

CUANTIFICACIÓN DE RIBOFLAVINA Y AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS EN HIDROLIZADOS PROTEICOS POR HPLC

Carolina Bueno-Solano, Olga N. Campas-Baypoli, Alma G. Villa-Lerma, Dalia I. Sánchez-Machado, Jaime López-Cervantes*

Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, CP 85000, Cd. Obregón, Sonora, México.

E-mail: jlopezc@itson.mx, Fax: +52-6444109001

Palabras claves: Hidrolizado proteico, riboflavina, aminoácidos aromáticos

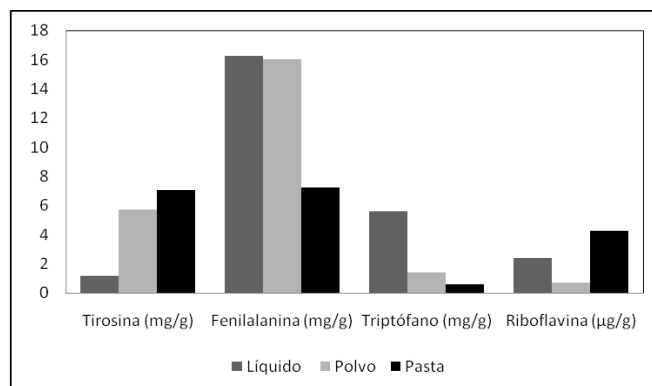
Introducción. Los aminoácidos son compuestos biológicamente activos necesarios para el desarrollo y el crecimiento. Además, son los componentes principales de las proteínas, neurotransmisores y otras biomoléculas (1). Por otra parte, la riboflavina es precursor de las coenzimas flavín mononucleótido y flavín adenín dinucleótido, las cuales son intermediarios en reacciones metabólicas relacionadas con la producción de energía y oxidación-reducción (2). Debido a su fluorescencia natural la riboflavina y los aminoácidos aromáticos pueden ser cuantificados por cromatografía de líquidos sin derivatización lo cual facilita su detección.

El propósito del presente trabajo fue desarrollar y validar un método para la determinación de riboflavina y aminoácidos aromáticos en hidrolizados proteicos obtenidos de los remanentes de camarón por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Metodología. El hidrolizado proteico en forma líquida fue aislado del fermentado de los remanentes de camarón y luego procesados en polvo o pasta (3). Para la extracción de riboflavina implica tres etapas: hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática, y un tratamiento final con TCA 100 % (4). Las condiciones HPLC fueron: fase móvil acetato de amonio 5 mM: metanol (72:28 v/v), flujo 1.0 ml/min, temperatura de columna 28°C. La detección se realizó a las longitudes de onda óptimas: tirosina ($\lambda_{ex}=274$ nm, $\lambda_{em}=304$ nm), fenilalanina ($\lambda_{ex}=254$ nm, $\lambda_{em}=282$ nm), triptófano ($\lambda_{ex}=280$ nm, $\lambda_{em}=348$ nm) y riboflavina ($\lambda_{ex}=450$ nm, $\lambda_{em}=525$).

Resultados y discusión. Reproducibilidad y repetibilidad del método son satisfactorios, con RSD para los cuatro compuestos menor a 7%, mientras que la exactitud medida por ensayos de recuperación se encuentra en un rango de 88-99%. La r^2 fue superior al 0.9991 para todos los compuestos. Fenilalanina, es el aminoácido presente en mayor concentración en las tres muestras. El triptófano es un aminoácido limitante y su bajo contenido en la pasta se atribuye a su participación en la reacción de Maillard. El contenido de riboflavina en la muestra es similar al reportado en otros productos marinos.

La pasta presenta el mayor contenido de tirosina, 7.03 mg/g (gráfica 1). El contenido de fenilalanina y triptófano en el hidrolizado líquido fue de 16.28 mg/g y 5.57 mg/g, respectivamente. Mientras que la pasta con 4.24 μ g/g fue la principal fuente de riboflavina.



Gráfica 1. Contenido de tirosina, fenilalanina, triptófano libres y riboflavina en tres formas de hidrolizado proteico.

Conclusión. El método HPLC desarrollado es rápido, sensible y con precisión óptima para la cuantificación de riboflavina y aminoácidos aromáticos en hidrolizados proteicos. El método propuesto es apropiado para el análisis rutinario de estos compuestos cambiando solamente las longitudes de onda para la detección.

Bibliografía.

- Bernal JL, Nozal MJ, Toribio L, Diego JC, Ruiz A (2005). A comparative study of several HPLC methods for determining free amino acid profiles in honey. *J Sep Sci* 28: 1039-1047.
- Ekinci R, Kadakal C (2005). Determination of seven water-soluble vitamins in tarhana, a traditional turkish cereal food, by high-performance liquid chromatography. *Acta chromatogr* 15: 289-297.
- Bueno-Solano, C, López-Cervantes, J, Campas-Baypoli, ON, Lauterio-García, R, Adan-Bante, NP, Sánchez-Machado, DI. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food chem* 112 (3), 671-675.
- Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, López-Hernández J, Paseiro-Losada P (2004). Simultaneous determination of thiamine and riboflavin in edible marine seaweeds by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr Sci* 42: 1-4.