

2º SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUCTOS Y BEBIDAS SIN GLUTEN ELABORADOS A PARTIR DE CEREALES Tampere (Finlandia), 8-11 junio 2010

El pasado mes de junio se celebró por segunda vez el Simposio Internacional sobre Productos y Bebidas Sin Gluten elaborados a partir de Cereales. La cita ha sido en Tampere (Finlandia), donde se han reunido especialistas en dietética y nutrición, empresas fabricantes de productos sin gluten, científicos, investigadores y profesionales de la salud.



A continuación repasamos los temas tratados y los principales trabajos presentados.

Enfermedad celíaca y moléculas responsables

El Dr. Markku Mäki (Universidad de Tampere, Finlandia) comentó el estado actual de la enfermedad celíaca en cuanto a prevalencia, diagnóstico y tratamiento, y señaló que es necesario asumir que se trata de una enfermedad multisistémica de base inmunológica que afecta al intestino y a otros órganos y puede manifestarse de forma severa, leve o incluso sin síntomas.

En cuanto a la prevalencia, destacó que el número de pacientes celíacos aumenta con la edad, pasando del 1.5% de afectados en la infancia al 2.7% en la vejez, según varios estudios realizados en los países nórdicos, aunque la mayoría siguen estando ocultos. Uno de los problemas a la hora de diagnosticar es la falta de especificidad del análisis serológico de anticuerpos: algunas patologías como las infecciones intestinales, psoriasis, enfermedades hepáticas o cardíacas elevan los niveles de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (tTG) en personas no celíacas, aunque en estos casos los niveles de anticuerpos anti-endomisio (EMA) se mantienen negativos.

También remarcó la importancia de seguir correctamente la dieta sin gluten durante toda la vida. Está demostrado que la reintroducción del gluten después de varios años siguiendo la dieta sin gluten vuelve a provocar atrofia vellositaria y síntomas, aunque en ocasiones pueden transcurrir varios años hasta la recaída, especialmente durante la adolescencia.

El Dr. Peter Köhler (Centro de Investigación de Química Alimentaria, Alemania), por su parte, se centró en el agente desencadenante de la enfermedad celíaca: el gluten. Comentó que la mayoría de los péptidos derivados del gluten de trigo, cebada y centeno son potencialmente dañinos para las personas celíacas, especialmente aquéllos cuya longitud supera los 9 aminoácidos y tienen un alto contenido en los aminoácidos glutamina y prolina. En cuanto a la avena, respaldó su uso en la alimentación si existen garantías de que no está contaminada con trigo, cebada o centeno.

Análisis de gluten en alimentos

La Dra. Päivi Kanerva (Universidad de Helsinki, Finlandia) hizo una breve introducción sobre la dificultad de cuantificar el contenido de gluten en los alimentos aptos para celíacos y la necesidad de mejorar los métodos analíticos para garantizar la seguridad de dichos productos.

La detección de prolaminas (fracción de gluten soluble en alcohol y tóxica para las personas celíacas) en los productos elaborados se realiza por medio de anticuerpos que las reconocen de forma específica. El problema es que dichos anticuerpos están diseñados para detectar gluten de trigo, por lo que son menos eficaces a la hora de detectar el gluten de la cebada o el centeno.

Por otro lado, el proceso de extracción de las prolaminas a partir del alimento puede afectar mucho a la eficacia de la detección. La combinación de alcoholes empleada en la extracción determina la cantidad de prolaminas que van a poder ser obtenidas de la muestra. Además, algunos procesos, como el calentamiento de la muestra o el uso de agentes químicos reductores, modifican la solubilidad de las prolaminas, por lo que el resultado de la cuantificación puede verse también alterado.

Por último, la propia industria alimentaria modifica químicamente el gluten durante la elaboración de productos sin gluten, lo cual también puede provocar que el gluten modificado, que sigue siendo tóxico para los celíacos, no sea detectado por los anticuerpos que han sido diseñados para detectar gluten en su estado "nativo". Una modificación habitual es la deamidación, que mejora la esponjosidad y la capacidad emulsionante del gluten.

El grupo de la Dra. Kanerva ha conseguido optimizar el proceso de extracción de gluten utilizando el alcohol 1-propanol al 40% y la combinación de calor y reducción química para aumentar la solubilidad de las prolaminas en dicho alcohol. El método es eficaz para extraer el gluten de trigo, cebada y centeno.

En lo relativo a la cuantificación de gluten una vez extraído del alimento, se presentaron diversos trabajos en los que se proponían nuevos métodos de análisis como alternativa al test ELISA de tipo 'sándwich' basado en el anticuerpo R5. Este método detecta uno de los péptidos más tóxicos del gluten de trigo y sus análogos en cebada y centeno, aunque no fragmentos más pequeños derivados de ellos, y es el método de análisis de gluten en alimentos aceptado por el *Codex Alimentarius* en la actualidad.

El Dr. Ulrike Immer (R-Biopharm AG, Alemania) presentó como alternativa un método ELISA de tipo competitivo que permite reconocer no sólo el péptido mencionado de trigo, cebada y centeno, sino también fragmentos resultantes de su degradación (hidrolizados). Es capaz también de detectar gluteninas de bajo peso molecular y tiene un límite de detección de 2.5 ppm.

Por su parte, el Dr. Jorge Múgico (Centro Médico Universitario de Leiden, Holanda) mostró los resultados preliminares de otro método ELISA de tipo competitivo, en este caso basado en un anticuerpo que reconoce el péptido de gliadina alfa20 del trigo así como sus análogos en la cebada y el centeno. Ha sido probado con éxito en 10 laboratorios y si se confirma su eficacia

será presentado al *Codex Alimentarius* como método alternativo al ELISA basado en el anticuerpo R5.

Por último, el grupo del Dr. Richard Fielder (Laboratorios Romer, Reino Unido) propuso el uso del anticuerpo G12, capaz de detectar fragmentos muy cortos (5 aminoácidos) de gluten presente en trigo, cebada y centeno mediante una técnica denominada *lateral flow test*.

También se presentaron trabajos que abordan el tema desde el punto de vista de la selección genética de las variedades de cereales menos tóxicas o que emplean animales de laboratorio para analizar la toxicidad de los alimentos.

Requerimientos nutricionales de los productos sin gluten y estado actual de la industria y el mercado "sin gluten"

Los productos especiales para celíacos son, por lo general, bastante pobres desde el punto de vista nutricional. Se han realizado pocos estudios que analicen este aspecto, aunque los resultados existentes destacan la carencia de algunas vitaminas (tiamina, riboflavina, nicotina, ácido fólico), hierro, calcio y fibra, y el exceso de grasa en este tipo de productos. En algunos países, como Estados Unidos, Canadá y Reino Unido, existe la obligación de enriquecer con vitaminas y minerales los productos especiales para celíacos.

Los cereales son el principal aporte de fibra en la dieta, y también tienen un importante contenido en ácido fólico (vitamina B9). Por ello se recomienda su uso en la elaboración de productos especiales para celíacos. Las estrategias son dos: o se elimina el gluten de los cereales que lo contienen o se emplean materias primas sin gluten, como cereales sin gluten (maíz, arroz, mijo, sorgo), pseudocereales (amaranto, quinoa, trigo sarraceno) u otros.

Cualquiera de ellos suple adecuadamente las carencias nutricionales de los productos especiales para celíacos, sin embargo no tienen las propiedades panificables de los cereales con gluten. La mejor alternativa es la avena, el problema es que frecuentemente se encuentra contaminada con cereales que llevan gluten y, en todo caso, aún se discute su toxicidad intrínseca.

Las recomendaciones para los productores son: utilizar granos de cereales sin gluten en vez de harinas refinadas, emplear pseudocereales, evitar materia prima que pueda estar contaminada para hacer harinas y analizar en todo caso el contenido de gluten en el producto final. También evitar etiquetar como "sin gluten" en base sólo a los ingredientes.

La industria de productos especiales para celíacos está en pleno desarrollo. Aunque sigue por detrás de los productos sin lactosa, se ha equiparado ya a los productos especiales para diabéticos.

Los productos sin gluten más vendidos son los de panadería, seguidos de los productos infantiles (en pleno crecimiento) y la pasta. En cuanto a volumen de ventas, lideran el mapa mundial Estados Unidos, Italia, Alemania y Reino Unido (España figura en séptimo lugar), y entre los mercados emergentes encabezan la lista Reino Unido y España.

En la actualidad, el mercado está creciendo porque el número potencial de consumidores también va en aumento. Entre los canales que emplea la industria para darse a conocer al colectivo celíaco, el preferido son las publicaciones de las asociaciones de celíacos, aunque están restringidas a los asociados, dejando fuera a los celíacos no asociados. En cualquier caso, es mejor que los medios de comunicación generalistas (el 99.5% de la audiencia no es destinataria del mensaje) o internet, donde las informaciones confusas o erróneas se propagan con mayor facilidad.

Estrategias para la reducción de la toxicidad del gluten

La toxicidad del gluten se debe a que no es completamente degradado por las enzimas digestivas, por lo que quedan fragmentos proteicos (péptidos) que en las personas celíacas son

capaces de activar la respuesta inmunológica. Los fragmentos no digeridos son ricos en los aminoácidos prolina y glutamina.

Una estrategia para eliminar esos péptidos es el empleo de enzimas procedentes de microorganismos capaces de digerir dichos fragmentos proteicos. El Dr. Frits Koning (Centro Médico Universitario de Leiden, Holanda) presentó la enzima AN-PEP, una prolil endoproteasa extraída del hongo *Aspergillus niger*. La novedad es que es resistente a las enzimas estomacales y funciona a pH ácido, por lo que es capaz de degradar el gluten antes de que llegue al intestino. Además, reconoce los fragmentos más tóxicos del gluten y puede actuar sobre proteínas completas o péptidos pequeños. Ha superado ya la fase I de prueba en humanos y se está preparando la fase II para determinar su eficacia.

Pese a todo, nunca se plantea que este tipo de terapias reemplacen a la dieta sin gluten. Estos fármacos se están desarrollando como complemento a la dieta sin gluten, con la idea de minimizar las consecuencias de la ingesta accidental de gluten, ya sea por los errores del etiquetado o por la contaminación cruzada, especialmente cuando se come fuera de casa.

El Dr. Arturo García-Horsman (Universidad de Helsinki, Finlandia) propuso el estudio de las enzimas prolil endopeptidasas (PEP), que están presentes desde en las bacterias hasta en los humanos y tienen afinidad por aminoácidos de prolina, característicos de los péptidos tóxicos del gluten, aunque no hay resultados que prueben su capacidad para destruirlos.

El grupo de la Dra. Jussi Lopenen (Universidad de Helsinki), en cambio, opta por investigar unas enzimas que están presentes en los propios cereales cuya misión es degradar el gluten en el momento de la germinación. Podrían emplearse para detoxificar el gluten incluso antes de ser ingerido.

Otra estrategia propuesta consiste en bloquear las regiones tóxicas del gluten con péptidos sintéticos de manera que no sean reconocidas por la enzima transglutaminasa tisular, evitando así su modificación química y posterior reconocimiento por parte del sistema inmune. El proyecto, liderado por la Dra. Karolina Hoffmann (Universidad Politécnica de Goteborg, Suecia), se encuentra en la fase de selección de los péptidos sintéticos, que están demostrando su eficacia en estudios de laboratorio.

Elaboración de productos de panadería y repostería sin gluten

El gluten es un ingrediente estructural y funcional en los productos de panadería y repostería elaborados a partir del trigo, aunque su función varía según el producto que se esté elaborando.

Por ejemplo, si se están elaborando galletas, el gluten evita que se extiendan y pierdan su forma. Aporta viscosidad y esponjosidad que favorece la retención de gas en las masas para hacer pasteles. Y en cuanto al pan, el gluten permite que la masa adquiera su textura, esponjosidad, elasticidad y capacidad de retención de gas, contribuyendo a la formación de la miga.

Por tanto, la dificultad que entraña sustituir el gluten en la elaboración de productos de este tipo que sean aptos para celíacos dependerá de las funciones que desempeñe el gluten en el producto que se quiere imitar. Es por ello que los productos sin gluten mejor logrados son las galletas, y el más complicado de elaborar es el pan, por las múltiples funciones que cumple el gluten durante el proceso de panificación.

La industria alimentaria se ha centrado, tradicionalmente, en conseguir que los productos aptos para celíacos fuesen en apariencia y desde el punto de vista sensorial lo más parecidos posible a sus equivalentes con gluten. Sin embargo, se ha descuidado la calidad nutricional de estos productos, que dista mucho de los basados en el trigo.

En la actualidad, el objetivo es suplir esa carencia nutricional y mejorar la calidad sensorial de los productos aptos para celíacos. Para ello se están investigando diferentes estrategias.

El uso de cereales sin gluten o pseudocereales (quinoa, amaranto, trigo sarraceno) suple la carencia de fibra y micronutrientes, pero aportan en exceso polifenoles (abundantes en el sorgo) y polisacáridos (en las leguminosas, por ejemplo). El Dr. Michael G. Granzle (Universidad de Alberta, Canadá) propone la fermentación láctica como proceso de degradación de dichos componentes durante la elaboración del pan; para ello está probando distintas especies de bacterias del género *Lactobacillus*. Así favorece la palatabilidad y hace más digeribles los productos sin gluten.

En cuanto a la estructura y la calidad sensorial de productos elaborados a partir de harinas sin gluten, el grupo del Dr. S. Renzetti (Universidad de Cork, Irlanda) presentó como estrategia prometedora el uso de una combinación de enzimas que descomponen los polímeros que contienen dichas harinas, con lo que se logran masas más elásticas y moldeables.

Otros grupos proponen la combinación de harinas procedentes de cereales sin gluten (maíz o arroz, que no aportan la textura adecuada), con harinas elaboradas a partir de pseudocereales (trigo sarraceno, proporciona mayor calidad nutricional y palatabilidad) con almidones modificados para mejorar las propiedades del producto final. Y otros optan por la adición de beta-glucanos para reducir la inclusión de almidones y compensar así la carencia de fibra. Los beta-glucanos reducen el tiempo de tránsito intestinal, previenen el estreñimiento y el riesgo de cáncer colorrectal, además de favorecer la degradación de ácidos grasos.

También se investiga el uso de bacterias que liberen exopolisacáridos durante la fermentación de las masas, aportando con ello mejores propiedades (textura, calidad nutricional, etc.) a la masa dependiendo del cereal de partida. El grupo de la Dra. Carissa Schwab (Universidad de Alberta, Canadá) ha comprobado que algunas cepas bacterianas del género *Weissella* funcionan bien con el sorgo.

Pasta sin gluten y cerveza sin gluten

Al igual que ocurre con los productos de panadería y repostería, elaborar pasta sin gluten requiere buscar materias primas capaces de imitar la viscoelasticidad del gluten.

Primero se optó por el uso de almidones gelatinizados. Posteriormente se empezaron a incluir otros ingredientes: harinas procedentes de cereales sin gluten (arroz y maíz), harinas elaboradas a partir de pseudocereales, almidones de distinta procedencia, proteínas vegetales, emulsificantes o hidrocoloides. Los procesos de elaboración también condicionan la calidad del producto final.

Como ejemplo, en el mercado italiano pueden encontrarse espaguetis elaborados a partir de harina de arroz, o de maíz, o de una combinación de almidón de maíz y patata, etc.

En cuanto a la cerveza, tradicionalmente se elabora a partir de cebada, cereal que en su estado natural contiene gluten. Durante el proceso de obtención de la malta, el gluten es degradado, pero no siempre al 100%. Por ello, la cerveza que se elabora a partir de dicha malta tiene un contenido variable de gluten, según la variedad de cerveza producida. El grupo de la Dra. Saara Pöyri (Universidad de Tampere, Finlandia) sostiene que la malta puede ser empleada como materia prima siempre que se garantice la completa eliminación del gluten y se verifique analíticamente la ausencia de toxicidad, para lo que recomiendan la técnica ELISA de tipo competitivo basada en el anticuerpo R5.

Una alternativa más segura es la que propone el Dr. Martin Zarnkow (Universidad Politécnica de Munich, Alemania), consistente en emplear el mijo para elaborar cerveza, y también como materia prima para la elaboración de otros productos aptos para celíacos. Su grupo está investigando cómo optimizar las distintas etapas del proceso para la obtención de una cerveza de calidad.

Avena y almidón de trigo: controversias

Los países del norte de Europa tienen una larga tradición en el uso de la avena y el almidón de trigo para la elaboración de productos aptos para celíacos, siendo estos productos habituales en la dieta sin gluten.

El almidón de trigo se usa desde hace 40 años en esos países, y es especialmente relevante en Suecia, donde el 90% del pan sin gluten está elaborado a partir de este ingrediente, que obviamente debe ser tratado para reducir su contenido en gluten y ajustarse así a la normativa. Es ampliamente consumido, y el principal motivo es que es un pan muy similar al pan con gluten, por lo que facilita mucho a los celíacos seguir correctamente su dieta. De hecho, según comentó la Dra. Katri Kaukinen (Universidad de Tampere, Finlandia) a la vista de diversos estudios relacionados con el tema, los productos sin gluten basados en almidón de trigo son bien tolerados por los celíacos, pero es esencial que el seguimiento de la dieta sin gluten sea estricto.

En cuanto a la avena, la discusión se centra en si la toxicidad es intrínseca o si se debe a que está contaminada trigo, cebada o centeno. Estudios publicados en los años 90 demostraron que algunos pacientes celíacos eran sensibles a la avena. Si embargo, este hecho ha sido atribuido a la contaminación cruzada, ya que en efecto el gluten de avena tiene una proporción de péptidos tóxicos muy inferior a la del gluten de trigo, cebada y centeno. En la actualidad, el 70% de las personas celíacas en Finlandia consumen habitualmente productos basados en la avena sin perjuicio clínico.

El Dr. Hannu Slovaara (Universidad de Helsinki, Finlandia), organizador de este Simposio, concluye de forma pragmática: es contraproducente reducir excesivamente los niveles permitidos de gluten, ya que supone reducir la variedad de productos aptos para celíacos e incrementar su coste. En esta línea, Nanna Mossberg (empresa Fria, Suecia) incide en la necesidad de que los niveles de gluten permitidos en los alimentos estén ajustados a los niveles reales tolerables por los celíacos para garantizar una producción optimizada de tales productos en cuanto a calidad, variedad y precio.

Legislación



La Responsable del Seguridad Alimentaria de Finlandia, Annika Nurttila, repasó cómo ha ido evolucionando la regulación del uso del gluten en la alimentación hasta la actualidad.

El *Codex Alimentarius* es elaborado por una Comisión perteneciente a la Organización de Agricultura y Alimentación (FAO) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), y en él se recogen las normas alimentarias y reglamentos encaminados a garantizar la seguridad de los consumidores y regular las prácticas de comercio a nivel mundial. Carece de

poder legislativo, pero sus recomendaciones son adoptadas y recogidas en la legislación.

En el año 1981, el *Codex Alimentarius* desarrolla la primera norma sobre productos sin gluten, que será revisada en 1983. A partir del año siguiente y hasta el 2008 se realizan sucesivas revisiones atendiendo a dos aspectos fundamentales:

- ¿Cuál es el nivel de gluten permitido?
- ¿Cómo medimos el nivel de gluten?

En el año 2008, el *Codex Alimentarius* redacta una nueva norma que afecta a los productos sin gluten, y que es recogida un año después en el Reglamento Europeo 41/2009 publicado por la Comisión Europea, con el que se regula la composición y etiquetado de los productos alimenticios apropiados para personas con intolerancia al gluten.

Según este Reglamento, los productos especiales para celíacos etiquetados como "sin gluten" no pueden contener ingredientes derivados de trigo, cebada, centeno o avena salvo que éstos hayan sido especialmente tratados para reducir su contenido en gluten; en todo caso, el nivel de gluten no debe superar las 20 partes por millón (ppm), es decir, 20 mg de gluten por kg de producto.

Los productos especiales para celíacos también pueden ser etiquetados como "muy bajo contenido en gluten" si están elaborados a partir de trigo, cebada, centeno o avena especialmente tratados para reducir su contenido en gluten, de manera que el producto final no supere las 100 ppm. En este caso, depende de cada país permitir o no esta categoría de productos aptos para celíacos.

En cuanto a los productos de consumo general, sólo podrán ser etiquetados como "sin gluten" los elaborados a partir de materia prima que no derive de trigo, cebada, centeno o avena y que no superen las 20 ppm. En cualquier caso, etiquetar como "sin gluten" los productos de consumo general que cumplan estos requisitos no es obligatorio.

Los nuevos retos legislativos van en la dirección de regular el control de la contaminación cruzada en los servicios de catering, poniendo especial atención a los ingredientes y a los procesos de almacenamiento, elaboración y distribución, de manera que se minimice el riesgo de ingestión accidental de gluten.

Contribución española al Simposio

La mayoría de los trabajos presentados en este II Simposio fueron realizados por grupos de Finlandia, Alemania y Holanda, aunque tuvieron presencia más de 15 países, entre ellos España.

El grupo del Dr. Francisco Barro (Universidad de Córdoba) presentó resultados sobre una de las posibles estrategias para obtener variedades de trigo aptas para celíacos, consistente en silenciar los genes responsables de la expresión de los péptidos más tóxicos del gluten. Por otro lado, el equipo de la Dra. Carolina Sousa (Universidad de Sevilla) mostró los resultados obtenidos al amparo del VI Premio de Investigación Básica y Aplicada



sobre la Enfermedad Celíaca otorgado por la Asociación de Celíacos de Madrid, y que se resume en otro apartado de esta publicación. Por nuestra parte, se presentó un estudio realizado por la responsable del Servicio de Dietética de ACM, Blanca Esteban, en el que se analizan las principales causas de ingesta de gluten en pacientes celíacos que no mejoran pese a seguir una dieta sin gluten.

Otros trabajos versaban sobre nuevas técnicas de análisis de gluten en alimentos combinando la técnica ELISA con proteómica (Dra. Mena, Centro Nacional de Biotecnología-CSIC) o la elaboración de pan sin gluten a partir de leguminosas (Dra. Miñarro, Universidad Autónoma de Barcelona) y cerveza sin gluten a partir de cebada (Dra. Pöyri, Centro Nacional de Biotecnología-CSIC).

***Juan Ignacio Serrano Vela
Investigación y Formación, ACM***