

# CAPÍTULO 29

Desarrollo de matrices  
comestibles hipoalergénicas a  
partir de subproductos  
de la industria del procesado  
de cítricos.

NIEVES HIGUERO FERNÁNDEZ

La alergia o hipersensibilidad alimentaria se describe como la reacción adversa que presenta un individuo a un constituyente de un alimento, normalmente una proteína, tras la ingestión, contacto o inhalación de éste, con una causa inmunológica probada.

Los alimentos que con mayor frecuencia producen reacciones alérgicas son la leche, el huevo, el cacahuete, los frutos secos, las frutas, el pescado, el marisco, la soja, el trigo y las legumbres. La importancia relativa de estos alimentos varía ampliamente con la edad de los pacientes y el área geográfica, lo que viene determinado por las costumbres alimentarias. En concreto, la leche de vaca, junto con el huevo, es uno de los alimentos que más frecuentemente produce alergia en los niños en todos los países occidentales, debido a su importante consumo en este grupo de edad. Así, en España, los alimentos más frecuentemente implicados en reacciones alérgicas en los niños son, por este orden: leche de vaca, huevo, y pescado (Fernández, 2006).

El tratamiento de la alergia a los alimentos ha sido, hasta hace pocos años, la evitación estricta del alimento. Esta recomendación parece sencilla, pero no lo es. Una correcta dieta de evitación supone una vigilancia continua, con objeto de evitar la exposición a alérgenos presentes y “ocultos” en los alimentos procesados. Para ello, los pacientes, o su entorno, deben vigilar el etiquetado de todos los alimentos y la composición exacta de las comidas que realizan fuera del hogar, para saber si son o no seguros. Esta vigilancia continua es una fuente de estrés y repercute de forma negativa en la vida social y en la calidad de vida del paciente y de su entorno familiar (Zubeldia, Baeza, Jáuregui y Senent, 2012).

Por este motivo, desde hace algo más de una década se viene trabajando en la inducción artificial de la tolerancia al alimento. Tras reacciones adversas graves con inmunoterapia parenteral subcutánea, se ha optado por emplear la vía oral (Meglio, Bartone, Plantamura, Arabito y Giampietro, 2004; Skripak, Nash, Rowley, Brereton, Oh, Hamilton, Matsui, Burks y Wood, 2008), y existen algunas experiencias con la vía sublingual. El tratamiento consiste en la administración del alérgeno alimentario causante de los síntomas, comenzando por cantidades mínimas y aumentándolas progresivamente hasta alcanzar la ración normal para la edad. El objetivo es alcanzar una tolerancia *ad libitum* o al menos aumentar la cantidad de alimento que suscite reactividad clínica, logrando una dieta libre o suficientemente segura para permitir una vida sin limitaciones y sin reacciones adversas. Los resultados publicados en cuanto a eficacia son alentadores, alcanzándose la tolerancia hasta en el 70-90% de los pacientes tratados, incluidos pacientes con alta sensibilización.

La alergia a las proteínas de la leche de vaca se define como una reacción adversa del organismo frente a las proteínas de este alimento, el cual posee un alto contenido en las mismas (3-3,5 g/100mL), de las cuales las caseínas constituyen el 80% del total y las proteínas del suero el 20% restante; todas excepto la  $\beta$ -lactoglobulina (BLG), están presentes en la leche de mujer. La leche de vaca contiene al menos veinticinco proteínas distintas entre séricas y caseínas, siendo estas últimas los alérgenos principales según estudios realizados en Italia, Japón y España (Chen, Lee, Yang, Lin, Wang, Yu y Chiang, 2014). Las caseínas se encuentran bajo cuatro formas diferentes [ $\alpha$  (1 y 2),  $\beta$ ,  $\gamma$  y k]. Entre las proteínas del suero de la leche de vaca, los alérgenos más importantes son la  $\beta$ -lactoglobulina (BLG) y la  $\alpha$ -lactoalbúmina (ALA).

La dieta de exclusión de la leche es el único tratamiento eficaz probado hasta la actualidad. Estos pacientes deben seguir una dieta exenta de leche de origen animal (vaca, cabra, oveja...) y de sus derivados; además, deben abstenerse de productos que la contengan. Debido a que la leche bovina proporciona la fuente más importante de calcio y otros nutrientes, especialmente para los niños, su evitación total puede constituir un grave problema nutricional.

Por ello y con el fin de aumentar su grado de aplicabilidad en la industria alimentaria, se han realizado numerosos estudios sobre posibles mecanismos de reducción de la alergenicidad y antigenicidad de las proteínas que la constituyen. Entre ellos se encuentran la modificación química de la proteína (Chobert, Briand, Grinberg y Haertlé, 1995), la aplicación de radiación gamma (Byun, Lee, Yook, Jo y Kimb, 2002), la glicación (Corzo-Martínez, Soria, Belloque, Villamiel y Moreno, 2010), la proteólisis (Asselin, Hébert y Amiot, 2006) y tratamientos físicos como calentamientos (Guo, Fox, Flynn y Kindstedt, 1995) y altas presiones (Chicón, Belloque, Alonso y López-Fandiño, 2008).

De igual modo, se han llevado a cabo estudios de formación de matrices hipoalergénicas entre compuestos fitoquímicos polifenólicos procedentes de diversos jugos de plantas y proteínas presentes en el cacahuete, encontrándose cambios sustanciales en las estructuras secundarias de éstas, sugiriendo por tanto potenciales aplicaciones en inmunoterapia oral (Plundrich, Kulis, White, Grace, Guo, Burks, Davis y Lila, 2014).

Por otro lado, el reino vegetal es una fuente de gran variedad de compuestos con actividad biológica, las sustancias fitoquímicas, que nosotros adquirimos a través de la dieta y que podrían ayudarnos a preservar nuestro estado saludable. Entre ellos encontramos los fenoles cuya actividad antioxidante se basa en su capacidad secuestradora de radicales libres 'scavengers' y de quelación de metales (Urquiaga y Leighton, 2000). Además, se les atribuyen propiedades antimicrobianas y antimutagénicas. Asimismo, se ha descrito que poseen actividad anticarcinogénica, actuando como inhibidores de procesos cancerígenos (Yang, Landau, Huang y Newmark, 2001), actividad antiVIH y actúan como protectores frente a la peroxidación lipídica en los glóbulos rojos (Urquiaga y Leighton, 2000). Además, por sus características físico-químicas destacan como candidatos para aplicaciones dermofarmacéuticas y alimentarias.

En este sentido, en la naranja se encuentran también presentes compuestos bioactivos y, al ser una de las frutas que más se producen en el mundo de acuerdo con las estadísticas (FAO, 2013), resulta de interés la utilización de la cáscara de naranja como fuente de compuestos funcionales en la industria agroalimentaria.

Un atributo bien documentado de los polifenoles es su capacidad para asociarse con las proteínas de forma no covalente y facilitar su precipitación (Ferruzzi, Bordenave y Hamaker, 2012). Estas asociaciones implican interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (Ozdal, Capanoglu y Altay, 2013; Pascal, Poncet-Legrand, Cabane y Vernhet, 2008). Esta capacidad ha sido la aprovechada por el grupo de Plundrich *et al.* (2014) para el desarrollo de matrices hipoalergénicas con potencial aplicación en inmunoterapia oral.

El objetivo principal de este trabajo es, a partir de subproductos de la industria de los cítricos, desarrollar matrices hipoalergénicas entre fracciones de compuestos fenólicos extraídas a partir de naranjas y diversas proteínas lácteas implicadas en procesos de alergias alimentarias.

Para ello, en primer lugar, se determinó el contenido polifenólico total mediante espectrofotometría según el método descrito por Lima, Mélo, Maciel, Prazeres, Musser y Lima (2005), referido a ácido gálico, para extractos procedentes tanto de jugo como de cáscara de naranja, encontrándose valores de  $0,91 \pm 0,14$  y  $4,38 \pm 0,15$  g de ácido gálico/ 100 g de extracto, respectivamente. Dado que estos datos indicaron que el extracto de cáscara de naranja presentaba un mayor contenido de compuestos polifenólicos, se continuó el estudio con este subproducto.

Seguidamente se le determinó la actividad antirradicalaria al extracto de cáscara de naranja mediante el método descrito por Turoli, Testolin, Zanini y Bellù (2004), fundamentado en la reacción que sufre el reactivo incoloro ABTS en presencia de persulfato potásico ( $K_2S_2O_8$ ), estableciéndose un equilibrio con su radical ABTS<sup>+</sup> (cromóforo de color azul intenso). La capacidad atrapadora de radicales libres medida para la muestra de cáscara de naranja fue de  $34,19 (\pm 0,76)$  mM de Trolox/ 100 g de extracto.

A continuación se optimizaron los procesos de formación de matrices hipoalergénicas entre estos fitoquímicos polifenólicos y diferentes proteínas lácteas (caseína, caseinato sódico y  $\beta$ -lactoglobulina). Se evaluó el grado de afinidad proteínas-matriz polifenólica mediante espectroscopía infrarroja de reflectancia total atenuada (IR-ATR), observándose, en todos los casos estudiados, alteración en ambas bandas debidas al enlace peptídico, bien con incrementos de las mismas o presentando cambios en la anchura de bandas; así todas estas modificaciones en los espectros IR-ATR, respecto a las proteínas nativas, sugieren cambios significativos en su estructura secundaria.

Se concluye que estos extractos polifenólicos presentan potenciales aplicaciones en el campo de la inmunoterapia oral, si bien es necesaria probar su efectividad tanto *in vitro* como *in vivo*.

## REFERENCIAS

- Asselin, J.; Hébert, J. y Amiot, J. (2006). Effects of in vitro proteolysis on the allergenicity of major whey proteins. *Journal of Food Science*, 54, 1031-1036.
- Byun, M. W.; Lee, J. W.; Yook, H. S.; Jo, C. y Kimb, H. Y. (2002). Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. *Radiation Physics and Chemistry*, 63, 369–370.
- Chen, F.-M.; Lee, J.-H.; Yang, Y.-H.; Lin, Y.-T.; Wang, L.-C.; Yu, H.-H. y Chiang, B.-L. (2014). Analysis of  $\alpha$ -lactalbumin-,  $\beta$ -lactoglobulin-, and casein-specific IgE among children with atopic diseases in a tertiary medical center in northern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 47, 130-136.
- Chicón, R.; Belloque, J.; Alonso, E. y López-Fandiño, R. (2008). Immunoreactivity and digestibility of high-pressure-treated whey proteins. *International Dairy Journal*, 18, 367-376.
- Chobert, J. M.; Briand, L.; Grinberg, V. y Haertlé, T. (1995). Impact of esterification on the folding and the susceptibility to peptic proteolysis of  $\beta$ -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1248, 170-176.
- Corzo-Martínez, M.; Soria, A. C.; Belloque, J.; Villamiel, M. y Moreno, F.J. (2010). Effect of glycation on the gastrointestinal digestibility and immunoreactivity of bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *International Dairy Journal*, 20, 742-752.
- FAO (2013). *Producción de productos alimentarios y agrícolas*. Recuperado de [http://faostat3.fao.org/browse/rankings/commodities\\_by\\_regions/S](http://faostat3.fao.org/browse/rankings/commodities_by_regions/S)
- Fernández Rivas, M. (2006). Alergia a los alimentos. En Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (Ed.), *Alergológica 2005: factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005* (pp. 227-253). Barcelona / Madrid: SEAIC / Luzán.
- Ferruzzi, M. G.; Bordenave, N. y Hamaker, B. R. (2012). Does flavor impact function? Potential consequences of polyphenol-protein interactions in delivery and bioactivity of flavan-3-ols from foods. *Physiology & Behavior*, 107, 591-597.
- Guo, M. R.; Fox, P. F.; Flynn, A. y Kindstedt, P. S. (1995). Susceptibility of  $\beta$ -lactoglobulin and sodium caseinate to proteolysis by pepsin and trypsin. *Journal of Dairy Science*, 78, 2336-2344.
- Lima, V. L. A. G.; Mélo, E. A.; Maciel, M. I. S.; Prazeres, F. G.; Musser, R. S. y Lima, D. E. S. (2005). Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, 90, 565-568.
- Meglio, P.; Bartone, E.; Plantamura, M.; Arabito, E. y Giampietro, P. G. (2004). A protocol for oral desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergy*, 59, 980-987.
- Ozda, T.; Capanoglu, E. y Altay, F. (2013). A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954-970.
- Pascal, C.; Poncet-Legrand, C.; Cabane, B. y Vernhet, A. (2008). Aggregation of a Proline-Rich Protein Induced by Epigallocatechin Gallate and Condensed Tannins: Effect of Protein Glycosylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6724-6732.
- Plundrich, N. J.; Kulis, M.; White, B. L.; Grace, M. H.; Guo, R.; Burks, A. W.; Davis, J. P. y Lila, M. A. (2014). Novel Strategy To Create Hypoallergenic Peanut Protein–Polyphenol Edible Matrices for Oral Immunotherapy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 7010–7021.

- Skripak, J. M.; Nash, S. D.; Rowley, H.; Brereton, N. H.; Oh, S.; Hamilton, R. G.; Matsui, E. C.; Burks, A. W. y Wood, R. A. (2008). A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122, 1154-1160.
- Turoli, D.; Testolin, G.; Zanini R. y Bellù, R. (2004). Determination of oxidative status in breast and formula milk. *Acta Paediatrica*, 93, 1569-1574.
- Urquiaga, I. y Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33, 55-64.
- Yang, C. S.; Landau, J. M.; Huang, M. T. y Newmark, H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenols compounds. *Annual Review of Nutrition*, 21, 381-406.
- Zubeldia, J. M.; Baeza, M. L.; Jáuregui, I. y Senent, C. J. (2012). *Libro de las enfermedades alérgicas de la fundación BBVA*. Bilbao: Fundación BBVA.

## APUNTES BIOGRÁFICOS

**Nieves Higuero Fernández** (Cáceres, 28 de Julio de 1990) es Licenciada en Química por la Universidad de Extremadura y posee el Máster en Gestión de la Calidad y Trazabilidad de Alimentos de Origen Vegetal por la misma Universidad.

Contacto: [nhiguerof@gmail.com](mailto:nhiguerof@gmail.com)