

Quantification of isolated casein from three cattle herds in the Chone Canton

Cuantificación de caseína aislada de tres hatos ganaderos en el Cantón Chone

Autores:

Ing. Suárez-Villa, Amador Javier, Mgs
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí



amador.suarez@uleam.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-2298-4384>

Pedernales - Ecuador

Blgo. Falcones-Molina, Edison Leonardo
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí



edison.falcones@uleam.edu.ec



<https://orcid.org/0009-0009-8613-2701>

Pedernales - Ecuador

Ing. Macias-Chila, Ramon Raúl
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí



raul.macias@uleam.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-7772-3341>

Pedernales - Ecuador

Fechas de recepción: 04-ENE-2024 aceptación: 04-FEB-2024 publicación: 15-MAR-2024



<https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>

<http://mqrinvestigador.com/>

Resumen

El objetivo de este trabajo fue Cuantificar la proteína (caseína) aislada de tres hatos ganaderos con diferentes tipos de alimentación una de ellas leche comercial, leche orgánica y leche sobre alimentada, el 3% - 4%, de caseína, siendo en la especie bovina la media alrededor del 3,5% las proteínas de la leche se dividen en dos grandes grupos: las séricas, que constituyen un 20% de la proteína total, y las caseínas, que constituyen un 80% del total, hay tres tipos de caseínas: a – caseína: tiene dos variedades, α S1 y α S2. b - caseína. k - caseína. Posteriormente se procedió al aislamiento de la proteína de las diferentes leches de los tres hatos ganaderos, inmediatamente se tomaron las muestras de pH inicial de los tres tipos de leche: leche comercial (6,4), leche orgánica (6,5), leche de ganado sobre alimentado (6,6). Se aumentó la temperatura de 37 a 38 ° C, luego se procedió a la adición de ácido cítrico para obtener el punto isoeléctrico de la caseína y por ende la precipitación de la caseína. Las cantidades usadas fueron las siguientes: Leche comercial (35g) de ácido cítrico con un pH de (4,6), Leche orgánica (45g) de ácido cítrico con un pH de (4,4), Leche de ganado sobre alimentado (40g) de ácido cítrico con un pH de (4,6). El peso de las tres muestras obtenidas fueron las siguientes: Leche comercial (1.160 Kg), Leche orgánica (1.405 Kg), Leche de ganado sobre alimentado (1.035 Kg).

Palabras clave: leche; caseína; macromoléculas; punto isoeléctrico

Abstract

The objective of this work was to quantify the protein (casein) isolated from three livestock herds with different types of feeding, one of them commercial milk, organic milk and overfed milk, 3% - 4%, casein, being in the bovine species. On average, around 3.5%, milk proteins are divided into two large groups: serum proteins, which constitute 20% of the total protein, and caseins, which constitute 80% of the total. There are three types of caseins: a - casein: it has two varieties, α S1 and α S2. b - casein. k - casein. Subsequently, the protein was isolated from the different milks of the three livestock herds. The initial pH samples were immediately taken from the three types of milk: commercial milk (6.4), organic milk (6.5), milk of overfed cattle (6.6). The temperature was increased from 37 to 38 ° C, then citric acid was added to obtain the isoelectric point of the casein and therefore the precipitation of the casein. The quantities used were the following: Commercial milk (35g) of citric acid with a pH of (4.6), Organic milk (45g) of citric acid with a pH of (4.4), Milk from overfed cattle (40g) of citric acid with a pH of (4.6). The weight of the three samples obtained were the following: Commercial milk (1,160 Kg), Organic milk (1,405 Kg), Milk from overfed cattle (1,035 Kg).

Keywords: milk; casein; macromolecules; isoelectric point

Introducción

La leche es un fluido producido específicamente por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos; está constituida primordialmente por (grasa, proteína, lactosa, vitaminas y minerales) su composición varía según la raza del animal, alimentación, edad, medio donde se encuentre, suministros de analgésicos, presencia de enfermedades, cargas microbianas y células somáticas (OCLA, 2018). Éste es un alimento imprescindible en la dieta humana, ya que provee importantes nutrientes para la población; pero, debido a su composición, se vuelve un medio ideal para el desarrollo y propagación de microorganismos patógenos, los cuales se pueden desarrollar por una mala higiene, mal ordeño, inadecuado almacenamiento y mal transporte; éstos son causantes de su descomposición; una leche descompuesta puede ser clasificada como una leche contaminada no apta para el consumo (Zamora & Miguel, 2023).

En los tres últimos decenios, la producción lechera mundial ha aumentado en más del 50 por ciento, pasando de 500 millones de toneladas en 1983 a 769 millones de toneladas en 2013. La India es el mayor productor mundial de leche, con el 18 por ciento de la producción total, seguida por los Estados Unidos de América, China, Pakistán y Brasil. Desde el decenio de 1970, el aumento de la producción lechera se registra en su mayor parte en Asia meridional, que es el principal impulsor del crecimiento de la producción lechera en el mundo en desarrollo (FAO, 2019).

El sector lechero en el Ecuador ha mejorado su producción, los ganaderos de la Sierra y Oriente, ven con buenos ojos las cifras que se han presentado en el último trimestre del año pasado. La producción ha crecido, en Ecuador se producen 5,3 millones de litros por día, se han hecho las inversiones necesarias para fomentar una comercialización más justa para el productor y lo que se cree es que hay el espacio necesario para crecer en el mercado interno. El sector ha crecido en su producción de manera rentable, lo que permite que los ganaderos ya vean una alternativa para incrementar aún más la producción (CIL, 2019).

La llegada del invierno trae alegría al sector ganadero en la provincia de Manabí, debido a la producción de leche y queso aumenta en esta época, tras la caída de las primeras lluvias, los potreros de la zona norte se pintan de verde con hierba llena de minerales para las reses, los dueños del ganado aseguran que la presencia del pasto es un alivio, ya que en el verano del 2018 algunos sectores sufrieron las consecuencias del mal invierno, incluso se reportaron varias vacas muertas. Rubén Párraga, presidente de la Federación Nacional de Ganaderos (Fedegan), indicó que es evidente la mejoría que ha tenido el sector ganadero con la llegada del invierno, tanto así que la producción de leche aumentó hasta en un 40 % y el precio del queso bajó notablemente, hasta inicios del 2019 la libra de queso se la encontraba a \$ 2,50, ahora se la vende a \$ 1,50 y en el campo es más barata. A nivel de Manabí en verano se llegó a producir hasta 500 mil litros de leche al día, ahora en invierno se sobrepasan los 700 mil, esto es porque hay más alimento, el pasto al crecer tiene mayor porcentaje de proteínas y hace que el animal aumente su rendimiento (DIARIO, 2019) y (Requena, Agüera, & Requena, 2019).

Los genes que codifican estas 4 variedades o tipos de caseínas se encuentran en el cromosoma 6 (concretamente en la región 6q31) del ganado bovino, en un locus de 250 kilobases (kb) y organizados uno tras otro en el siguiente orden: α S1, β , α S2 y κ . Los genes de las tres primeras se encuentran dentro del locus en una región de unas 140 kb, mientras que el gen de la κ -caseína se encuentra en una región de unas 95-120 kb. la κ -caseína se encuentra en una región de unas 95-120 kb (Guevara-Garay, Rincón Flórez, Llano Naranjo, & Cuartas Castaño, 2019).

Las caseínas poseen estructuras genéticas similares. En general, contienen muchos exones pequeños y una baja proporción entre exones e intrones, también cabe destacar que poseen múltiples copias de repetición denominadas transposones. Los genes de las caseínas α S1 y α S2 poseen unidades transcripcionales relativamente largas, de aproximadamente 17,5 y 18,5 pares de kb respectivamente, y con un número de exones similar, el gen de la β -caseína tiene una secuencia génica que es más o menos la mitad de la longitud de las otras caseínas. El número de exones que contiene también es la mitad que el que poseen las demás, el estudio del mapa del locus del gen de la caseína ha demostrado que, a diferencia del resto de los otros tipos de caseínas, la β -caseína se transcribe de forma divergente (Cepeda-Palacios, 2018), (Ochoa León, 2023).

En cualquier lugar donde se elabore queso se produce suero como subproducto, el cual es rico en proteínas que poseen un elevado valor nutritivo, se estima que a escala mundial se producen, cada año, unos 72 millones de toneladas de suero, equivalentes a 200 mil toneladas de proteínas aproximadamente. No obstante, solo la mitad se utiliza en la alimentación humana y animal, el resto es tratado como desecho, existe, por tanto, gran necesidad de desarrollar nuevos usos para el mejor aprovechamiento de este valioso recurso, entre los componentes del suero, existe un péptido conocido como caseinomacropéptido, al que se le han atribuido diversas propiedades biológicas y nutricionales, se destacan en él sus efectos antitrombótico y antiinfeccioso (Oliva, 2019).

Este péptido se forma en la primera etapa de coagulación enzimática de la leche durante la elaboración de quesos. En esta etapa la quimosina o renina ocasiona la ruptura del enlace de la caseína, provocando la desestabilización y desnaturalización de las miscelas de caseína. De la ruptura de este enlace se originan dos polipéptidos: la para-[kappa]-caseína ligeramente catiónica a pH 6,6, hidrofóbica, poco soluble y que posee una estructura secundaria relativamente estable, y el caseinomacropéptido (CMP), polar, poco estable y que contiene todas las modificaciones post tradicionales de las kappa-caseína de partida fosforilación, glicosilación, y las variantes genéticas el perfil de aminoácidos de este último y su contenido en azúcar (Ramos, 2020).

Materiales y métodos

El objetivo de esta investigación es el aislamiento y la cuantificación de la proteína (caseína) presente en la leche de los diferentes hatos ganaderos con una alimentación distinta. La metodología de recopilación de información fue dentro de los ensayos realizados en el laboratorio de la Universidad Técnica de Manabí extensión Chone y Portoviejo.

Aislamiento de la caseína

Para el aislamiento de la caseína se usaron los siguientes materiales: Tanque de gas, Cocina Industrial, Olla Industrial, Gramera, Paleta, Tamiz, Medidor de pH, Medidor de Temperatura, Ácido Cítrico.

El pH Inicial de los 3 tipos de leche fue:

- Leche comercial 6.4
- Leche orgánica 6.5
- Leche de ganado tecnificado con suplementación alimenticia 6.6

Las tres muestras fueron identificadas de la siguiente manera:

- Leche comercial T1
- Leche orgánica T2
- Leche de ganado tecnificado con suplementación alimenticia T3.

La caseína es una proteína conjugada de la leche del tipo fosfoproteína que se separa de la leche por acidificación y forma una masa blanca. Las fosfoproteínas son un grupo de proteínas que están químicamente unidas a una sustancia que contiene ácido fosfórico. En la caseína la mayoría de los grupos fosfato están unidos por los grupos hidroxilo de los aminoácidos serina y treonina. La caseína en la leche se encuentra en forma de sal cálcica (caseinato cálcico). La caseína representa cerca del 77% al 82% de las proteínas presentes en la leche y el 2,7% en composición de la leche líquida.

Todas las macromoléculas de la naturaleza adquieren una carga cuando se dispersan en agua. Una característica de las proteínas y otros biopolímeros es que la carga total que adquieren depende del pH del medio. Se aumentó la temperatura de 37 a 38 ° C. Luego se procedió a la adición de ácido cítrico para obtener el punto isoeléctrico de la caseína y por ende la precipitación de la caseína. Las cantidades usadas fueron las siguientes:

Leche comercial: 35 g de ácido cítrico con un pH de 4.6, Leche orgánica: 45 g de ácido cítrico con un pH de 4.4, Leche de ganado tecnificado con suplementación alimenticia: 40 g de ácido cítrico con un pH de 4.6

Se procedió a dejar en reposo por 40 minutos para la posterior obtención de caseína, por medio de la precipitación generada. El peso de las tres muestras obtenidas fue el siguiente:

- T1: 1.160 Kg
- T2: 1.405 Kg
- T3: 1.035 Kg

Una vez obtenidas las muestras de proteínas de la leche caseína, se procedió a su respectiva deshidratación a temperatura controlada de 60 ° C por 24 horas.

- T1: 0.590 kg
- T2: 0.550 Kg

- T3: 0.465 Kg

Resultados

Se procedió a reducir el pH mediante la adición de ácido cítrico con el fin de precipitar la caseína y lograr llegar a su punto isoeléctrico

pH	Comercial	Orgánica	Sobrealimentada
pH inicial	6.4	6.5	6.6
pH reducido	4.6	4.4	4.5
ácido cítrico	35g	45g	40g

Fuente: Suarez (2024).

Cuantificación de la caseína

El laboratorio molecular de la UTM Portoviejo cuenta con equipos especializados para realizar pruebas de ADN, ARN y PROTEINAS el laboratorio Molecular cuenta con los siguientes equipos: Espectrómetro Evolution. Espectrometro De Plasma. Baño María. Medidor De Ph. Microcentrifuga refrigerada modelo PRISM R MARCA LABNET. Centrifuga 5804/5804 R. Crometografo Uhplc. Refrigeradora. Mufla. Agitador Reciprocal. Digital Microcentrifuga. Balanza analítica. Balanza digital. Equipo De Per Tiempo Real. Optimair Vertical Laminar. Refrigeradora, Fluorometro Qubit, Digital Microcentrifuga, Sistema de Electroforesis Vertical, Incubadora de Cultivo. Bortex. Tubos Qubit. Pipetas, Micropipetas entre otros. Para la cuantificación de caseína se trabajó con: Kit de proteínas - Fluorometro QUBIT 2.0 - Tubos QUBIT - Micro pipetas - Bortex

Para el procedimiento el kit de proteínas viene con sus respectivos 5 reactivos comercialmente identificados como A-B-C-D-E para la cuantificación de caseína trabajamos con los reactivos A que es en una presentación pequeña y reactivo B que es en una presentación pequeña los otros reactivos C D y E son para calibrar el equipo en este caso el Fluorometro QUBIT. Se procedió hacer una disolución madre de 800 µl con el kit de proteínas reactivo A y B, luego 198 µl de la disolución madre en 4 tubos pequeños enumerados del 1 al 3 por las 3 muestras de caseínas, para completar los 200 µl ubicamos 2 µl de agua más la muestra de cada caseína en su respectivo tubo, cada muestra se disolvió utilizando el Bortex.

Discusión

Primera muestra: Se procedió hacer una disolución madre de 800 micro-litros con el kit de proteínas reactivo A y B, se procedió a tomar para la primera muestra 198 micro-litros

de la disolución madre y 2 micro-litros de la disolución de agua más la caseína de la leche comercial, obteniendo la concentración en el Fluorometro Qubit de 10,7µg/mL.

Segunda muestra: Se procedió hacer una disolución madre de 800 micro-litros con el kit de proteínas reactivo A y B, se procedió a tomar para la segunda muestra 198 micro-litros de la disolución madre y 2 micro-litros de la disolución de agua más la caseína de la leche orgánica, obteniendo la concentración en el Fluorometro Qubit de 14,4µg/mL.

Tercera muestra: Se procedió hacer una disolución madre de 800 micro-litros con el kit de proteínas reactivo A y B, se procedió a tomar para la tercera muestra 198 micro-litros de la disolución madre y 2 micro-litros de la disolución de agua más la caseína de la leche altamente tecnificada, obteniendo la concentración en el Fluorometro Qubit de 14,6µg/mL.

Rendimiento Caseína	Comercial	Orgánica	Sobrealimentada
Peso	590 g	550 g	465 g
Concentración (caseína).	10.7 µg/mL	14.4µg/mL	14.6 µg/mL

Fuente: Suarez (2024).

Conclusión

La leche es la materia prima con la que se elaboran numerosos productos lácteos, como la mantequilla, el queso, el yogur, entre otros. Es muy frecuente el empleo de los derivados de la leche en las industrias agroalimentarias, químicas y farmacéuticas en productos como la leche condensada, leche en polvo, caseína o lactosa. La leche de vaca se utiliza también en la alimentación animal, está compuesta principalmente por agua, minerales como aniones (cloruro, fosfatos, citratos) cationes (calcio, sodio, potasio, magnesio) carbohidratos (lactosa), materia grasa (fosfolípidos) vitaminas liposolubles (A, D, E, K) y proteínas (caseínas). Los análisis de laboratorio nos muestran la cantidad de proteína (caseína) de los tres diferentes hatos ganaderos permitiendo saber la concentración de proteína en µg/mL a través del Fluorometro Qubit obteniendo las concentraciones de la leche comercial 10.7 µg/mL, seguido de la leche orgánica con una concentración de 14.4 µg/mL y por último la leche sobre alimentada con una concentración de 14.6 µg/mL los resultados obtenidos demuestran la mayor concentración de caseína en la leche de la muestra tres sobre alimentada, cuyo origen es de un ganado tecnificado con sobre Alimentación.

Referencias bibliográficas

- Archibal, A. (2000). La proteína concentrada en la leche. Una super estrella en la nutrición, pag. 8.
- Cepeda-Palacios, R. (2018). Producción en un enfoque técnico y social. Universidad Autónoma de Baja, 281 p.

- CIL. (30 de ENERO de 2019). CENTRO DE LA INDUSTRIA LACTEA DEL ECUADOR. Obtenido de <https://cilecuador.org/index.php/2018/04/08/produccionleche/>
- DIARIO, E. (30 de ENERO de 2019). Producción de leche subió 40 por ciento. Tema del Día, págs. 1-1.
- FAO. (30 de 1 de 2019). ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACION Y LA AGRICULTURA. Obtenido de <http://www.fao.org/home/stories-archive/es/>
- Gómez, D. A., & Mejía, O. B. (2015). Composición nutricional de la leche del ganado vacuno. REVISTA LASALLISTA DE INVESTIGACION - VOL. 2 No. , pag. 38-42.
- Guevara-Garay, L. A., Rincón Flórez, J. C., Llano Naranjo, F., & Cuartas Castaño, D. A. (2019). Redalyc.Efecto de algunos factores productivos sobre el contenido de kappa-caseína en leche de vacas de diferentes hatos en Risaralda (Colombia). Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, pp 42-50.
- INEN. (15 de Julio de 2018). Leche cruda. Requisitos. Quito: Tecnología de alimentos, productos. Obtenido de <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/n>
- Martín. (2003). Inspección veterinaria de la leche. LERCHE, pag. 188.
- Michel, W. (2005). Instituto Babcock para la investigación y el desarrollo internacional de la industria lechera. Universidad de Wisconsin Madison, pag. 25.
- Ochoa León, J. O. (2023). Relación de la variabilidad lipídica de la leche con los ambientes productivos ganaderos semi intensivos de Lasso-Cotopaxi. (U. C. Cuenca., Ed.) Universidad Católica de Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/14163>
- OCLA. (18 de Abril de 2018). Infoleche.com. Obtenido de <http://fepale.org/infoleche/2018/04/18/evolucion-de-la-produccion-mundial-de-leche/>
- Oliva, Y. e. (2019). "Caseinomacropéptido bovino: una alternativa para la salud." . Revista de Salud Animal, vol. 24, no. 2, 2002, p. 73.
- PASEIRO, L. (s.f.).
- Ramos, R. L.-F. (2020). El Caseinomacropéptido Bovino. Ciencia y Tecnología de los Alimentos, pp 575-585.
- Requena, F. D., Agüera, E. I., & Requena, F. (2019). Redalyc.Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. Electrónica de Veterinaria Requena, pag.4.
- Tizard, I. (2009). Propiedades generales de las respuestas inmunitarias. Inmunología Veterinaria 3ª ed.México DF: Nueva interamericana SA-McGraw-Hill, pag. 4-11.

Valdiviezo Galarza, P. C. (08 de 2023). Influencia de la β -caseína a2a2 sobre las propiedades fisicoquímicas y el tiempo de vida útil de un yogurt natural (Bachelor's thesis, Ecuador. Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)), 94 p. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10993>

Zamora, S., & Miguel, L. (02 de 2023). Aceleración en la obtención del genotipo a2a2 del gen de la beta caseína de la leche mediante superovulación y transferencia de embriones en la HACIENDA LA ESPERANZA. Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC), 71 p. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10596>

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

N/A

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior.