

ESTUDIO COMPARATIVO DEL CONTENIDO EN AZÚCARES (SACAROSA, ESTAQUIOSA Y RAFINOSA) DE LA HARINA DE SOJA SEGÚN PROCEDENCIA

González, M.¹, Hermida, M.¹, Sueiro, S.¹, Serrano, M.P.² y Mateos, G.G.²

¹Laboratorio de Mouriscade, Vilanova-Lalín. 36515 Pontevedra. gonzalo.gmateos@upm.es.

²Departamento de Producción Animal, UPM, Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.

INTRODUCCIÓN

Las habas de soja contienen entre 12 y 17% de azúcares solubles totales de los cuales más del 95% están constituidos por sacarosa (3-9%), estaquirosa (0,6-5,8%) y rafinosa (0,1 a 0,8%) (De Coca-Sinova *et al.*, 2008; Giannoccaro *et al.*, 2008). Estudios previos realizados en nuestro Departamento (Sueiro *et al.*, 2008) muestran una alta variabilidad en cuanto al contenido en azúcares de las harinas de soja (HS) comercializadas en España. De hecho en este estudio, el contenido en sacarosa fue inferior en las HS de origen brasileño que en las de Estados Unidos y lo contrario ocurrió con el contenido en estaquirosa. La digestibilidad de la sacarosa contenida en las HS es alta en aves (Coon *et al.*, 1990) pero los oligosacáridos no son digeridos debido a la ausencia de la enzima α -1,6-galactosidasa en la mucosa intestinal. Por ello, una vez consumidos llegan al colon donde son fermentados por las bacterias intestinales produciendo gases responsables de la flatulencia, azúcares solubles y de la multiplicación desordenada de los microorganismos intestinales. Sin embargo, en formulación práctica, el contenido en azúcares solubles no se tiene en cuenta, lo que puede acarrear problemas en la evaluación del contenido energético de las HS y en la incidencia de camas húmedas en aves (Mateos *et al.*, 2002; De Coca-Sinova *et al.*, 2008).

Existen varios métodos para determinar azúcares en las HS incluyendo la cromatografía de gases con derivatización de la muestra (Knudsen y Li, 1991; Nils-Gunnar *et al.*, 1992), la utilización de enzimas (Giannoccaro *et al.*, 2008) que presentan el problema de no diferenciar estaquirosa y rafinosa y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Ekwall *et al.*, 2007). Todas ellas precisan estandarizar y optimizar las condiciones del método y especialmente del proceso de extracción (tiempo, temperatura y naturaleza del disolvente) del azúcar objeto de estudio.

El objetivo de este ensayo fue evaluar el contenido en sacarosa, estaquirosa y rafinosa de 36 muestras de HS recolectadas en 2008, en función del origen, mediante un método propio validado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 muestras de HS de 3 orígenes diferentes (12 Argentinas, ARG; 12 Brasileñas, BRA y 12 de Estados Unidos, USA) recogidas en el país de origen o en puerto Europeo durante 2008. Las muestras se molieron a 1 mm y posteriormente se realizó la extracción y purificación de los azúcares para su posterior cuantificación mediante HPLC. Para ello, se pesó 1 g de muestra en un erlenmeyer de 100 mL y se añadieron 50 mL de agua. Para la extracción se agitó la mezcla durante 1h a 50 °C. Posteriormente se enfrió hasta temperatura ambiente y se transfirió el líquido a un tubo de centrifuga (4.000 rpm, 15 min). Se recogió una alícuota de 2 mL del sobrenadante que se llevó a un volumen de 10 mL con agua. Esta solución se purificó (cartucho Sep-Pack C₁₈) siguiendo el siguiente protocolo: a) acondicionamiento del cartucho con 5 mL de metanol y 5 mL de agua, b) paso de la muestra (descartando los 2-3 primeros mL) a un vial para su posterior análisis por HPLC y finalmente paso de la muestra a través de unos filtros de 0,45 μ m (GHP) previo al análisis por HPLC. Las muestras (10 μ L) se analizaron utilizando un sistema de HPLC equipado con un desgasificador, una bomba (Waters 1525), un automuestreador (Waters 717 plus) y un detector de índice de refracción (Waters 2414) a 40°C y se separaron a través de una columna Sugar-Pak I (300 mm x 6,5 mm I.D.) empleando como fase móvil agua con

20 mg/L de acetato cálcico y 50 mg/L de EDTA cálcico con un flujo de 0,5 mL/min a 90°C. El porcentaje de azúcares de la muestra se calculó integrando las áreas de los picos obtenidos en los cromatogramas y comparando estas áreas con las de los picos obtenidos con los patrones comerciales (Scharlau No.SA0021 para la sacarosa, Sigma-Aldrich No.851787 para la estaquiosa y Sigma-Aldrich No.R0250 para la rafinosa). Las curvas de calibración se construyeron a partir de los patrones comerciales dentro del rango óptimo de concentración (200-600 mg/L para la sacarosa, 100-300 mg/L para la estaquiosa y 25-100 mg/mL para la rafinosa). El coeficiente de correlación para todas ellas fue de 0,999. Previo al análisis, todas las soluciones de los patrones se hicieron pasar a través de filtros de 0,45 µm.

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1990) para diseños al azar. El modelo incluyó el origen de la HS como efecto principal. Para la separación de medias se llevó a cabo un t-test. Los datos se presentan en tablas (% materia seca, MS) como medias normales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores químicos de las 36 HS analizadas estuvieron dentro del rango esperado para HS altas en proteína (54,0, 52,3 y 54,2%MS de proteína y 3,35, 3,26 y 3,16%MS de lisina para USA, ARG y BRA, respectivamente). Asimismo la actividad de los inhibidores de la tripsina fue de 4,1, 2,9 y 3,3 mg/g para USA, ARG y BRA, respectivamente. Las HS de origen USA tuvieron más estaquiosa que las procedentes de ARG y BRA (6,70 vs. 5,74 y 5,50% MS; $P < 0,001$) (Tabla 1). Asimismo, las HS procedentes de USA tuvieron más sacarosa y menos rafinosa que las sojas BRA, presentando las sojas ARG valores intermedios ($P < 0,001$). Los resultados obtenidos pueden ayudar a explicar diferencias en resultados productivos entre pollos alimentados con diferentes partidas de HS. Una diferencia de 3 a 4 puntos en el contenido en sacarosa, que en base a este trabajo es bastante frecuente, puede suponer sub-valorar en más de 100 kcal el contenido en EMAn de la HS utilizada (más de un 4% de su valor energético). Asimismo, diferencias en el contenido de oligosacáridos de 2 a 3 puntos son frecuentes, lo que puede afectar a la aparición de problemas de heces pastosas.

Se concluye que el contenido en sacarosa y, por tanto, el contenido en EMAn de las sojas varían entre orígenes y entre muestras dentro de un origen. Asimismo, el contenido en estaquiosa y rafinosa varía con estos factores lo que debe tenerse en cuenta en formulación práctica. Por tanto, las fábricas de pienso deberían analizar las partidas de HS recibidas por el contenido en estos azúcares y modificar las matrices de formulación acorde a estos valores.

Tabla 1. Influencia del origen de la harina de soja sobre el contenido en azúcares (% MS)

<i>Origen</i>	<i>Estaquiosa</i>	<i>Rafinosa</i>	<i>Sacarosa</i>
USA	6,70 ^a	1,13 ^c	8,17 ^a
Argentina	5,74 ^b	1,34 ^b	7,70 ^b
Brasil	5,50 ^b	1,55 ^a	6,93 ^c
e.e. (n = 12)	0,108	0,0544	0,161
Probabilidad	***	***	***

***. $P < 0,001$. ^{a-c} Valores de la misma columna con diferente superíndice son diferentes ($P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Coon, C. N., Leske, K. L., Akavanichan, O. y Cheng, T. K. 1990. *Poult. Sci.* 69: 787-793. • De Coca-Sinova, A., Valencia, D. G., Jiménez-Moreno, E., Lázaro, R. y Mateos, G. G. 2008. *Poultry Sci.* 87: 2613-2623. • Ekwall, J., Stegmark, R. y Nyman, M. 2007. *J. Food Composition Anal.* 20: 13-18. • Giannoccaro, E., Jane, Y. y Chen, P. 2008. *Food Chem.* 106: 324-330. • Knudsen, E. B. y Li, B. W. 1991. *J. Agric. Food Chem.* 39: 689-694. • Mateos, G. G., Lázaro, R. y Gracia, M. I. 2002. *J. Appl. Poult. Res.* 11: 437-452. • Nils-Gunnar, C., Hasse, K. y Sandberg, A. S. 1992. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2404-2412. • Statistical Analysis Systems Institute. 1990. *SAS user's guide: statistics*. Versión 6, 4ª edición. Cary, NC: SAS Institute, Inc, USA. • Sueiro, S., Hermida, M., Valencia, D. G., Serrano, M. P. y Mateos, G. G. 2008. *Poultry Sci.* 87: 29 (abstr.).

A COMPARATIVE STUDY ON THE SUGAR (SACCHAROSE, STACHYOSE AND RAFFINOSE) CONTENT OF SOYBEAN MEAL ACCORDING TO ORIGIN

ABSTRACT: A trial was conducted to determine the content of saccharose (SAC), stachyose (STA), and raffinose (RAF) of 36 samples of soybean meal (SBM) obtained from 3 different countries; USA, Argentine (ARG), and Brazil (BRA). The sugars were analysed by high performance liquid chromatography using 50 ml of water/g of sample and a temperature of 50°C for 1 h. The SAC content varied among countries ($P < 0.001$) being higher for USA than for BRA, with ARG content being intermediate. Also, USA SBM had more stachyose and less raffinose than BRA SBM, with ARG being intermediate ($P < 0.001$). It is known that the SAC contained in SBM are well digested by poultry and thus, the AMEn content of a batch of SBM will depend on its SAC content. It is concluded that feed mills should analyze incoming batches SBM for sugars because of its high variable content that might influence metabolizable energy content (saccharose level) and the incidence of flatulence, digestive discomfort, and wet litter (stachyose and raffinose level).

Keywords: soybean meal origin; saccharose; stachyose; raffinose.