

Análisis del perfil de ácidos grasos, incluido ácido linoleico conjugado, en quesos y yogur del mercado

María Florencia Molinari

*Instituto de Lactología Industrial (INLAIN-UNL/CONICET) – Facultad de Ingeniería Química
Santiago del Estero 2829, 3000 Santa Fe. molinarimflorencia@gmail.com*

Ingeniería - Alimentos

Introducción

Los productos lácteos son importantes constituyentes de la dieta y tienen un rol esencial en el cumplimiento de los requerimientos nutricionales. En los últimos años se ha observado un notable incremento en la producción y consumo de queso y yogur (desde aprox. 8 kg/hab hasta 12 kg/hab en el período 2003 - 2012) (www.minagri.gob.ar), lo que se ha reflejado en una mayor disponibilidad de productos con diferentes características en el mercado nacional. Estos alimentos son una excelente fuente de nutrientes (proteínas, grasas, vitaminas y minerales); por el contrario, otros componentes pueden tener una implicancia negativa para la salud (ácidos grasos saturados, colesterol, entre otros). Sin embargo, se le han atribuido funciones benéficas a los isómeros conjugados del ácido linoleico (CLA), siendo el ácido ruménico (C_{18:2} 9c,11t) el principal compuesto representativo de este grupo. Entre los efectos positivos se han mencionado la reducción del contenido de grasa corporal y aumento de masa muscular, reducción del colesterol plasmático, estimulación del sistema inmune, inhibición del inicio de carcinogénesis y posiblemente actividad antioxidante (Kim y col., 2004; Hur y col. 2007). Los productos lácteos son considerados como la fuente más importante de CLA. El mismo es un componente natural de la grasa de leche sintetizado en el rumen a partir de la isomerización y biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados aportados por la alimentación. Las concentraciones de CLA encontradas en productos lácteos son relativamente bajas y presentan una gran variabilidad (entre 2 - 37 mg/g grasa) (Côrtes Nunes y col., 2010) debido a múltiples factores tales como la raza y dieta del animal, sistema de producción, región geográfica, y condiciones de procesamiento del alimento (Collomb y col., 2006). Por otro lado, se ha observado la capacidad de algunos cultivos lácteos usados en alimentos lácteos fermentados (queso y yogur) de formar CLA a partir del ácido linoleico (LA). Sin embargo, el nivel de CLA encontrado depende de numerosos factores tales como la composición de los fermentos, la velocidad de crecimiento celular y estado fisiológico, la concentración de sustrato presente en la matriz, las condiciones de fermentación y de almacenamiento/maduración del producto (Kim y col., 2002; Sieber y col., 2004).

Objetivo

Determinar el perfil de ácidos grasos en alimentos lácteos fermentados (queso y yogur) presentes en el mercado nacional y evaluar la contribución de CLA a la ingesta diaria.

Metodología

Se analizaron un total de siete quesos pertenecientes a las variedades Pategrás (P), Reggianito (R), Azul (A) y Port Salut (PS) y dos yogures con adición de cultivos probióticos (Y), de varias marcas comerciales.

Proyecto acreditado en el que se enmarca la investigación: "Estrategias tecnológicas para favorecer la producción de compuestos bioactivos (galacto-oligosacáridos, fosfopéptidos y ácido linoleico conjugado) en yogur", CAI+D 2011 (UNL). Dir.: M. Cristina Perotti. Directores del autor: Dras. Perotti, M. C. y Wolf I. V.

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó de la siguiente manera. En primer lugar, se extrajo la materia grasa del alimento, luego se realizó la saponificación y esterificación de los ácidos grasos a ésteres metílicos (FAME), los cuales finalmente se analizaron por cromatografía gaseosa utilizando el método de estándar interno para la cuantificación. La extracción de la materia grasa de las muestras de yogur y queso se realizó de acuerdo al método de Jiang y col. (1996) y Côrtes Nunes y col. (2010). Para ello, isopropanol (12 mL) y hexano (18 mL) fueron adicionados a 3 g de queso o 10 g de yogur que se homogeneizaron en Ultraturrax T25. La mezcla se centrifugó a 2500 g a 5 °C por 10 min y se tomó la fase superior. Se realizó una segunda extracción de la fase alcohólica-acuosa con hexano (18 mL) y se procedió a la centrifugación y recuperación de la fase de hexano. A los extractos combinados (aprox. 25 mL) se le adicionaron solución de Na₂SO₄ 6,7 % p/v (5 mL), se agitó en vórtex y se centrifugó (2500 g/5 °C/10 min). La fase de hexano se transvasó a un balón y se evaporó a sequedad en Rotavapor a 40-50 °C y 60 rpm. La grasa (aprox. 400 mg) se reservó a - 18 °C.

La preparación de los FAME se realizó según el método de Lin y col. (2003). Se colocaron 50 mg de grasa en un tubo de vidrio con tapa a rosca conteniendo los estándares internos (C5:0, C7:0 y C17:0; 0,4 mg, 0,4 mg y 2 mg, respectivamente). Se adicionó NaOH en metanol 1N (2 mL), se agitó y se colocó en baño de agua a 100 °C por 15 min. Se enfrió a 25 °C y se adicionó BF₃ en metanol 14 % (2 mL), se agitó en vórtex por 30 seg y se colocó en baño a 50 °C durante 30 min, con agitación intermitente cada 10 min. Los FAME fueron extraídos con hexano (1 mL), previa adición de solución saturada de NaCl (1 mL) para facilitar la separación de fases. Se agitó en vortex 1 min y luego de 30 min en refrigeración, la fase de hexano se inyectó (1 µl) en el cromatógrafo de gases (Perkin Elmer, serie 9000, USA) utilizando una columna capilar HP-INNOWAX (60 m x 0.25 µm x 0.25 mm) (Agilent J&W, USA). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura del inyector *split-splitless*, 250 °C; caudal del carrier hidrógeno, 2 mL/min; relación de split, 1/50; temperatura del detector FID, 300 °C; rampa de temperaturas del horno 75 °C (5 min), 8 °C/min hasta 150 °C, 150 °C (15 min); 10 °C/min hasta 245 °C, 245 °C (5 min). Las muestras se analizaron por duplicado. Los resultados se expresaron en g/100 g de queso o yogur.

Resultados

Contenido de CLA

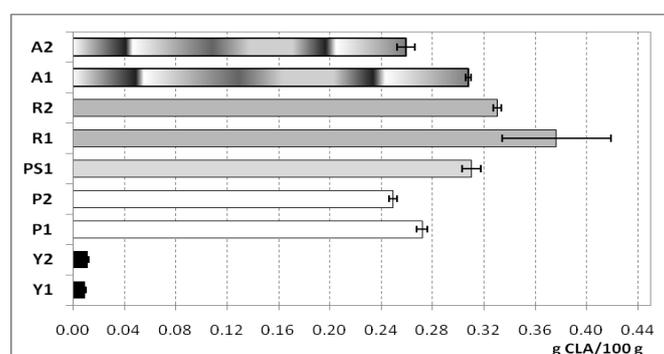
En la **Figura 1** se observa la concentración de CLA detectada en las muestras de quesos y yogures analizados. Los quesos se ubicaron en el rango 0,26-0,38 g CLA/100g queso, observándose diferencias entre las muestras dentro de cada variedad; en el límite superior de este intervalo se ubicó una de las muestras de queso Reggianito (R1) y en el extremo inferior una de las muestras de Pategrás (P2). Cabe mencionar que en el rótulo del queso Reggianito R1 se indicaba la leyenda “enriquecido naturalmente con CLA”. Por su parte, la muestra de Queso Port Salut PS5 que también poseía la leyenda “alto CLA”, tuvo niveles intermedios, sin embargo no se analizaron quesos Port Salut tradicionales. En estos casos particulares, el enriquecimiento de CLA en el alimento se consiguió a partir de la manipulación de la dieta del animal.

Por otro lado, las dos muestras de yogur con probióticos presentaron valores comparables entre sí, aunque muy inferiores a las muestras de queso. Es conveniente tener en cuenta el menor contenido de grasa presente en los yogures (aprox. 1 g/100g) en comparación a los valores encontrados o reportados para los quesos (23-30 g/100g). Los resultados de CLA obtenidos expresados como mg/g de grasa estuvieron en el rango de 8,1 - 13,1 mg/g para las muestras de quesos y 9,4 mg/g (en promedio) para los yogures. Los mismos están incluidos dentro de los intervalos reportados por varios autores, los cuales también detectaron variaciones en los niveles

de CLA en diferentes clases de yogur y quesos. Sieber y col. (2004) informaron concentraciones de CLA desde 4,87 hasta 7,96 mg/g grasa para quesos azules, 4,00 mg/g para Parmesano y 5,45 mg/g para suizos; Gnädig (2002) encontraron valores de 10,0 mg/g en quesos Emmental conteniendo bacterias propiónicas; Zlatanov et al. (2002) indicaron niveles de 4,9-19,0 mg/g para quesos duros de larga maduración, los cuales resultaron inferiores (5,1-11,0 mg/g) para quesos duros jóvenes.

Por su parte, Serafeimidou y col. (2012) reportaron 1,28-15,01 mg/g grasa; Sieber y col. (2004), 3,82-6,22 mg/g y Prandini y col. (2007), 4,42-4,99 mg/g, en distintas variedades de yogures.

La variabilidad encontrada en quesos y yogur podría atribuirse a diversas causas tales como el nivel de CLA naturalmente presente en la leche, como así también a los parámetros de proceso. La producción de CLA en quesos azul y Pategrás y en quesos duros de larga maduración puede favorecerse por la mayor disponibilidad del sustrato precursor (LA) en la matriz del queso producido por lipólisis debido a la actividad enzimática proveniente de los cultivos starter empleados, lo que se ve favorecido a medida que la maduración se prolonga. En particular, en quesos azules y Pategrás es habitual el uso de fermentos secundarios (hongos *Penicillium* y bacterias propiónicas) de reconocida actividad lipolítica y para los cuales también se les ha atribuido capacidad de síntesis de CLA (Hur y col. 2007).



Quesos comerciales pertenecientes a las variedades Reggiano (R), Pategrás (P), Port Salut (PS), Azul (A); Yogures comerciales con agregado de cultivos probióticos (Y); 1 y 2: marcas comerciales.

Figura 1. Contenido de CLA (9c,11t) en muestras de yogur y quesos (g/100g alimento).

Por otro lado, se estimó la ingesta diaria de CLA (principalmente ácido ruménico) multiplicando el contenido de CLA por los valores de consumo (por individuo y por día) para cada producto lácteo (Martins y col., 2007). Los valores de consumo fueron obtenidos de las estadísticas nacionales correspondientes al año 2012. De esta manera, los dos productos lácteos analizados contribuyeron con 89-133 mg (correspondiente a 85,0-129,1 mg/día para quesos y 3,7 mg/día para yogur) a la ingesta diaria de CLA de la población argentina. Si bien se han reportado grandes diferencias en los valores estimados para la ingesta dietaria total de CLA entre las diferentes poblaciones (15 - 1000 mg) (Collomb y col., 2006).

Perfil de ácidos grasos

En la **Tabla 1** se muestra la composición de ácidos grasos (g o mg/100g alimento) para los productos lácteos estudiados. Se observaron algunas diferencias en los perfiles entre las distintas muestras, sin embargo se encuentran dentro de los valores normales reportados por varios autores (Prandini y col., 2007; Serafeimidou y col., 2012). Al igual que lo que acontece en la leche, los ácidos grasos saturados fueron los más abundantes en todas las muestras analizadas totalizando entre el 66 y 72% del total de ácidos grasos identificados. El ácido palmítico y en segundo lugar los ácidos mirístico y esteárico fueron los más representativos dentro de esta clase de lípidos. El

ácido oleico (C18:1) fue el principal ácido graso monoinsaturado, contribuyendo al 24-30% del total de ácidos. Los porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados, dentro del cual se incluye al CLA, oscilaron entre 4,0 y 5,7%. Los contenidos de ácidos grasos de cadena corta, media y larga fueron 1,85-3,16; 2,37-3,86 y 13,96-19,71 g/100g de queso, respectivamente. Proporciones similares se apreciaron para ambas muestras de yogur; los ácidos saturados representaron el 70% del total, el ácido oleico el 25% y el grupo de los poliinsaturados incluido el CLA fue de 5%.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos de quesos y de yogures comerciales (expresados en g/100 g queso y mg/100 g yogur)

| AG | Quesos | | | | | Yogures | | | |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
| | A1 | A2 | P1 | P2 | PS1 | R1 | R2 | Y1 | Y2 |
| C4:0 | 1,06 ± 0,11 | 1,21 ± 0,06 | 0,80 ± 0,15 | 1,48 ± 0,36 | 0,76 ± 0,01 | 0,83 ± 0,23 | 1,00 ± 0,11 | 31,97 ± 2,28 | 43,54 ± 0,78 |
| C6:0 | 0,61 ± 0,03 | 0,53 ± 0,03 | 0,52 ± 0,01 | 0,57 ± 0,05 | 0,43 ± 0,01 | 0,45 ± 0,05 | 0,54 ± 0,02 | 18,79 ± 0,24 | 21,80 ± 0,18 |
| C8:0 | 0,34 ± 0,01 | 0,28 ± 0,01 | 0,31 ± 0,02 | 0,34 ± 0,02 | 0,22 ± 0,01 | 0,25 ± 0,02 | 0,31 ± 0,01 | 11,02 ± 0,04 | 12,75 ± 0,26 |
| C10:0 | 0,74 ± 0,02 | 0,58 ± 0,03 | 0,66 ± 0,08 | 0,77 ± 0,12 | 0,44 ± 0,02 | 0,54 ± 0,03 | 0,66 ± 0,02 | 24,05 ± 0,05 | 27,92 ± 0,81 |
| C12:0 | 0,90 ± 0,03 | 0,69 ± 0,03 | 0,79 ± 0,11 | 0,94 ± 0,18 | 0,51 ± 0,02 | 0,70 ± 0,03 | 0,77 ± 0,03 | 28,01 ± 0,01 | 32,73 ± 1,08 |
| C14:0 | 2,96 ± 0,07 | 2,64 ± 0,11 | 2,51 ± 0,02 | 2,85 ± 0,02 | 1,86 ± 0,03 | 2,54 ± 0,29 | 2,60 ± 0,01 | 95,66 ± 2,25 | 111,58 ± 0,89 |
| C16:0 | 8,24 ± 0,19 | 7,53 ± 0,26 | 6,86 ± 0,02 | 8,08 ± 0,06 | 5,25 ± 0,09 | 6,56 ± 0,78 | 6,74 ± 0,05 | 243,89 ± 7,76 | 287,41 ± 0,70 |
| C18:0 | 3,26 ± 0,08 | 3,63 ± 0,09 | 3,39 ± 0,02 | 3,24 ± 0,05 | 3,00 ± 0,05 | 2,37 ± 0,25 | 3,15 ± 0,03 | 105,12 ± 3,67 | 123,91 ± 0,80 |
| C18:1 | 5,94 ± 0,14 | 7,19 ± 0,05 | 5,59 ± 0,05 | 6,06 ± 0,02 | 4,94 ± 0,09 | 6,62 ± 0,64 | 5,20 ± 0,09 | 197,68 ± 5,90 | 236,38 ± 2,48 |
| C18:2 | 0,64 ± 0,01 | 0,87 ± 0,01 | 0,66 ± 0,03 | 0,65 ± 0,01 | 0,36 ± 0,00 | 0,77 ± 0,09 | 0,67 ± 0,02 | 25,04 ± 0,93 | 30,87 ± 0,11 |
| C18:3 | 0,16 ± 0,00 | 0,19 ± 0,00 | 0,16 ± 0,00 | 0,12 ± 0,00 | 0,11 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 | 0,17 ± 0,00 | 4,27 ± 0,14 | 5,07 ± 0,02 |

Quesos comerciales pertenecientes a las variedades Reggianito (R), Pategrás (P), Port Salut (PS), Azul (A); Yogures comerciales con agregado de cultivos probióticos (Y); 1 y 2: marcas comerciales.

Conclusión

El presente trabajo representa un estudio preliminar al conocimiento de los niveles de CLA en productos lácteos del mercado para los cuales la información existente es escasa. Los niveles de CLA detectados fueron similares a los reportados para los alimentos en estudio. El aporte calculado a la ingesta diaria de CLA es intermedio en relación a otras poblaciones. Sin embargo, sería conveniente realizar un relevamiento más amplio para obtener valores más representativos del contenido de CLA en productos lácteos de nuestro país y del aporte de los mismos a la ingesta diaria.

Bibliografía

- Collomb M., Schmid A., Sieber R., Wechsler D., Ryhänen E.-L.** 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal* 16, 1347-1361.
- Côrtés Nunes J., Guedes Torres A.** 2010. Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products and contribution to daily intake of CLA. *Journal of Food Composition and Analysis* 23, 782-789.
- Gnädig S.** 2002. Conjugated linoleic acid: Effect of processing on CLA in cheese and the impact of CLA on the arachidonic acid metabolism. Thesis, University of Hamburg (170pp).
- Hur S., Park G., Joo S.** 2007. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock Science* 110, 221-229.
- Jiang J., Björck L., Fondén R., Emanuelson M.** 1996. Occurrence of conjugated cis-9,trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: Effects of feed and dietary regimen. *Journal Dairy Science* 79, 438-445.
- Kim Y., Lee K., Lee H.** 2004. Total antioxidant capacity of arginine-conjugated linoleic acid (CLA) complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 439-444.
- Kim Y., Liu R.** 2002. Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Food Science* 67 (5), 1731-1737.
- Lin T., Lin C.-W., Wang Y.-J.** 2003. Production of conjugated linoleic acid by enzyme extract of *Lactobacillus acidophilus* CCR 14079. *Food Chemistry* 83, 27-31.
- Martins S., Lopes P., Alfaia C., Ribeiro V., Guerreiro T., Fontes C., Castro M., Soveral G., Prates J.** 2007. Contents of conjugated linoleic acid isomers in ruminant-derived foods and

estimation of their contribution to daily intake in Portugal. *British Journal of Nutrition* 98, 1206-1213.

Prandini A., Sigolo S., Tansini G., Brogna N., Piva G. 2007. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of food composition and analysis* 20, 472 - 479.

Serafeimidou A., Zlatanov S., Laskaridis K., Sagredos A. 2012. Chemical characteristics, fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content of traditional Greek yogurts. *Food Chemistry* 134, 1839-1846.

Zlatanov S., Laskaridis K., Feist C., Sagredos A. 2002. CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chemistry* 78, 471-477.