

DETERMINACIÓN DEL COMPUESTO BIOACTIVO “ÁCIDO SIÁLICO” EN INGREDIENTES LÁCTEOS Y YOGURES

Perret, Sofía

¹*Instituto de Lactología Industrial (INLAIN-UNL/CONICET)*

Director/a: Wolf, Irma Verónica

Codirector/a: Perotti, María Cristina

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: ácido siálico, ingredientes lácteos, yogures.

INTRODUCCIÓN

El caseinoglicopéptido o caseinomacropéptido (GMP) es un grupo de péptidos presentes en el suero dulce de quesería formados por la acción del cuajo o quimosina (proteasa) sobre un enlace específico de la κ -caseína. Además, son los únicos glicopéptidos encontrados en la leche bovina y contienen diferentes tipos de oligosacáridos unidos a la cadena aminoacídica, entre los que destaca el ácido N-acetilneuramínico también conocido como ácido siálico (Manso y López-Fandiño, 2004). El GMP puede presentar actividades biológicas en su forma nativa y una vez hidrolizado con distintas enzimas proteolíticas, entre las que pueden mencionarse la promoción del crecimiento de bifidobacterias, la modulación de las respuestas del sistema inmune, el incremento de la absorción de minerales y la actividad anticariogénica. Además, recientes investigaciones sugieren que glicolípidos y glicoproteínas conteniendo ácido siálico están involucrados en procesos relacionados con el aprendizaje y la memoria, contribuyendo a la funcionalidad de las membranas celulares y receptores de membranas y al normal desarrollo del cerebro (Spichtig y col., 2010).

La presencia de péptidos bioactivos y la implementación de estrategias tecnológicas para incrementar sus niveles en alimentos han sido extensamente investigados. En el caso particular del GMP, la principal fuente es el suero de quesería y por lo tanto, es de esperarse que se encuentre en los distintos ingredientes lácteos obtenidos a partir del mismo. Sin embargo, poco se ha reportado sobre los niveles en ingredientes lácteos y en yogures donde es común adicionarlos en su formulación.

OBJETIVOS

Título del proyecto: “Desarrollo de una bebida láctea fermentada multifuncional para contribuir a las estrategias contra la obesidad”

Instrumento: Proyectos de Unidades Ejecutoras (PUE)

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: CONICET

Director/a: Jorge Reinheimer

- Determinar el contenido de ácido siálico en ingredientes lácteos y en yogures comerciales.
- Elaborar yogures con ingredientes lácteos fuentes de GMP y analizar la composición físicoquímica y los niveles de ácido siálico.

METODOLOGÍA

Análisis de Ingredientes lácteos y yogures: Se seleccionaron 26 ingredientes lácteos que pueden utilizarse en la formulación de yogures. Los mismos fueron clasificados en leches en polvo descremadas (**LPD**; n=8), concentrados de proteínas de suero (**WPC**; n=7), aislados de proteínas de suero (**WPI**; n=2), sueros en polvo (**SP**; n=6) y otros ingredientes (**I**; n=3). En el caso de los yogures se analizaron 15 productos comerciales (**Y**; n=15) de diversas variedades (batidos, bebibles, firmes, descremados, enteros, edulcorados, naturales, etc.).

Elaboración de yogures: Se elaboraron a escala laboratorio (500 mL) diferentes yogures utilizando el protocolo estándar. Para la preparación de las mezclas bases se utilizó leche fluida UHT parcialmente descremada (**LF**) a la cual se agregó diferentes ingredientes en forma individual o en mezcla, que aportaron cantidades variables de GMP y por tanto, de ácido siálico. De este modo, se elaboraron 9 tipos de yogures empleando los siguientes ingredientes para la fortificación en una proporción tal que el contenido de sólidos adicionados fue del 5% w/v: Y1 (**LF + LPD1**); Y2 (**LF + LPD1 + WPC1**); Y3 (**LF + LPD + I1**); Y4 (**LF+ LPD1 + WPI1**); Y5 (**LF+ LPD1 + WPC2**); Y6 (**LF+ LPD1 + SP1**); Y7 (**LF+ I3**); Y8 (**LF+ SP5**); Y9 (**LF+ SP6**). Las elaboraciones se realizaron por triplicado.

Determinaciones analíticas:

Ácido siálico: Se determinó a través de un método colorimétrico. El mismo se basa en el tratamiento de la muestra con ácido tricloroacético (TCA), en la precipitación del GMP con ácido fosfotúngstico (PTA) y su purificación con etanol. El ácido siálico se libera del péptido a través de una hidrólisis ácida en caliente y reacciona con el reactivo resorcinol dando un complejo azul que se extrae con alcohol isoamílico, y cuya absorbancia se lee a 580 nm. La cuantificación se realiza con curva de calibrado a partir de soluciones patrones de ácido N-acetilneuramínico.

Composición global: Se analizó el pH, acidez, extracto seco, grasa, proteínas, cenizas y capacidad de retención del agua (CRA) en los yogures elaborados a escala laboratorio por métodos normalizados.

RESULTADOS

Respecto a los valores de ácido siálico encontrados en los ingredientes lácteos analizados, los mismos variaron entre 63 y 85 $\mu\text{g/g}$ para las muestras de **LPD**. En el caso de los **WPC**, las muestras cuyos contenidos proteicos variaron entre el 34 y el 50% (WPC1, WPC4, WPC5, WPC6 y WPC7) presentaron niveles en el rango entre 4000 y 6000 $\mu\text{g/g}$, en tanto que los concentrados al 80% (WPC2 y WPC3) tuvieron valores promedio de 7500 $\mu\text{g/g}$. Las dos muestras de **WPI** presentaron contenidos muy distintos de ácido siálico: 9292 $\mu\text{g/g}$ para WPI1 y 50 $\mu\text{g/g}$ para WPI2, lo cual puede estar asociado al proceso tecnológico de obtención de estos aislados proteico. En el caso de los **SP**, se analizaron muestras con diferentes características, principalmente diferente grado de desmineralización. En general, los niveles de ácido siálico oscilaron entre 1000 y 1300 $\mu\text{g/g}$. En relación a otros ingredientes analizados (**I**), los mismos correspondieron a un hidrolizado de proteínas de suero (I1), un permeado de suero desmineralizado (I2) y proteínas solubles lácteas con aceite de palma (I3), encontrándose valores en torno a 11, 35 y 910 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

De los 15 yogures adquiridos en el mercado, sólo en 5 pudo determinarse el ácido siálico dado que la reacción colorimétrica presentó interferencias y no se obtuvo el color azul característico. En dichas muestras las concentraciones oscilaron entre 26 y 102 $\mu\text{g/g}$.

En la **Tabla 1** se presentan los valores de pH, acidez, extracto seco, grasa, proteínas, cenizas y capacidad de retención de agua obtenidos para los yogures elaborados en el laboratorio. Estos resultados se consideran normales para este tipo de productos.

Tabla 1: Composición global y contenido de ácido siálico en yogures

	pH	Acidez (°D) (*)	Extracto Seco (g/100g)	Grasa (g/100g)	Proteína (g/100g)	Ceniza (g/100g)	CRA (g/100g)	Acido siálico (ug/g)
Y1	4.53±0.01	104±8	14.52±0.04	1.63±0.07	4.71±0.03	1.19±0.01	37.1±1.8	19.7±1.8
Y2	4.52±0.04	100±7	14.40±0.05	1.73±0.10	4.89±0.21	1.14±0.00	47.6±1.0	89.1±1.5
Y3	4.58±0.01	124±7	14.23±0.08	1.68±0.15	5.53±0.17	1.10±0.01	36.3±1.5	14.4±0.1
Y4	4.47±0.03	104±10	14.35±0.08	1.73±0.05	5.50±0.06	1.11±0.02	56.5±5.0	200.7±7.3
Y5	4.49±0.01	103±7	14.31±0.07	1.78±0.04	5.14±0.28	1.09±0.02	51.7±2.0	158.9±9.2
Y6	4.49±0.04	97±7	14.33±0.06	1.78±0.08	4.13±0.24	1.13±0.01	36.4±2.2	38.4±3.4
Y7	4.39±0.01	91±1	13.63±0.01	2.89±0.18	3.25±0.15	0.91±0.01	33.1±0.5	46.7±0.8

Y8	4.37±0.03	94±2	13.71±0.09	1.75±0.15	3.24±0.17	0.95±0.01	30.6±0.1	80.2±1.7
Y9	4.37±0.03	91±1	13.73±0.09	2.91±0.07	3.19±0.07	0.90±0.02	33.3±0.1	63.3±2.6

(*) °D: Grados Dornic

Las variaciones en los valores de acidez, grasa, proteína y capacidad de retención de agua fueron los esperados teniendo en cuenta los diferentes ingredientes utilizados. Los contenidos de ácido siálico oscilaron en un amplio rango (desde 14 a 201 µg/g) y reflejaron los niveles de los ingredientes adicionados en las leches base. Dos de las formulaciones (Y5 y Y4) alcanzaron niveles por encima de los detectados en productos comerciales, llegando en uno de los casos a duplicarlos.

CONCLUSIONES

El presente estudio aporta datos de los niveles de ácido siálico de ingredientes lácteos y yogures comerciales de los cuales hay escasa información disponible. También se trabajó en la preparación de diferentes yogures con ingredientes que aportaron contenidos variables de ácido siálico con resultados promisorios, dado que las características de los mismos fueron aceptables tanto desde el punto de vista fisicoquímico como sensorial. Además, para dos de los yogures se obtuvieron valores muy por encima de los encontrados en productos del mercado. Se espera continuar ensayando formulaciones para incrementar aún más los niveles de ácido siálico en yogur y evaluar a través de un ensayo in vitro, la actividad anticariogénica de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Austin, S.; Michaud, J.; Spichtig, V. (2010). Determination of sialic acids in milk and milk based products. *Analytical Biochemistry*, 405, 28-40.

Lopez-Fandiño, R. y Manso, M.A. (2004). K-casein macropeptides from cheese whey: physicochemical, biological, nutritional, and technological features for possible use. *Food Reviews International*, 20, 329-355.