



**FERMENTABILIDAD IN VIVO DEL BIOPOLÍMERO BILAC® Y DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN
DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA**

**IN VIVO FERMENTABILITY OF THE BILAC® BIO POLYMER AND DETERMINATION OF THE
PRODUCTION OF SHORT CHAIN FATTY ACIDS**

**MARIA CAROLINA VIVES HABEYCH
CODIGO: 107404**

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR AL TITULO DE ESPECIALISTA EN CIENCIA Y
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DIRIGIDO POR:
OLGA COBOS DE RANGEL
NUTRICIONISTA – DIETISTA, MSC**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA**

BOGOTA, 2010

INDICE GENERAL

	Pág.
INTRODUCCION	8
1 OBJETIVOS	10
1.1 OBJETIVO GENERAL	10
1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	10
2 MARCO CONCEPTUAL	11
3 MATERIALES Y METODOS	14
3.1 ESTANDARIZACION DE METODOS	15
3.2 METODOLOGIA DE LA FERMENTACION IN VIVO	15
3.3 CUANTIFICACION DE LOS PRODUCTOS DE LA FERMENTACION	16
3.4 SELECCIÓN DE LOS VOLUNTARIOS	16
4 RESULTADOS Y DISCUSION	18
5 CONCLUSIONES	24
6 BIBLIOGRAFIA	25

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág
Tabla 1. Concentraciones (mg/mL) de los tres ácidos grasos de cadena corta (Butírico, Acético y Propiónico) cuantificados mediante cromatografía HPLC, en las muestras controles previas al consumo de Bilac®	18
Tabla 2. Concentraciones (mg/mL) de los tres ácidos grasos de cadena corta (Butírico, Acético y Propiónico) cuantificados mediante cromatografía HPLC, en las muestras tomadas luego del consumo de Bilac® y su respectiva fermentación	19
Fig 1. Concentraciones de ácido butírico antes y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.	21
Fig 2. Concentraciones de ácido acético antes y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.	21
Fig 3. Concentraciones de ácido acético propionico y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.	22

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Consentimiento informado de cada uno de los voluntarios	27
ANEXO 2. Cromatogramas HPLC de cada uno de los voluntarios antes y después del consumo del bilac®	33

AGRADECIMIENTOS

A la profesora Olga P. Cobos por su excelente labor docente quien con su buena disposición, experiencia y estímulo me apoyó y colaboró permanentemente para la realización del presente trabajo.

Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, por su cordial orientación y apoyo permanente en el desarrollo del estudio.

Al ingeniero Nestor Ariel Algecira, coordinador de la especialización en Ciencia y Tecnología de alimentos, por su asesoría en la elaboración de la propuesta del trabajo final.

A todas las personas que de una u otra manera apoyaron y colaboraron en el desarrollo del estudio.

RESUMEN

Bilac® es un biopolímero producido por la cepa bacteriana *Leuconostoc mesenteroides* de origen vegetal obtenido y patentado por el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN) el cual se encuentra clasificado dentro del grupo de las levanas y corresponde a un compuesto con un contenido de más del 50% de fibra soluble.

Se han desarrollado estudios bioquímicos en ratas sobre efectos relacionados con el perfil lipídico y la glucosa sanguínea y estudios fisiológicos relacionados con el tiempo de tránsito intestinal sin incluir estudios sobre fermentación colónica.

En este trabajo se estudió la capacidad fermentativa del Bilac® evaluando la producción y cuantificación de ácidos grasos de cadena corta por medio de una cromatografía HPLC, se estableció que este biopolímero es fermentable por el colon, observándose la producción de tres ácidos grasos ,Butirato, Acetato y Propionato, en distintas proporciones. Se observó una alta variabilidad individual en el grupo de estudio.

Palabras clave: Capacidad fermentativa, ácidos grasos de cadena corta, funcionalidad.

ABSTRACT

Bilac® is a biopolymer produced by the *Leuconostoc mesenteroides* bacterial strain, obtained and presented by the Biotechnology Institute of the Universidad Nacional de Colombia. This polymer is classified inside the levan group, having soluble fiber content greater than 50%.

Biochemical research has been developed using rats, looking for effects related to the lipid profile, glucose blood contents and physiological studies, all these connected to the time taken for intestinal evacuation not including any research on colon fermentation.

In this research work the Bilac® fermentative capacity was investigated, evaluating and quantifying the production of short chain fatty acids by means of a HPLC chromatography, establishing that the biopolymer is fermentable in the colon. The production in different proportions of the three main short chain fatty acids (Butirate, Acetate and Propionate) was observed. A high level of individual variation within the group of study was also one of the main results of this research work.

Key words: Fermentative capacity, short chain fatty acids, functionality.

INTRODUCCION

Bilac® es un biopolímero de origen vegetal obtenido y patentado por el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN) el cual se encuentra clasificado dentro del grupo de las levanas, las cuales se caracterizan por tener enlaces α 1-6 de unidades de glucosa tipo dextrana.

Las bacterias ácido lácticas producen una amplia variedad de exopolisacáridos los cuales se han caracterizado principalmente por encontrarse involucrados directamente en adhesión celular y protección lo cual puede ser considerado como un gran potencial nutricional y para aplicaciones en la salud. Las bacterias ácido lácticas producen homopolisacáridos los cuales se caracterizan por contener un solo tipo de monosacárido ya sea fructosa o glucosa y respectivamente glucanos o fructanos (Monsan et.al., 2001). Existen dos tipos de homopolisacáridos de fructosa producidos por fructosiltransferasas de sucrosa; las levanas y la inulina.

Bilac® es un polímero natural obtenido por medio de vías enzimáticas a partir de una cepa bacteriana nativa no manipulada genéticamente, llamada *Leuconostoc mesenteroides* la cual se encuentra dentro del grupo de las Bifodobacterias y fue obtenido empleando como sustrato por medio de tecnología enzimática la sacarosa y una glucosiltransferasa, este biopolímero se encuentra compuesto en su mayoría por fibra soluble (Ospina et.al, 2009).

Dentro del trabajo de investigación que se ha realizado para lograr determinar la funcionalidad de este biopolímero como aditivo para ciertos alimentos se tienen planteados los siguientes aspectos para lograr tener una caracterización completa acerca de este; caracterización fisicoquímica del polímero, determinación de los efectos bioquímicos y fisiológicos del polímero como fuente de fibra soluble, desarrollo de los prototipos de formulación y las matrices para la obtención de alimentos funcionales que aportan fibra soluble, evaluación de la respuesta bioquímica en humanos, del producto funcional desarrollado y finalmente los estudios de la competencia de todos los mercados y vigilancia tecnológica sobre productos que incorporen fibra soluble (Ospina et.al, 2009).

En el campo de investigación del Instituto de Biotecnología, IBUN, se han realizado diferentes estudios orientados a la caracterización físico-química del Bilac® así como la evaluación de sus

propiedades fisiológicas y bioquímicas que permiten su identificación como compuesto bioactivo. Sin embargo se deben continuar realizando trabajos de investigación para su evaluación como compuesto funcional, debido a las características fisicoquímicas que presenta en su estructura y composición y que permitan su inclusión en desarrollo de alimentos funcionales. Hasta el momento se han desarrollado estudios bioquímicos en ratas sobre efectos relacionados con el perfil lipídico y la glucosa sanguínea y estudios fisiológicos relacionados con el tiempo de tránsito intestinal sin incluir estudios sobre fermentación colónica, otra de las propiedades fisiológicas de la fibra la cual permitirá la identificación y cuantificación de los productos finales de la misma, información de gran importancia para continuar con el proceso de caracterización para establecer, con los otros parámetros ya evaluados, el comportamiento fisiológico del polímero.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la capacidad fermentativa del producto Bilac®

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar *in vivo* la fermentación colónica del Bilac® con la participación de seis voluntarios.
- Determinar cuáles son los productos de la fermentación y hacer su cuantificación por medio de una cromatografía HPLC.
- Realizar un análisis detallado de las proporciones en las que se producen los ácidos grasos luego de la fermentación del polímero.
- Determinar si existen diferencias entre los productos de la fermentación en los ensayos antes y después del consumo del polímero.
- Evaluar si existen diferencias en el nivel de fermentación y por lo tanto proporciones de los productos entre los géneros de los voluntarios.

2. MARCO CONCEPTUAL

Las barreras mucosas y cutáneas del cuerpo humano se encuentran colonizadas por microorganismos que han hospedado durante el desarrollo de cada individuo. El tracto gastrointestinal alberga una gran microbiota compuesta por más de 800 cepas bacterianas (Laparra, Sanz, 2009) distribuidas de manera distinta a lo largo del tracto digestivo; en el estomago y duodeno hasta 10^3 unidades formadoras de colonia (UFC)/ml, yeyuno e ileo $10^4 - 10^8$ UFC/ml y las concentraciones más altas las encontramos en el colon con 10^{14} UFC/ml (Montalto et.al. 2009). Los géneros anaerobios más comunes encontrados son *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* y *Lactobacillus*; mientras que los aerobios son bacterias aerobias gram negativas tales como *Escherichia coli* y *Salmonella*, también encontrando poblaciones de cocos gram positivos tales como *Staphylococcus* y *Streptococcus*, y se ha evidenciado la presencia de poblaciones fúngicas tales como *Candida albicans* (Montalto et.al. 2009).

La colonización microbiana del tracto digestivo humano inicia inmediatamente luego del nacimiento y a medida que van pasando los años esta microbiota se va volviendo aun más compleja y más diversa. Sin embargo los cambios que se puedan provocar en esta, se encuentran influenciados en mayor parte por variaciones que puedan presentarse en la alimentación, condiciones de salud, tratamientos con antibióticos o inmunosupresiones (Montalto et.al. 2009).

La microbiota intestinal desarrolla un número de funciones de protección, inmunológicas y metabólicas y puede ser considerada la primera línea de defensa del cuerpo contra agentes patógenos y dañinos.

Dentro de la ciencia y tecnología de alimentos se han venido desarrollando alimentos que adicional a su función de aportar nutrientes, contienen algunos componentes que ejercen efectos benéficos sobre la salud que van más allá del valor nutritivo que estos puedan tener, enmarcados dentro del concepto de los alimentos funcionales y los nutracéuticos. Los alimentos funcionales son aquellos que proveen beneficios que abarcan más territorio que la simple nutrición, cuando son consumidos dentro de una dieta regular, ejemplos de estos pueden ser los probióticos y

prebióticos y la fibra dietaria. Los nutraceuticos por otro lado son productos nutricionales que tienen beneficios médicos además de su valor nutricional dado (Laparra, Sanz, 2009).

En muchas ocasiones estos alimentos funcionales son aquellos que contienen compuestos que pueden ser aprovechados por la microbiota intestinal para convertirlos en metabolitos que cumplen funciones benéficas en el cuerpo luego de ser procesados por estas poblaciones bacterianas. Los principales sustratos disponibles para las bacterias en el colon son los carbohidratos dietarios no solubles, incluyendo los almidones resistentes, fibras dietarias (celulosa, hemicelulosa, pectina e inulina), azúcares no absorbidos, entre muchos otros compuestos (Montalto et.al. 2009). El uso de polisacáridos complejos dietarios por la microbiota intestinal contribuye con la recolecta de energía que viene de la dieta diaria consumida, que puede llegar a representar el 10% del suplemento diario de energía (Laparra, Sanz, 2009).

La fermentación de estos polisacáridos conlleva a la generación de ácidos grasos de cadena corta (butirato, propionato y acetato) junto con otros gases tales como el dióxido de carbono, y el hidrógeno. Los ácidos grasos; butirato, propionato y acetato, son metabolizados en el epitelio colonico, hígado y músculos respectivamente llevando a cabo diversas funciones dentro del cuerpo humano. El butirato es utilizado por los enterocitos y es considerado un metabolito saludable ya que promueve el crecimiento y la diferenciación celular y ayuda a emitir efectos anti-inflamatorios y puede llegar a ser considerado como un agente que ayuda a prevenir el desarrollo de células y tumores cancerígenas (Laparra, Sanz, 2009) (Montalto et.al. 2009), el acetato y el propionato puede acceder el portal de la circulación impactando con efectos opuestos el metabolismo lipídico. Mientras que el acetato puede llegar a contribuir con la síntesis de colesterol y lípidos en el hígado, el propionato puede llegar a ser factor inhibidor de los efectos del acetato (Laparra, Sanz, 2009).

Dentro del desarrollo del biopolímero Bilac® y los estudios que se han adelantado sobre este podría denominarsele como prebiótico debido a sus características de fibra dietaria soluble, la cual es definida como aquella parte comestible de las plantas o carbohidratos que tienen la característica de ser resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado y que luego de llegar al intestino grueso o colon presenta su fermentación y digestión completa (Haro 2007).

Los prebióticos son ingredientes de alimentos no digeribles, en su mayoría oligosacáridos, que afectan de manera benéfica la microbiota huésped promoviendo su crecimiento, su mantenimiento, su actividad (Laparra, Sanz, 2009). Sin embargo para lograr reconocer que el componente de algún alimento puede funcionar satisfactoriamente como un prebiótico se requiere probar que este cumpla con los siguientes requisitos; resistencia a la actividad gástrica y enzimática, que no exista susceptibilidad para ser fermentados por la población microbiana que pueda llegar a encontrarse en el esófago – estomago, y finalmente que posea la habilidad para estimular el crecimiento y/o actividad de la población bacteriana intestinal (Laparra, Sanz, 2009).

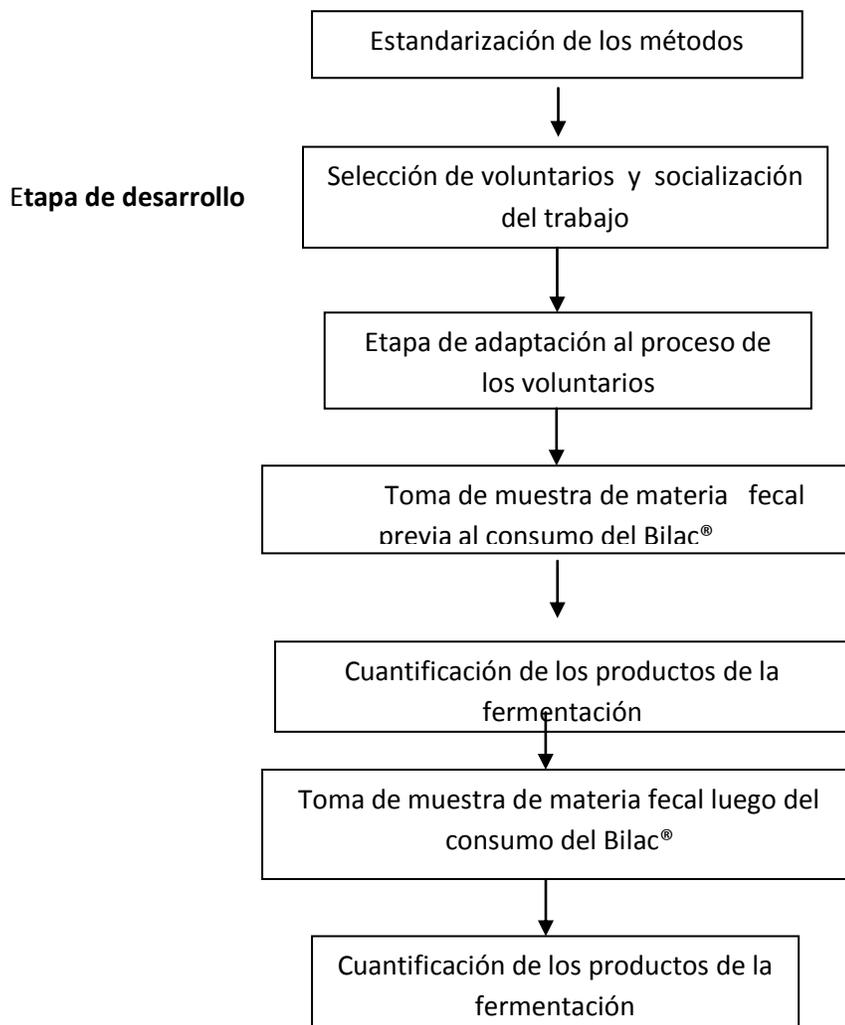
3. MATERIALES Y MÉTODOS

El proceso metodológico para el desarrollo del trabajo se presenta a continuación:

La metodología involucrada en este trabajo de investigación se desarrolló en dos etapas.

1. **Etapa preliminar:** En primer lugar se llevaron a cabo ensayos de estandarización de los métodos que se utilizaron para poner a punto el proceso: Preparación y manejo de la muestra y simulación de la fermentación.

Primera, preliminar



- 2. Etapa de desarrollo:** Se llevó a cabo la selección de voluntarios y el proceso de simulación. Se realizó la fermentación colónica *in vivo*.

A partir de los fermentos que se obtuvieron se utilizó la cromatografía HPLC para hacer la separación y la cuantificación de cada uno de los productos de la anterior fermentación, de tal manera que se pudo inferir la existencia de diferencias significativas en la producción de estos y a la vez los géneros de los voluntarios que participaron en el estudio.

3.1 Estandarización de métodos

Durante las primeras semanas de trabajo se realizaron ensayos experimentales donde se probó la metodología para la cuantificación de los ácidos grasos de cadena corta en muestras de materia fecal humana, por medio de una cromatografía HPLC basando la metodología en el trabajo de *Drzikova B, et.al.2005*, con adaptaciones al presente trabajo, descrito en el siguiente numeral. Los resultados de estos ensayos no fueron tenidos en cuenta para el análisis de datos ya que estos fueron solo una manera de estandarizar el método.

3.2 Metodología de la fermentación in vivo

Para la fermentación in vivo en el colon, 5g del biopolímero (IBUN, 2010) se suministraron a cada uno de los voluntarios mezclados en 250 ml de jugo de naranja (IBUN,2010) dejando pasar 24 horas para la recolecta de la deposición. Luego de la recolección de la muestra de materia fecal y se realizó una suspensión de materia fecal humana (1g/4mL, 0.1 M de Buffer fosfato; pH 6.5) y se agitó hasta lograr homogeneidad completa, luego se llevó a la cuantificación de ácidos grasos de cadena corta (Drzikova B, et.al. 2005). Se llevó un control en cada uno de los ensayos que se realizaron en el cual se tomó la muestra de materia fecal sin consumo previo del biopolímero.

3.3 Cuantificación de los productos de la fermentación.

Para la cuantificación de los ácidos grasos de cadena corta se debe utilizar la cromatografía HPLC. 1 ml de las muestras tomadas del procedimiento anterior fueron homogeneizadas bajo centrifugación (5 minutos a 4°C 1500 rpm) (Drzikova B, et.al. 2005). Luego de la centrifugación de las muestras se extrajo el sobrenadante y realizó una filtración utilizando un poro de 0.45µm. Luego de esta centrifugación y filtración se tomaron 10 µL del filtrado y se evaluaron en una columna Aminex HPX87, BioRad, utilizando un programa de temperatura de 50°C. Se aplicó un flujo de 0.5ml/min y como fase líquida, ácido sulfúrico 5mM.

3.4 Selección de los voluntarios

A cada uno de los voluntarios se le pidió que llevara su dieta habitual sin exceder en el consumo de alimentos ricos en fibra. En el momento de la recolección de la muestra de materia fecal se realizaron a cada uno de los voluntarios una anamnesis alimentaria con el fin de registrar la naturaleza y cantidad de alimentos consumidos en las últimas 48 horas.

- Selección del grupo de voluntarios: se seleccionaron 6 voluntarios: 3 hombres y 3 mujeres (IBUN, 2010). Los criterios a tener en cuenta para la selección fueron:
- Edad: Adultos entre 19 y 30 años (Nutrición, Universidad Nacional, 2010).
- Estado de salud: Adultos sanos, sin antecedentes de problemas que comprometan el sistema gastrointestinal, que actualmente no registren el consumo de antibióticos ni laxantes.
- Alimentación: Individuos que consuman una alimentación normal para su edad.

3.4.2 Socialización:

Con el grupo de individuos seleccionados se procedió a:

- Informar sobre las características del trabajo, la importancia del mismo. Resolver inquietudes.
- Dar a conocer, de manera detallada, las actividades a desarrollar por cada uno de ellos, dentro del trabajo.
- Solicitar su participación de manera voluntaria y su consentimiento, con aprobación escrita (Anexo 1).
- Elaborar una historia alimentaria y nutricional que permitirá conocer y registrar de manera más detallada las características de la alimentación.
 - i. Etapa de adaptación: previa a la toma de muestras y con el fin de unificar las condiciones para la toma de las muestras el grupo seleccionado tuvo una etapa de adaptación de 3 días, donde se monitorearon a través del registro detallado la ingesta de alimentos con el fin de establecer la naturaleza y cantidad de alimentos consumidos. Posteriormente se procedió a establecer la cantidad de biopolímero a suministrar.

3.4.3 Proceso de toma de muestra de materia fecal

A cada uno de los pacientes se le proporciono un frasco de recolección de materia fecal para exámenes de laboratorio clínico en el cual se le pidió que recolectara la muestra. Inmediatamente fueron transportadas al laboratorio y permanecieron congeladas mientras se procesaban para el procedimiento experimental (Drzikova B, et.al. 2005).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Cuantificación de los productos de la fermentación colonica

Dentro de su fisiología natural el ser humano produce, por medio de la fermentación en el colon, ácidos grasos de cadena corta (Butirato, Acetato y Propionato) los cuales son los productos metabólicos típicos producidos por la fermentaciones de carbohidratos indigeribles (Drzikova B, et.al. 2005), tal como se reporta en la tabla No.1, donde pueden observarse las concentraciones producidas de estos tres ácidos grasos, antes de que los voluntarios consumieran el Bilac® (Anexo 2).

Tabla 1: Concentraciones (mg/mL) de los tres ácidos grasos de cadena corta (Butírico, Acético y Propiónico) cuantificados mediante cromatografía HPLC, en las muestras controles previas al consumo de Bilac®

Muestra	Acido Butirico Concentración (mg/mL)	Acido Acetico Concentración (mg/mL)	Acido Propionico Concentración (mg/mL)
M19	0,250	0,281	0,186
M23(1)	0,245	0,222	0,279
M23(2)	0,049	0,179	0,000
F20	0,095	0,000	0,000
F23	0,095	0,082	0,308
F24	0,000	0,000	0,000
Total	0,734	0,764	0,774

Se puede observar una proporcionalidad entre los tres ácidos grasos presentes en los productos de la fermentación presentando valores de concentraciones que varían entre 0.734 y 0.774 mg/mL. Estos valores corresponden a 32.3% de ácido butírico, 33.6% de ácido acético y 34.1% de ácido propiónico lo que muestra prácticamente una relación de 1:1:1.

En cuanto a la producción de los tres ácidos grasos de cadena corta entre los 6 voluntarios de sexos femenino y masculino (diferenciados como M, masculino y F, femenino, junto a la edad) es posible observar un patrón en las concentraciones producidas en ambos géneros, teniendo el grupo de hombres valores de los tres ácidos grasos siempre más elevados que aquellos producidos por el género femenino. De la producción total de ácidos grasos en este primer ensayo de cuantificación de los productos de la fermentación colonica el 74.5% corresponde al grupo masculino el 25.5% al género femenino.

Tabla 2. Concentraciones (mg/mL) de los tres ácidos grasos de cadena corta (Butírico, Acético y Propiónico) cuantificados mediante cromatografía HPLC, en las muestras tomadas luego del consumo de Bilac® y su respectiva fermentación.

Muestra	Acido Butirico Concentración (mg/mL)	Acido Acetico Concentración (mg/mL)	Acido Propionico Concentración (mg/mL)
M19	0,000	0,000	0,000
M23(1)	0,000	0,000	1,108
M23(2)	0,536	0,956	0,620
F20	0,055	0,139	0,000
F23	0,170	0,251	0,139
F24	0,000	0,000	0,000
Total	0,761	1,346	1,866

Con el consumo de fibra dietaria a través de la ingesta de 5g de Bilac®, es posible observar in notorio incremento en las proporciones de dos de los tres ácidos grasos de cadena corta evaluados en este estudio, ácido acético y ácido propionico; en el caso del ácido butírico el valor de la concentración total permaneció prácticamente en el mismo valor que se obtuvo en el ensayo de fermentación sin el consumo previo del Bilac®, Tabla 2. En este caso el rango de concentraciones de los tres ácidos grasos es mayor abarcando valores entre 0.761 y 1.866 mg/mL de la producción total. Para este caso las proporciones fueron 19.15% de ácido butírico que disminuyo su proporción a casi la mitad del valor obtenido en la proporción total del primer ensayo, 33.88% de ácido acético que en cuanto a valores proporcionales permanece constante

dentro del total de la producción y finalmente el ácido propionico con 46.97%, que fue el ácido graso de cadena corta que a nivel proporcional fue el que incremento su valor notablemente.

De igual manera estos resultados son más notables una vez se calcula el porcentaje de incremento de los tres ácidos grasos donde se presentan valores de aumento del 141.1% que corresponde al ácido propionico, seguido por el ácido acético con un incremento del 76.2%, y finalmente el ácido butírico con un aumento que refleja los anteriores datos analizados del 3.7%.

En otros estudios como el de (Drzikova B, et.al. 2005), el aumento mayoritario correspondió al ácido acético, este tipo de diferencias en los resultados podrían mostrar que de acuerdo con el tipo de fibra dietaria que se este trabajando, se verán diferentes resultados en las proporciones de cada uno de los ácidos grasos, teniendo en cuenta que la fermentación de distintos tipos de fibra dietaria no promueven la producción de todos los ácidos grasos de cadena corta en iguales proporciones. El Bilac®, según los resultados de este trabajo, promueve la producción en mayor proporción del ácido propionico.

Siendo así; la participación del ácido propionico en el portal de circulación sanguínea, teniendo efectos mayormente sobre el perfil lipídico (Laparra, Sanz, 2009), explica la disminución de los niveles generales de triglicéridos en personas que consumen con regularidad el Bilac® incorporándolo en su alimentación diaria (IBUN, 2010).

Con los resultados obtenidos anteriormente persiste una clara evidencia de diferencias en cuanto a las concentraciones de los tres ácidos grasos, Butírico, Propionico y Acético entre los géneros femenino y masculino, encontrando aún una tendencia en donde los valores de concentraciones de los tres ácidos grasos en el género femenino son en general, inferiores a los valores que se presentan de las concentraciones en el género masculino (Fig 1, 2 y 3).

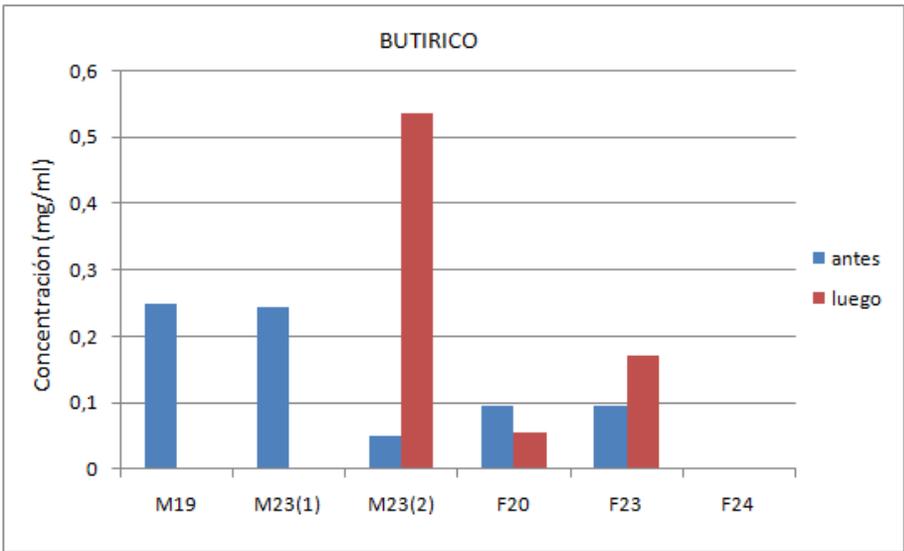


Fig 1. Concentraciones de ácido butírico antes y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.

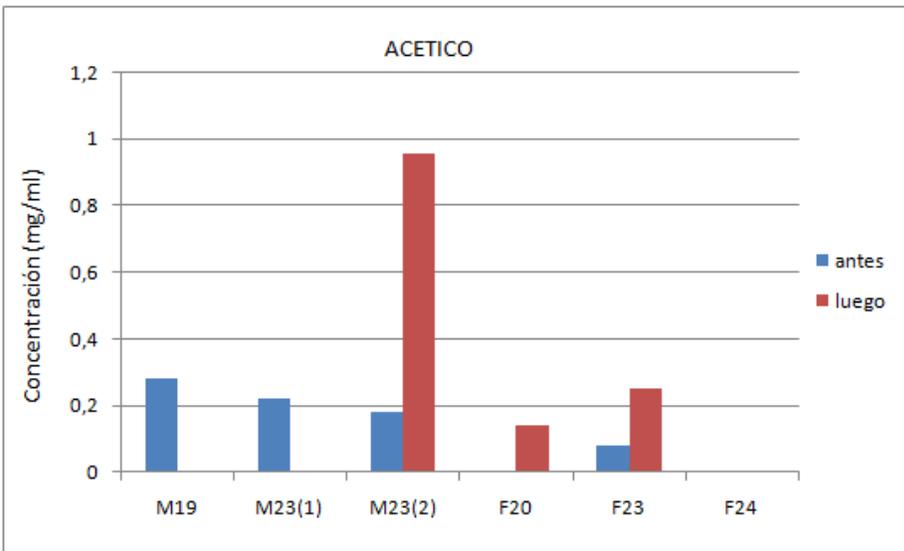


Fig 2. Concentraciones de ácido acético antes y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.

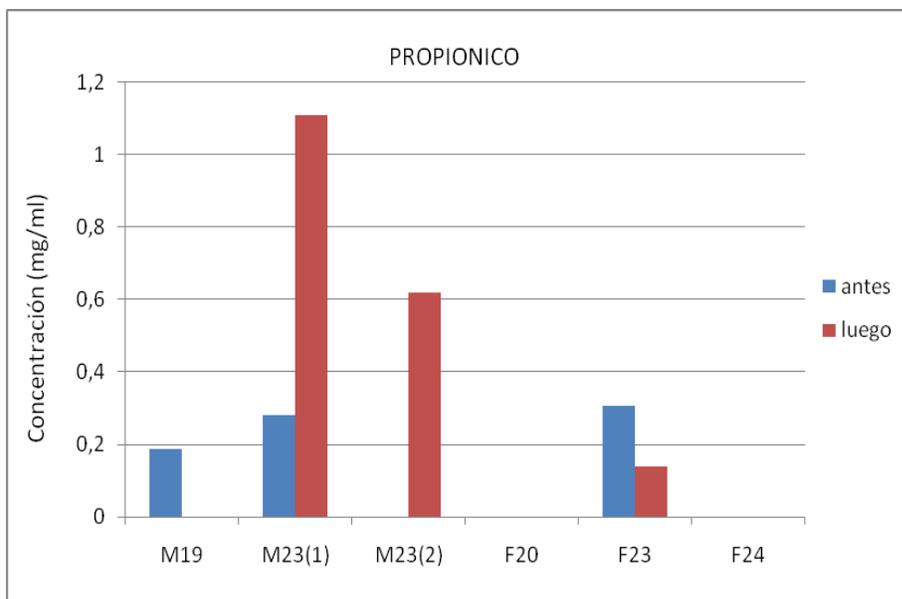


Fig 3. Concentraciones de ácido acético propionico y después del consumo de Bilac® en el género femenino y masculino.

Como es evidenciado en las figuras 1, 2 y 3, existe un aumento de los tres ácidos grasos más notorio y drástico para los miembros del género masculino; sin embargo se presentan casos como el de los voluntarios F24 y M19 en los que, no hay producción alguna de ninguno de los tres ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) como lo es el caso de los voluntarios F24, y M19, donde se observa que inicialmente hay una producción de los tres ácidos grasos, las cuales se reducen a 0mg/mL en la cuantificación realizada luego del consumo del Bilac®, situación que no puede atribuirse directamente a que el consumo del Bilac® en realidad no tenga efecto alguno sobre las personas en la producción de ácidos grasos de cadena corta; sin embargo se hace necesario, en estos casos, evaluarse las posibles causas de estos resultados.

La cantidad suministrada de Bilac® como se menciona en materiales y métodos (5 gramos) para cada uno de los voluntarios que participaron en el estudio puede llegar a ser bastante inferior a las cantidades utilizadas por otros estudios donde se mide la capacidad fermentativa en el colon de otras fibras dietarias, cuantificando igualmente las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta. El estudio realizado por Bourquin et. Al, trabaja con cantidades superiores a los 25g/día de fibra dietaría, obteniendo valores más elevados en las concentraciones de ácidos grasos de cadena

corta, luego de la fermentación. Este tipo de datos sugieren que el Bilac[®] puede llegar a ser utilizado en mayores cantidades en el momento de su consumo, para así obtener concentraciones de los tres ácidos grasos de cadena corta (Butirato, Acetato y Propionato) más elevadas que ejerzan un mayor efecto benéfico para la salud humana, presentando niveles de crecimiento luego del consumo de la fibra, mayores a los obtenidos en el presente estudio.

De igual manera para lograr obtener resultados más sólidos se debe realizar el estudio con voluntarios prolongando el tiempo de consumo de la fibra (Bilac[®]), (Bourquin et.al, 1996). En el presente estudio se les suministro a los voluntarios 5gramos de Bilac[®] en una toma por una sola vez antes de hacer la cuantificación de los ácidos grasos de cadena corta presentes en la materia fecal de cada uno de ellos. El consumo prolongado del Bilac[®] podría generar resultados aun más contundentes que al mismo tiempo que permita un mayor acercamiento al verdadero efecto fermentativo de esta fibra dietaria en la fisiología humana.

5. CONCLUSIONES

- El compuesto Bilac® presenta un grado variable de fermentabilidad a nivel del colon con producción principalmente de propionato y acetato.
- En el presente trabajo, la producción de los tres ácidos grasos de cadena corta (Acetato, Butirato y Propionato) presentan mayores concentraciones en los voluntarios del género masculino, y concentraciones más reducidas en el género femenino.
- Es necesario aumentar la ingesta del polímero con el fin de observar su efecto sobre el incremento de sus concentraciones y compararlo con compuestos de naturaleza similar.
- Es necesario aumentar el tiempo de ingesta del polímero para así observar con más detalle el efecto fermentativo del Bilac® en el organismo humano.

BIBLIOGRAFIA

- **DRZIKOVA B, Dongowski G, Gebhardt E, Habel A. The composition of dietary fibre-rich extrudates from oat affects bile acid binding and fermentation in vitro. Food Chemistry. 2005; (90):181-92.**
- **OSPINA Sonia Amparo, Salamanca Jairo Alonso, Rojas David Bernardo, Buitrago Gustavo, Lozano Miguel, Cobos Olga P., Florez Glaether Y., Avendaño Claudia J., Desarrollo de alimentos funcionales empleando un biopolímero como fuente de fibra soluble, Presentación del proyecto Colciencias, Universidad Nacional de Colombia, 2009.**
- **MONSAN Pierre, Bozonnet Sophie, Albenne Cécile, Joucla Gilles, Willemot René-Marc, Remaud-Siméon Magali, Homopolysaccharides from lactic acid bacteria, International Dairy Journal 11 (2001) 675-685.**
- **LAPARRA J.M., Sanz Y., Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals, Pharmacological Research. 2009 (Article in Press).**
- **IBUN, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Comunicación personal, 2010.**
- **MONTALTO M., Onofrio F.D., Gallo A., Cazzato A., Gasbarrini G., Intestinal microbiota and its functions. Digestive and Liver Disease Supplements 3 (2009) 30 – 34.**

- HARO O., Efecto de la fibra en un modelo de colitis experimental en rata. Papel de los ácidos grasos de cadena corta. Universidad de Granada, España, 2007.
- MOURA Patrícia, Cabanas Susana, Lourenco Paula, Gírio Francisco, Loureiro-Dias Maria, Esteves M. Paula, In vitro fermentation of selected xylo-oligosaccharides by piglet intestinal microbiota, LWT – Food Science and Technology 41 (2008) 1952-1961.
- ROMAN M. María O., Valencia G. Francia E., Evaluación de galletas con fibra de cereales como alimento funcional, Revista de la facultad de Química Farmaceutica, ISSN 0121-4004, Volumen 13 número 2, año 2006.
- BOURQUIN Leslie D., Titgemeyer Evan C., Fahey George C., Fermentation of Various dietary fiber sources by human fecal bacteria, Nutrition Research, Vol. 16, No 7, pp. 1119 – 1131, 1996.
- PURAMA Ravi Kiran, Goswami Pappi, Khan Abu Taleb, Goyal Arun, Structural analysis and properties of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-640, Carbohydrate Polymers 76 (2009) 30 – 35.

ANEXO 1
CONSENTIMIENTO INFORMADO DE CADA UNO DE LOS VOLUNTARIOS PARTICIPANTES



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CONSUMO DEL BIOPOLIMERO BILAC CON FINES
INVESTIGATIVOS DENTRO DEL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN EN COLON**

Yo Alejandro Suarez autorizo a Maria Carolina Vives, estudiante de la especializacion de ciencia y tecnología de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia a realizar el siguiente tratamiento: toma inicial de muestra de materia fecal, consumo de la preparación del biopolimero en estudio BILAC, y toma final de muestra de materia fecal.

La estudiante Maria Carolina Vives me ha explicado en forma suficiente y adecuada en qué consiste el tratamiento y me ha indicado así mismo, cuáles son sus consecuencias, ventajas, riesgos, posibles molestias que pueden presentarse y me ha permitido hacer las preguntas necesarias las cuales se me han respondido en forma satisfactoria.

Me ha señalado como los riesgos más comunes y frecuentes del tratamiento podrían ser los siguientes: dolor abdominal, flatulencia o diarrea.

Comprendo las implicaciones del presente consentimiento, me encuentro en capacidad de expresarlo y dejo constancia que los espacios en blanco han sido llenados antes de mi firma.

Alejandro Suarez R.

FIRMA DEL VOLUNTARIO O PERSONA RESPONSABLE

Maria Carolina Vives

FIRMA DE LA ESTUDIANTE QUIEN REALIZA EL ESTUDIO



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CONSUMO DEL BIOPOLIMERO BILAC CON FINES
INVESTIGATIVOS DENTRO DEL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN EN COLON**

Yo Damiris Campo Pacheco autorizo a Maria Carolina Vives, estudiante de la especializacion de ciencia y tecnología de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia a realizar el siguiente tratamiento: toma inicial de muestra de materia fecal, consumo de la preparación del biopolimero en estudio BILAC, y toma final de muestra de materia fecal.

La estudiante Maria Carolina Vives me ha explicado en forma suficiente y adecuada en qué consiste el tratamiento y me ha indicado así mismo, cuáles son sus consecuencias, ventajas, riesgos, posibles molestias que pueden presentarse y me ha permitido hacer las preguntas necesarias las cuales se me han respondido en forma satisfactoria.

Me ha señalado como los riesgos más comunes y frecuentes del tratamiento podrían ser los siguientes: dolor abdominal, flatulencia o diarrea.

Comprendo las implicaciones del presente consentimiento, me encuentro en capacidad de expresarlo y dejo constancia que los espacios en blanco han sido llenados antes de mi firma.

Damiris Campo

FIRMA DEL VOLUNTARIO O PERSONA RESPONSABLE

Maria Carolina Vives

FIRMA DE LA ESTUDIANTE QUIEN REALIZA EL ESTUDIO



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CONSUMO DEL BIOPOLIMERO BILAC CON FINES
INVESTIGATIVOS DENTRO DEL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN EN COLON**

Yo Eduardo Mercado autorizo a Maria Carolina Vives, estudiante de la especializacion de ciencia y tecnología de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia a realizar el siguiente tratamiento: toma inicial de muestra de materia fecal, consumo de la preparación del biopolimero en estudio BILAC, y toma final de muestra de materia fecal.

La estudiante Maria Carolina Vives me ha explicado en forma suficiente y adecuada en qué consiste el tratamiento y me ha indicado así mismo, cuáles son sus consecuencias, ventajas, riesgos, posibles molestias que pueden presentarse y me ha permitido hacer las preguntas necesarias las cuales se me han respondido en forma satisfactoria.

Me ha señalado como los riesgos más comunes y frecuentes del tratamiento podrían ser los siguientes: dolor abdominal, flatulencia o diarrea.

Comprendo las implicaciones del presente consentimiento, me encuentro en capacidad de expresarlo y deo constancia que los espacios en blanco han sido llenados antes de mi firma.

E.M.

FIRMA DEL VOLUNTARIO O PERSONA RESPONSABLE

Maria Carolina Vives

FIRMA DE LA ESTUDIANTE QUIEN REALIZA EL ESTUDIO



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CONSUMO DEL BIOPOLIMERO BILAC CON FINES
INVESTIGATIVOS DENTRO DEL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN EN COLON**

Yo Juan Felipe Vives autorizo a Maria Carolina Vives, estudiante de la especializacion de ciencia y tecnología de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia a realizar el siguiente tratamiento: toma inicial de muestra de materia fecal, consumo de la preparación del biopolimero en estudio BILAC, y toma final de muestra de materia fecal.

La estudiante Maria Carolina Vives me ha explicado en forma suficiente y adecuada en qué consiste el tratamiento y me ha indicado así mismo, cuáles son sus consecuencias, ventajas, riesgos, posibles molestias que pueden presentarse y me ha permitido hacer las preguntas necesarias las cuales se me han respondido en forma satisfactoria.

Me ha señalado como los riesgos más comunes y frecuentes del tratamiento podrían ser los siguientes: dolor abdominal, flatulencia o diarrea.

Comprendo las implicaciones del presente consentimiento, me encuentro en capacidad de expresarlo y de constancia que los espacios en blanco han sido llenados antes de mi firma.

Juan Felipe Vives

FIRMA DEL VOLUNTARIO O PERSONA RESPONSABLE

Maria Carolina Vives

FIRMA DE LA ESTUDIANTE QUIEN REALIZA EL ESTUDIO



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA CONSUMO DEL BIOPOLIMERO BILAC CON FINES
INVESTIGATIVOS DENTRO DEL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN EN COLON**

Yo DIANA CARDOSO MANRIQUE autorizo a Maria Carolina Vives, estudiante de la especializacion de ciencia y tecnologia de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia a realizar el siguiente tratamiento: toma inicial de muestra de materia fecal, consumo de la preparaci3n del biopolimero en estudio BILAC, y toma final de muestra de materia fecal.

La estudiante Maria Carolina Vives me ha explicado en forma suficiente y adecuada en qu3 consiste el tratamiento y me ha indicado asi mismo, cu3les son sus consecuencias, ventajas, riesgos, posibles molestias que pueden presentarse y me ha permitido hacer las preguntas necesarias las cuales se me han respondido en forma satisfactoria.

Me ha se3alado como los riesgos m3s comunes y frecuentes del tratamiento podrian ser los siguientes: dolor abdominal, flatulencia o diarrea.

Comprendo las implicaciones del presente consentimiento, me encuentro en capacidad de expresarlo y dejo constancia que los espacios en blanco han sido llenados antes de mi firma.

DIANA CARDOSO

FIRMA DEL VOLUNTARIO O PERSONA RESPONSABLE

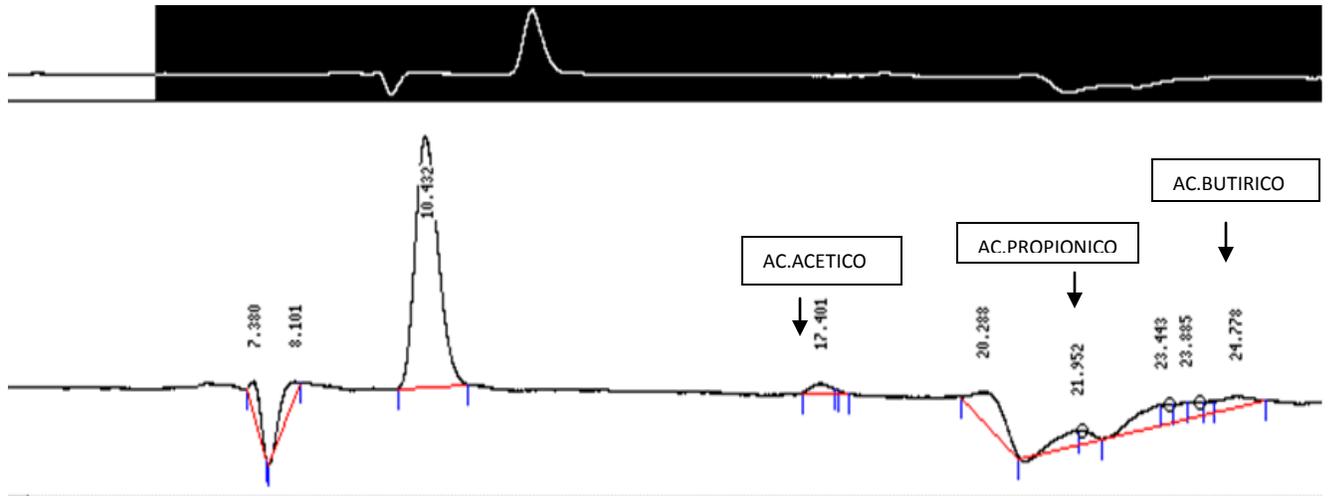
MANRIQUE

FIRMA DE LA ESTUDIANTE QUIEN REALIZA EL ESTUDIO

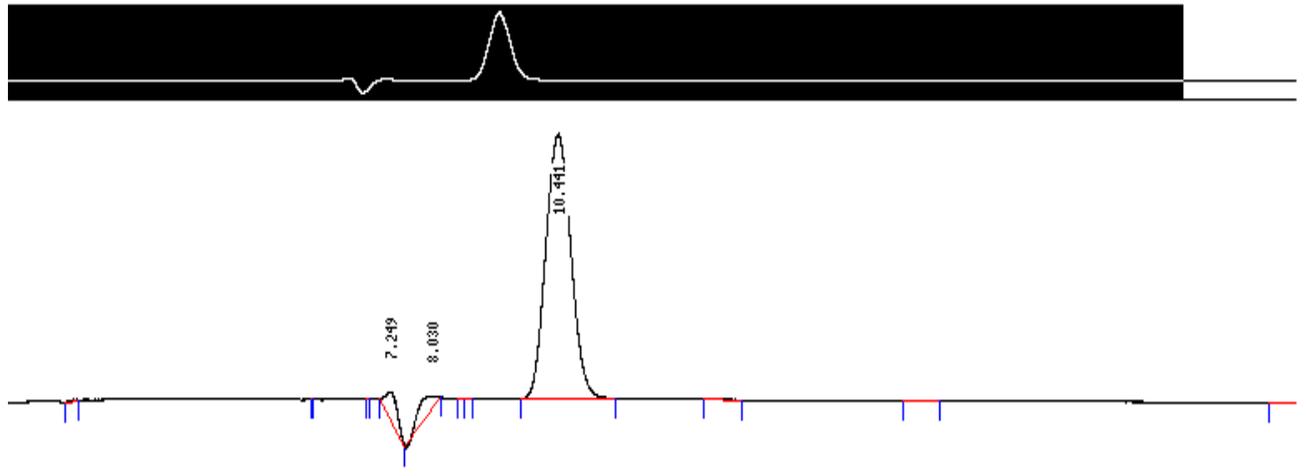
ANEXO 2

CROMATOGRAMAS HPLC DE CADA UNO DE LOS VOLUNTARIOS ANTES DEL CONSUMO DEL BILAC®

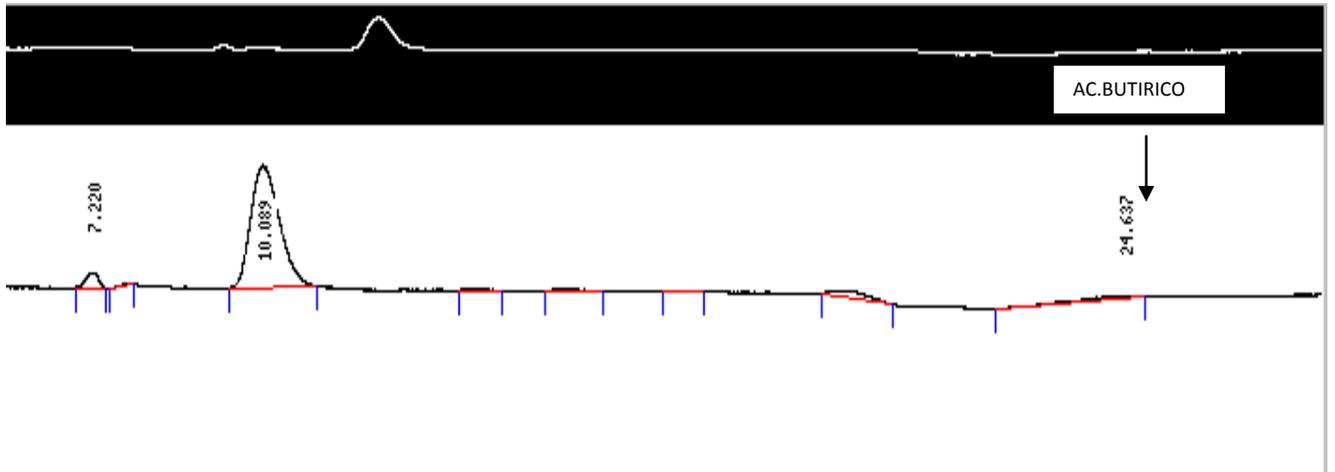
F 23



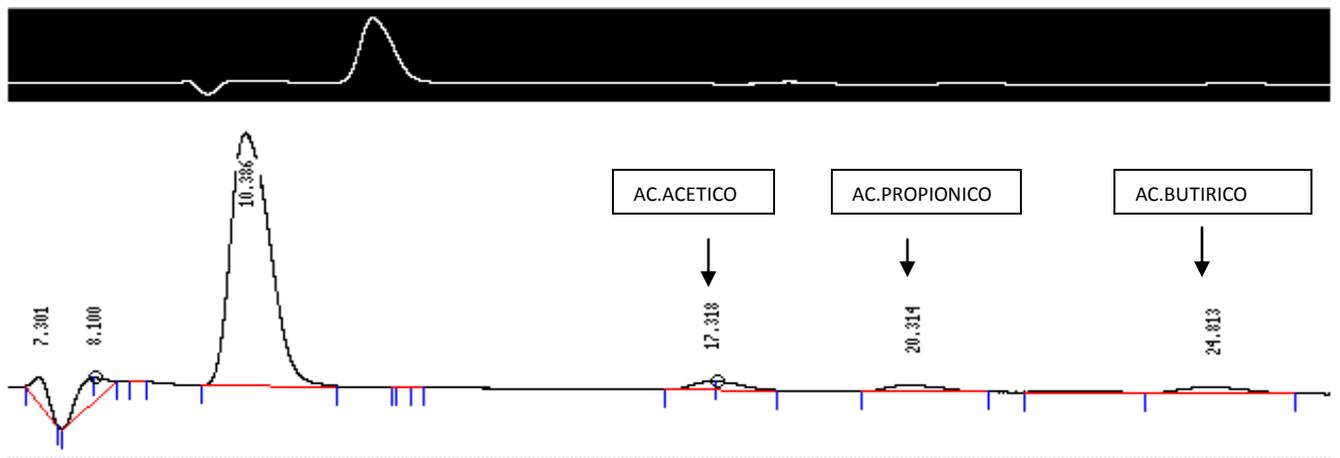
F24



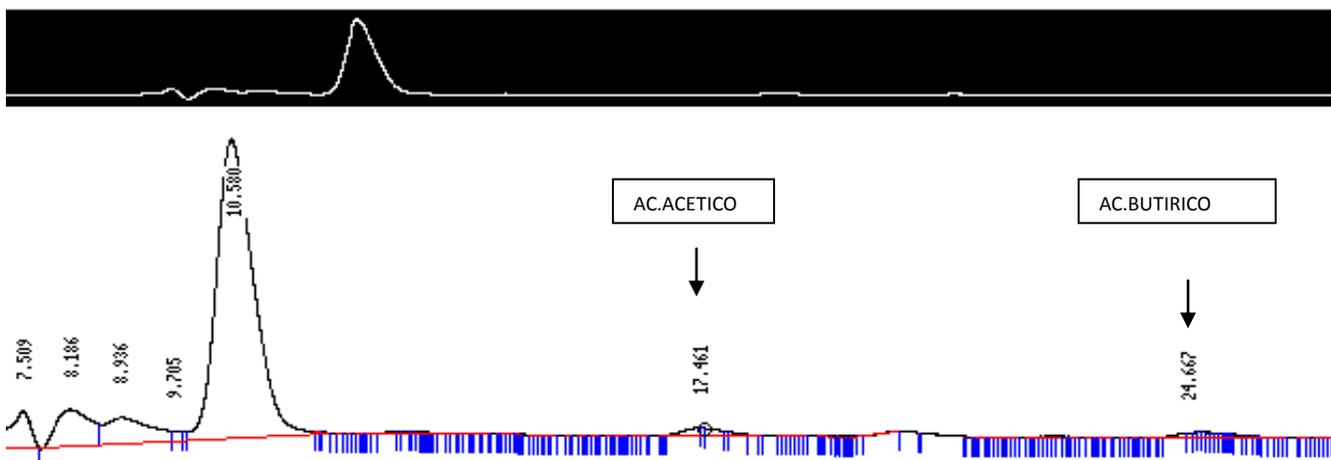
F 20



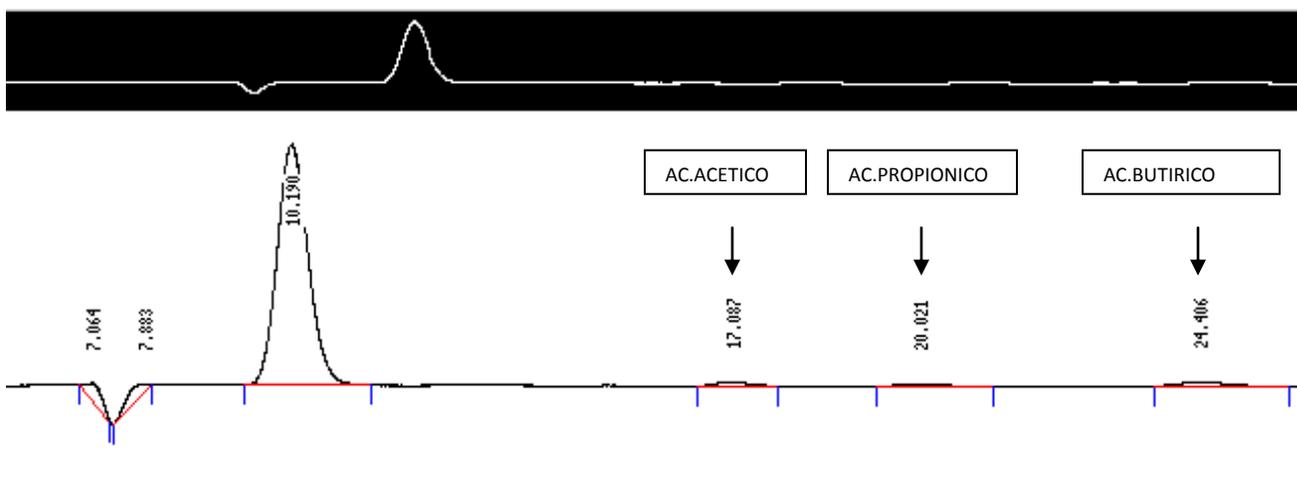
M 23 - 1



M 23 -2

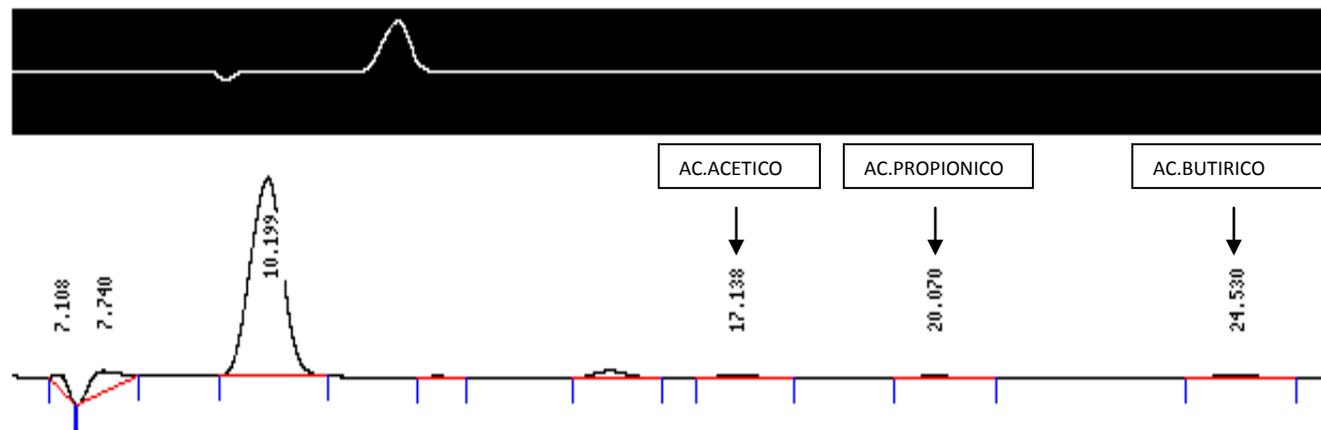


M 19

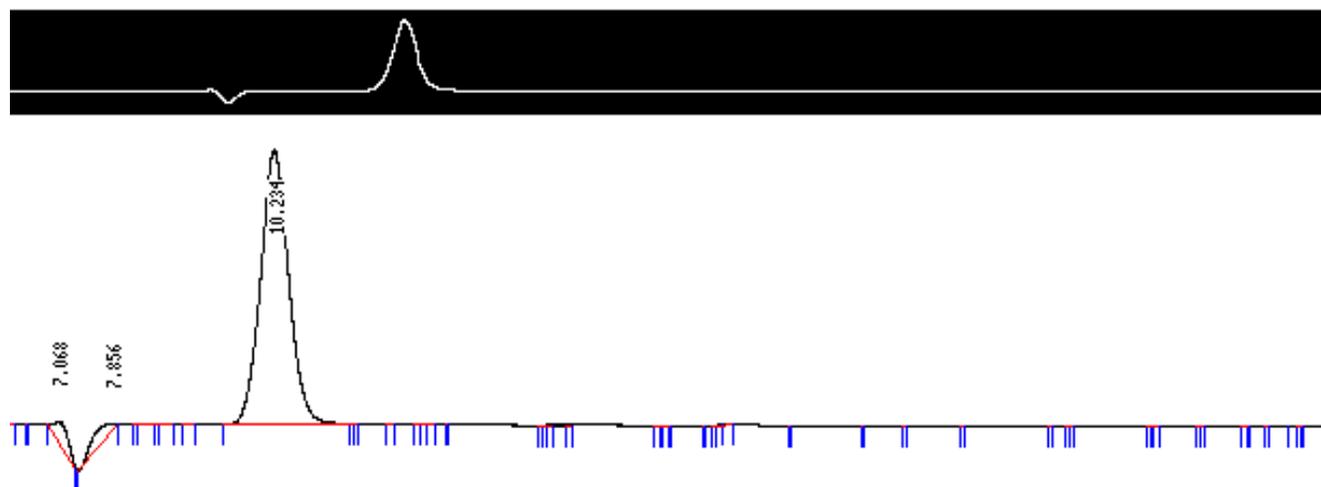


CROMATOGRAMAS HPLC DE CADA UNO DE LOS VOLUNTARIOS LUEGO DEL CONSUMO DEL BILAC®

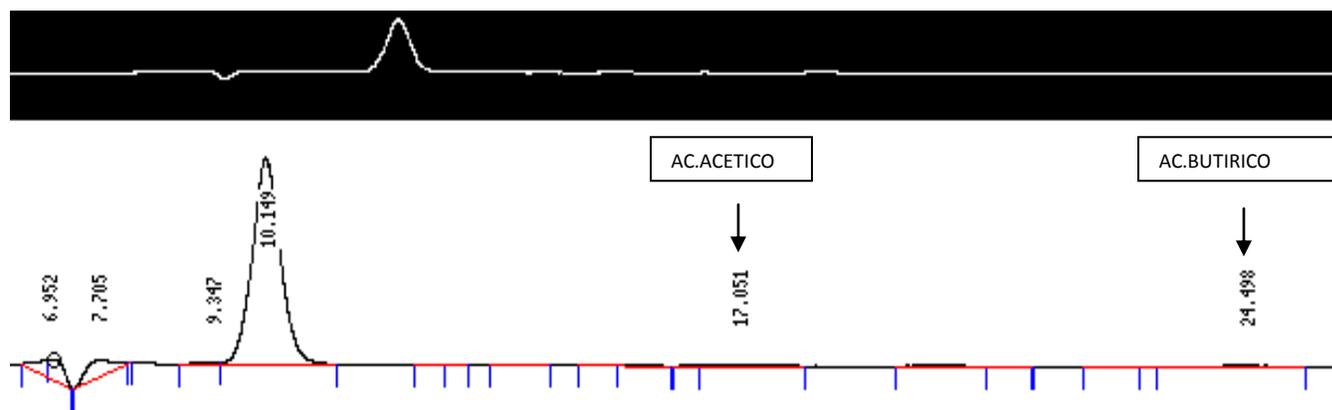
F 23



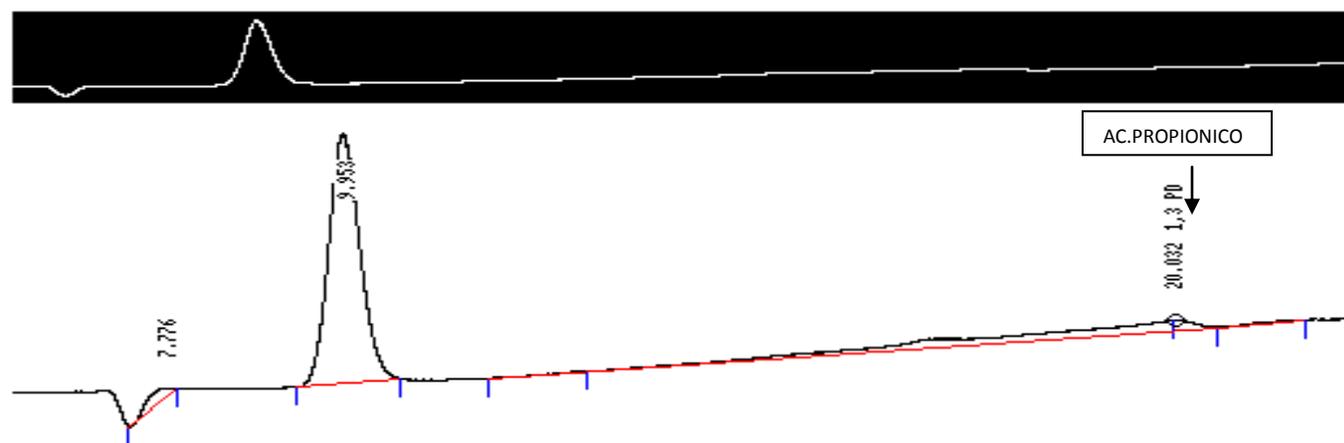
F 24



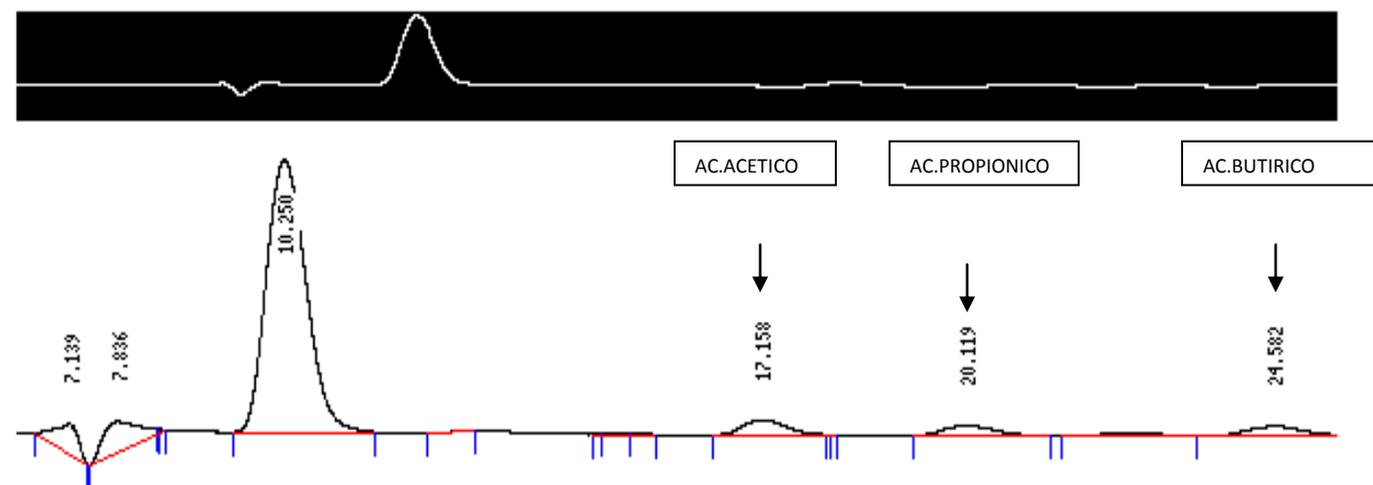
F 20



M 23 -1



M 23 -2



M 19

