V

ESTRUCTURA FÍSICO-QUÍMICA DEL AGUA DE LOS ALIMENTOS

Discurso de ingreso en la Academia de Ciencias Veterinarias de Sevilla

FRANCISCO SEGOVIA GARCÍA

El Dr. Segovia, lee su discurso de ingreso. Le contesta el Prof. Mateos-Nevado

Como es sabido, el agua constituye el principal componente de todos los sistemas biológicos. El tejido muscular, por ejemplo, puede contener hasta un 70 % de agua; los frutos y las verduras llegan al 90 %; y las medusas sobrepasan esta cota, pudiendo considerárselas como geles vivientes.

Pero los biólogos, a pesar de esta profusión de agua, prácticamente la habían ignorado. Así pues, Szenze-Gyorgi decía en 1960 que la ignoraban al igual que los peces que viven inmersos en ella.

Hace pocos años, era considerada como un elemento inerte y el comportamiento de ella quedaba limitado a su definición: líquido incoloro, inodoro e insípido.

Los biólogos, no obstante, la juzgaban como algo más importante, al aplicarle el conocido c*orpora no agut nisi soluta* -los cuerpos no reaccionan si no están disueltos-. Se supo después su papel, no solo ante los solutos, sino ante las micelas coloidales. Pero a pesar de todo, el agua no pasaba de ser un simple vector de otros elementos.

El agua, cuantitativamente, es el componente más importante de los alimentos de procedencia animal, influyendo en el valor alimenticio de ellos por unidad de peso, en el valor económico, en el estado físico y en sus características reológicas. Aparte de su importancia cuantitativa en la tecnología de los alimentos, tiene gran interés funcional en relación con la conservación de los mismos, su estabilidad frente a la acción de los microorganismos y algunos procesos de conservación, como es la congelación y la descongelación.

LA MOLÉCULA DE AGUA

La molécula de agua se halla constituida por un átomo de oxígeno unido covalentemente a dos átomos de hidrógeno. Los enlaces covalentes

forman un ángulo aproximadamente de 109º, y la distancia entre el oxígeno y cada uno de los átomos de hidrógeno es de 196 Aº.

El átomo de oxígeno es sumamente electronegativo -por su electronegatividad, ocupa el segundo puesto en la tabla periódica de los elementos a continuación del Flúor- y en consecuencia tiene afinidad por los protones, comportándose como si tuviese carga eléctrica negativa de -2. Las fuerzas atractivas correspondientes a estas dos cargas se encuentran dispuestas simétricamente con respecto a los enlaces covalentes:

Si se considera que el átomo de oxígeno de una molécula de agua se encuentra situado en el centro geométrico de un tetraedro, los enlaces covalentes y las fuerzas atractivas correspondientes a las cargas negativas se hallarán dirigidas hacia los vértices del mismo.

Las cargas negativas del oxígeno de una molécula de agua y el hecho de que los dos átomos de hidrógeno se comporten como protones, juntamente con la asimetría de la molécula de agua, hacen que ésta se comporte como un dipolo que se orienta de una forma determinada cuando se encuentra en un campo eléctrico -el átomo de oxígeno hacia el anodo, y los átomos de hidrógeno hacia el catodo-.

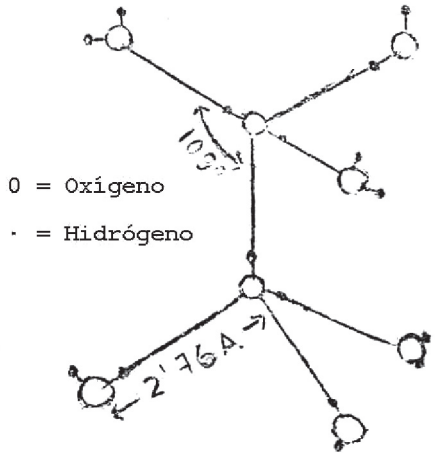
PROPIEDADES FÍSICAS SINGULARES DEL AGUA LÍQUIDA

El agua, o hidruro de oxígeno, tiene unas propiedades físicas características que difieren notablemente de las propiedades que corresponden a otros hidruros de los elementos próximos al oxígeno en la tabla periódica, cuyo peso molecular y configuración electrónica son similares a los del agua -lógicamente, las propiedades físicas de todos estos hidruros deberían ser similares-. El agua, por ejemplo, posee valores mucho más elevados que el metano (CH_4), el sulfhídrico (SH_2), el amoniaco (NH_3), el clorhídrico (C1H), el fluorhídrico (FH), etc., en lo que se refiere a punto de fusión, punto de ebullición, calor específico, calor latente de fusión, calor latente de vaporización, tensión superficial y constante dieléctrica.

Por otra parte, el agua se diferencia de los líquidos constituidos por moléculas pequeñas y simples en que sus moléculas tienen un grado de ordenación considerable y un **número de coordinación** muy bajo -6 para el agua líquida-, mientras que generalmente en los líquidos las moléculas se encuentran totalmente desordenadas y muy próximas las unas a las otras, de forma tal que, el número de coordinación en los metales líquidos

y en los gases raros al estado líquido es de diez u once, muy próximos al máximo posible de doce que se observa en los sólidos cristalinos.

El **número de coordinación** expresa el número de moléculas vecinas más próximas que circundan a una molécula dada.



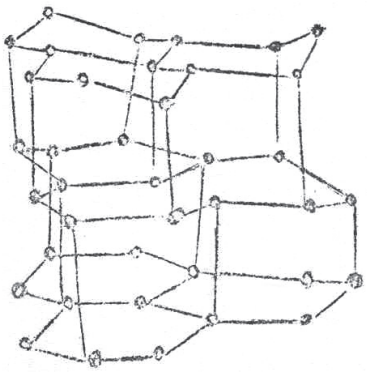
Así pues, todas estas características singulares del agua se deben a la existencia en el agua líquida, de considerables fuerzas intermoleculares. Estas fuerzas intermoleculares se establecen como consecuencia de la geometría -disposición tetraédrica- y configuración electrónica de la molécula de agua. En el agua, las moléculas interactúan electrostáticamente de forma tal que una molécula dada puede unirse a dos vecinas, compartiendo con cada una de ellas cada uno de sus dos átomos de hidrógeno dando lugar a la formación de **puentes de hidrógeno**.

Dicha molécula puede unirse a su vez, mediante las cargas negativas de su átomo de oxígeno y también mediante puentes de hidrógeno, a los átomos de hidrógeno de otras dos moléculas vecinas.

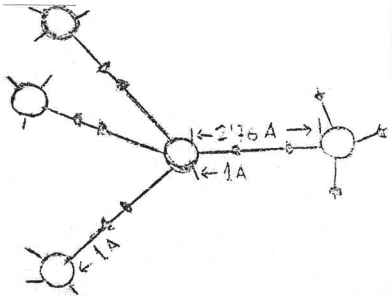
Siguiendo este proceso de formación de puentes de hidrógeno, sobre el pequeño agregado de moléculas de agua pueden incorporarse nuevas moléculas, dando lugar a una **estructura tridimensional** que es característica del hielo ordinario -hielo del Tipo I-, es decir, una estructura de tipo tetraédrico o hexagonal, ya que la red cristalina se haya constituida por anillos hexagonales de moléculas de agua con formaciones de “silla” o de “lancha”.

Existe otro tipo de hielo que se produce también a presión ordinaria, en circunstancias especiales -a –140º C-, que difiere en su estructura y se denomina hielo cúbico. Existen igualmente otros seis tipos de hielo con estructuras diferentes que se producen a presiones muy elevadas -superiores a 2.000 atmósferas- y a temperaturas también muy elevadas.

Normalmente, los puentes de hidrógeno se suelen representar situando el átomo de H a 0,97 Aº de la molécula, unido al oxígeno por una raya continua y separado por una distancia de 1,80 Aº del átomo de oxígeno de la molécula aceptora por otra raya, habida cuenta que la distancia normal de los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua es de 2,76 Aº.



Sin embargo, los datos arrojados por las técnicas de difracción de neutrones y los conocimientos sobre el movimiento atómico en el hielo, han inducido a Pauling a postular para el hielo ordinario -Tipo I- una **estructura estadística** o **estructura de medio hidrogeno**, según la cual, en la red cristalina del hielo, a cada átomo de oxígeno puede considerársele rodeado, con una separación de 1 Aº, por cuatro medios átomos de hidrógeno, tal y como se representa en la adjunta figura.



Esto no hay que tomarlo literalmente, ya que en condiciones ordinarias el átomo de hidrógeno no es divisible, sino en términos estadísticos, es decir, que el átomo de hidrógeno se desplaza entre dos átomos de oxígeno, permaneciendo aproximadamente la mitad del tiempo en la proximidad de cada uno de los átomos de H. Se hallan próximos a un átomo de oxígeno dado, los otros dos átomos de hidrógeno se encuentran alejados, y cuando éstos se acercan, se alejarían los primeros.

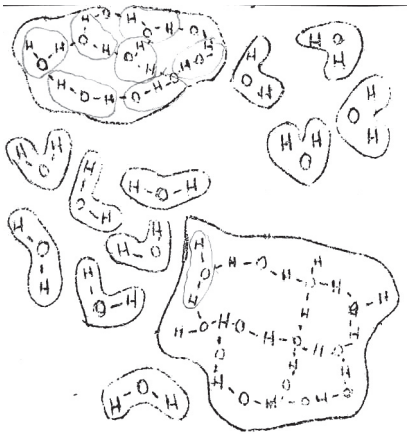
ESTRUCTURA FÍSICO-QUÍMICA DEL AGUA LÍQUIDA

Como se ha señalado, muchas de las propiedades físicas anormales del agua liquida indican que sus moléculas poseen cierto orden estructural parecido al del hielo como consecuencia de la formación de los puentes de hidrógeno.

Entre las diversas teorías emitidas sobre la estructura físico-química del agua líquida, la que tiene mayor aceptación es la teoría de la mezcla o **teoría de los dos estados**, que considera al agua como un sistema físico-químico compuesto de dos fases: una **continua** y otra **dispersa**; ambas en equilibrio dinámico.

La fase continua se halla constituida por moléculas de agua sueltas en forma monomérica, sin que entre ellas existan puentes de hidrógeno. Se encuentran desordenadas, sin orientarse unas respecto a otras, guardando distancias intermoleculares relativamente grandes -3,1 A°-, y con un número de coordinación de 6, como se seña1ó, que sugiere una estructura cúbica.

La fase dispersa se halla constituida por agregados de moléculas de agua unidas entre si por puentes de hidrógeno, formando una estructura tetraédrica o hexagonal, similar a la del hielo ordinario; si bien, es menos perfecta. Por esta razón, a los agregados moleculares que constituyen la fase discontinua se les denominan **agregados geliformes**, que pueden considerarse como cristales de hielo líquido o iceberg en miniatura.



En estos agregados, la distancia intermolecular es de 2,76 Aº -inferior a la de la fase continua-, pero la estructura es más abierta y menos densa que la fase continua, debido a que el número de coordinación es sólo 4, al igual que el hielo ordinario; y en su consecuencia, a igualdad de volumen dado, el hielo contiene -a pesar de la menor distancia entre las moléculas- menor número de moléculas de agua, debido a su menor número de coordinación -4 frente a 6 en el agua-.

Los agregados geliformes son altamente inestables, ya que se forman y se desintegran con suma rapidez, siendo su vida media de 10 segundos y por eso se dice que se hallan en equilibrio dinámico con la fase continua. No obstante, Nemethy y Scheraga han calculado el tamaño y la concentración de los agregados presentes en el agua líquida a diversas temperaturas observando que, a medida que aumenta la temperatura, disminuye el tamaño, pero aumenta la concentración de los agregados. Así, por ejemplo, a 0º C los agregados tienen alrededor de noventa moléculas y su concentración es de $0,82 \times 10^{-2}$, mientras que a 100º C poseen veintiuna moléculas aproximadamente y una concentración de $2,68 \times 10^{-2}$.

Hay que destacar que la existencia de puentes de hidrógeno en el agua a 100º C explica el elevado calor latente de vaporización, ya que para que cambie de estado se requiere un aporte de energía en forma de calor para destruir estos puentes de hidrógeno y dejar individualizadas las moléculas.

Esta estructura físico-química del agua permite también explicar el hecho anómalo de la máxima densidad del agua a 4º C.

En los líquidos en general, al aumentar la temperatura, disminuye la densidad como resultado de la expansión térmica o aumento de distancias intermoleculares. En cambio en el agua, al aumentar la temperatura, aparte de producirse este efecto el cual tiende a reducir la densidad, se produce otro efecto que tiende a aumentarla, debido a que aumenta la fase continua al disminuir el tamaño de los agregados moleculares -menos denso en la fase continua-. Este efecto predomina sobre la expansión térmica entre 0º C y 4º C; momento en que la densidad es máxima. A partir de este instante predomina la expansión térmica sobre el otro efecto.

En el agua líquida existen cinco especies de moléculas distintas con diferentes energías que son, en primer lugar, las moléculas de la fase continua, que no poseen ningún puente de hidrógeno; en segundo lugar, las moléculas del interior de los agregados geliformes, que poseen 4 puentes

de hidrógeno; y en tercer lugar, las moléculas corticales de la superficie de los agregados, que pueden poseer 1, 2 ó 3 puentes de hidrógeno.

A consecuencia de la energía cinética, las moléculas de la fase continua se encuentran en movimiento incesante, determinando un bombardeo de los agregados moleculares al hacer impacto sobre los mismos. Dependiendo del lugar en que incidan, de su orientación y de su energía, las moléculas que chocan con los agregados pueden quedar incorporadas sobre la superficie de estos, contribuyendo a aumentar su tamaño, o bien, pueden determinar la liberación de moléculas corticales que pasan a la fase continua reduciendo, por tanto, el tamaño de los agregados.

Cuanto mayor es la energía que hace impacto en el agregado, tanto mayor es la posibilidad de que sea captada por éste; y también mayor la de que se reduzca el tamaño del agregado. Puesto que la temperatura aumenta la energía cinética de las moléculas es lógico que, a temperaturas más altas, sea menor el tamaño de los agregados moleculares como indican los datos de Nemethy y Scheraga.

INTERACCIONES DEL AGUA DE LOS ALIMENTOS CON LOS RESTANTES COMPONENTES

Los alimentos son sistemas físico-químicos altamente complejos que, además de agua, poseen numerosos componentes de naturaleza y propiedades diferentes.

Los alimentos de naturaleza tisural -carne y pescado- se hayan compuestos por elementos estructurales o formes, en sentido microscópico, principalmente formados por proteínas, polisacáridos y grasas; y una fase líquida físico-químicamente retenida en los espacios intersticiales, tanto inter como intramoleculares de los elementos formes, parte de la cual contiene los restantes componentes de los alimentos en diferentes estados físico-químicos.

Es indudable que entre el agua y los restantes componentes de los alimentos se produzcan interacciones sumamente complejas que modifique la estructura del agua.

Si bien no se sabe con certeza cuál es la estructura del agua de los alimentos, los estudios realizados con sistemas modelos pueden ofrecernos una idea de su complejidad.

Vamos ahora a exponer las alteraciones de varias sustancias de distinta naturaleza sobre la estructura del agua:

Gases no Polares

Determinados gases de naturaleza no polar, relativamente inertes y de tamaño molecular apropiado, interaccionan con el agua formando compuestos de inclusión **tipo clatrato**, determinando la formación de cavidades o cajas poliédricas de tamaño molecular constituidos por moléculas de agua unidas entre si por puentes de hidrógeno, dentro de las cuales se encuentran enclaustradas las moléculas de gas retenidas por débiles **fuerzas de Van der Walls**. La molécula enclaustrada o molécula huésped no se halla químicamente unida a las moléculas de agua hospedadoras. Las cavidades que forman los **hidratos de gas o clatratos** tienen diámetros de 5,2 Aº y 5,9 Aº en el seno de los clatratos de Tipo II.

Los clatratos, comúnmente formado por dodecaedros de caras pentagonales -pudiéndose formar otro tipo de poliedros-, se hallan dispuestos entre si formando una estructura cúbica.

El que se formen hidratos de gas de Tipo I ó II, depende del tamaño del agente hidratante incluido. La célula unidad de los hidratos de gas de Tipo I consta de cuarenta y seis moléculas de agua que forman seis cavidades grandes y dos pequeñas.

Por otra parte, los agentes hidratantes de pequeño tamaño molecular como el metano, dióxido de carbono, sulfhídrico, etc., inducen la formación de clatratos de Tipo I y pueden ocupar cada una de las ocho cavidades. Los agentes hidratantes de peso molecular ligeramente superior, como el dióxido de azufre, también induce a la formación de hidratos de gas de Tipo I, aunque únicamente pueden ocupar las cavidades grandes.

La célula unidad de los hidratos de gas de Tipo II consta de 136 moléculas de agua, que forman dieciséis cavidades pequeñas y ocho grandes. Los agentes hidratantes como el propano y diversos hidrocarburos halogenados en uno o dos átomos de carbono -que son demasiado grandes para acomodarse en los clatratos de Tipo I- inducen la formación de clatratos de Tipo II. Estos agentes hidratantes, debido a su tamaño relativamente grandes, solo pueden ocupar las cavidades grandes de los clatratos de Tipo II.

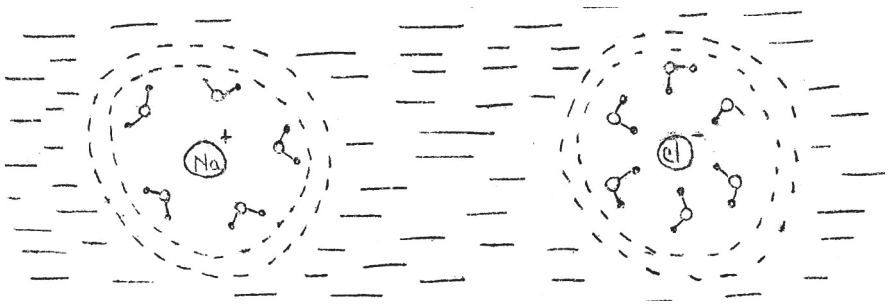
En el caso de que se hallen presentes agentes hidratantes de tamaño molecular grandes y pequeño, se forman clatratos de Tipo II, cuyas cavidades pequeñas son ocupadas por los agentes hidratantes de pequeño peso molecular.

Los hidratos de gas pueden tener importancia en la tecnología de los alimentos en relación, sobre todo, con la concentración por la congelación.

Electrolitos

Los iones inorgánicos, al poseer un tamaño pequeño y carga eléctrica, interactúan fuertemente con las moléculas de agua vecinas quedando hidratados, es decir, rodeados por moléculas de agua orientadas e inmovilizadas. El agua que se dispone en torno a los iones consta de tres regiones concéntricas: en la región interna, la más próxima al ión, las moléculas de agua se encuentran perfectamente orientadas, dirigidas radialmente, debido al campo electrostático del ión y a la naturaleza bipolar de la molécula de agua. Las moléculas de agua de esta región no se hallan unidas entre si por puentes de hidrógeno; en la región intermedia, las moléculas de agua se encuentran totalmente desorientadas; y en la región más externa, el agua posee la estructura normal del líquido puro.

El número de moléculas de agua de la región interna y de la intermedia, así como el grado de desorientación de las moléculas, depende del tamaño y carga del ión. Los iones pequeños altamente cargados poseen un fuerte campo electrostático que hace que la región interna sea grande; mientras que los iones grandes y con escasa carga, dan lugar a una región interna y una región intermediaria mayor.



El número de moléculas de agua de la región interna oscila entre cinco y doce, en el caso de los metales alcalinos y para los iones de halógenos. El número que se calcula para la región intermedia es 4-5 veces mayor.

Solutos Polares no Ionizados

Aunque estas sustancias pueden formar puentes de hidrógeno con la molécula de agua, en la mayoría de los casos la geometría de la molécula no es compatible con la que poseen los agregados geliformes. Los puntos que permiten la formación de puentes de hidrógeno no se encuentran a distancia conveniente ni poseen orientación correcta, y por tanto, solo pueden interactuar con las moléculas de la fase continua. Estos solutos de naturaleza polar desordenan la estructura del agua; la urea constituye el mejor ejemplo: posee varios puntos capaces de formar puentes de hidrógeno y de hecho tiene una gran capacidad para formarlos, pero altera la estructura del agua.

Por esta misma razón, estos solutos dificultan además el proceso de congelación, ya que, en general las moléculas de agua unidas a ellos por puentes de hidrógeno se hallan incorrectamente orientadas para la formación del hielo, de forma que es preciso romper estos enlaces de hidrógeno antes de que las moléculas de agua puedan cristalizar.

Los puentes de hidrógeno entre las moléculas de soluto y de agua tienen aproximadamente la misma energía que los agregados que se forman de agua pura, razón por la cual se forman y se destruyen tan rápidamente como los agregados moleculares.

Componentes Polifuncionales

Existen compuestos fundamentalmente macromoleculares como las proteínas y los polipéptidos, así como los polisacáridos, que poseen grupos de distinta naturaleza capaces de interactuar con el agua. Por ejemplo, al hablar de la hidratación de las proteínas, se indicará las alteraciones de los grupos polares no ionizados de los grupos ionizados y de los grupos no polares.

FRACCIONES DEL AGUA Y PROPIEDADES

En los alimentos y, en especial, en los de naturaleza tisural pueden distinguirse, por lo que respecta al agua, dos fracciones principales. El agua ligada o unida **-agua de hidratación verdadera**- y el agua libre.

La primera, que supone un pequeño porcentaje del agua total de los alimentos, se haya constituida por agua absorvida en capas monomole-

culares y bi o multimoleculares a los grupos y solutos polares e iónicos. El resto del agua que contienen los alimentos constituyen el agua libre.

Por término medio, el contenido acuoso del músculo que posee un contenido proteico de 20-22 % es aproximadamente del 74-76 % de forma tal que, por cada 100 gramos de proteína, el músculo contiene 350-360 gramos de agua. En el pescado la relación agua / proteína es aún más elevada. Desde hace mucho tiempo se piensa que esta gran cantidad de agua se halla unida o ligada a las proteínas, ya que el agua de más músculos no se libera de ellas espontáneamente. Estudios realizados con el músculo con diferentes medios físicos demuestran, sin embargo, que la mayor parte del contenido acuoso se encuentra en estado libre. Por tanto, la mayor parte del agua libre se halla mecánicamente inmovilizadas por retículos de membranas lipoprotéicas celulares y filamentos proteicos, probablemente entre enlaces cruzados y fuerzas electrostáticas existentes entre las cadenas peptídicas. La mayor parte del agua libre se encuentra inmovilizada y solo una pequeña fracción se halla "suelta", es decir, débilmente retenida, la cual puede exprimirse mediante una ligera presión.

Las propiedades físicas, químicas y biológicas de las diversas fracciones de agua de los alimentos son diferentes. Así, por ejemplo, en el agua ligada o unida tiene una menor presión de vapor, un punto de congelación más bajo y una menor capacidad solvente que el agua libre.

La primera no interviene en las reacciones de hidrólosis, ni puede ser utilizada por las células. Sin embargo, es preciso señalar que no existe una distinción clara y tajante entre el agua completamente unida y el agua suelta ya que, al parecer, en el agua de los tejidos es probable que exista un espectro continuo de energía de activación que hace que las diversas propiedades varíen gradualmente de una a otra fracción y, dentro de éstas, en cada una de las subfracciones.

ACTIVIDAD DEL AGUA

Puesto que el agua en estado líquido es esencial para la actividad biológica. El metabolismo se halla limitado a un margen de temperatura comprendido entre 100º C -en que el agua se convierte en vapor- y 5º C, temperatura en que el agua de los alimentos so1idifica. Este margen de temperatura se llama, por ello, "zona bio-cinética". En el caso de los microorganismos, el agua necesaria para que los nutrientes penetren en la célula microbiana y puedan utilizarse en la producción de energía y en la

síntesis del protoplasma -es preciso que los nutrientes se encuentren en solución-, también es necesaria para vehicular los enzimas extracelulares que segregan los microorganismos, al objeto de so1ubilizar componentes nutritivos insolubles, como proteínas y polisacáridos. Igualmente sirve para eliminar los catabolitos o efluentes microbianos que de otra forma intoxicarían las células y sus sistemas enzimáticos. Finalmente, el agua interviene directamente en muchas reacciones químicas, como la hidrólisis, que son necesarias para los procesos vitales de la célula microbiana.

Según se ha expuesto anteriormente, no toda el agua que contienen los alimentos posee la misma estructura y las mismas propiedades. Las moléculas de agua que se hallen formando parte de los agregados geliformes existentes en el agua pura y en torno a los compuestos y grupos polares se encuentran asociadas cooperativamente formando retículos de gran radio, es decir, como capas de moléculas. Estas moléculas de agua tienen propiedades solventes cuando al sistema se incorpora el soluto. Por el contrario, en otros casos, las moléculas de agua se encuentran fuertemente atraídas a los solutos o a determinadas partes de ellos, formando una estructura ordenada bastante rígida. Así pues, esta unión es particularmente fuerte entorno a los iones y otros grupos cargados; tal es el caso, también, de las moléculas de agua unidas en dos capas a los grupos hidrófilos de las proteínas ya otros compuestos macromoleculares. Este agua ligada no es usada por los microorganismos.

Puesto que la actividad microbiana y, en consecuencia, la alteración de los alimentos depende de la existencia de agua libre, el conocimiento del porcentaje total de agua de un alimento carece de significación en lo que se refiere a la estabilidad microbiana del mismo, que incluye tanto el agua utilizable como la no utilizable.

En los últimos años se utiliza como índice de estabilidad de los alimentos frente a las alteraciones microbiana, y de las necesidades hídricas de los microorganismos el término **Actividad del Agua,** expresión que es mucho más valiosa que el porcentaje total del agua para hacer previsiones y comparaciones sobre las velocidades de crecimientos microbianos en distintos sustratos. El término **Actividad del Agua**, que en los libros aparece expresado como a_W; AW, Wa, y W_A, ha sido definido por Scott como: "*La relación entre la presión de vapor de una solución -o alimento- y la presión de vapor del solvente -o del agua pura- a la misma temperatura*":

$$AW = \frac{P}{Po}$$

La actividad del agua tiene en cuenta que, cuando se disuelven solutos en agua, se produce una pérdida de entropía y una ordenación orientada de parte de las moléculas de agua que se orienta sobre la superficie de las moléculas de soluto, y que la solución difiere, en estas circunstancias, del agua pura en la que tiene un punto de congelación más bajo, un punto de ebullición más elevado y una menor presión de vapor. En otras palabras, que se han aumentado las fuerzas intermoleculares entre las moléculas de agua.

La actividad del agua es numéricamente igual a la **humedad relativa en equilibrio,** y equivale a **la centésima parte de la humedad relativa**. Suele utilizarse el término a_W al referirse al estado del agua en solución o substratos; y "humedad relativa" a la atmósfera que la rodea. En condiciones de equilibrio, ambos términos son intercambiables.

Se ha demostrado que el crecimiento microbiano únicamente puede tener lugar a valores de a_W comprendidos entre 0,999 y 0,600. Sin embargo, las necesidades hídricas de los diferentes microorganismos varían dentro de este margen, por ejemplo, la a_W mínima para el crecimiento de diversos microorganismos es:

Microorganismos	aW mínimo
Bacterias en general	0,92
Levaduras en general	0,88
Hongos en general	0,80

La a_W de los alimentos puede reducirse al objeto de aumentar su conservabilidad por diferentes procedimientos como:

-Eliminación directa del agua libre por evaporación -desecación natural y deshidratación-.

-Por cambio de estado físico –congelación-.

-Por eliminación directa mediante sublimación –liofilización-.

-De modo indirecto, por adición de solutos –edulcoración-.

CÁLCULO DE LA a_W DE LAS SOLUCIONES

El descenso de la presión de vapor de un solvente viene dado -para soluto ideal- por la Ley de Raoul que dice que **la reducción relativa de la presión de vapor del solvente es igual a la fracción molar del soluto**. Es decir:

$$\frac{Po - P}{Po} = \frac{n_1}{n_1 + n_2}$$

O bien, que la presión de vapor de una solución respecto a la del solvente puro es igual a la fracción molar del solvente:

$$\frac{P}{Po} = \frac{n_2}{n_1 + n_2}$$

Fórmulas en las que *P* y *Po* son respectivamente las presiones de vapor del agua de la solución y del solvente, y n_1 y n_2 son respectivamente el número de moles del solvente y del soluto.

Según la última ecuación, la actividad del agua de una solución acuosa 1 molar será igual a:

$$a_w = \frac{55,5}{1 + 55,5} = 0,98$$

La cifra 55,5 es el número de moles del agua por Kg. Procede de dividir 1.000/ peso molecular del agua.

Según esta ecuación, a igualdad de peso, los solutos de bajo peso molecular reducirán más la a_W de las soluciones; a igualdad de peso el ClNa reduce más la actividad del agua que la glucosa.

Llegado a este punto, debemos dar un pequeño viraje para introducirnos en el campo de las aplicaciones prácticas de estos conceptos, porque la humedad -mejor dicho, el **agua activa** o **agua utilizable**- es uno de los factores a considerar respecto a la conservación de los alimentos, sumados a otros como son: la temperatura, la presión osmótica, el pH, el potencial redox y la composición de la atmósfera.

Pero hay que partir de la base de que todos estos factores están correlacionados y, por tanto, su importancia individual varía con las circunstancias particulares de cada caso.

Después de la temperatura, la humedad es el principal factor que afecta al crecimiento de los microorganismos en los alimentos. Vamos a ceñirnos concretamente al caso de la carne como mejor estudiado.

El agua activa y la presión osmótica son también factores complementarios. Esta última depende de la concentración de substancias solubles dializables en el medio acuoso –como sales, hidratos de carbono, etc.-. Las concentraciones elevadas de solutos inhiben el crecimiento de los microorganismos. En el caso de productos cárnicos congelados, la inhibición se debe principalmente **a la desecación más que a la baja temperatura**. Esta inhibición varía con las distintas especies de gérmenes, y como caso límite debemos citar el de los microorganismos que toleran la sal y crecen perfectamente en la salmuera (Scott y cols.).

Conforme a lo expresado anteriormente, las bacterias -y entre ellas el *Staphilococus aureus*, productor de frecuentes intoxicaciones alimenticias- tienen un a_W de 0,995. Pero Scott demostró que a 38º C dicho microorganismo crecía sobre la carne deshidratada, aún con un a_W de 0,88 que corresponde a un valor de un 23 % de agua disponible.

A conclusiones análogas llegan Christian y Scott con bacterias del género salmonela y Marshal y Scott con Vibrio Metschnikowki.

El a_W de la carne fresca está, por lo general, en la vecindad del 0,99. Por tanto, es susceptible de alterarse por numerosos microorganismos.

Las interacciones del oxígeno con el a_W hace posible que en las carnes empaquetadas el crecimiento de los gérmenes pueda ser inhibido a un a_W más elevado. Por ejemplo, Scott observó que el *Staphilococus aureus* podía crecer aeróbicamente a un a_W de 0,86, mientras que antes hemos visto que en condiciones anaeróbicas requería un a_W de 0,90.

ALMACENAMIENTO POR DEBAJO DEL PUNTO DE CONGELACIÓN

Consideremos ahora lo que ocurre en el almacenamiento por debajo del punto de congelación.

La eficacia de la congelación en la conservación fue conocida desde hace siglos por los esquimales. Un gran ejemplo es la comestibilidad de la carne de los mamuts del norte de Siberia que habían permanecido 20.000 años en estado de congelación.

Vamos a entrar en detalles de los efectos de la congelación en el tejido muscular.

Las principales ventajas de este tratamiento -bloqueo de los cambios químicos y microbianos- tienden a compensarse por **el exudado producido en la descongelación**. Este exudado se compone de proteínas, péptidos, aminoácidos, purinas, vitaminas del grupo B y diversas sales.

La cantidad de exudado depende de dos tipos de factores:

1º. Los que regulan la exudación del líquido ya formado, que son: tamaño y forma de los trozos de la carne, la orientación del corte respecto a la dirección de la fibra muscular, etc.

2º. La tendencia a la evaporación o a la condensación existente en la cámara de condensación.

Estos últimos factores, los más importantes, dependen de la naturaleza del proceso de congelación y de la capacidad de retención de agua de las proteínas musculares. Ambos determinan la cantidad de exudado -y por tanto de agua- que se forma durante la descongelación.

En general, la proporción de agua del músculo que se congela aumenta rápidamente al principio a medida que la temperatura desciende por debajo del punto de congelación. Después, aumenta lentamente cuando se alcanza la temperatura de –20º C, o sea, cuando se ha congelado el 98 %; a partir de entonces, la curva se hace asintótica respecto al eje del tiempo (MORAN y cols.).

Love ha demostrado que las proteínas del pescado se alteran progresivamente a medida que la temperatura desciende hasta –183º C, debido a la creciente congelación irreversible del agua estructural fuera de la proteína.

Gran importancia tiene **la velocidad de descenso de la temperatura**, la cual se expresa como **el tiempo requerido para que descienda de 0º a –5º C**.

Las velocidades más rápidas alcanzadas son del orden de **un segundo** en experimentos consistentes en introducir una fibra muscular aislada en isopentano a –150º C. A esta velocidad, el agua se congela entre las moléculas de **miosina** y **actina** formando agregados tan pequeños que no se modifican sus estructuras, incluso a nivel de observación del microscopio electrónico. Estos diminutos agregados parecen ser cristalinos y no amoríos.

A medida que aumenta el tiempo de congelación, las modificaciones del tejido muscular son mayores.

El grado de alteración de las proteínas musculares se determina por la valoración del **fósforo** del ácido desoxiribonucleico (DNAP) en el líquido de expresión del músculo, puesto que, en el músculo intacto el DNAP se encuentra exclusivamente en el núcleo de la célula muscular, o sea, dentro del sarcolema. La alteración consiste en la rotura de esta membrana y la salida de los componentes intracelulares.

El sarcolema permanece intacto cuando el tiempo de congelación aumente de 1 a 5 segundos -aunque a esta última temperatura haya un considerable grado de distorsión de las miofibrillas-.

Cuando el tiempo de congelación pasa de 5 minutos, las alteraciones experimentadas por el sarcolema pasan por una serie de máximos y mínimos que corresponden a la formación de distintos tipos de hielo, primero en el interior y después en el exterior de la fibra.

Cuando el tiempo de congelación es inferior a setenta y cinco minutos, y cuando la alteración del sarcolema es mínima (cinco y cincuenta minutos), **el músculo se puede descongelar sin que se produzca exudado**, ya que el agua aparecida durante el proceso de formación del hielo **es reincorporada por las proteínas**.

Por otra parte, las velocidades de congelación que se consiguen en la práctica comercial son excesivamente lentas para que el hielo se forme intramuscularmente.

Los cristales, en tales circunstancias, se forman en primer lugar en el exterior de la fibra, debido a que la presión osmótica extracelular es inferior a la del interior de la célula muscular.

Durante el proceso de formación del hielo, aumenta progresivamente la concentración iónica del liquido extracelular no congelado, y esto determina la difusión por ósmosis del agua súper enfriada en el interior de la célula muscular hacia el exterior.

Así pues, el agua extraída de la célula se congela sobre los cristales de hielo que existen en los espacios extracelulares, aumentando su tamaño y produciendo de esta forma la distorsión y alteración de la fibra. Además, a consecuencia de la elevada concentración iónica, se desnaturalizan algunas proteínas musculares, se produce la translocación del agua anteriormente mencionada, se reduce la capacidad de retención del agua de las proteínas muscu1ares y se pierde la capacidad de la fibra para reabsorber, durante la descongelación, el agua extraída durante la congelación que sale del músculo en forma de exudado.

Las alteraciones de las proteínas dependen, pues, del tiempo y de la temperatura de congelación.

Pero ocurre que, en la práctica comercial, los tiempos de congelación son inevitablemente prolongados. Sin embargo, la producción de exudados se puede reducir por una serie de procedimientos de los cuales no podemos ocuparnos porque sería salirnos del tema de esta disertación.

Palabras finales.

En primera fila señora e hijos del Dr. Segovia.