



EVOLUCION Y CARACTERIZACION DE PÉPTIDOS EN UNA LECHE FERMENTADA COMERCIAL

Luis G. González-Olivares, Judith Jiménez-Guzmán, Angélica Flores Nájera Alma E. Cruz-Guerrero, Gabriela M. Rodríguez-Serrano, Lorena Gómez-Ruiz, Mariano García-Garibay

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, A.P. 55-535, México D.F.

Correo electrónico: jmgg@xanum.uam.mx

Palabras Clave: *leche fermentada, péptidos bioactivos, bacterias lácticas.*

Introducción. En los últimos años se han realizado diversas investigaciones centradas en el estudio de los beneficios de leches fermentadas. Existe evidencia probada de la existencia de compuestos biológicamente activos en productos fermentados con bacterias ácido lácticas, lo cual da valor agregado a las leches fermentadas (1). El objetivo de este trabajo fue observar la evolución de péptidos del producto durante su almacenamiento, y la separación y aislamiento de péptidos de probable carácter bioactivo en una leche fermentada con *L. acidophilus* y *S. thermophilus*.

Metodología. El tamaño y concentración de los péptidos presentes en la leche fermentada, en una cinética de refrigeración, se analizó por HPLC con una columna de exclusión SEC-2000 (Phenomenex), utilizando un detector UV (CromeQuest). El análisis de detección se realizó a 210, 257 y 280nm. La corrida se llevó a cabo con una fase móvil de amortiguador de fosfatos 0.1M pH 6.8, a un flujo de 0.25ml/min. La electroforesis se realizó según Schagger y VonJagow (2).

Resultados y Discusión. Los péptidos separados por HPLC, fueron también encontrados en el análisis de electroforesis. Los pesos moleculares coincidieron con algunos ya reportados como péptidos bioactivos presentes en leches fermentadas con probióticos (tabla 1). Hubo una clara acumulación en la concentración total de péptidos (Fig. 1). La acumulación más importante es la que se observó en el grupo de péptidos de bajo peso molecular (menores a 2 kDa), debido a la tendencia de hidrólisis de los péptidos de peso molecular superior a 2 kDa (Fig. 1) durante todo el almacenamiento en refrigeración. Se sugiere que hay una acumulación de péptidos de alto peso molecular, por el fraccionamiento primario de las proteínas debido a la acción de proteasas integradas al sistema proteolítico de las bacterias lácticas; después, esta concentración disminuye por la hidrólisis de estos péptidos, dando lugar a la acumulación de péptidos de bajo peso molecular. Este sistema concuerda con lo descrito por Gasson y deVos (3), que sugirieron un sistema en cascada para la utilización de aminoácidos provenientes de proteínas de leche, mediante la acción del sistema proteolítico.

La probable presencia de aminoácidos aromáticos fue determinada al realizar el análisis de detección a diferentes longitudes de onda (210, 257 y 280 nm). Se detectaron péptidos en las regiones de absorbancia de aromáticos (280nm) y de fenilalanina (257). Esto sugiere la presencia de aminoácidos aromáticos, incluso fenilalanina, en la estructura primaria de estos péptidos (Fig. 2). Esto es importante porque se han reportado péptidos bioactivos con acción opioide y antihipertensiva con aminoácidos aromáticos en su estructura. La concentración acumulada de

péptidos de bajo peso molecular es muy importante, ya que en la bibliografía se reporta que péptidos con acción antihipertensiva tienen un IC50; (concentración mínima necesaria para iniciar un efecto antihipertensivo por la inactivación del 50% de la actividad de ACE), superior a 100 µg/ml (3). El péptido de 835 kDa presenta algunas características (peso molecular y presencia de aminoácidos aromáticos), que sugieren sea un péptido antihipertensivo.

Péptidos (kDa) Electroforesis	Péptidos (kDa) HPLC	P.M. (kDa) Bibliografía	Función
3.97	3.86	3.97	AM
3.03	3.09	3.11	IM, ATM
2.58	2.68	2.70	AM,ACEI,ATM, IM.
1.56	1.61	1.62	ACE-I, AM,AM,ACE-I
1.31	1.42	1.39	ACE-I, AM
1.15	1.14	1.18, 1.15	AM,ACE-I
0.836	0.870	0.885	ACE-I, opioide

Tabla 1. Relación de pesos moleculares de péptidos encontrados por HPLC y electroforesis y su posible función.

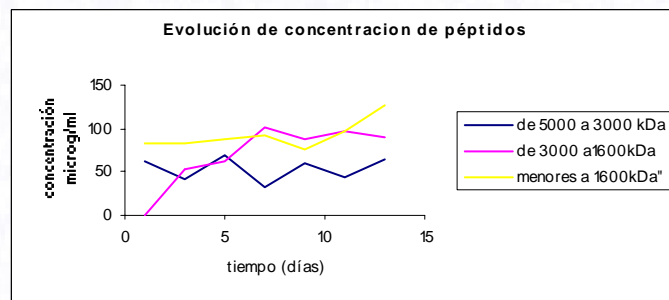


Fig 1. Evolución de concentración de péptidos en almacenamiento refrigerado

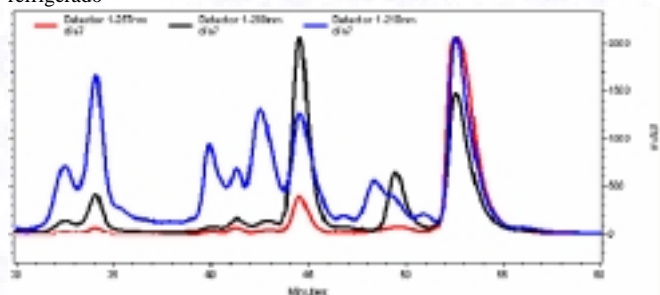


Fig. 2. Cromatograma de una muestra de sobrenadante de leche fermentada después de la centrifugación a 18,000 rpm por 15 min a 4°C, corridas en una columna de exclusión (Sec-2000), aplicando detección a tres diferentes longitudes de onda.

Bibliografía

- (1) Leena Seppo, et. al., Am J Clin Nutr 2003;77:326-30.
- (2) Schagger H. y von Jagow G. 1987 Anal. Biochem. 166:368-379.
- (3) Gasson, M. J.; Vos, W. M. de., 1994, Cap.4 : ed. Blackie Academic y Professional an Imprint of Chapman y Hall. 169-210.