

“Una mirada química de la Fibra Dietaria” – Dra. Ana María Rojas

De acuerdo al Official Methods of Analysis (A.O.A.C. 15th Edition, U.S.A, 1990), la fibra total (soluble e insoluble) se determina sobre muestras molidas, secas, previamente desgrasadas, las cuales son gelatinizadas en presencia de α -amilasa termoestable, para degradar al almidón presente en el citoplasma celular. Luego son digeridas con proteasas y amiloglucosidasa para eliminar las proteínas y el almidón remanente. De esta manera, el almidón y proteínas enzimáticamente depolimerizados, permanecen solubles en la solución acuosa. Así se eliminan las proteínas extraídas del citoplasma celular. Como consecuencia de las digestiones enzimáticas realizadas, se liberan los polímeros (íntegros) constituyentes de la pared celular, esto es, las pectinas, hemicelulosas, celulosa y la lignina, en los casos en que las muestras fueran frutas, hortalizas, cereales. Parte de estos polímeros de pared son insolubles en este sistema acuoso (algunas pectinas, hemicelulosas, celulosa y lignina). Esta fibra insoluble es colectada por filtración. La fibra soluble, constituida por la mayoría de las pectinas de la pared celular, son precipitadas añadiendo al filtrado etanol al 78% y colectando el residuo total (fracciones insoluble y soluble) por filtración. La fibra filtrada es lavada con etanol y acetona, secada en estufa y pesada. La fibra dietética total es entonces calculada según:

$$\text{Fibra dietética total} = \text{Peso del residuo} - \text{Peso (proteína + cenizas)}.$$

En consecuencia, la llamada “fibra dietética total” no incluye proteínas. Se debe tener en cuenta que en la pared celular hay también proteínas, llamadas extensinas, asociadas a pectinas, constituyendo un complejo pectina-extensina. Estas proteínas pudieron haber sido degradadas por la digestión efectuada con proteasas. Es así que la determinación de “Fibra soluble e insoluble total” incluye un tratamiento enzimático conjunto, semejante a la digestión sufrida por el bolo alimenticio a su paso por el aparato digestivo (boca-estómago-intestino).

Como se aprecia en la descripción del método de determinación de “Fibra soluble e insoluble total”, los principales componentes de la fibra dietaria incluyen los polímeros constituyentes de la pared celular, presentes en todos los vegetales que se ingieren (frutas, hortalizas, cereales). La fibra dietaria incluye además a hidrocoloides no pertenecientes a la pared celular, esto es, mucílagos y gomas (guar, de algarroba, xántica) y polisacáridos de algas (carragenanos, alginatos, agar), presentes en el alimento o bien agregados en muchos casos a alimentos procesados, como agentes funcionales (espesantes, gelificantes).

En lo que respecta específicamente a los polímeros constituyentes de la pared celular, considerados en la definición de “Fibra soluble e insoluble total” (pectinas, hemicelulosas, celulosa y lignina), tienen todos ellos en común su insolubilidad en etanol de concentración igual o superior al 78% v/v, en agua. Esto es algo fundamental que debe siempre tenerse en cuenta, a la hora de analizar cualquier resultado del análisis químico de la pared celular. Los polímeros que dan estructura a la pared, químicamente son polisacáridos (pectinas, hemicelulosas y celulosa) y polifenoles (lignina). Los polisacáridos se diferencian entre sí en la diferente composición en monosacáridos y en el tipo de unión química existente entre estos monómeros. Por medio del uso de solventes con capacidad “disolvente” creciente y selectiva, se pueden extraer, secuencialmente, los polímeros componentes de la pared celular, todos ellos incluidos en ese residuo insoluble en etanol concentrado (RIA). Es por ello que, a partir de este residuo deshidratado (RIA), se pueden separar pectinas solubles en agua (aquellas fácilmente disponibles) por un primer tratamiento de disolución con agua deionizada. Del residuo insoluble resultante de esta primera etapa, se pueden extraer ahora, selectivamente, sólo aquellas pectinas que se hallaban en la pared celular entrecruzadas por iones calcio (Ca^{2+}), gracias al uso de una solución acuosa de un agente quelante selectivo del calcio (CDTA, similar al EDTA). A continuación, del residuo insoluble remanente de la extracción con CDTA, se pueden extraer ahora, selectivamente, sólo aquellas pectinas que se hallaban en la pared celular entrecruzadas *químicamente* (covalentemente), gracias al uso de solución acuosa de carbonato de sodio (medio alcalino débil). Es ésta la última fracción de pectinas remanente extraída. Son aquellas pectinas entrecruzadas por un compuesto fenólico llamado ácido ferúlico. Estas pectinas son insolubles en agua y soluciones salinas, mientras que las dos primeras fracciones de pectinas extraídas son solubles en agua y soluciones salinas, por tratarse de pectinas *físicamente* relacionadas a la pared celular.

Ya las posteriores extracciones implican el uso de solventes alcalinos fuertes, necesarios para remover las hemicelulosas y la celulosa que aún permanecen en el RIA residual. Estos polisacáridos son en general insolubles en agua porque sus macromoléculas

interactúan fuertemente entre sí por puentes de hidrógeno (unión física). Las hemicelulosas están así fuertemente asociadas a la matriz generada por las macromoléculas de celulosa, produciéndose una red de hemicelulosa-celulosa que es necesario disolver para caracterizar por separado sus componentes. Por lo tanto, del residuo insoluble remanente de la extracción con carbonato de sodio (ya libre de pectinas) se pueden extraer ahora, selectivamente, aquellas hemicelulosas menos retenidas, gracias al uso de solución acuosa de hidróxido de potasio de concentración 1 molar. Las hemicelulosas más fuertemente retenidas por la matriz de celulosa sólo podrán extraerse (disolverse), tratando el residuo remanente anterior, ahora con solución acuosa de hidróxido de potasio de concentración 4 molar. Dependiendo del tipo botánico de vegetal, las hemicelulosas incluyen más de un tipo de distintos polímeros (xiloglucanos, xilanos, mananos, glucomananos, galactoglucomananos, galactomananos, arabinoxilanos). El residuo remanente de la extracción con solución acuosa de hidróxido de potasio de concentración 4 molar, esto es, insoluble en este solvente fuertemente alcalino, incluye a la celulosa y a la lignina. La celulosa puede sólo disolverse en ácido sulfúrico de concentración 72% v/v, quedando la lignina como residuo insoluble, el cual, como ya se mencionara, no es un polisacárido sino un polifenol. La lignina forma una red, la pared celular secundaria, mientras que los polisacáridos antes extraídos constituyen la pared celular primaria, propio de los vegetales comestibles sin cocción previa (frutas). Las pectinas constituyen la matriz viscosa en la cual se halla embebida la red de hemicelulosa-celulosa, así como la laminilla media que cementa las células contiguas, para constituir el tejido.

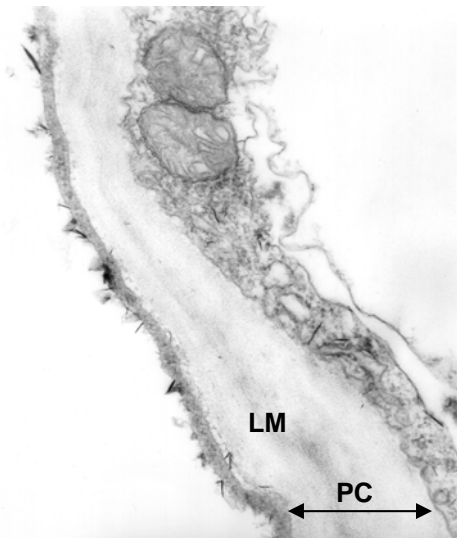


Fig. 1. Microscopía electrónica de transmisión de dos células contiguas de tejido de remolacha roja, donde puede apreciarse el espesor total de las paredes celulares (PC) de dos células vecinas, y la laminilla media (LM) de pectina (banda intermedia, de mayor densidad electrónica) que cementa las paredes celulares.

Los sobrenadantes obtenidos en cada etapa de extracción pueden ser analizados en su composición en carbohidratos totales y en ácidos urónicos por métodos espectrofotométricos. La diferencia entre ambos contenidos daría la proporción de azúcares neutros (monómeros no urónicos) presente en los polisacáridos aislados (solubilizados) en cada fracción. La composición de azúcares neutros (ramnosa, arabinosa, galactosa, manosa, xilosa, fucosa y glucosa) puede determinarse por cromatografía gaseosa, previa derivatización. Puede determinarse también el peso molecular de los polisacáridos presentes en cada fracción extraída por solubilización en cada tipo de solvente. De esta manera puede conocerse la composición de los biopolímeros constituyente de las paredes celulares, la cual depende, fundamentalmente, del tipo botánico y del grado de madurez del fruto. La modificación de la firmeza de los frutos está condicionada por modificaciones en las características químicas de los polímeros componentes de la pared celular, ya que esto condiciona la elasticidad de la pared celular y, así, la turgencia del tejido vegetal.

Bibliografía.

-Brett, C. T., & Waldron, K. W. (1996). *The physiology and biochemistry of plant cell walls* (second edition). London, UK: Chapman and Hall., pp. 26–32.

- Carpita, N. C., & Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, 3, 1-30.
- Fry, S. C. (1986). Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology*, 37, 165–186.
- Marry, M., Roberts, K., Jopson, S. J., Huxham, I. M., Jarvis, M. C., Corsar, J., et al. (2006). Cell–cell adhesion in fresh sugar-beet root parenchyma requires both pectin esters and calcium cross-links. *Physiologia Plantarum*, 126, 243–256.
- Nuñez, A., Fishman, M. L., Fortis, L. L., Cooke, P. H., & Hotchkiss, A. T., Jr. (2009). Identification of extensin protein associated with sugar beet pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10951-10958.
- Official Methods of Analysis (A.O.A.C. 15th Edition, U.S.A, 1990). Total dietary fiber method.
- Pérez, S., Rodríguez-Carvajal, M. A. and DOCO, P. (2003). A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, 85, 109–121.
- Schröder, R., Nicolas, P., Vincent, S. J. F., Fischer, M., Reymond, S., & Redgwell, R. J. (2001). Purification and characterisation of a galactoglucomannan from ripe kiwifruit (*Actinia deliciosa*). *Carbohydrate Research*, 331, 291–306.
- Siew, C. K., & Williams, P. A. (2008). Role of protein and ferulic acid in the emulsification properties of sugar beet pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4164-4171.
- Vincken, J. P., Schols, H. A., Oomen, R. J. F. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G. J., et al. (2003). If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132, 1781–1789.
- Yapo, B. M. (2011). Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins-A new hypothetical model (Review). *Carbohydrate Polymers*, 86, 373–385.