CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ENZIMAS

Marcela García Antuñano
Asociación Americana de Soya A.C.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores biológicos y llevan a cabo reacciones químicas a muy altas velocidades y con un elevado grado de especificidad; en su ausencia, la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían.

Todos los animales y vegetales, al igual que los hongos, levaduras y bacterias sintetizan las enzimas; de hecho, su acción está estrechamente ligada con cualquiera de las etapas biológicas de todos lo tejidos activos. Debido a esto, los alimentos contienen una gran variedad de enzimas endógenas que les provocan cambios benéficos o dañinos, además de las que provienen de las distintas contaminaciones microbianas. Por esta razón, es muy importante conocer las diversas actividades enzimáticas de cada producto, para así obtener ventajas de ellas y evitar los problemas indeseables que puede traer consigo su presencia.

La enzimología, así como las tecnologías que emplean enzimas, pertenecen a la era moderna; sin embargo, su uso para la producción de alimentos se remonta a muchos siglos atrás. El vino lo conocían los egipcios y los asirios 3,000 años antes de Cristo, pero fue sólo hasta el siglo pasado cuando se descubrieron los mecanismos de la fermentación. En la antigüedad, muchos pueblos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver diferentes derivados cárnicos; eso facilitaba la acción de las proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) sobre las proteínas animales, y se provocaba el ablandamiento de la carne. Asimismo, algunas tribus utilizaban el estómago de corderos y becerros para elaborar alimentos menos perecederos a partir de la leche de distintas especies; ahora se sabe que la acción de la renina sobre las caseínas provoca la coagulación de la leche, que es uno de los primeros pasos en la manufactura de la mayoría de los quesos conocidos.

Actualmente se conoce la existencia de más de 2,000 enzimas, de las cuales muchas ya han sido aisladas, purificadas y cristalizadas; su estructura química es de carácter proteínico globular. Su especificidad de catálisis es única, pues es mucho mayor que la de la gran mayoría de otros compuestos orgánicos e inorgánicos que se emplean en los distintos procesos industriales. En relación con su velocidad de acción, algunas de ellas tienen la capacidad de transformar más de un millón de moléculas de sustrato por segundo, por molécula de enzima: cabe indicar que al igual que otros catalizadores, sólo aceleran la velocidad de aquellas reacciones que termodinámicamente son posibles.

Todas las enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular, están formadas generalmente por una sola cadena polipeptídica y sólo logran ser activas cuando los polímeros desarrollan una conformación que permite establecer su centro activo.

Debido a su naturaleza química, las enzimas son afectadas por los mismos factores que alteran a las proteínas; por esta razón, cada una de ellas, para actuar en forma óptima, requiere de ciertas condiciones como la temperatura, el pH, la fuerza iónica, etc.

CARACTERÍSTICAS

Especificidad

La gran mayoría de las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones más o menos específicas; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto, que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como sustrato.

El tipo de especificidad de una enzima puede ser:

a) **Especificidad estereoquímica:** Uso de D o L isómeros como sustrato
b) **Baja especificidad**: Cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato
c) **Especificidad absoluta:** Es la más común y consiste en que la enzima utiliza como sustrato una sola sustancia específica. La especificidad estereoquímica se refiere al uso de de D o L isómeros como sustrato. La baja especificidad se presenta cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato. La especificidad absoluta es la más común y consiste en que la enzima utiliza como sustrato una sola sustancia muy específica.

Nomenclatura

Desde sus inicios, la nomenclatura enzimática ha sido poco sistemática y carece de los lineamientos necesarios para darles nombres adecuados. Existen muchas enzimas cuyos nombres no ofrecen ninguna información sobre su actividad o sus propiedades, como es el caso de la tripsina, la quimiotripsina, la pepsina y algunas otras. Unas se han designado con el nombre del descubridor, otras, como la papaína, de acuerdo con su procedencia (papaya), y en otros casos, como la lactasa, según el sustrato que utilizan, que en este caso es la lactosa.

En general, podemos dividir a las enzimas en 6 grupos dependiendo del tipo de reacción que catalizan:

1) **Oxidóreductasas**: catalizan reacciones de oxidorreducción
2) **Transferasas**: promueven transferencias de distintos grupos químicos
3) **Hidrolasas**: llevan a cabo la ruptura de enlaces químicos con la introducción de una molécula de agua.
4) **Liasas**: rompen los enlaces sin la participación de agua
5) **Isomerasas**: catalizan las isomerizaciones de distintos compuestos
6) **Ligasas**: promueven la unión de dos moléculas.

Sitio activo
Dentro de una enzima no todos los aminoácidos intervienen en la catálisis de la reacción, ya que en la mayoría de los casos sólo unos pocos son responsables de esta función, por lo que es posible, en ocasiones, eliminar parte de la cadena polipeptídica sin que se pierda la actividad. **El sitio activo** de una enzima es aquella porción de la proteína que participa directamente en la unión y la transformación del sustrato; está integrado por ciertos aminoácidos selectos que integran un microambiente característico dentro de la propia cadena y que llevan a cabo la reacción; generalmente existe sólo uno por molécula de enzima.

Las enzimas adquieren su poder catalítico cuando presentan una estructura secundaria y terciaria muy específica, de tal manera que los aminoácidos correspondientes del sitio activo se encuentran en posición vecinal estableciendo dicho microambiente.

Al igual que las proteínas, las estructuras que conforman a las enzimas están estabilizadas por puentes de hidrógeno, uniones iónicas e hidrófobas y en algunos casos enlaces disulfuro. La acción de temperaturas extremas (altas o bajas), de disolventes, de condiciones drásticas de pH y fuerza iónica, así como varios agentes químicos produce la desnaturalización de la enzima, lo que origina que pierda su actividad. Cuando el efecto del agente desnaturalizante no es muy intenso, se puede regenerar nuevamente su actividad al adquirir otra vez su estructura tridimensional de origen.

Actividad enzimática
Las enzimas catalizan reacciones biológicas y al igual que otros catalizadores influyen en la velocidad a la cual se alcanza el equilibrio sin afectar propiamente el equilibrio global; en estas circunstancias, las transformaciones químicas se llevan a cabo mediante una ruta que requiere menos energía libre. En otras palabras, si se emplean enzimas se necesita menos energía que cuando se usan catalizadores inorgánicos.

La potencia o actividad de una enzima no puede medirse en términos de su concentración, ya que puede estar presente pero en forma desnaturalizada; por esta razón, se emplea la unidad internacional de actividad enzimática, definida como cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto una micromol de sustrato por minuto, en las condiciones óptimas de pH y temperatura; la concentración de sustrato deberá ser aquella en que la enzima se encuentre actuando con su velocidad máxima, lo que equivale a las condiciones de saturación.

La velocidad de una reacción enzimática depende de la concentración de enzima y cuando el sustrato está en exceso existe una relación entre dicha velocidad y la concentración de enzima.

Efecto del pH
La actividad de las enzimas depende mucho de la concentración de iones de hidrógeno del medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos del sitio activo, del sustrato o del complejo enzima-sustrato; todo esto llega a influir en la afinidad que tenga la enzima por el sustrato. Por esta razón, todas las enzimas, presentan una

máxima actividad catalítica a un cierto valor óptimo de pH, en un intervalo de 5 a 8. Los valores extremos de pH causan la inactivación de las enzimas ya que se induce su desnaturalización.

Efecto de la temperatura

Como sucede con la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de las reacciones enzimáticas aumenta con la temperatura, pero sólo en el intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en casos extremos, cuando se incrementa mucho la temperatura, se favorece la desnaturalización y consecuentemente, esta proteína pierde su capacidad catalizadora. Por esta razón, cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual se logra la mayor actividad; la mayoría tiene su óptimo entre 30 y 45º C y se inactiva a más de 55º C. La desnaturalización puede ser reversible o irreversible, por lo que la enzima, en ciertas condiciones, llega a recuperar su función después de un tratamiento térmico.

Fuerza iónica

La fuerza iónica altera la estructura tridimensional de las enzimas, lo que trae consigo modificaciones del centro activo. Por su parte, la mayoría de los biopolímeros requiere de agua para desarrollar su conformación estable con características de agente biológicamente activo; sin embargo, algunas enzimas llegan a actuar con un mínimo de agua, como es el caso de las lipasas.

Por otra parte, los metales, pesados como mercurio, plata y plomo, inhiben la acción enzimática, mientras que el calcio, el magnesio, el sodio, el potasio, el manganeso, el hierro y el zinc actúan como agentes activadores de muchas otras. Este efecto activador se debe probablemente a que forman parte del sito activo, a que se requieren para la creación del complejo enzima-sustrato, o a que ayudan a mantener la conformación tridimensional.

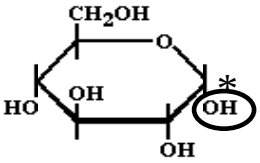
La pérdida de la actividad de las enzimas implica un proceso de desnaturalización, que en ciertas condiciones, puede ser reversible y provocar, por consiguiente, la regeneración de su poder catalítico. La reactivación se puede llevar a cabo dependiendo de la complejidad de las estructuras secundaria y terciaria de la enzima y de la exposición al agente desnaturalizante. La posibilidad de la regeneración enzimática se reducirá en la medida en que la conformación de la proteína sea más compleja y mientras más intenso sea el efecto de la desnaturalización.

En general, la velocidad con la que se llevan a cabo estas transformaciones varía considerablemente con cada enzima, aunque los tratamientos térmicos a que se sometan sean semejantes.

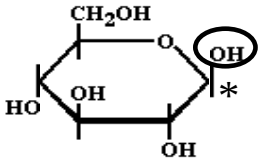
CARBOHIDRATOS

Estrucutra

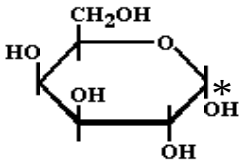
Los monosacáridos son moléculas de peso molecular relativamente bajo que contienen cinco o seis átomos de carbono



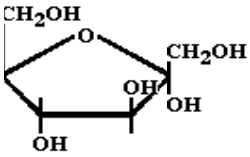
α-D-Glucosa



β-D-Glucosa

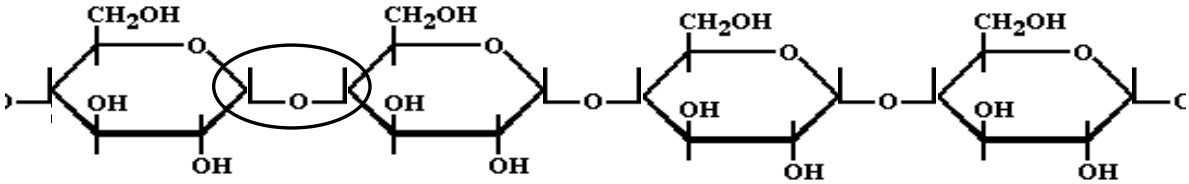


α-D-Galactosa

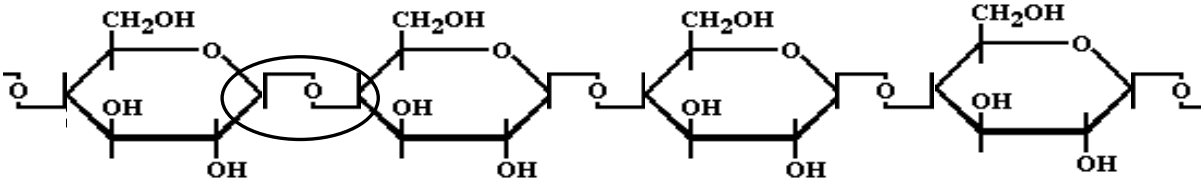


α-D-Fructosa

Azúcares simples



AMILOSA, ***Poli [α-D-Glcp (1→4)- α -D-Glcp]***



CELULOSA, ***Poli [β-D-Glcp (1→4)- β -D-Glcp]***

Polisacáridos

Los carbohidratos constituyen las tres cuartas partes del peso seco de todas las plantas terrestres y marinas, y están presentes en todos los granos, verduras, hortalizas y frutas. La principal fuente de energía en los cereales es el almidón. El almidón es un carbohidrato compuesto por moléculas de glucosa y está localizado en el endospermo de la semilla. El endospermo está envuelto por una capa aleurónica, la cual es una capa de células con paredes celulares muy gruesas. Esta capa aleurónica contiene enzimas que están involucradas en la liberación de nutrientes del endospermo durante la germinación. La capa aleurónica está cubierta por varias capas de células conocidas como pericarpio. Todas estas capas contienen polisacáridos no almidonosos, compuestos fenólicos, pectinas y proteínas. Los polisacáridos no almidonosos incluyen celulosa, arabinoxilanos, beta-glucanos y pectinas. La celulosa está también compuesta por series de moléculas de glucosa, pero ligadas entre sí por enlaces beta-glicósidos, los cuales no pueden ser hidrolizados por los animales. Los beta-glucanos son también polímeros de glucosa con enlaces ß-glucosídicos. Las paredes celulares del pericarpio, de la capa aleurónica y el endospermo contienen diferentes proporciones de cada uno de los componentes anteriormente mencionados. La pared celular del endospermo es la menos fibrosa de los tres, por lo tanto, se rompe fácilmente durante el procesamiento del alimento.

Material	Total	Composición de Polisacáridos No Almidones					
		Celulosa	Polisacáridos No Celulósicos (*Monómeros*)				
			Arabinosa	Xilosa	Galactosa	Glucosa	Otros
Trigo, grano							
PNA Soluble	2.4	-	0.8	1.0	0.2	0.4	0.0
PNA Insoluble	9.0	2.0	2.5	3.8	0.1	0.4	0.2
Total	11.4	2.0	3.3	4.8	0.3	0.8	0.2
Centeno, grano							
PNA Soluble	4.6	-	1.4	2.0	0.1	0.9	0.2
PNA Insoluble	8.6	1.5	2.1	3.4	0.2	1.1	0.3
Total	13.2	1.5	3.5	5.4	0.3	2.0	0.5
Cebada, grano							
PNA Soluble	4.5	-	0.5	0.3	0.1	3.6	0.0
PNA Insoluble	12.2	3.9	2.3	4.8	0.1	0.7	0.4
Total	16.7	3.9	2.8	5.1	0.2	4.3	0.4
Trigo, afrecho							
PNA Soluble	3.2	-	1.0	1.6	0.1	0.2	0.3
PNA Insoluble	38.4	8.0	8.8	17.2	0.6	2.8	1.0
Total	41.6	8.0	9.8	18.8	0.7	3.0	1.3

Adaptado de Englyst, 1989.

USO DE ENZIMAS EN NUTRICIÓN ANIMAL

De las miles de enzimas que existen sólo algunas se producen en escala industrial para emplearse en la manufactura tanto de alimentos como de las materias primas para su elaboración. Cada día aumenta el número de reacciones que se efectúan por rutas enzimáticas y esta tendencia seguramente aumentará a medida que existan más catalizadores de este tipo en el mercado a precios accesibles.

El empleo de enzimas tiene muchas ventajas: a) son de origen natural y, por lo tanto, no deben ser tóxicas; b) son muy específicas en su manera de actuar, por lo que no propician reacciones secundarias indeseables; c) funcionan en condiciones moderadas de temperatura y pH y no requieren de condiciones de procesamiento drásticas que puedan alterar la naturaleza del alimento; d) actúan a bajas concentraciones.

Al igual que cualquier otro aditivo alimentario, las enzimas deben cumplir con determinadas especificaciones de calidad, sobre todo en cuanto a su toxicidad, o la del microorganismo que la produce, en caso de que sea de origen microbiano.

Las enzimas industriales son de origen animal, vegetal y microbiológico, pero las más abundantes son las últimas. Tanto los hongos como las levaduras y las bacterias que

se emplean para este fin tienen muchas ventajas en la producción de estos catalizadores, ya que incluso se les puede alterar el sistema regulador de síntesis para que produzcan más cantidad. Dentro de los microorganismos más importantes en la producción de enzimas destacan *Aspergillus níger, A. oryzae y Bacillus subtilis,* que han demostrado un alto rendimiento.

A mediados de los años 80's, la adición de enzimas al alimento balanceado empezó en regiones en donde la disponibilidad de ingredientes con alta digestibilidad, como el maíz, era limitada. Los primeros productos resultaban muy costosos para ser utilizados ampliamente; sin embargo, esto ha cambiado. Como resultado de una intensa investigación, los productos enzimáticos ahora son comúnmente empleados. Las enzimas en el alimento incrementan la digestibilidad de los nutrientes, con el fin de mejorar la nutrición del animal. Asimismo, el uso de enzimas contribuye a minimizar el impacto ambiental de la creciente producción animal.

Además de los mencionados anteriormente, los principales factores que afectan la eficiencia de las enzimas cuando son utilizadas como aditivos en el alimento para animales son:

- Presencia del respectivo sustrato
- Estabilidad durante el peletizado y el almacenamiento (temperatura)
- Resistencia ante la acidez gástrica y ataque proteolítico (pH óptimo)
- Espectro de la actividad enzimática
- Edad del animal

En el caso de las aves, las principales razones para la adición de enzimas en la dieta son las siguientes:

- Aumentar la energía metabolizable
- Incrementar la utilización de los minerales, especialmente fósforo.
- Mejorar la conversión alimenticia
- Incrementar la velocidad de crecimiento
- Disminuir la viscosidad intestinal
- Inactivar factores antinutricionales que tienen un efecto negativo en el desarrollo del aves

Polisacáridos no almidonosos

Las aves y otros monogástricos producen enzimas pancreáticas e intestinales, las cuales son capaces de utilizar el almidón de endospermo de los cereales. Sin embargo, no producen enzimas capaces de hidrolizar los polisacáridos no almidonosos. Estos son considerados compuestos antinutricionales, no obstante, son importantes debido a que: 1) son potenciales fuentes de energía debido a que están compuestos por azúcares simples; 2) pueden inhibir el acceso a importantes nutrientes como proteínas, minerales y carbohidratos solubles; 3) forman geles viscosos que cuando están hidratados incrementan la viscosidad intestinal.

Las técnicas de procesamiento como el peletizado y el extrudido no previenen los efectos negativos causados por los polisacáridos no almidonosos, por lo que la atención es puesta en los arabinoxilanos y en los ß-glucanos como responsables de impedir la digestión por el incremento en la viscosidad intestinal. Si la dieta contiene cereales como trigo, avena, cebada, centeno, los cuales tienen altos niveles de polisacáridos no almidonosos, es recomendable adicionar enzimas que hidrolicen estos compuestos. Las enzimas pueden ser adicionadas como “complejo enzimático”, productos que tienen enzimas con diferentes actividades, o “enzimas especificas”, productos con una determinada actividad enzimática para un sustrato en particular.

Ácido fítico (figura 1)

El ácido fítico es un compuesto presente en todas las plantas. Constituye del 1 al 5 % en peso de la mayoría de los cereales. Durante la germinación, una enzima específica, la fitasa, cataliza la liberación de los grupos fosfato (fósforo) de la molécula de ácido fítico. Los seis residuos de ácido fosfórico en el ácido fítico presentan una fuerte afinidad por minerales cargados positivamente. En las semillas, por lo tanto, el ácido fítico normalmente se encuentra como una mezcla de sales de magnesio, calcio y potasio. Otros minerales como zinc, cobre, cobalto y hierro pueden formar quelatos con el ácido fítico. Las sales formadas con estos minerales y el ácido fítico se llaman fitatos. Los fitatos pueden formar complejos con las proteínas y los minerales. Por lo tanto, cuando estos complejos están presentes se reduce la actividad de las enzimas digestivas así como la digestibilidad de la proteína en la dieta. Es por esta razón que los fitatos son considerados un factor antinutricional (cuadro 1).

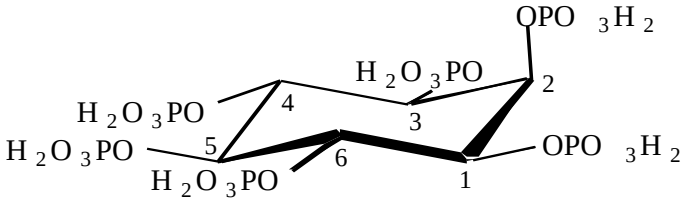


Figura 1. Estructura química del ácido fítico

Algunos ingredientes como el trigo, la cebada y el trigo entero contienen niveles altos de fitasa, mientras que en el maíz, sorgo y avena la actividad de la fitasa es muy pequeña o no está presente. La utilización de ingredientes con altas concentraciones de fitasa activa en la dieta incrementará en cierto grado la utilización de fósforo de fitato. Sin embargo, la edad del grano, las condiciones de procesamiento y almacenaje pueden afectar la actividad enzimática. Además, la fitasa puede ser destruída por las condiciones de pH en el estómago del animal. Por esta razón, la biodisponibilidad del fósforo en las dietas es muy baja.

La mayoría de las preparaciones comerciales de fitasa son de origen microbiano. La utilidad del uso de las preparaciones comerciales de la fitasa en la liberación del fósforo

de fitato ha sido un área de gran interés en los últimos años. Estudios recientes en aves han demostrado la eficacia de muchas preparaciones comerciales de fitasa en el aumento de la disponibilidad del fósforo de fitato y la disminución de la excreción de fósforo en heces. Si no se adiciona fitasa exógena a la dieta, es necesario suplementar con fósforo inorgánico. Como resultado, mucho más fósforo será excretado provocando problemas asociados con la acumulación de fósforo en el medio ambiente. Existen reportes en donde se menciona que el incremento en la utilización de fósforo cuando se utiliza fitasa en la dieta va del 20 al 50%.

Cuadro 1. Concentración de fitato y de fósforo fitico en diferentes ingredientes de origen vegetal.

Ingrediente	Fitato (P) %	Fitato (P) % de P total
Cereales y sub-prod.		
Maíz	**0.24**	**72**
Trigo	**0.27**	**69**
Sorgo	**0.24**	**66**
Cebada	**0.27**	**64**
Avena	**0.29**	**67**
Salvado de trigo	**0.92**	**71**
Oleaginosas		
P. Soya	**0.39**	**60**
P. Canola	**0.70**	**59**
P. Girasol	**0.89**	**77**
P. Cacahuate	**0.48**	**80**
P. Algodón	**0.84**	**70**

BIBLIOGRAFÍA

Badui, S. “Química de los Alimentos” Ed. Alambra Mexicana. Segunda Edición 1990

Miles, R., Jacob, J. “Feed enzymes in poultry diets: an overview of their action”. Asociación Americana de Soya. Memorias presentadas en el curso RAPCO en avicultura 2004, San José, Costa Rica.

Miles, R., Jacob, J. “Enzymes in poultry diets: The use of polysaccharidases” Asociación Americana de Soya. Memorias presentadas en el curso RAPCO en avicultura 2004, San José, Costa Rica.

Miles, R., Jacob, J. diets ”Enzymes in poultry feed enzymes in poultry diets: Phytase”. Asociación Americana de Soya. Memorias presentadas en el curso RAPCO en avicultura 2004, San José, Costa Rica.

Miles, R., Jacob, J. diets ”Phytic Acid: The rest of the story”. Asociación Americana de Soya. Memorias presentadas en el curso RAPCO en avicultura 2004, San José, Costa Rica.

Miles, R., Jacob, J. diets: ”Feed enzymes: Their usage in poultry diets is increasing”. Asociación Americana de Soya. Memorias presentadas en el curso RAPCO en avicultura 2004, San José, Costa Rica.