

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA
FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

ESTUDIO DE LOS COMPONENTES BOCIOGENOS
TIOCIANOGENETICOS PRESENTES EN ALIMENTOS DE CONSUMO
HABITUAL EN ZONAS DE LA ALPUJARRA GRANADINA

F. Agustín Campos y M.R. Olea Serrano

RESUMEN

Se ha realizado un control del SCN^- liberado por acción enzimática en alimentos vegetales del género *Brasica* y otras crucíferas en las que se encuentran glucósidos tiocianogénéticos.

El análisis cuantitativo se realiza mediante la formación del complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ y lectura espectrofotométrica a 460 nm.

Los valores de SCN^- encontrados en diversas especies del género *Brasica* (coles, coliflores, etc.) son del orden de 22 mg% referidos a muestra seca.

SUMMARY

A study has been carried out of the SCN^- levels freed by enzymatic action, in food vegetables of the *Brassica* and other cruciferae, in which thiocyanogenetic glucosides are found.

The quantitative analysis was done by means of the formation of the complex $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ and taking a spectrophotometric reading at 460 nm.

The SCN^- values found in different species of the *Brassica* family (cabbage, cauliflower, etc.) are in the order of 22% mg, read in a dry sample.

Palabras clave: Tiocianato en alimentos, tioglucósidos.

Key Word: Thiocyanogenetic glucosides, SCN^- quantitative analysis.

INTRODUCCION

La zona natural de las Alpujarras en la provincia de Granada se presenta como endémica en bocio ocasionado quizás, por las bajas concentraciones de yoduros en las aguas de bebida. En esta región se han estudiado asimismo, detenidamente otros muchos factores que inciden en la génesis del bocio endémico.

En el X Congreso Francés de Endocrinología en 1981, se ha puesto de manifiesto que el bocio endémico no sólo puede ser definido en base a una deficiencia de yodo en la dieta, sino que al mismo tiempo, en la definición del entorno deberá ser tenido en cuenta el aporte del tiocianato, metabolito común de la digestión de glucósidos cianogenéticos y tiocianogenéticos, presentes en alimentos vegetales ERMANS (1).

El tiocianato es un importante inhibidor del transporte de yoduros, pero a diferencia de otros iones no aparece concentrado en el tejido tiroideo. Es metabolizado activamente por el tiroides "in vivo" y en los preparados de células libres.

Entre los vegetales que contienen sustancias bociógenas debemos citar algunas plantas del género *Brasica* como son distintas variedades de col (repollo, lombarda, coles de Bruselas, coliflor y nabos). Sin olvidar la mostaza y los extractos de semillas que se usan como saborizantes.

También se encuentra en este grupo de alimentos bociógenos el rábano (*Raphanus sativus*), mastuerzo (*Lepidium sativum*), cebolla (*Allium cepa*).

La naturaleza química de los bociógenos, objeto de análisis en este trabajo, es de tioglucósidos. Generalmente hay varios en cada vegetal, predominando uno o dos de ellos. Hasta el momento se han identificado unos 50 tioglucósidos.

Pretendemos poner de manifiesto la posibilidad de que además de la carencia de I_2 en la dieta y agua de bebida en las Alpujarras, se consumen ciertos alimentos que son vehículos de sustancias bociógenas.

Inicialmente se ha realizado una encuesta alimentaria en el mayor foco de bocio, que según trabajos realizados en la Facultad de Medicina de Granada, son los pueblos de Cástaras y Nieves (partido judicial de Albuñol). RUIZ DE ALMODOVAR y cols. (2).

No es este el único bociógeno posiblemente existente en la dieta de esta población, ya que el consumo de almendras, como vehículo posible de CN^- , así como otros componentes volátiles del género *Allium*, serán analizados en trabajos posteriores.

La población objeto de análisis se ha seleccionado en función al número de habitantes, formándose dos grupos de 10 familias. AUGUSTIN CAMPOS y cols. (3).

En el primero hay uno o varios miembros de la familia con bocio, mientras que en el segundo no se ha diagnosticado bocio en ningún componente.

Se ha procedido a seleccionar las muestras alimentarias correspondientes

a fin de determinar los alimentos de consumo más frecuente, ya sean de origen animal o vegetal.

Como la zona encuestada está mal comunicada, la mayoría de los alimentos consumidos son producidos en la región. Nos hemos limitado al análisis de aquellos alimentos de procedencia perfectamente conocida y al mismo tiempo en los que se sospecha la presencia de tioglucósidos bociógenos.

Para la preparación de las diversas muestras vegetales analizadas, se ha seguido en principio la técnica empleada por E. JOSEFSON (4), adaptada por nosotros en función a la composición de nuestras muestras.

PARTE EXPERIMENTAL

Material.

—Espectrofotómetro UV/V, Perkin-Elmer, mod. 551 S.

—Estufa Heraeus Hanau, tipo RT 360.

—Balanza de precisión Mettler H 10.

Material de vidrio habitual.

Reactivos.

Todos los reactivos empleados son de pureza analítica.

Disoluciones empleadas.

—Disolución de tiocianato potásico 10^{-3} M.

0,097 g de tiocianato potásico en agua destilada hasta 1000 ml.

—Disolución de sinigrina 0,83 nM.

0,345 de sinigrina potásico se llevan hasta 100 ml con agua destilada.

—Disolución de mirosinasa al 0,5%.

0,5 de mirosinasa se completan con agua destilada hasta 100 ml.

Comprobación del comportamiento espectrofotométrico del complejo Fe(SCN)²⁺.

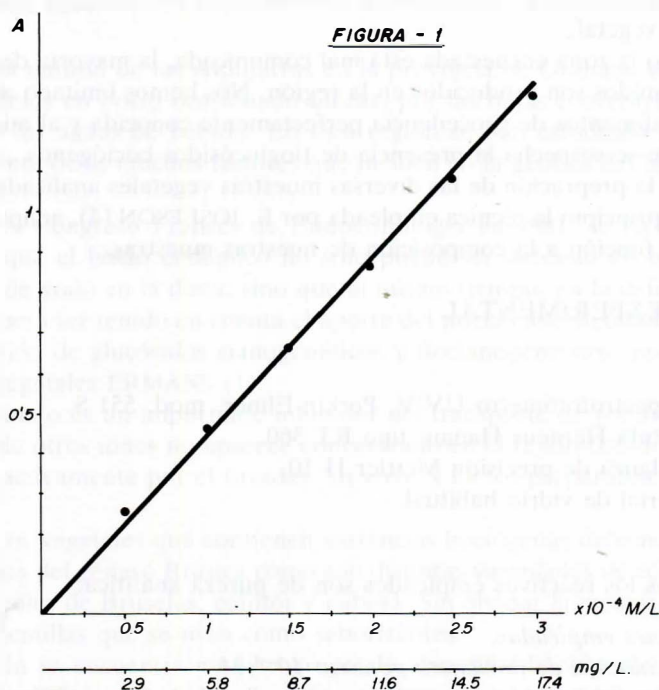
El complejo Fe(SCN)²⁺ presenta un espectro de absorción en el visible con un máximo a 460 nm, longitud de onda a la cual se han realizado las medidas espectrofotométricas.

Se ha revisado el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer, para su estudio se parte de disolución de SCN 10^{-3} M y de Fe(NO₃)₃ 0,4 M así como HNO₃ 0,1 M.

Comprobamos que la linealidad se cumple para valores de SNC⁻ comprendidas entre 2,9 y 17,4 mg/l, gráfica de la figura 1.

El intervalo óptimo de aplicación de la Ley Lambert-Beer, según la representación de Ringbom está comprendido entre $5,0 \cdot 10^{-5}$ M/l y $2,5 \cdot 10^{-4}$ M/l (2,9 y 14,5 mg/l).

La absorptividad molar es de $E_{460} = 4172 \text{ M}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$.



PREPARACION DE LA ENZIMA TIOGLUCOSIDO-GLUCOHIDROLASA (Ec.2.3.2.1.).

Para lograr la liberación del SCN^- de los tioglucósidos, se ha realizado la hidrólisis enzimática con la enzima tioglucósido glucohidrolasa (mirosinasa).

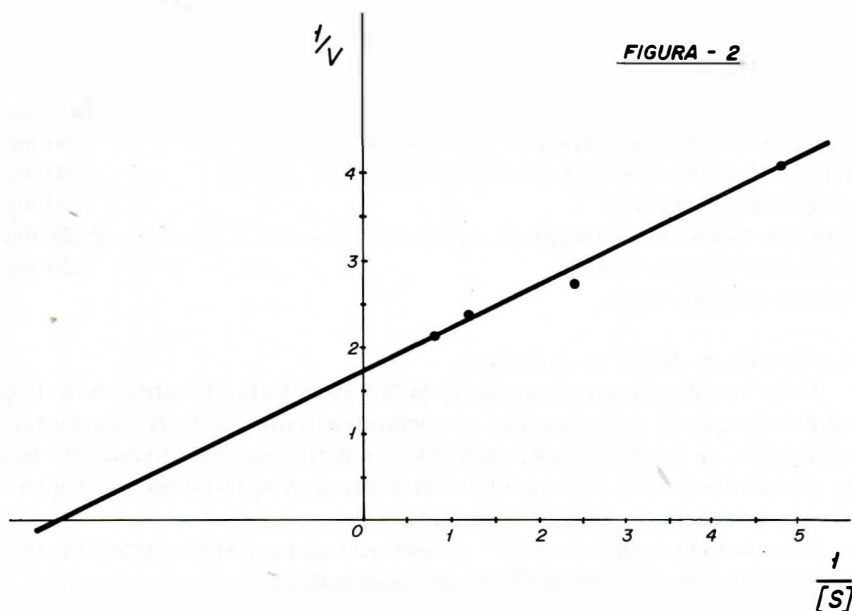
La enzima se ha obtenido en el laboratorio siguiendo la técnica indicada por SCHWIMMER (5).

Valoración de la enzima.

Esta enzima hidroliza al tioglucósido sinigrina. La sinigrina absorbe a 227,5 nm por hidrólisis enzimática libera casi exclusivamente alil-isotiocianato que no presenta absorción a esta longitud de onda. En consecuencia el decrecimiento de la absorbancia se puede atribuir a la desaparición de la sinigrina.

La adición de mirosinasa a una disolución de sinigrina a pH-6 (regulado con ACh/Ac^-) ocasiona una rápida disminución de la absorbancia a 227,5 nm. El proceso es prácticamente lineal, tal como se indica en la representación de la ecuación de Michaelis Menten. Gráfica de la Figura 2.

Se ha calculado en consecuencia la constante de Michaelis Menten. K_m = 0,277 μM .



Contenido en SCN^- en los alimentos vegetales analizados.

Se han analizado los alimentos procedentes de la Alpujarra granadina con mayor incidencia en bocio endémico.

La técnica analítica ha sido similar en casi todos los vegetales, con excepciones, como en el caso de las espinacas, que fue preciso eliminar el alto contenido en ácido oxálico.

Las muestras una vez desecadas en estufa a temperatura de $100^\circ C$ se pulverizan y se parte de 10 g para cada ensayo.

10 g de muestra en matraz erlenmeyer se tratan con 100 ml de disolución de AcNa 0,1 M y 5 ml de mirosinasa 0,5%. Se mantiene a temperatura ambiente 15 minutos. Adicionar 12 ml de solución de NaOH 1N, agitar y filtrar.

A 15 ml de filtrado se adicionan 15 ml de disolución de ácido tricloroacético al 10%, se filtra y toman 5 ml que se llevan a 10 ml en matraz aforado con disolución de $Fe(NO_3)_3$ 0,4 M.

Se realiza la lectura de la absorbancia a 460 nm frente a un blanco preparado con otros 5 ml de la disolución una vez defecada con disolución de ácido tricloroacético a la que se adicionan 5 ml de disolución de $Fe(NO_3)_3$ 0,4 M y dos gotas de disolución de $HgCl_2$ al 5%.

El contenido medio en SCN^- en los alimentos analizados se recogen en la Tabla I.

El error medio del resultado oscila entre $x = \pm 0,12$ y $\pm 0,21$ para la col y la coliflor respectivamente y el intervalo de confianza oscila entre $\pm 0,31$ y $\pm 0,52$.

TABLA I

Col (Brassica olerácea)	22,17 mg%
Coliflor (B. olerácea var. botrytis)	11,02 mg%
Rabanillas (R. raphanistrum)	1,00 mg%
Lechuga (Lactuca sativa)	1,00 mg%
Acelgas (Beta vulgaris)	3,10 mg%
Espinacas (Spinacia olerácea)	29,27 mg%
Zanahorias (Daucus carota)	3,20 mg%
Cebollas (Allium cepa)	—

Investigación de SCN⁻ en la leche.

Se ha investigado directamente el SCN⁻ en la leche de cabra. Ante la posibilidad de que en este alimento se encontrase parte del SCN⁻ en forma de tioglucósido, se ha practicado, asimismo, la determinación después de tratar con mirosinasa y no se han manifestado diferencias apreciables que hagan suponer la presencia de tioglucósidos en la leche.

El contenido medio de SCN⁻ encontrado en las distintas muestras de leche analizadas es de 0,298 mg% ml de leche entera.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Se ha determinado el SCN⁻ liberado de tioglucósidos bociógenos, mediante lectura de la absorbancia a 460 nm del complejo ((SCN)Fe)²⁺ se han revisado las características espectrofotométricas de dicho complejo y la absorptividad molar calculada por nosotros alcanza el valor de $E_{460} = 4172 \text{ M}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$.

Se ha preparado la enzima tioglucósido glucohidrolasa (EC 2.3.2.1.) a partir de polvo de mostaza amarilla y una vez valorada frente a sinigrina el valor de la constante de Michaelis Menten es $K_M = 0,277 \mu \text{ M}$.

Los niveles de SCN⁻ encontrados en los alimentos consumidos en esta zona, indican la posible incidencia de este ión como agente causal del bocio endémico en la Alpujarra granadina. Los datos obtenidos concuerdan con los reflejados en la bibliografía. Los valores de SCN⁻ están comprendidos entre 22,17 mg% en la col (Brassica olerácea) y 1 mg% en la lechuga (Lactuca sativa). Los valores medios encontrados para la leche de cabra son de 0,3 mg% ml de leche entera.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Ermans, A.M. Annales d'Endocrinologie (París), 42, 435-438 (1981).
- (2) Ruiz de Almodóvar, J.V.; Olea, N.; Padilla, O.; Sempere, J.; Martos, J.; Pedraza, V. Rev. Clin. esp. 157-438 (1980).
- (3) Augustin Campos, F.; Olea Serrano, M.^a F. y García-Villanova, R. Anales de Bromatología. 36(1), 83-87 (1984).
- (4) Josefsson, E.J. Sci. Food Agr., 19(4), 192-4 (1968).
- (5) Schwimmer, S. Acta Chemica Scandinavica, 15(3), 535-44 (1961).