o enlace de unidades de sustrato (Badui, 1981).

El primer dígito de la nomenclatura indica a qué grupo pertenece. El segundo dígito de la nomenclatura corresponde a la subclase de la enzima. El cuarto indica específicamente la acción de la enzima en cuestión.

### **3. Maduración de la Carne**

La transformación del músculo en carne, se realizan por sucesos químicos que ocurren en el animal en vivo y las alteraciones que sufre este sistema tras el sacrificio. Los cambios que se producen en el músculo vivo y en los tejidos tras la muerte del animal son similares, excepto por la incapacidad de los tejidos para sintetizar o eliminar ciertos metabolitos después de la muerte

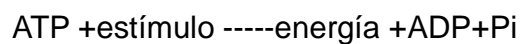


fisiológica. Las rutas de la contracción y relajación muscular difieren sólo débilmente de las desarrolladas en el rigor mortis (Quiroga *et al.*, 2001).

### 3.1 Cambios químicos

#### 3.1.1 Compuestos fosforilados ricos en energía

La química de los cambios post-mortem en el músculo es esencialmente la de los compuestos fosforilados ricos en energía y la de los mecanismos involucrados en su síntesis y degradación. Aunque existe un número considerable de compuestos de alta energía en el músculo, muchos de ellos juegan un papel en el ciclo del ácido cítrico y solo se relacionan indirectamente en la transformación de energía química en el trabajo muscular. De hecho, solo el ATP, el ADP y la creatina fosfato (CP) proporcionan las fuentes de energía inmediata para la contracción muscular.



La función del creatin fosfato es suministrar puentes ricos en energía para refosforilar el ADP (Adenosin fosfato) y formar ATP (Adenosin trifosfato) y se agota rápidamente tras la muerte, pero el ATP, puede permanecer por muchas horas en el músculo post-mortem, dependiendo de la existencia en el músculo al momento del sacrificio (Quiroga *et al.*, 2001).

#### 3.1.2 Glicólisis

Es la hidrólisis de la glucosa para dar lugar al ácido láctico en ausencia de

oxígeno. La glucosa proviene de la hidrólisis del glucógeno muscular. Estos cambios post-mortem son fases esenciales en la conversión del músculo vivo en carne. Por medio de una serie de reacciones, la energía química potencial de la glucosa se emplea en la síntesis de ATP. En una oxidación aeróbica, la glucosa se oxida completamente a CO<sub>2</sub> al convertirse en piruvato y oxidarse éste en forma de acetil-coenzima-A hasta CO<sub>2</sub>, por medio del ciclo de los ácidos tricarbóxicos y su fosforilación asociada. Se produce un total de 12 moles de ATP por cada mol de acetil-co A usada en el ciclo (Quiroga *et al.*, 2001).

Virtualmente todas las células pueden oxidar parcialmente la glucosa en condiciones anaeróbicas, rindiendo dos moles de ATP por cada mol de glucosa que es convertida en ácido láctico.



La glicólisis facilita la rápida obtención de ATP en condiciones anaerobias. Como las que ocurren en el músculo vivo en momentos de stress, o tras la muerte hasta que el glucógeno muscular se haya disipado.

### 3.1.3 Ácido láctico

En condiciones anaerobias el piruvato es reducido a lactato, produciéndose dos moles por mol de glucosa oxidada. La formación de lactato está favorecida, incluso a pesar de que la reacción ha de invertirse para permitir la utilización del lactato en condiciones anaerobias. Ni el lactato ni el piruvato se hayan confinados en las células, como ocurre con los intermediarios fosforilados del metabolismo. Así, en vivo, el lactato puede difundirse a otros tejidos y ser eliminado por el sistema circulatorio. El lactato formado durante la glicólisis en el organismo vivo durante la contracción muscular puede ser convertido a glucosa por el hígado vía gluconeogénesis o puede ser de nuevo

degradado para producir ATP o ser utilizado para producir glucógeno. La formación del lactato suministra la energía necesaria para la restauración del creatín fosfato, con lo cual puede ir proporcionando energía para la contracción muscular, tras la muerte, sin embargo, el ácido láctico produce una bajada del pH, cuya intensidad depende de la naturaleza y estado del músculo en el preciso momento en el que la circulación cesa. El desarrollo del rigor mortis no requiere el ácido láctico como antes se creía, aunque el rigor alcalino ha sido admitido durante muchos años, y se encontró que los músculos vivos que contienen poco o nada de lactato tienen un pH de 7.4 (Price *et al.*, 1994).

La liberación de CO<sub>2</sub> a partir de bicarbonato y la degradación del creatin fosfato, aminoran la caída del pH con un efecto neto de establecer un pH de 7.6 en el músculo vivo en reposo. Otros tampones como las proteínas, compuestos de fosfato, carnosina, anserina e incluso el ácido láctico (en los rangos de pH más bajos) contribuyen a prevenir los cambios bruscos de pH tras la muerte (Price *et al.*, 1994).

Como consecuencia de la muerte, la glucosa extracelular ya no puede suministrar la energía necesaria para el metabolismo, de modo que solo quedan disponibles fuentes intracelulares para continuar con la glicólisis: ATP, creatin fosfato, y glucógeno. Ni el ATP ni la creatina fosfato están presentes en grandes cantidades en el músculo, dejando el glucógeno como la principal fuente de energía para la glicólisis. Así, la acumulación de ácido láctico y el descenso del pH que resulta en el músculo post-mortem dependen fundamentalmente de la cantidad de glucógeno presente en los tejidos en el momento del sacrificio.

La degradación del glucógeno no se desarrolla a la misma velocidad en todos los estados que siguen a la muerte. Parece haber un incremento en la velocidad al pH en el que la resistencia eléctrica y la capacitancia de la membrana son eliminadas. En este estado el músculo pierde la capacidad de

contraerse y, hay una libre difusión de iones a través de las membranas hasta ahora impermeables y como resultado hay una rápida equalización del pH a lo largo de los tejidos. A partir de este momento, la glicólisis continúa a una velocidad menor hasta que se gasta todo el glucógeno o el pH baja lo suficiente para inhibir todas las enzimas glicolíticas. Esto ocurre a un pH de 5.4 (Price *et al*, 1994).

El pH de la carne tiene un marcado efecto sobre las propiedades físicas, siendo responsable de la carne de vacuno oscura al corte y las carnes de cerdo PSE y DFD (*pale, soft and exudative: palido, suave y exudativa; Dark, firm and dry: oscura, dura y seca*) (figura 1).

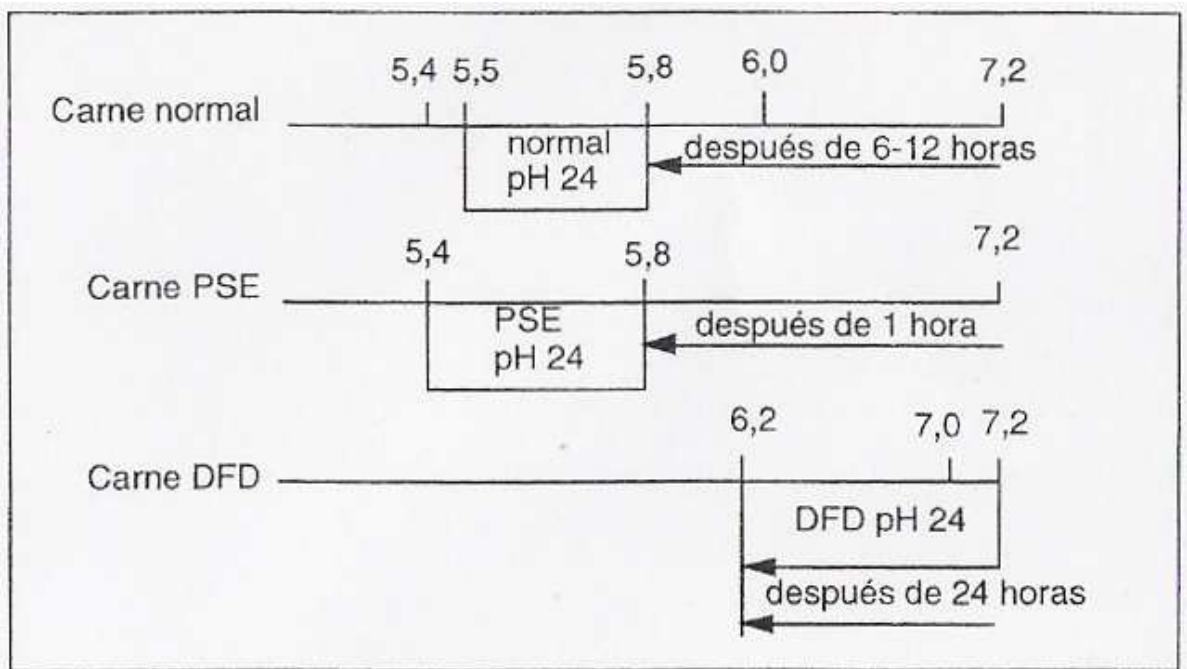


Figura 1. Valores de pH en carne normal PSE y DFD.

Generalmente hablando de altos valores de pH (>5.8) producen un incremento en la CRA (*capacidad de retención de agua*) y dan un color más oscuro y una textura mas basta, favoreciendo además la alteración microbiana; mientras que valores de pH bajos (<5.5) producen el efecto opuesto

### 3.1.4 La contracción muscular y su importancia en la maduración de la carne

Los elementos contráctiles fundamentalmente son los filamentos de actina y miosina y otras proteínas reguladoras del complejo contracción-relajación. Los filamentos de actina y miosina se organizan en una disposición hexagonal de tal forma que 6 filamentos de actina rodean un filamento de miosina y cada filamento de actina lo rodean tres de miosina.

Los filamentos de miosina corren paralelos a los de actina. Estos filamentos se construyen por asociación cabeza-cola de las moléculas de miosina. Las cabezas contienen los sitios activos para la combinación con la actina así como la actividad de la ATPasa.

Los filamentos de actina y miosina pueden resbalar libremente los unos entre los otros en estado de relajación. El libre movimiento se relaciona con un complejo de Mg-ATP que actúa como lubricante, en este estado, los puentes cruzados o "pies" de los filamentos de miosina no se unen a los de actina por culpa de ese complejo. Durante la contracción, el complejo Mg-ATP es degradado, permitiendo la unión entre los filamentos de actina y los puentes cruzados de miosina y como resultado es el acortamiento conforme los puentes cruzados de la miosina arrastraban a los filamentos de actina al interior de la banda A, lo que sugiere un acortamiento de la longitud del sarcómero (Ordoñez *et al.*, 1998). (Figura 2).

La contracción muscular está controlada por el ion calcio. Los nervios se acoplan al músculo por la placa motora terminal, a donde llega la orden de contracción y se libera acetilcolina, provocando la despolarización de la membrana del retículo sarcoplasmático que cede calcio que pasa de una concentración  $10^{-7}$  moles por litro a  $10^{-5}$  moles por litro en el líquido sarcoplasmático. El calcio cuando alcanza estos niveles se liga a la troponina C

que está en los filamentos de actina, y se adhiere también a la cabeza de la miosina cambiando la conformación de la cola de la miosina y permitiendo la interacción de la actina y la miosina que forman el complejo de actomiosina, provocando la contracción muscular, simultáneamente se libera energía por degradar ATP, que permite por transporte activo, que el retículo sarcoplasmático recupere los iones de calcio. El ATP se degrada por ATP pasa pero a su vez se produce más ATP a partir de la fosfocreatina.

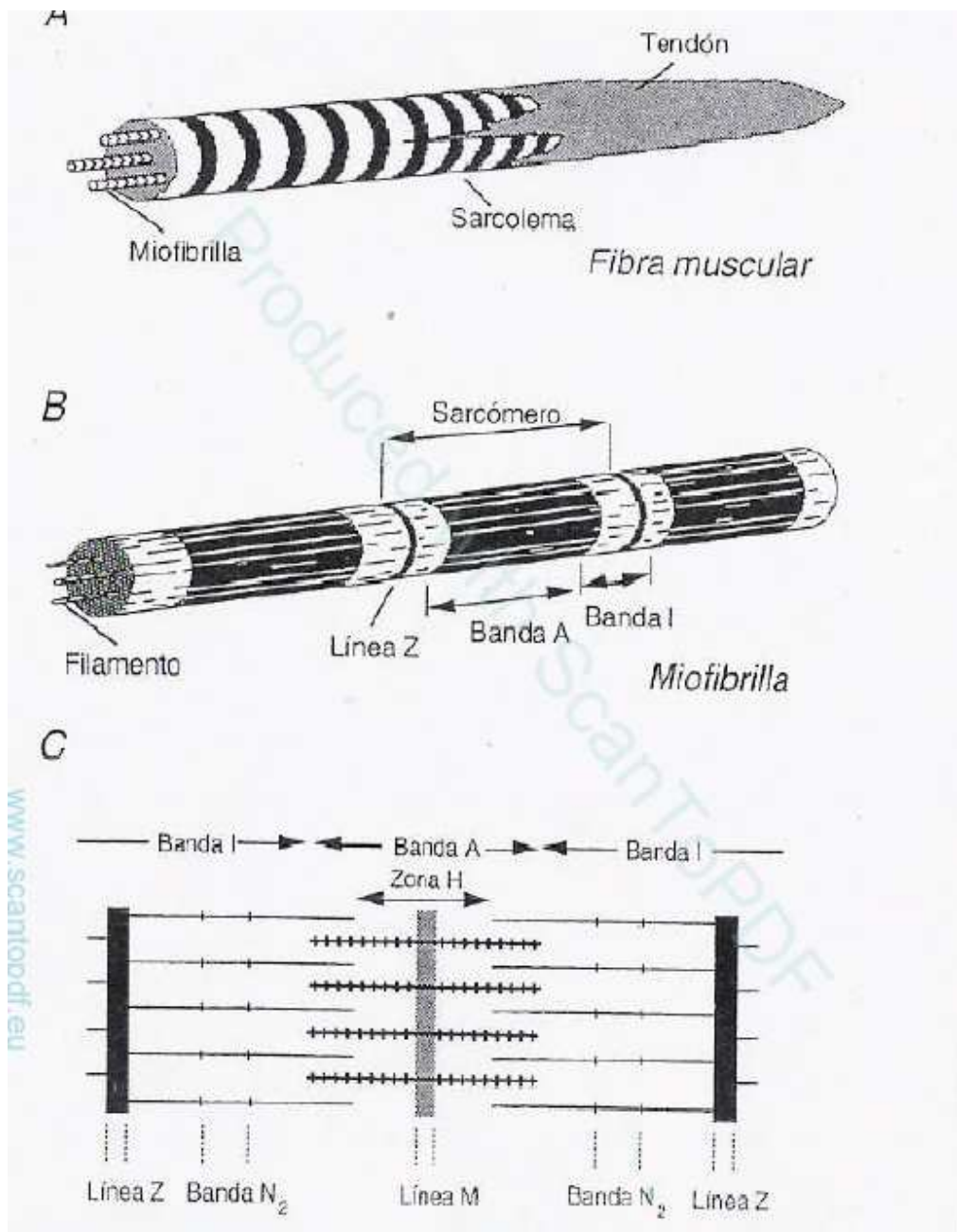


Figura 2. Esquemas: A) de la estructura de una fibra muscular, B) de la miofibrilla y C) del sarcómero.

Si el animal está en movimiento necesita ATP, si prosigue el ejercicio se forma ácido pirúvico que sigue dos rutas aerobia o anaerobia. Si el ejercicio es muy estresante se va por vía anaerobia por falta de oxígeno y fosfocreatina y se producen dos moléculas de ATP y ácido láctico que se acumula como cristales

produciendo el defecto muscular de agujetas (Lawrie, 1998).

En caso de muerte se interrumpe el aporte de oxígeno y se inicia respiración anaerobia con producción de ácido láctico (similar al caso de stress) descendiendo el pH hasta 5.5 y reduciendo CRA.

Un pH de 6 da una carne dura y oscura (*DCB* o *DFD*). Un pH menor de 5.5 da una carne blanda y exudativa (*PSE*), porque a pH ácido se activan las captasinas que actúan ablandando las proteínas (Lawrie, 1998).

El desarrollo del rigor mortis (RM) ocurre poco después de la muerte del animal y se caracteriza por la rigidez e inextensibilidad de los músculos, es el mismo proceso de la contracción pero irreversible. Los cambios que ocurren en este estado incluyen un descenso en el pH y en la concentración de ATP y CP. Conforme disminuye ATP, se produce una rápida disminución de la extensibilidad del músculo conllevando a puentes fijos entre los filamentos de actina y miosina (*figura 3*).

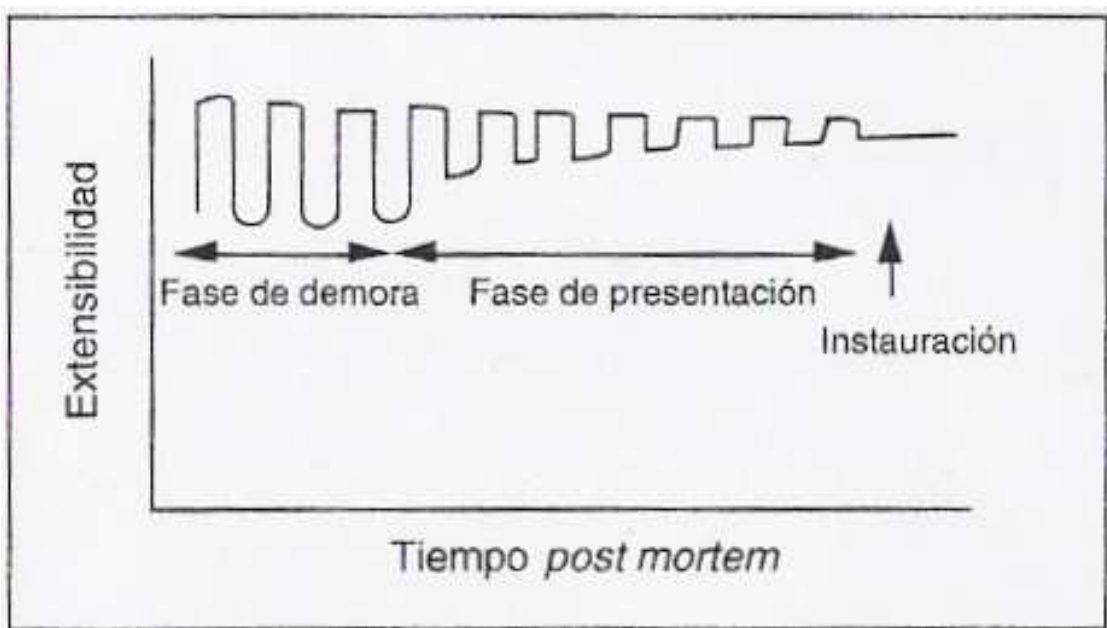


Figura 3. Modificación de la extensibilidad muscular a lo largo del periodo *post-mortem*.



El *rigor mortis* (RM) varía según el animal y el músculo, se considera RM cuando se agota totalmente la cantidad de ATP en el músculo en donde influye la temperatura y tipo de músculo (*figura 4*). En pollos dura 2- 4 horas, en ternera dura de 10-14 horas, en cerdos dura de 4-18 horas siempre y cuando estén en refrigeración, porque a  $-1.5^{\circ}\text{C}$  el RM dura 3-4 semanas, a  $0^{\circ}$  dura 15 días, a  $20^{\circ}\text{C}$  dura dos días y a  $43^{\circ}\text{C}$  dura un día. Una vez pasado el rigor mortis la carne se relaja (Lawrie, 1998).

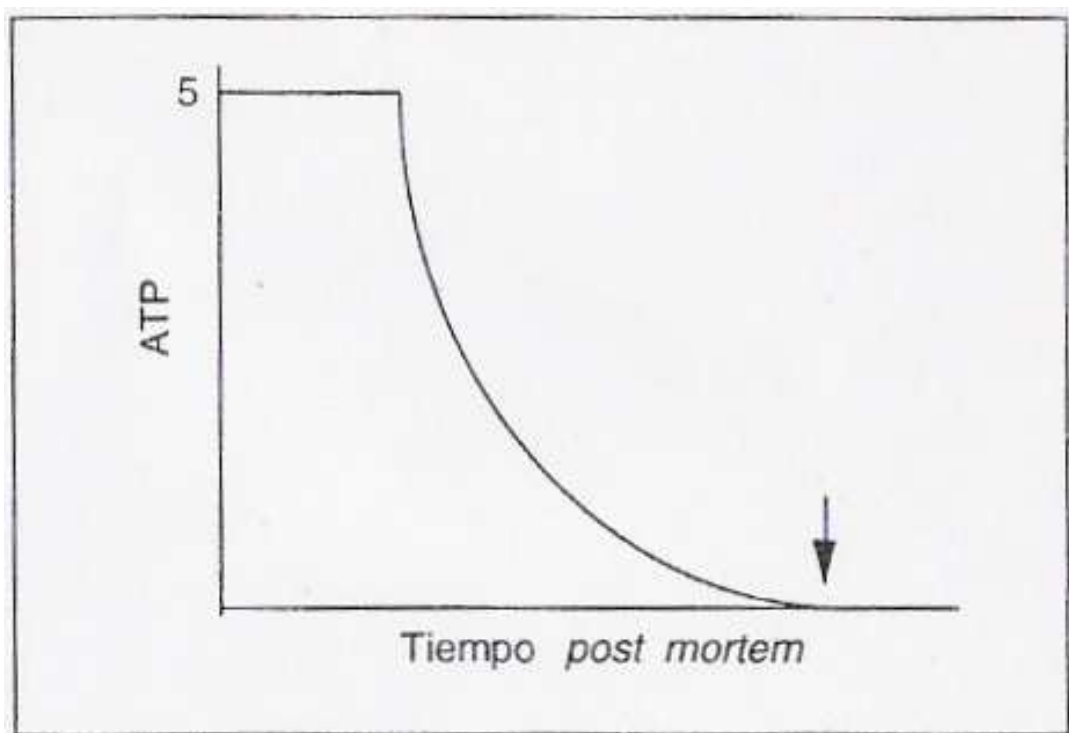


Figura 4. Descenso de la concentración de ATP muscular a lo largo de los fenómenos *post mortem*.

Un toro de lidia o un caballo de carreras después de actuar, no tiene glicógeno y no habrá ácido láctico y el pH no cae, provocando un músculo DFD (*duro, seco y firme*).

### **3.2 Influencia de las modificaciones del *rigor mortis* y la maduración en las propiedades de la carne**

La carne en pre-rigor es bastante tierna pero se endurece progresivamente conforme avance el RM, y después disminuye su dureza conforme madura. La dureza puede ser menor si los músculos sufren una tensión que prevenga el acortamiento durante el RM, o si se administra una inyección (antes de la muerte) de un quelante de calcio que bloquee la interacción actomiosina (Lawrie, 1998).

#### **3.2.1 Acortamiento por el frío**

Los músculos sueltos de vacuno se acortan más rápidamente a 0°C. El mínimo acortamiento ocurre a 14-19°C y ocurre siempre que exista el 40 % de ATP. La causa básica parece ser la capacidad del retículo sarcoplásmico para secuestrar y unir el exceso de iones calcio liberados del retículo sarcoplásmico y de las mitocondrias bajo la influencia de bajas temperaturas y bajos valores de pH en el músculo en pre-rigor. Se cree que las mitocondrias, bajo el influjo de frío, liberan grandes cantidades de calcio. En la práctica, el "acondicionamiento y la maduración" es el mecanismo para evitar rápidamente el rigor y consiste en introducir la canal a una temperatura de 15-16°C hasta el comienzo del pre-rigor (figura 5). Actualmente, se ha sustituido este método por la estimulación eléctrica, y con ello también se evita el riesgo del ataque microbiano a esa temperatura. Con la estimulación eléctrica se mejora el color de la carne magra, se reduce la dureza, mejora el grado de marmorización del lomo y la categorización de la canal, reduce el periodo de maduración requerido para alcanzar el grado de dureza necesario (*por estimular enzimas lisosomales*) y mejora el sabor y la vida útil. Otro método es el de "ternura" inducida por distensión, que consiste en suspender la canal desde el agujero obturado en lugar de colgarla del talón de Aquiles. Esto provoca tensión de los músculos y

previene el acortamiento o contracción, así, la carne pre-rigor es más tierna. Otros métodos son el alteramiento de la postura, el uso de instrumentos de distensión en el *longuissimus dorsi*, la anestesia con CO<sub>2</sub> también acelera la glicólisis y reduce el tiempo para alcanzar el rigor.

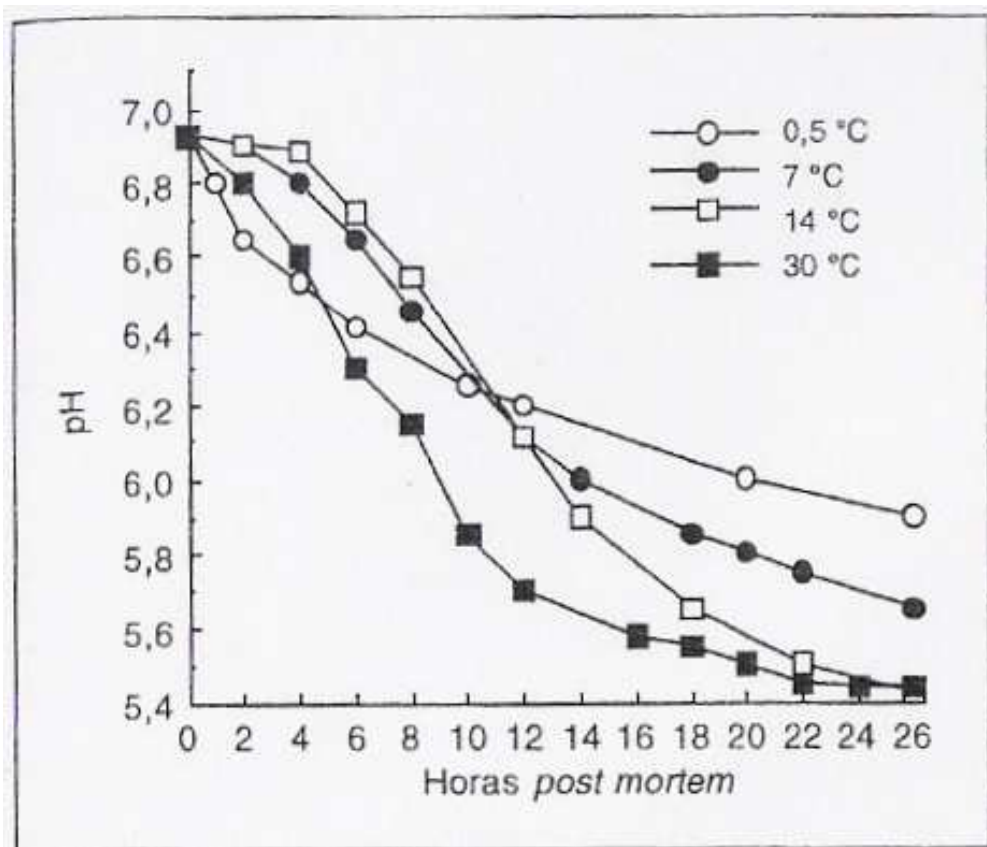


Figura 5. Efecto de la temperatura muscular en el descenso del pH.

### 3.2.2 El rigor de la descongelación

Es un acortamiento que ocurre al descongelar una carne que fue congelada en pre rigor y se debe al intenso flujo salino que ocurre al descongelar con liberación de calcio. Esto se previene con estimulación eléctrica, o congelar el músculo antes de que entre al rigor.

### 3.2.3 Carne de vacuno oscura al corte

Es un problema poco frecuente donde la carne pierde su claridad al despiezar la canal y quedar la carne magra expuesta al oxígeno y causando altas pérdidas. Es una carne más tierna que la normal y sabor jabonoso. Esta se presenta por unas bajas reservas de glucógeno y bajo contenido de azúcares y un elevado pH (cercano a 5.8) y la capacidad de los tejidos para captar oxígeno para formar el pigmento rojo u oxímioglobina. Se evita con buenas prácticas de manejo durante el transporte y durante el sacrificio.

### 3.2.4 Carne pálida, blanda y exudativa (PSE) y oscura, firme y seca (DFD) de cerdo

La carne PSE se caracteriza por poseer un color muy claro, ser blanda y acuosa y tener textura abierta. El abundante exudado hace la carne poco atractiva, especialmente cuando el exceso de fluido se acumula en el envase. La incidencia de PSE se da por selección de magrura. La causa es el Stress y se debe a una mayor velocidad de la glicólisis en los primeros momentos de post-mortem, con temperatura alta. La caída del pH causa desnaturalización de las proteínas miofibrilares causando pérdida de CRA. El factor crítico es la caída de pH rápido de 5.3 a 5.4, manteniendo la canal caliente (38°C).

La carne DCD es oscura firme y seca con estructura cerrada, es pegajosa al tacto y absorbe lentamente las sales curantes. Tiene un pH alto por falta de glucógeno (6.0). Se causa por stress; alimentación y el descanso que repongan el glucógeno la previenen.

### 3.2.4 La acción enzimática sobre el músculo después de la muerte del animal y su importancia en la maduración de la carne

Cuando el animal muere se liberan sus enzimas, ya que las proteinasas comienzan la digestión de las proteínas de la carne, fragmentándolas y ablandándolas lentamente. Si se almacenan las carnes por dos semanas en refrigeración, la carne entrara en maduración porque:

La miofibrilla y parte de las proteínas miofibrilares aparentan estar intactas, pero se degrada la mero-miosina pesada.

Los mayores cambios estructurales; son la separación y pérdida de la estructura a lo largo de la línea Z y una parte de la línea M. Las bandas A e I permanecen intactas.

La interacción actina-miosina cambia durante este periodo. Se alargan las miofibrillas después del RM y ausencia de ATP y los filamentos se deslizan.

Aumenta la contractibilidad de las proteínas miofibrilares. Las enzimas catepsinas, la tripsina y las calpainas del lisosoma se activan a pH ácido, degradando el lisosoma, pasando al líquido sarcoplasmático y degradan las proteínas.

Aunque la susceptibilidad del músculo a la alteración microbiana es directamente proporcional al tiempo transcurrido desde el sacrificio y a la temperatura a que se mantiene post-mortem, sin embargo, cuando la operaciones de sacrificio se realizan en condiciones higiénicas, la carne se conserva en buen estado durante varios días a temperatura ambiente o durante unas seis semanas a temperaturas ligeramente superior a su punto de congelación (-1.5°C). Los diferentes procesos a que se somete la carne, como

el curado, la congelación y la irradiación, incrementan grandemente su vida útil. El proceso que consiste en mantener la carne fresca a una temperatura superior al punto de congelación se denomina maduración y durante el mismo la carne se hace más tierna y aromática. Durante las primeras 24-36 horas de este proceso el principal cambio experimentado por la carne es la glucólisis post-mortem. Antes de que se alcance el pH final se inician ya otros cambios degradativos, que alteran la carne a consecuencia del crecimiento microbiano o de la intensa desnaturalización y deshidratación de las proteínas. La intensidad de estas modificaciones, que afectan a la naturaleza y a la cantidad tanto de las proteínas como de las moléculas más pequeñas, generalmente se limita por la cocción y consumo de carne.

Desnaturalización de las proteínas: el músculo como todos los tejidos vivos, consiste en una compleja organización de moléculas que no se orientaron ni se mantienen orientadas a consecuencia del azar. La tendencia de los átomos y moléculas que forman la estructura de las proteínas del tejido contráctil a la desorientación solo puede contra-restarse mediante un constante aporte de energía (*vía ATP*). Cuando después de la muerte se interrumpe el aporte de energía. Las proteínas tienden a la desnaturalización. La desnaturalización se define como la reestructuración física o intramuscular que tiene lugar sin que se produzca la hidrólisis de los enlaces químicos que unen los aminoácidos de las cadenas polipeptídicas de las proteínas. La desnaturalización se manifiesta por un aumento de la reactividad de diversos grupos químicos, una pérdida de actividad biológica (en las proteínas de las enzimas y hormonas), un cambio de forma o tamaño molecular y una reducción de la solubilidad. Las proteínas, se desnaturalizan cuando en la maduración que tiene lugar post-mortem se someten a un pH inferior al existente in vivo, a temperaturas superiores a 25°C o inferiores a 0°C, la desecación o la acción de soluciones salinas de concentraciones no fisiológicas (López *et al.*, 1991).

Generalmente se supone que las únicas proteínas del músculo que no se desnaturalizan durante el proceso de maduración que ocurre post-mortem son el colágeno y la elastina del tejido conectivo (López *et al.*, 1991).

Por otra parte, durante el proceso de maduración las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas se desnaturalizan en grado mayor o menor. Inmediatamente después de la muerte, y antes de la aparición del rigor mortis, los músculos son blandos y si se cuecen son tiernos. Las principales proteínas de las miofibrillas (actina y miosina) se encuentran disociadas y se pueden extraer con soluciones salinas concentradas, al parecer el rigor mortis el músculo se hace inextensible y si se cuece es duro. A medida que discurre el proceso de maduración, el músculo se hace cada vez más blando (y más tierno cuando se cuece), efecto que no se debe a la disociación de la actomiosina ya que sigue siendo inextensible (López *et al.*, 1991).

Efectos de la desnaturalización: Después de alcanzarse el pH final las proteínas sarcoplasmáticas sufren otros cambios, tales como una reducción de su cantidad global (encogen) y una alteración de la naturaleza de los componentes.

La desnaturalización de la mioglobina (*sarcoplasmática*) acelera la oxidación del hierro que contiene a la forma férrica y el pigmento adquiere color marrón (*meta-mioglobina*) esto afecta la proximidad de la superficie externa del músculo. Algunos factores como la desecación, pueden iniciar la desnaturalización y el cambio de coloración, especialmente a pH bajo.

Por lo que respecta a la calidad de la carne, quizás la modificación más importante debido a la desnaturalización post-mortem de las proteínas del músculo sea la reducción que se produce en la capacidad de retención del agua. La CRA de las principales proteínas del músculo es mínima a pH 5.4-5.5.

Puesto que la producción de ácido láctico a partir de glucógeno, independientemente de la temperatura y de la velocidad de reacción, generalmente determina un pH de 5.5, la carne normal siempre exuda determinada cantidad de jugo. La cantidad de exudado será menor si el pH final es elevado. Igualmente, a mayor temperatura durante la glucólisis post-mortem tanto mayor será el grado de retracción de las proteínas miofibrilares durante el rigor mortis (López *et al.*, 1991).

Proteólisis: Las proteínas desnaturalizadas son particularmente sensibles al ataque de las enzimas proteolíticas. El ablandamiento que experimenta la carne durante la maduración se acompaña por un aumento de la cantidad de nitrógeno soluble en agua debido a la producción de péptidos y aminoácidos a partir de las proteínas.

Aunque el principal cambio responsable de la menor dureza de la carne pudiera parecer debido a la proteólisis del colágeno y elastina del tejido conectivo, en el músculo uterino existen enzimas capaces de degradar estas proteínas a sus aminoácidos componentes, especialmente durante la involución *postpartum*, las proteínas del tejido conectivo normalmente no sufren modificaciones de este tipo durante el proceso de maduración del músculo esquelético, pero durante el calentamiento se presenta la degradación.

El hecho de que no se produzcan cambios en la extensibilidad del músculo durante el proceso de maduración, y después de la formación de actomiosina durante la aparición de rigor mortis, pese a que la carne se hace más tierna, indica que en el proceso de maduración, la actina no se disocia de la miosina.

Si se dividen unos pocos enlaces claves, las proteínas del músculo sufren cambios importantes que afectan a la dureza de la carne sin que se produzca



una proteólisis interna. La disociación de los filamentos de actina de su unión con la línea Z que tiene lugar durante el proceso de la maduración pueden tener un efecto importante sobre la textura de la carne incluso aunque los cambios que tienen lugar no puedan evidenciarse por los métodos químicos convencionales (López *et al.*, 1991).

Puesto que durante el proceso de maduración no se produce la proteólisis de las proteínas del tejido conectivo ni de las proteínas de las miofibrillas, el notable incremento de productos solubles de la degradación de las proteínas debe proceder de las proteínas sarcoplasmáticas. Como se ha señalado, éstas se desnaturalizan más o menos durante la glucólisis *post-mortem*.

Es importante señalar que estos cambios se refieren a músculos de pH final normal (próximo a 5.5). Cuando el pH final es elevado, la proteólisis es menos intensa (próximo a 6.8), y se presenta menor desintegración de las fibras musculares.

La intensidad de la proteólisis también depende la temperatura, siendo mayor a 37°C que a 5°C, pero de acuerdo a la cohesividad de las fibras después de la homogenización la degradación histológica es mayor a 5°C que a 37°C, porque la desnaturalización de las proteínas miofibrilares es mayor a 37° (López *et al.*, 1991).

Es evidente que en el músculo existen enzimas que actúan durante el proceso de maduración que tiene lugar *post-mortem* hidrolizando las proteínas sarcoplasmáticas a péptidos y aminoácidos, estas enzimas se llaman catepsinas. Existen tres tipos de catepsinas según el pH óptimo de acción, 5, 8-9, 10. La enzima con pH óptimo de 5 es activada por el ion ferroso y la de pH 8-9, se activa con iones de calcio.

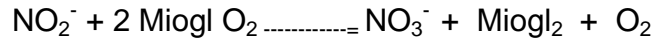
Otros cambios químicos: En el momento en que el músculo alcanza el pH final gran parte del ATP ha sido degradado a ácido inosínico, fosfato inorgánico y amoníaco. La reducción a ácido inosínico depende del tiempo, la temperatura y el pH existentes después de haberse alcanzado el pH final. La maduración es óptima desde el punto de vista organoléptico cuando la hipoxantina alcanza un nivel de 1.5-2.0  $\mu$ moles/g, siendo alcanzado este nivel entre 10-13 días cuando la temperatura de maduración es 0°C, 4-5 días cuando es a 10°C, 30-40 horas cuando es 20°C y 10-11 horas cuando la temperatura es de 30°C (López *et al.*, 1991).

Debido al aumento del aroma que se produce durante la maduración, la adición de hipoxantina o de su precursor (ácido inosínico), aumenta el aroma. La degradación de la proteína y de la grasa que tiene lugar durante el proceso de maduración también contribuye al aroma debido a la formación de sulfuro de hidrógeno, amoníaco, acetaldehído, acetona y diacetilo, sin embargo si el periodo de maduración se prolonga demasiado, se presenta una pérdida de aroma, o si se presenta un enranciamiento de las grasas, los productos resultantes afectan el aroma de una forma perjudicial (López *et al.*, 1991).

Se sabe muy poco acerca de las reacciones responsables de la aparición del aroma que tienen lugar en las medias canales de cerdo cuando se apilan para su maduración, después de sacarlas de las salmueras de curado. Sin embargo, las reacciones de la aparición del color (tanto favorable como perjudicial) que tienen lugar durante el proceso han sido investigadas.

El atractivo color rojo que poseen las carnes curadas antes de la cocción, se debe a la nitrosomioglobina. El mecanismo de formación de este pigmento, aun se discute. *In vitro*, el óxido nítrico puede combinarse con la mioglobina. Normalmente, la consecuencia de reacciones que tiene lugar en las carnes curadas es compleja. En la carne curada el nitrito y nitrato reacciona primero

con la oximioglobina (en presencia de O<sub>2</sub>), formando metamioglobina así:



Nitrito oximioglobina Nitrato + metamioglobina + oxígeno

En ausencia del oxígeno el nitrito reacciona con la mioglobina formando cantidades equi-molares de metamioglobina y nitrosomioglobina, siempre que no se hallen sustancias capaces de reducir la metamioglobina y el nitrito (el sistema suscionico nitrogenasa del músculo que reduce la metamioglobina).

Además aumenta la cantidad de aminoácidos libres a consecuencia de la proteólisis, su concentración también aumenta por la degradación de algunos péptidos. Durante la maduración, los dipeptidos, carnosina y anserina se hidrolizan a alanina e histidinas. La acumulación de aminoácidos libres y de carbohidratos solubles como la glucosa (por la acción de la amilasa sobre el glicógeno), glucosa 6 fosfato (producto intermedio del ciclo glucolítico), ribosa (procedente de la degradación de los nucleótidos) y trazas de otros azúcares, es potencialmente indeseable. Durante la preparación de la carne deshidratada, los grupos carbonilo de los carbohidratos se combinan enzimáticamente con el nitrógeno amínico, de los aminoácidos para formar compuestos de color marrón desagradable que poseen un color amargo, la reacción de Maillard.

Aunque la maduración aumenta la CRA de la proteínas un poco, la perdida debida a la desnaturalización y el descenso del pH *post-mortem* predomina y la carne exuda liquido post-mortem (López *et al.*, 1991).

#### 4. Uso de Ablandadores en Carne

Los ablandadores de carne, mayormente compuestos de proteasas, inicia la ruptura de la integridad de los filamentos musculares contraídos debido a la rigidez cadavérica, así como las triples hélices del colágeno. La suavidad del tejido conectivo varía de acuerdo con el contenido de colágeno, al diámetro de las fibras perimisiales y al entrecruzamiento de las fibras de colágeno. El colágeno empieza a cortarse a temperaturas de 60 a 70°C y se convierte en gelatina a los 80°C, este proceso a la vez influye en el ablandamiento del tejido conectivo, por lo que el ablandamiento de cortes con alto contenido de colágeno depende del método de cocción y de la temperatura final (Fellows, 1994).

Cuadro 1.5 Enzimas utilizados en la industria alimentaria (Fellows, 1994).

Enzima	Fuente	pH	Temperatura (°C)	Tipo de cultivo y Aplicación
Proteasas				
Acidas				
	<i>B. subtilis</i>	6.0-8.5	20-55	Sub.
	<i>A. oryzae</i>	4.0-7.5	20-50	Surf.
	<i>Rhizopus</i>			
Neutras				
	<i>B. subtilis</i>	7.0-8.0	20-50	
	<i>B. polymyxa</i>			
Alcalinas				
	<i>Bacillus sp.</i>	9.0-11.0	20-50	
	Bromelaína	4.0-9.0	20-65	SA
	Papaína	6.0-8.0	20-75	B, SA
	Ficina	6.5-7.0	25-60	B, SA
	Pepsina	1.5-4.0		B
	Renina	3.5-6.0	40	B

*B*, en lotes; *SA*, adherido a una superficie; *Surf.*, cultivo en superficie; *Sub.*, cultivo en profundidad.

Sin embargo, la cocción a temperaturas que destruyan a las fibras del

colágeno hace que se destruyan las miofibras y que se pierda agua, hechos combinados provocan un endurecimiento de la carne. Alternativamente se pueden usar enzimas proteolíticas. Las enzimas vegetales (papaína, bromelina y ficina) son las que se usan principalmente como ablandadoras, siendo más eficiente la bromelina y la ficina para degradar el colágeno; la papaína y la ficina atacan principalmente la actinmiosina; la bromelina tiene sobre esta proteína un ataque muy leve. La bromelina, la ficina y la papaína solubilizan 51, 37 y 15 % de las proteínas del tejido conectivo, y 33, 54 y 60 % de las proteínas solubles en soluciones salinas.

De acuerdo con su pH óptimo las proteasas se clasifican en proteasas ácidas, neutras y alcalinas. Las ácidas están producidas en su mayor parte por mohos, las neutras y alcalinas por bacterias y enzimas vegetales (Cuadro 1.5).

La papaína y ficina mantienen su estabilidad a elevada temperatura, poseen una especificidad de sustratos amplia (Fellows, 1994).

#### **4.1 Mecanismos de acción de las enzimas proteolíticas**

El mecanismo preciso de acción de las proteasas en la carne no está bien dilucidado, pero se sabe que se ve afectada por el pH, la concentración de la enzima y la temperatura. De hecho las proteasas vegetales adicionadas actúan en la carne durante la cocción (García, 1998).

#### **4.2 Aplicación de las enzimas proteolíticas**

La aplicación de las enzimas en la carne se lleva a cabo por la aspersión de la enzima en polvo o en solución, por inyección o por inmersión de la carne en una solución.

### **4.3 Problemas de aplicación de las enzimas proteolíticas**

El principal problema en el uso de las enzimas proteolíticas es la obtención de una distribución uniforme a través del tejido, la cual se lleva a cabo principalmente por difusión, y que es dependiente del tiempo, la temperatura, la concentración de sal y la concentración de la enzima. En el caso de una inmersión de la carne en una solución de la enzima puede ocurrir una difusión no homogénea que ocasiona que las capas superficiales sean excesivamente suavizadas y presenten una textura lamosa, mientras que en el centro se conserva muy duro (García, 1998).

Otros problemas que pueden ocurrir por la aplicación por inmersión son la decoloración de la carne debido a la excesiva concentración de sal en la superficie y desarrollo de sabores residuales.

La aplicación de enzimas por inyección puede provocar también el desarrollo sobre suavizadas alrededor del sitio de inyección (García, 1998).

## **5. Enzima Papaína**

La papaína es una enzima proteolítica que se extrae de la papaya (*Carica papaya*), es decir, con capacidad para digerir las proteínas de los alimentos, con un peso molecular de 23.000 Da (<http://www.alergoaragon.org/1999/tercera2.html>).

### **5.1. Características de la enzima papaína**

La enzima se consigue por la extracción del látex, que es un líquido blanco obtenido mediante cortes en los frutos inmaduros. La enzima se usa en estado líquido y tiene una duración mínima de seis meses estando refrigerada. La

preparación de crudo de la enzima tiene una amplia especificidad debido a la presencia de proteinasa y las isoenzimas peptidasas (Mala *et al.*, 1998).

La enzima se activa entre pH 5 y 9 siendo estable a una temperatura de 80 a 90 °C en presencia de sustratos de proteínas y aminoácidos (Mala *et al.*, 1998).

Es una proteína constituida por 212 aminoácidos, que se encuentran enrollados en dos partes separadas por un puente que tiene un lugar activo con un grupo tiol (SH) libre. La papaína es una enzima de baja especificidad que hidroliza tanto las proteínas como los péptidos de pequeño tamaño, amidas y esterés. Preferentemente actúa sobre los aminoácidos básicos, leucina, glicina, así como sobre arginina, lisina y fenilalanina (son en enlaces próximos al grupo carboxilo de la fenilalanina). Es activada por la cisteína (aminoácido), el tiosulfato (compuesto de azufre) y el glutatión. Es inhibida o inactivada por iones metálicos (zinc, cadmio, hierro, plomo), oxidantes (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, radicales libres, entre otros) y por agentes que reaccionan con los tioles (ácido ascórbico). La papaína no se absorbe, por lo que únicamente actúa a nivel del tubo digestivo en el humano (Martin, 1999).

#### 5.1.2 Aplicaciones de la papaína en la industria

La cualidad principal de la papaína es el uso como mejorador de las carnes, (ablandamiento), el aclaramiento y evitación de sedimentación en las cervezas por su acción en los enlaces de las proteínas. Además de sus usos en la industria de la carne y la cerveza, esta enzima es requerida en áreas como la farmacéutica y la cosmética (Martin, 1999).

## 5.2 Actividad enzimática de la papaína sobre las carnes

Una de sus características es su contenido de grupos SH, ya que de esto parece depender la actividad de la enzima. Por oxidación ligera se vuelve inactiva, pero es reactivada por agentes reductores, como la cisteína, HCN y otros, incluso los grupos SH en las proteínas que están siendo digeridas por las enzimas parcialmente activas. La papaína es relativamente resistente con el calor, y empleada a temperaturas de 50 a 60°C, es muy rápida la proteólisis.

La enzima coagula fácilmente la leche. Los microorganismos vivos son atacados rara vez por las proteinasas, pero la papaína ataca ciertos parásitos intestinales (áscaris) vivos. Descompone la hipurilamida con desprendimiento de amoníaco (Martin, 1999).

## 5.3 Obtención de la papaína

### 5.3.1 Descripción del proceso de obtención de la papaína. (Figura.6)

Origen: La papaína es una enzima extraída de la Papaya. Esta enzima es similar a la pepsina humana.

Selección de frutos: Se seleccionan frutos verdes y completamente desarrollados, de 3-4 meses de edad aproximadamente.

Extracción del látex: Se efectúan varias sangrías verticalmente en el fruto repetidamente hasta un máximo de 4. Intervalos de cinco a ocho días, hasta que comience a disminuir el látex del fruto, al extremo que justifique la remoción de la fruta del árbol.



Procesamiento del látex: Debe ser secado inmediatamente después de ser extraído del fruto. El proceso puede hacerse a pleno sol o también utilizando un horno a 25°C durante 20 horas.

Presentación del látex: El látex coagulado puede producir el 25 % de su peso en polvo seco, el cual aún contiene 6-10 % de humedad y presenta una coloración blanca.

Almacenamiento: La enzima se vende en estado líquido y tiene una duración mínima de seis meses estando refrigerada.

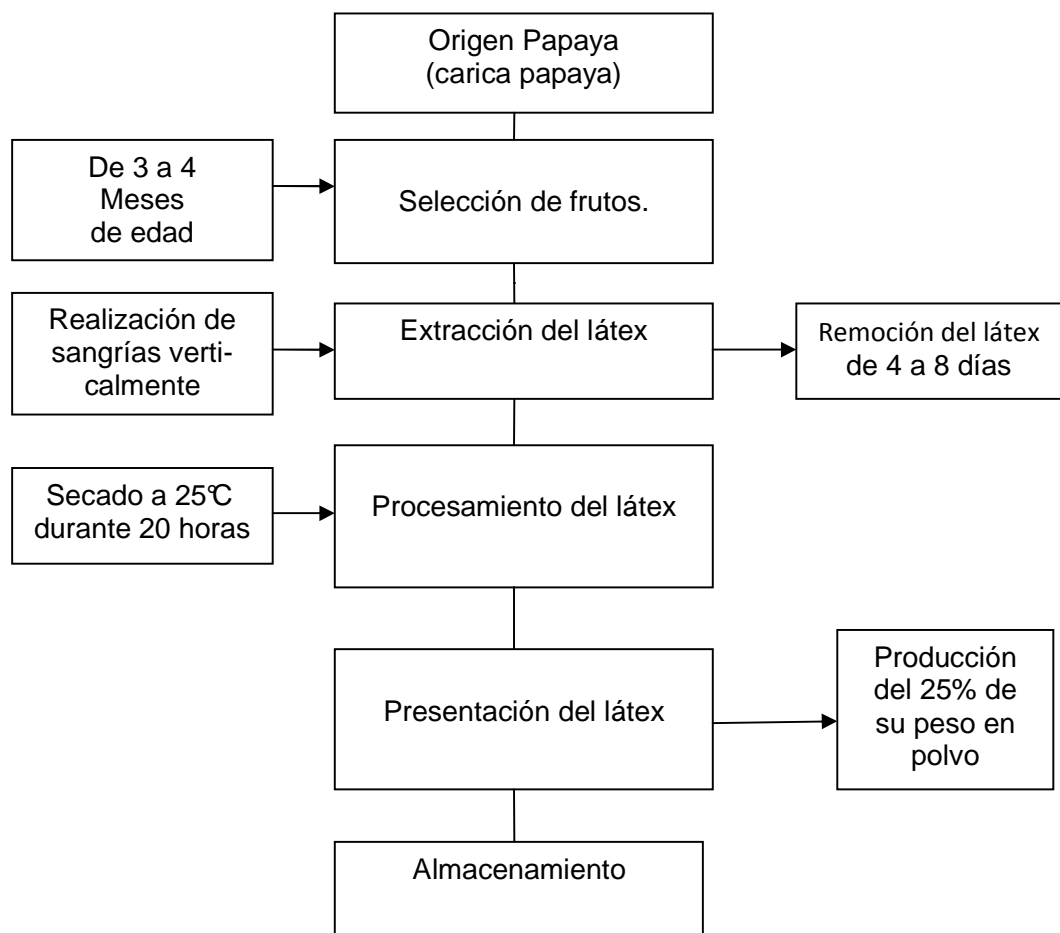


Figura 6 Proceso de obtención de la papaína.

Si el pH sube mas allá de 6.4 existe una gran posibilidad de alteración en

la calidad debido a la presencia de microorganismos (Martin, 1999).

## **6.2 Aplicación de la bromelina en la industria**

Esta ha sido ampliamente conocida y usada en los últimos 10 años. En la industria de alimentos, su mayor aplicación es en el macerado o ablandado de la carne, en el enfriamiento de la cerveza, en productos de proteínas solubilizadas, en desechos de pescados, así como también, en la producción de proteínas hidrolizadas. También ha sido utilizado en propósitos útiles tal como proteínas digestivas para desordenes internos. Los residuos de los tallos de piña, como producto derivado del procesamiento de bromelina, pueden ser usados como un aditivo en alimentos animales y como un medio para el cultivo de plantas tales como orquídeas y plantas de té. Una apreciación del valor del citrato de calcio, producto derivado de la refinación del ácido cítrico, también es un producto derivado en el procesamiento de bromelina. Por lo tanto, la producción industrial de la bromelina tiene un elevado valor agregado (Martin, 1999).

La bromelina CAS 37189-34-7 es una enzima con acción proteolítica (que rompe las moléculas protéicas) para una mejor asimilación de los aminoácidos que las componen. Deshace las proteínas de igual manera que la pepsina, enzima que forma parte del jugo gástrico. Se puede encontrar en comprimidos en tiendas de dietética (Martin, 1999).

Con base en su actividad por unidad de enzima, la bromelina es comúnmente un poco más cara que la papaína pero la diferencia es insignificante comparada con el aumento en la velocidad de la reacción (<http://www.enzymetechnicalassoc.org/enzymes.html>).

### **6.3 Bromelina de fruto**

La bromelina de frutos se obtiene a través de una técnica de precipitación fraccionada; tratándose de una proteína acida, también asociada a una fracción glucídica. Con peso molecular de 18000 Da (Martin, 1999).

### **6.4 Bromelina de tallos**

La bromelina de los tallos contiene mayoritariamente una glucoproteína básica, cuya parte azucarada es un oligosacáridos que no parece indispensable para la actividad proteolítica (Castellano, 1999). La enzima posee un lugar activo con agrupamiento tiol (SH) libre. La bromelina no es seguro que sea una glicoproteína, pero si se trata de una proteasa acida (Martin, 1999).

La bromelina de tallos tiene un peso molecular de 33000 daltons consecuencia de la unión de 285 aminoácidos, contiene un solo grupo sulfhídrico por molécula y se trata de una glicoproteína (Martin, 1999).

### **6.5 Hidrólisis de carne de ave y vacuno por bromelina**

Trozos de carne de vacuno, pavo y pollo se hidrolizaron mediante la adición de bromelina bajo condiciones caseras. Los hidrolizados fueron analizados en cuanto al contenido de proteínas, agua, grasas, ácidos grasos y acidez. El contenido de los hidrolizados de proteínas (por 100 g de carne) fueron de 11 g de carne de vacuno, y 12 g para los pavos y pollos. El hidrolizado de carne de vacuno había 1,4 g de grasa por 100 g de carne. Después de la hidrólisis, el 90 % de los ácidos grasos se mantuvo en el hidrolizado de carne de vacuno, mientras que el 50 % se mantuvo en el hidrolizado de pavo y 70 % en el hidrolizado de pollo. La acidez de la carne

fresca fue ligeramente inferior (pH=5.7) de la acidez de los hidrolizados (pH=4.9) debido a la presencia de la piña, que es un aspecto positivo para la conservación de los hidrolizados (Pinto *et al.*, 1998).

## **6.6 Producción de la bromelina**

La bromelina es separada del jugo de los tallos de piña por precipitación en una solución de metanol mediante un proceso que se describe a continuación:

### **6.6.1 Descripción del proceso de obtención de bromelina**

Existen varios pasos en la manufactura de bromelina: Pre-tratamiento, secado de los residuos, purificación, ultrafiltración, destilación, concentración, secado del producto, y empaque.

**Pre-tratamiento:** las piñas son cosechadas en diferentes localidades y en diferentes épocas del año. La bromelina en el interior de los tallos de piña es extremadamente perecedera, especialmente si es alternativamente congelada y descongelada. Por lo tanto debe ser procesado inmediatamente después de cosechado excepto si emplea extraordinarios y costosos medios de almacenamiento. Los tallos de piña, después de ser peladas, son transportados a la planta de producción de bromelina. Una limpieza minuciosa es requerida cuando llegan a la planta. Excesos de tierra, piedras y basura son removidos. Después de la limpieza, los tallos de piña son pasados a través de un transportador de cadena y lavados por caída en un limpiador de transporte de malla rociando vapor de agua. Luego, ellos son raspados y cortados en trozos para un fácil manejo en la posterior extracción de jugos de tallos. El jugo es separado desde los tallos pasando a través de la prensa de tornillo (Martin, 1999).

Secado de los residuos: Los residuos separados desde el jugo de los tallos de piña son secados por un secador de transporte, luego es mezclado, pulverizado y tamizado para obtener una masa uniforme.

Ultrafiltración: El jugo purificado es bombeado dentro de la unidad ultrafiltradora para producir una separación concentrada e impregnada. Este es requerido por una limpieza C.I.P. y para prevenir la contaminación del filtro. Luego, el concentrado es separado de manera centrífuga en líquidos de fase pesada y fase ligera por un decantado.

Destilación: Los líquidos de fase ligera desde el decantado conteniendo metanol son recuperados en una torre de absorción y destilado, luego es reciclado a través del proceso.

Concentración: La impregnación es formada previamente por calentamiento, evaporación y filtración para obtener cristales de citrato de calcio. Este es el semiproducto de la producción de ácido cítrico. Esta sección puede ser opcional.

Secado del producto y empaquetado: Los líquidos de fase pesada desde el decantado son secados y pulverizados como polvo de bromelina. Los cristales secos pasan a través de una serie de tamices o filtros. Varias máquinas de pesado y empaque automáticas empaquetan la bromelina en bolsas y cajas. (<http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?subid=145&fdname=FOOD+MANUFACTURING&pagename=Planta+de+produccion+de+bromelinaht>)

## **6.7 La degradación específica de la miosina en la carne por bromelina y su comparación con la actividad de la papaína.**

Se comparó la especificidad de la bromelina y papaína para la degradación de la actina y la miosina en la carne. La carne fue tratada con enzimas preparadas al 0.1% de 0-60min a 24 °C y las proteínas, se extrajeron con 6 Molar de urea que contiene 2% dodecil sódico (SDS), la solución, se separó por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE).

El perfil de las proteínas extraídas indica claramente que la papaína degrada la miosina y la actina en grados similares, mientras que la bromelina degrada la miosina preferentemente. Esta distinción podría ser útil en el desarrollo de productos de carnes secados por congelamiento en los cuales cuando se endurece la carne debido al aumento del peso molecular de la carne congelada cuando el puente externo de miosina es minimizado.

La deshidratación es una técnica de conservación ampliamente utilizada para el almacenamiento a largo plazo de los alimentos. La deshidratación por congelación es particularmente útil para conservación de la integridad estructural de los alimentos. Sin embargo, ciertos cambios químicos tienen lugar durante y después de la deshidratación por congelación y dan lugar a cambios indeseables en las propiedades sensoriales.

Por ejemplo, la sequedad y la dureza de la congelación de la carne seca son un problema bien conocido (Harper y Tappel, 1957; Connell, 1956). La carbonilo-amina da una reacción de ennegrecimiento con participación de la glucosa y proteínas, que es sugerido como un mecanismo posible para que los cambios de textura en carnes por deshidratación por congelamiento (Regier y Tappel, 1956). Más recientemente, el puente externo específico de la miosina por la reacción de Maillard fue identificado como la causa principal de

insolubilización de las proteínas en la carne deshidratada por congelamiento (Kim *et al.*, 1984).

También se demostraron que con tal puente externo de miosina podría prevenir con el tratamiento de la carne con los compuestos o ingredientes alimentarios, tales como N- $\alpha$ -acetil-L-lisina o proteína vegetal hidrolizada. Aparentemente, los grupos amino de los aminoácidos son añadidos para competir con el grupo  $\epsilon$ -amino de los residuos de lisina en las proteínas de la glucosa en la carne para inhibir el entrecruzamiento de las proteínas.

Alternativamente, las propiedades de las enzimas hidrolíticas que ablandan la carne podrían ser utilizadas para enmascarar el efecto de la papaína del puente externo de miosina. La ficina y bromelaina son enzimas derivadas de plantas que destruyen proteínas sulfhidrilicas y son usadas en el ablandamiento de carnes (Liener, 1974). La mayor efectividad en la degradación de actina y miosina se ha trabajado mejor con bromelaina y papaína (Miyada y Tappel, 1956; Fogle *et al.*, 1982). Estas más comúnmente usadas, porque la ficina tiene una actividad hidrolítica tan alta que puede darle a la carne una textura demasiado "blanda" (Wells, 1966) también estas enzimas fueron usadas en soluciones de rehidratación para la carne de pollo deshidratado por congelamiento, y se demostró que las enzimas indujeron ternura ya que está relacionada con el destrucción de fibra muscular.

También se demostró que la papaína es más efectiva que bromelaina para ablandar carne de pollo deshidratado por congelamiento; la base molecular para tal distinción fue mejor para la papaina (Kim *et al.*, 1984).

Estas enzimas también pueden usarse para hidrolizar las proteínas de la carne antes de la deshidratación por congelación. Si la miosina, lo cual esta primordialmente involucrado en el puente externo, podría ser preferentemente

degradado en fragmentos más pequeños sin sobre-ablandar la carne, la habilidad de la miosina a interrelacionar podría ser sustancialmente reducida desde la disposición única de barras de miosina en la miofibrilla ya que parece ser responsable para el puente externo (Kim *et al.*, 1984). Además, aun si los fragmentos de miosina se volvieran interrelacionados, el peso molecular de lo resultante no podría ser lo suficientemente alto para dar lugar al endurecimiento de la carne después de la deshidratación por congelación o almacenamiento.

En uno u otro caso, es deseable poder degradar la miosina sin afectar otras proteínas miofibrilares como la actina. El propósito de este experimento fue comparar la especificidad de papaína y bromelaina hacia la hidrólisis de miosina y actina, dos proteínas estructurales principales en la carne.

Desde que la miosina es primordialmente responsable del puente externo y los cambios acompañantes en la textura, es deseable encontrar una enzima que específicamente degradará la miosina. La pureza de papaína y bromelaina que se usaron en el presente trabajo fueron diferentes. Como consecuencia, una comparación cuantitativa de la acción degradativa de estas enzimas en las proteínas miofibrilares de la carne no fue altamente significativa. No obstante, una caracterización cualitativa de la especificidad de estas enzimas en las principales proteínas miofibrilares ha monitoreado cambios en el perfil de la proteína después de la digestión con las enzimas.



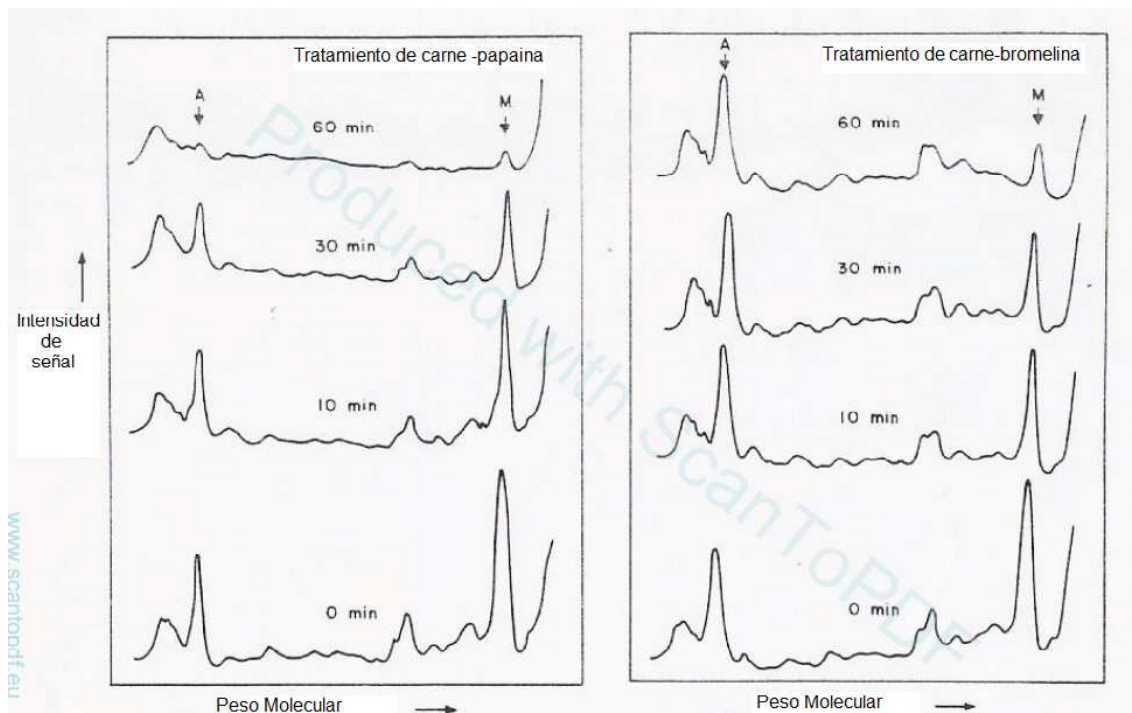


Figura 7. Densitograma SDS, PAGE correspondiente a los perfiles de la extracción de proteínas con Urea 6 Molar, 2% de la solución SDS para el tratamiento de carne con papaína y bromelina a 24°C de 0-60 minutos. La actina y miosina fue designada cadena pesada por A y M, respectivamente.

El *SDS-PAGE* perfilan las proteínas extraídas de las carnes tratadas con las enzimas, y que son mostradas en el densitograma (figura 7). Es claro que, cuándo la carne es tratada con la enzima papaína, ambas cadenas pesadas de miosina y actina son degradadas aproximadamente con la misma eficiencia. La bromelaina parece actuar primordialmente sobre miosina durante los primeros 60 minutos. Cuando las cantidades restantes de miosina y la actina estuvieran medidas en el densitograma, donde los siguientes resultados fueron obtenidos. En la carne tratada con papaína 73% cadenas pesadas de miosina y 75 % del actina quedó después de 10 minutos de digestión; 52% de miosina y 50 % de actina después de 30 min; Y 9% de miosina y 11 % de actina después de 60 min. Por otra parte un, 76, 58 y 25 % de la cadena pesada de miosina se quedaron en la carne tratada con bromelaina después de 10, 30 y 60 min, respectivamente, pero sólo una disminución del 4 % de la actina fue observada después de 60 minutos. Cuando la digestión por bromelaina fue prolongada, la

actina también fue degradada (Kang y Rice, 1970). Estos resultados son consistentes con la observación que la papaína muestra una actividad más fuerte hacia las proteínas miofibrilares que la bromelaina.

La especificidad observada de la bromelaina hacia miosina indica que la puede modificar antes de la deshidratación por congelación con efecto mínimo en otras proteínas estructurales de la carne. Se espera que la insolubilización de la proteína estuviera reducida con el tratamiento de bromelaina en la carne, se comparó con la carne del control cuando fue secada por congelamiento y se sujetó a las condiciones donde el puente externo de miosina ocurriría. Los resultados mostrados (*cuadro 1.6*) indican que proteínas son más extraíbles de al calentamiento, el tratamiento de bromelaina, de la carne secada por congelamiento y la del control tratada con calentamiento. La cantidad de proteína extraíble del control por calentamiento, muestra una disminución en un 42 %, probablemente debido a un puente externo de miosina, comparado con la muestra no caliente del control (Kim *et al.*, 1984). Una disminución similar fue reportada previamente de la cantidad de proteína extraída del tratamiento térmico, de la carne deshidratada por congelamiento y la tratada con bromelaina ,y tuvo una disminución de un 15 %.

Cuadro 1.6 Efecto del tratamiento de bromelaina en la cantidad de proteína. extraído de carne secada por congelamiento antes y después del tratamiento térmico.

<b>Muestra</b>	<b>Tratamiento térmico</b>	<b>La proteína extraíble* (mg/mg de muestra)</b>
Muestra control de carne	Ninguno	0.483
secada por congelamiento	100°C 30 minutos	0.278
Muestra de carne secada por	Ninguno	0.468
congelamiento tratada con bromelaina	100°C 30 minutos	0.396

\*El promedio de medidas duplicadas

Esta observación es consistente con la idea que aquélla podría minimizar la formación de un alto peso molecular de miosina pretratando la carne con bromelaina agregada (Kumar *et al.*1977).

Pretratando la carne con papaína también podría minimizar la formación de agregados de proteínas de altos pesos moleculares, pero no obstante puede conducir a un sobreablandamiento debido a la degradación de la miosina y la actina (Kumar *et al.*1977). El tratamiento de la papaína conduce a un sobreablandamiento y humedad en la carne de cordero deshidratada por congelamiento. Los autores también indicaron que la carne deshidratada por congelamiento tratada con papaína está menos jugosa después de la reconstitución, que el tratamiento de bromelaina o la ficina en la carne. La baja capacidad de retención de agua parece indicar una anomalía completa en la estructura miofibrilar.

El sabor de la carne del deshidratado por congelamiento y del tratamiento con bromelaina también aparece mejor que la carne tratada con papaína. La carne tratada con Bromelaina en un producto líquido dental (*deshidratado por congelamiento para que personas incapaces mastiquen comida sólida*) mostrando menos sabor que la carne en almacenamiento tratada en papaína (Shaw *et al.*, 1985). Un resultado similar fue obtenido para la deshidratada por congelamiento en la carne de cordero (Kumar *et al.*, 1977). La catepsina D del músculo y el bazo también degrada la cadena pesada de miosina sin afectar la actina (Robbins *et al.*, 1979). No obstante, la hidrólisis de la miosina por la catepsina D es mucho más lenta que por la bromelaina (típicamente en 24 horas a 37 °C por la catepsina contra 1 hora a 24 °C por la bromelaina) y la catepsina D es más costosa que bromelaina.

En resumen, la bromelaina es una enzima barata comúnmente usada en comidas que puede degradar a la miosina sin afectar a la actina. Puede ser útil

para la buena calidad, consistencia, de productos de carne secados por congelamiento. Las condiciones para el tratamiento de tal enzima son, el tiempo y la temperatura de digestión, y el método de aplicación de la enzima necesaria para la determinación óptima de textura y sabor de los productos de carne deshidratada por congelamiento.

## **7. Enzima ficina**

### **7.1 Características de la ficina**

Es un conjunto de proteasas aisladas del látex de al menos trece especies diferentes de *Ficus* (*Moraceae*), en especial de *F. carica* L. y *F. glabrata* H.B.K. Partiendo del látex desecado de esta última especie y por precipitación fraccionada con un gradiente de cloruro de sodio se obtienen 5 componentes enzimáticamente activos, que aumentan a seis mediante el empleo de otras técnicas de fraccionamiento salino junto con cromatografía de partición y gel-filtración (Martin, 1999).

Se ha señalado que la ficina cristalina mantenida a 50°C durante dos horas tiene un rango de estabilidad máximo entre pH 4.5 y 9.5. Las condiciones de óptima actividad al usarse distintos sustratos sintéticos se logran en todos los casos a pH 6.5.

El peso molecular es de alrededor de 26,000 daltons y el punto isoeléctrico es unos casos 9 y en otros casos superior a 9.6. La actividad aumenta notoriamente con el uso de agentes quelantes y sustancias reductoras, ya que ficina pertenece al grupo de las sulfhidrílicas (Martin, 1999).

Presenta una limitada secuencia de aminoácidos en la vecindad inmediata

del grupo sulfhídrico reactivo.

La ficina es una glucoproteína, donde la fracción glucídica recuerda en muchos aspectos al glucopéptido aislado de bromelina (Martin, 1999).

## **8. Nombre comercial de enzimas utilizadas para el ablandamiento de carnes**

Como el nombre lo implica, estas enzimas se usan para tratar cortes de carne duros y hacerlos más aceptables a los consumidores. Además de la res, el puerco y el pollo, estas enzimas pueden usarse en mariscos tales como el calamar o las almejas.

### ENZECO® BROMELAIN

Proteasa de la piña (*Ananás comosus*) caracterizada por su hidrólisis selectiva controlada en un amplio rango de condiciones.

### PANOL® PURIFIED PAPAIN

Papaína en polvo soluble purificada y estandarizada a partir de la papaya (*Carica*). Hidroliza rápidamente una gran variedad de proteínas en un amplio rango de condiciones.

### LIQUIPANOL® T100

Papaína líquida especialmente formulada.

### ENZECO® DUAL PROTEASE

Combinación especial de bromelina y papaína disponible en polvo. Particularmente útil para suavizar mariscos tales como el calamar y las almejas.

### ENZECO® FICIN 100

Derivada del látex de la higuera (*Ficus glabrata*) tiene un índice de reacción rápida y una temperatura baja de inactivación.

### ENZECO® FUNGAL PROTEASE 300

Enzima proteolítica de origen fúngico, altamente concentrada y producida a partir del *Aspergillus Oryzae*. Disponible en polvo a una concentración de 300,000 HUT/gramo.

### ENZECO® NEUTRAL BACTERIAL PROTEASE 160K

Derivada del *Bacillus subtilis*, esta preparación enzimática fue aprobada para su uso como suavizador de carnes en 1999. La enzima tiene temperaturas de inactivación similares a la ficina pero es mucho menos cara y más fácil de conseguir.

## CONCLUSIONES

La información obtenida de la investigación del siguiente trabajo permite concluir que las enzimas vegetales proteasas permiten obtener un óptimo ablandamiento de la carne, de igual manera que las enzimas de origen bacteriano y fúngico utilizadas para este fin de acuerdo a su capacidad ablandadora en las diferentes proteínas que realizan la contracción muscular que resulta del proceso químico del post mortem.

Así mismo se obtuvo en un estudio donde fue comparada la especificidad de la bromelaina y la papaína sobre la miosina en la carne; donde la bromelaina actúa con mayor especificidad en la proteína miosina que en la proteína actina dando una mejor textura de ablandamiento de la carne deshidratada por congelación, donde también la papaína resultó más eficaz en el ablandamiento de la carne de pollo, actuando la enzima ficina sobre la proteína actomiosina con la misma especificidad que la papaína.

Siendo así la enzima bromelaina la que tiene una mejor velocidad de hidrólisis de proteínas, teniendo también un bajo costo en su obtención que la ficina y papaína.

## BIBLIOGRAFÍA

- Badui D. S. 1996. Química de los Alimentos, Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V., p. 205-208, 94-104, 284-319.
- Buttazzoni S. Martha. Caffini O Néstor. 1982. Panorama Actual de las Enzimas Vegetales Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Exactas. Universidad de la Plata. Argentina.
- Castellano, M.1999. El cultivo de la piña. Madrid, España. Consultado el 2 de septiembre de 2009 disponible en: <http://ns1.oirsa.org.sv/Castellano/DI05/Di0510/Di051007/I-pi%C3%B1a.htm>
- Fellows P.1994. Tecnología del Procesado de los Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España. P 175-178.
- García Garibay, M., Quintero, R. R., López Munguía, A. 1998. "Biotecnología Alimentaria". Ed. Limusa. México. p 231.
- Harper, J.C. y Tappel, A.L. 1957. Freeze-drying of food products. Adv. Food Res., 7, 171-234.
- Kang, C. K y Rice, E. E. 1970. Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes. J. Foods Sci., 35, 563.
- Kim, H. J., Loveridge, V. A y Taub, I. A 1984. Myosin cross-linking in freeze-dried meat. J. Food Sci., 48, 699-703.



- Kumar, D., Sharma, T. R. Nath, H. 1977. Biochemical, physical and organoleptic studies on production of enzyme tenderized A.F.D. goat meat chunks. J. Food Sci., Technol., 14, 257-60.
- Lawrie, R. 1998. Ciencia de la carne. Ed. Acribia. Zaragoza 3ra ed. p 105-113.
- López de la Torre G. Carballo G.M.M. Manual de bioquímica y tecnología de la carne. Ed. Vicente Madrid, Madrid España.1991.
- Mala B. Rao, Aparna m. Tanksale, Mohini S. Ghatge, and Vasanti V. Deshpande. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. Microbiology and Molecular Biology Reviews vol. 63. p. 597–635
- Martin, J. 1999. Uso y aplicación de enzimas vegetales. Buenos Aires Argentina. Consultado el 2 de Septiembre de 2009 disponible en: <http://ns1.oirsa.org.sv/Castellano/DI05/Di0510/Di051007/I-pi%C3%B1a.htm>
- Miyada, D. S. Tappel, A. L. 1956. The hydrolysis of beef proteins by various proteolytic enzyme. Food Res., 21 217-25.
- Montes H.C., Magaña I.P. 2002. Enzimas con Aplicación Industrial. Avances y Perspectivas. Vol. 21, p. 279-282.
- Ordoñez P. J. A.; Cambero R. Ma. I. 1998. Tecnología de los Alimentos Vol. II. Alimentos de Origen Animal. Ed. Síntesis. 209p.
- Ortega Magaña I. 1998. Avance y Perspectiva Vol. 2. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV.
- Pinto S. María E., Masilla N. Rosa. Cusin F. Departamento de Nutrición de la Escuela de Salud Pública de la USP, Brasil

- Prandl, O. Fischer, A.; Schimidhofer, T; Sinel, H.1994. Tecnología e higiene de la carne. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 851p.
- Price, James F. Schweigert, Bernards. 1994. Ciencia de la carne y de los productos carnicos. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España. P. 978.
- Quiroga, G.; J. García de Salas; J. López. 2001. Manual para el Curso-Taller: Tecnología de carnes y productos cárnicos. FAO. p 8-12.
- Regier, L. W. Tappel, A. L. 1956. Freeze-dried meat. 3. Nonoxidative deterioration of freeze-dried beef. Food Res., 21, 630-9.
- Robbins, F. M., Walker, J. E., Cohen, S. H., Chatterjee, S. 1979. Action of proteolytic enzymes on bovine myofibrils. J. Food Sci., 44, 1672-7, 1680.
- Shaw, C., Dorval-Gagne, S., Graham, M., Dunne, C. P. 1985. Utilization of enzymes in meat powders for liquids feeding. Presented at the 45<sup>th</sup> Annual IFT Meeting, Atlanta, GA.
- Toparek, M. 1984. Bioquímica, 3ª Edición, Nueva Editorial Interamericana, S.A de C.V. p. 254.
- Wells, G. H. 1966. Tenderness of freeze-dried chicken with emphasis on enzyme treatments. PhD thesis, Michigan State University, University Microfilms, Ann Arbor, MI.

### **Citas Internet**

Planta de Producción de Bromelina (ENZIMA PROTEOLÍTICA) disponible en:  
<http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?subid=145&fdname=FOOD+MANUFACTURING&pagename=Planta+de+produccion+de+bromelinah>  
<http://www.alergoaragon.org/1999/tercera2.html>

Recibido 11 de febrero 1998, revisado 17 de noviembre 1998, aceptado el 27 de julio de 1999. ; En línea disponible 27 marzo de 2002.

<http://biotecnologiad sobremesa.blogspot.com/2009/05/enzimas-para-la-terneza-y-madurez-de-la.html>

<http://es.wikipedia.org/wiki/Papa%C3%ADna>

<http://iluro-paradise.blogspot.com/2008/03/la-pia-fruta-aliada-del-culturista.html>

Enzyme Development Corporation, Enzimas tradicionales para la industria panificadora proteasas.

Enzyme for food animal feed, <http://www.enzymetechnicalassoc.org/enzymes.html>