

Efecto de la aplicación de microfiltración tangencial sobre la concentración de proteínas de calostro bovino como una fuente alimenticia y medicinal

Elena Coyago-Cruza(a), Ana Páez(a), Michael Villacís(a), Jessica Simbaña(a), Elena Beltrán-Sinchiguano(b), Manuel Coronel(b)

a. Grupo de investigación y desarrollo en ciencias aplicadas a los recursos biológicos (GIOCARB), Carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito, Campus El Girón, Av. 12 de Octubre, Quito, Ecuador.

b. Centro de Investigación de Alimentos (CIAL), Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Universidad UTE, EC171029 Quito, Ecuador.

Coyago-Cruz, Elena: ecoyagoc@ups.edu.ec / Ana Páez: anapaezf@yahoo.com / Michael Villacís: mwillacist1@est.ups.edu.ec / Jessica Simbaña: jesy_977@hotmail.com / Elena Beltrán-Sinchiguano: elena.beltran@ute.edu.ec / Manuel Coronel: manuel.coronel@ute.edu.ec

RESUMEN

El calostro bovino es una secreción mamaria que se genera aproximadamente siete días antes del parto para alimentar al becerro. El contenido de sus componentes puede llegar a ser 100 veces mayor que en la leche cruda y estudios de otros autores señalan los beneficios alimenticios y medicinales que este presenta. En tal virtud, se estudió el efecto de la aplicación de microfiltración tangencial sobre la concentración de proteínas de calostro bovino como una fuente alimenticia y medicinal. El estudio consideró vacas de la raza Holstein y sus entrecruzamientos, desarrolladas en el cantón Cayambe. Los análisis químicos (grasa, proteína total, inmunoglobulinas totales, lactosa, sólidos totales y sólidos no grasos) fueron analizados en un equipo MilkoScan, los microbiológicos (cuenta de células somáticas y cuenta total) en un analizador Bacto Scan, la cuantificación de inmunoglobulina G con un cromatógrafo líquido Varian y la influencia de la aplicación de microfiltración tangencial con membranas de 0,45 µm de poro. Los resultados mostraron que en la mayoría de los casos las concentraciones de los parámetros en estudio a las primeras horas presentaron elevados valores (23 a 76 % de aumento con respecto a las 36 horas). El análisis factorial mostró que las condiciones de crianza y las horas después del parto, son los factores que mayormente influyeron sobre los parámetros físico-químicos. Finalmente, la microfiltración concentró la inmunoglobulina G en un 27 %, este concentrado podría ser empleado en la elaboración de nuevos productos que presenten beneficios a la salud de los humanos.

Palabras clave: lácteos, inmunoglobulinas, tecnología de membranas

Effect of the application of tangential microfiltration on the concentration of bovine colostrum proteins as a food and medicinal source

ABSTRACT

Bovine colostrum is a breast secretion that is generated approximately seven days before calving to feed calve. The concentration of its components can be 100 times higher than in raw milk. The evolution of the protein content of bovine colostrum after calving and the effect of tangential microfiltration on the immunoglobulin G content was studied. The study considered Holstein cows and their crossbreeding, developed in Cayambe canton. The chemical analyzes (fat, total protein, total immunoglobulins, lactose, total solids and non-fatty solids) were analyzed in a MilkoScan equipment, the microbiological ones (somatic cell count and total count) in a Bacto Scan analyzer, the quantification of immunoglobulin G with a Varian liquid chromatograph and the influence of the application of tangential microfiltration with 0.45 µm pore membranes. The results showed that in most cases the concentrations of the parameters under study at the first hours showed high values (23 to 76% increase compared to 36 hours). The factorial analysis showed that the conditions of aging and the hours after childbirth, are the factors that mostly influence the physico-chemical parameters. Finally, microfiltration caused the concentration of immunoglobulin G by 27%. This concentrate of peptides could be used in the development of new products that provide benefits to the health of humans.

Keywords: dairy products, immunoglobulins, membrane technology

INTRODUCCIÓN

El calostro bovino es una secreción mamaria que se genera aproximadamente siete días antes del parto y generalmente se produce de 3 a 6 días luego de este; con el paso de los días la composición del calostro cambia hasta alcanzar la característica de leche comercial (1). A nivel mundial el calostro no presenta importancia comercial, pero si inmunitaria, ya que posee altas cantidades de energía, proteínas (simples, globulares y conjugadas), vitaminas, minerales, factores de crecimiento y hormonas que contribuyen con el desarrollo del tracto gastrointestinal y otros sistemas del animal (2–4). Las principales fracciones de las proteínas de la leche son: la caseína (82% del contenido total de proteínas) y las proteínas de suero de leche (18% del contenido total de proteínas); estas conforman el 95 % de las proteínas crudas y el 5 % restante son aminoácidos libres y péptidos pequeños. Sin embargo, el valor nutricional del calostro y de la leche varía en función de la raza, período de lactancia y la dieta del animal (5,6).

Los péptidos bovinos presentan importantes beneficios a la salud de los humanos ya que han demostrado tener actividad anti-hipertensiva, antioxidante, antitrombótica, antimicrobiana, inmunomoduladora, anticoagulante, opioide, quelante (unión de minerales) y anticancerosa (3). La actividad anticancerosa de la leche se fundamenta en que se ha encontrado inhibe el crecimiento de los tumores ejerciendo un efecto citotóxico y aumentando la permeabilidad de la membrana lisosómica (complejo BAMLET en el que la α -lactoalbúmina bovina en un medio ácido es letal a células tumorales, este efecto es equivalente al complejo HAMLET que proporciona la leche materna) (6,7).

A su vez, estudios han demostrado que la inmunoglobulina G (IgG) de bovinos que es sintetizada en el torrente sanguíneo de la madre, corresponde al 85 % del total de inmunoglobulinas y se ha encontrado previene enfermedades entéricas en humanos, causadas por rotavirus, *Escherichia coli*, *Cryptosporidium spp.* y *Shigella flexneri* (8–10). Además, otros estudios señalan los efectos protectores de las proteínas de leche en alergias y asma en humanos (5).

Por otra parte, estudios recientes de N-glicoproteínas y péptidos glicosilados de calostro humano y bovino han demostrado la relación existente entre estos componentes con una interacción de 12% (11), lo que podría explicar el empleo de proteínas bovinas en humanos. Dicha relación entre proteínas humanas y animales ha proporcionado la aparición de fórmulas de leche para niños lactantes y como componente en la elaboración de recubrimientos

comestibles de alimentos debido a la presencia de inmunoglobulinas que presentan actividad antimicrobiana y proporciona inmunidad pasiva a los consumidores (7). Además, los estudios de proteínas bovinas relacionadas con productos comestibles son frecuentemente estudiadas debido a la solubilidad, emulsificación y propiedades gelificantes que presentan (3); sin embargo, la desnaturalización de proteínas por efecto de calor, provoca la búsqueda de nuevas alternativas para concentrar proteínas sin afectar la estructura molecular, así, una alternativa es la tecnología de membranas que es una técnica de filtrado que depende del tamaño de las partículas y purifica o concentra disoluciones y suspensiones (12–14).

Dado el gran valor nutricional y los beneficios a la salud humana que puede proporcionar el calostro bovino ya que posee concentraciones de componentes 100 veces mayor que la leche cruda comercial, en el presente trabajo se estudió la evolución del contenido de proteína del calostro bovino después del parto y el efecto de la aplicación de microfiltración tangencial sobre la concentración de proteínas de calostro bovino como una fuente alimenticia y medicinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en tres haciendas del cantón Cayambe; hacienda La Alegría ubicada en la comunidad Convalencia, parroquia Olmedo (0° 02' 53,38" norte, altitud 2893 metros sobre el nivel del mar (msnm)), la hacienda San Carlos ubicada en la vía Guayllabamba-Tabacundo (0° 02' 44.6" este, altitud 2830 msnm) y la hacienda San Mateo ubicada en la parroquia Juan Montalvo, puente la Josefina, río Guachalá (0° 02' 26.4" norte, 78° 08' 46.4" este, altitud 2890 msnm). En cada hacienda se seleccionó cuatro vacas de la raza Holstein o sus entrecruzamientos (Holstein pura; Holstein cruzada con Jersey; Holstein cruzada con Neoseolandes) tal como se muestra en la Tabla 1.

Para determinar el paso de calostro a leche, después del parto, se ordeñó 1.2 L de fluido a cada una de las vacas seleccionadas para el estudio, el ordeño se realizó dos veces al día y durante tres días consecutivos (6, 12, 24, 36, 48 y 60 horas después del parto). Del volumen total de cada ordeño, se tomaron tres fracciones de 40 mL: en la primera fracción se añadió una pastilla de Bronopol y se empleó para la cuantificación de los parámetros físico-químicos; en la segunda fracción se utilizaron dos gotas de Azidiol y se usó en la cuantificación de los parámetros microbiológicos y la tercera fracción se empleó en la cuantificación de inmunoglobulinas por cromatografía líquida; el volumen restante se almacenó en congelación para la aplicación de tecnología de membranas.

Análisis físico-químico y microbiológico

Las muestras con Bronopol se sumergieron en un baño

Tabla 1. Características de las vacas seleccionadas para el estudio

Hacienda	Número de vacas	Raza	Número de partos	Alimentación
La Alegría	1	Holstein-Mestiza	2	Pastoreo y Balanceado (específico en preparto y postparto)
	2	Holstein-Jersey	2	
	3	Holstein pura	2	
	4	Holstein pura	1	
San Carlos	1	Holstein-Neoseolandes	3	Mañana: ración totalmente mezclada Tarde: Balanceado y pastoreo
	2	Holstein pura	3	
	3	Holstein pura	2	
	4	Holstein pura	1	
San Mateo	1	Holstein-Neoseolandes	3	Pastoreo Balanceado
	2	Holstein pura	3	
	3	Holstein pura	2	
	4	Holstein pura	2	

maría a temperaturas entre 37 a 42 °C y posteriormente se realizó la cuantificación de grasa, proteína total, inmunoglobulinas totales, lactosa, sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) en un analizador MilkoScan FT 6200 (FOSS, España). Además, se cuantificó la densidad y la acidez láctea según describen las normas INEN0011, (1984) y la INEN0013, (1984), respectivamente.

La muestra con Azidiol se estabilizó en un baño maría a temperaturas entre 37 a 42 °C, luego se dividió en dos fracciones iguales, la primera se empleó para realizar el recuento total de bacterias (RT) en un analizador Bacto Scan 50-H (FOSS, España) y la segunda fracción se empleó para el análisis de conteo de células somáticas (CCS) en un analizador Fossomatic Minor (FOSS, España).

El contenido de inmunoglobulina G se determinó por cromatografía líquida (HPLC). Este análisis consistió en mezclar 10 mL de muestra con 5 mL de ácido clorhídrico 1 M, esta solución se dejó en reposo por 15 min para que precipite la caseína, posteriormente la solución se centrifugó y se filtró el sobrenadante por una membrana MILLIPORE de 0,45 μ m para su posterior análisis en un HPLC Varian Modelo ProStar 320 (Purifluidos, Ecuador), provisto de un detector UV-DAD, columna Zorbax C18 150 x 4,6 mm, 5 μ m a temperatura ambiente (30 °C), flujo de 1 mL/min, longitud de onda de 205 nm y un gradiente lineal empleando una fase A: solución acuosa de 0,1 % ácido trifluoroacético y fase B: solución en acetonitrilo de 0,1 % ácido trifluoroacético. El gradiente de elución fue: 0 min, 30 % A y 70 % B; 35 min, 50 % A y 50 % B; 40 min, 70 % A y 30 % B. La concentración fue calculada empleando una curva de calibración de inmunoglobulina G aislada de plasma sanguíneo.

Aplicación de microfiltración tangencial

Para la alimentación de la microfiltración tangencial se utilizó una muestra compuesta, constituida por las muestras que presentaron alta concentración de proteínas. Con el objeto de retirar materias contaminantes de gran tamaño, la alimentación se filtró con una tela de lino (tamaño de poro de 0,1 mm). El proceso de microfiltración se realizó

con una membrana de 0.45 μ m de poro, temperatura de entrada entre 33 a 35 °C y dos diferentes presiones (1.5 y 2.5 Bares). En la alimentación, permeado y concentrado del proceso se evaluó el contenido de inmunoglobulina G por HPLC, de acuerdo con la metodología mencionada anteriormente; y se realizó el recuento de coliformes totales y *Escherichia coli* aplicando la metodología de 3M-Petrim, (2015).

Análisis estadístico

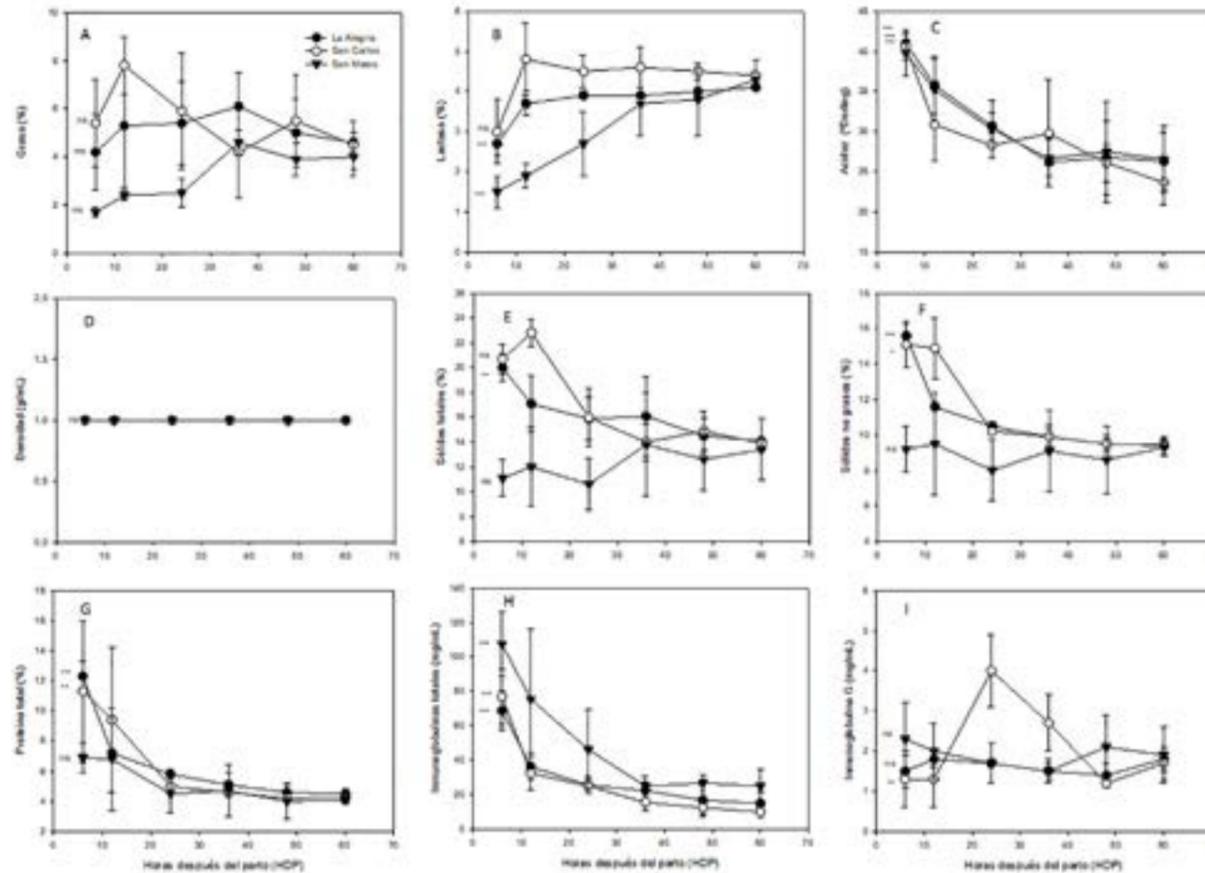
El análisis estadístico se realizó con el software STATGRAPHICS Ceturion XVII. Para estudiar la evolución del contenido de proteína del calostro bovino después del parto se realizó un análisis ANOVA simple y la variación entre las condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda a una determinada hora después del parto, se evaluó con separación de medias empleando la prueba Tukey con una diferencia significativa de 0.05 y un nivel de confianza de 95 %. Además, se realizó un análisis factorial 3x6x3, los factores fueron: condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda, horas después del parto y número de partos.

RESULTADOS

Análisis físico-químico y microbiológico

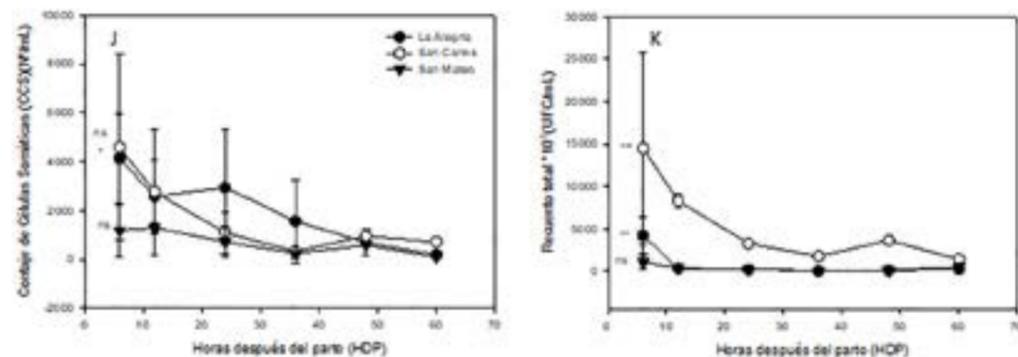
El análisis factorial señala que la concentración de grasa, densidad e inmunoglobulina G en relación con las horas después del parto (HDP) no reportaron diferencias significativas con respecto a las condiciones de crianza y número de partos; sin embargo, lactosa, acidez, proteína, inmunoglobulinas totales, sólidos totales, sólidos no grasos, conteo de células somáticas y recuento total si mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$). Por otra parte, en relación a las condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda, la grasa a las 6 HDP; la lactosa a las 6, 12 y 24 HDP; los sólidos solubles y sólidos no solubles a las 24 HDP; las inmunoglobulinas totales a las 6, 48 y 60 HDP; la inmunoglobulina G a las 24, 36 y 48 HDP mostraron diferencias significativas.

Figura 1. Evolución de las características físico-químicas del calostro bovino.



A: Grasa (%); B: Lactosa (%); C: Acidez ($^{\circ}$ Dorling); D: Densidad (g/mL); E: Sólidos totales (%); F: Sólidos no grasos (%); G: Proteína total (%); H: Inmunoglobulinas totales (mg/mL); I: Inmunoglobulina G (mg/mL). El análisis estadístico mostrado al inicio de cada gráfico, presenta las diferencias significativas en relación a las horas después del parto y están dadas así: ns, no significativo; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.005$; ***, $p < 0.0005$.

Figura 2. Evolución de las características microbiológicas del calostro bovino.



J: Contaje de Células Somáticas (N°/mL); K: Recuento total (UFC/mL). El análisis estadístico mostrado al inicio de cada gráfico, presenta las diferencias significativas en relación a las horas después del parto y están dadas así: ns, no significativo; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.005$; ***, $p < 0.0005$.

Tabla 2: Análisis factorial en relación a condiciones de crianza, número de partos y horas después del parto.

HDP	Grasa (%)	Densidad (g/mL)	Lactosa (%)	Acidez ($^{\circ}$ Dorling)	Proteína total (%)	Inmunoglobulinas totales (mg/mL)	Inmunoglobulina G (mg/mL)	Sólidos totales (%)	Sólidos no grasos (%)	CCS*10 ³ (N ^o /mL)	RT*10 ³ (UFC/mL)
AF _A	**	**	***	ns	ns	***	*	**	*	**	***
AF _{NP}	*	ns	ns	*	ns	ns	**	*	ns	ns	ns
AF _{HDP}	ns	ns	***	***	***	***	ns	*	***	***	**

CCS: contaje de células somáticas; RT: recuento total. Las diferencias significativas entre las condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda (AF_A), número de partos (AF_{NP}) y horas después del parto (AF_{HDP}) están dadas así: ns, no significativo; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.005$; ***, $p < 0.0005$.

Tabla 3: Valores promedio del proceso de concentración de inmunoglobulina G utilizando microfiltración tangencial.

	Entrada	Permeado	Concentrado
Inmunoglobulina G (mg/mL)	1.6 + 0.3 ^a	0.03 + 0.0 ^c	2.2 + 0.0 ^a
Escherichia coli	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Letras en la parte superior representan las diferencias estadísticas entre las corrientes de la microfiltración

La densidad del calostro en las tres haciendas en estudio no presentó diferencias significativas durante las HDP. Por otra parte, el porcentaje de lactosa del calostro de las vacas de la hacienda San Carlos mostró mayores valores, seguido de la hacienda La Alegría y San Mateo, respectivamente (Figura 1- B). Los valores de lactosa presentaron una tendencia creciente en función a las HDP.

La acidez del calostro mostró una tendencia decreciente en función de las HDP, es decir que a medida que el calostro se convierte en leche la acidez disminuye (Figura 1- C). A su vez, los sólidos solubles y no grasos mostraron una ligera tendencia decreciente (Figura 1- E y F). En el caso de la proteína total y el contenido de inmunoglobulinas totales se mostró una tendencia decreciente hasta las 36 HDP y a partir de este tiempo se estabilizó el contenido mostrando una tendencia lineal (Figura 1- G). La proteína total mostró valores mayores en las vacas de la hacienda La Alegría y San Carlos con una disminución de la concentración de un 63 % con respecto a las 6 HDP. Por otra parte, la concentración de inmunoglobulinas totales de la hacienda San Mateo presentó altos valores, con una disminución de la concentración en un 80 % con respecto a las 6 HDP.

En general la grasa, lactosa y proteína total se estabilizaron a las 48 HDP con un valor aproximado del 4 % y la cuantificación de células somáticas reportó una ligera disminución en función de las HDP (Figura 2 - K), presentando mayores valores en las muestras de las haciendas La Alegría y San Mateo.

La concentración de inmunoglobulina G no mostró diferencias significativas con respecto a las HDP a excepción de la hacienda San Carlos que presentó diferencia significativa a las 24, 36 y 48 HDP, con un incremento del 68 % en la concentración con respecto a las 12 HDP (Figura 1- I). Además, se encontró que la inmunoglobulina G a las 60 HDP, en las muestras en estudio, correspondieron a aproximadamente un 10% del contenido total de inmunoglobulinas.

Aplicación de microfiltración tangencial

La muestra compuesta para la microfiltración estuvo conformada por la mezcla de las muestras tomadas a las 6, 12 y 24 HDP de las diferentes haciendas. Los resultados expuestos en la Tabla 3, señalan que la aplicación de microfiltración tangencial concentró en un 27 % la inmunoglobulina G.

DISCUSIÓN

Análisis físico-químico y microbiológico

El contenido de grasa del calostro a las 60 HDP fue mayor que la leche cruda comercial (valor mínimo 3.0 %) (18). Los altos porcentajes de grasa encontrados en las muestras de calostro bovino, pueden constituir beneficios en la salud del consumidor, ya que según varios estudios se ha encontrado que la grasa de leche contiene ácido oleico que previene enfermedades cardiovasculares, vitamina A que presenta un rol en la visión y vitamina E que está asociada a la disminución del riesgo de contraer cáncer y enfermedades coronarias (19). Además, la grasa presentó una tendencia creciente, excepto en las vacas de la hacienda San Carlos; sin embargo, a medida que el calostro se convertía en leche el porcentaje de grasa alcanzó una concentración promedio de 4%. Las vacas de la hacienda La Alegría exhibieron aumentos de la concentración de entre 29 a 51 % y en la hacienda San Carlos aumentos de entre 29 a 62 %; sin embargo, la concentración de grasa en el calostro de las vacas de la hacienda San Mateo mostraron bajas concentraciones hasta las 24 HDP y pasado este tiempo los valores se incrementaron con rangos de aumento de entre 23 a 35 %. Este efecto pudo deberse al tipo de alimentación de las vacas de la hacienda San Carlos que produjo un incremento del contenido de grasa del calostro (Tabla 1). Por otra parte, el bajo nivel de grasa en el calostro podría generar beneficios para la salud de los humanos, con aportes menores al 50 % de grasa consumida en la leche comercial.

Los valores de lactosa incrementaron con las HDP, hasta alcanzar valores promedio de 4 % de contenido de lactosa; esta tendencia estuvo relacionada a lo encontrado en otros estudios (1). La baja concentración de lactosa en el calostro podría convertirse en un beneficio para los consumidores que presentan intolerancia a la lactosa, ya que el contenido promedio del calostro en este estudio resultó ser 50 % menor que el de la leche comercial.

Los sólidos solubles en la hacienda La Alegría y San Carlos mostraron valores superiores al valor mínimo establecido por la norma INEN9 (11.2 %) para leche cruda, con rangos de incremento entre 19 al 51 %; mientras que en la hacienda San Mateo en algunos casos se presentó incrementos que variaron entre el 7 a 19 %. Por otra parte, los sólidos no grasos mostraron en la mayoría de los casos en las tres haciendas en estudio, concentraciones superiores a las establecidas en la norma (8.2%) con rangos de incremento entre 5 a 47 %, excepto en la hacienda San Mateo a las 24 HDP, que se obtuvo valores inferiores a los establecidos por la norma.

Los valores de la proteína total mostraron en todos los casos valores superiores a los valores mínimos establecidos por la norma INEN9 (2.9 %) para leche cruda, con porcentajes de incremento de entre 28 a 76 %. Estos altos porcentajes de proteína pueden resultar beneficios para el cuerpo humano, contribuyendo con el desarrollo muscular y mejorando las funciones vitales que facilitan la captación de nutrientes como oligoelementos y vitaminas y además brindan al organismo una función protectora (6).

Por otra parte, la concentración de inmunoglobulinas totales disminuye en un 80 % a las 60 HDP, esta tendencia decreciente, concuerda con lo establecido por otros autores, que señalan que la concentración de inmunoglobulinas disminuye rápidamente a medida que el calostro se convierte en leche comercial y esto ocurre aproximadamente a las 48 HDP (20). Los resultados de inmunoglobulina G de la hacienda San Carlos a las 24, 36 y 48 HDP pudo estar relacionado al mecanismo de defensa propio del animal, el cual provocó un incremento del contenido de inmunoglobulina G, haciendo que disminuya la carga microbiana, tal como sugieren otros autores (20,21). Además, las altas concentraciones de inmuglobulina total en las primeras horas de secreción del calostro, resultaría favorable para la generación de nuevos productos que brinden inmunidad a los consumidores.

La estabilización del contenido de la grasa, lactosa y proteína total a las 48 HDP tiene relación con lo reportado por otros autores, los que señalan que el porcentaje en leche cruda posee una concentración promedio de los parámetros antes mencionados de alrededor de 4 % (22), con incremento de la concentración de lactosa a medida que pasa el tiempo (23). Además, según estudios relacionados con la composición del calostro del ganado Holstein en función del número de ordeños, se evidencia que los datos obtenidos y las tendencias características para cada uno de los parámetros en este estudio concuerdan con los resultados reportados por Davis y Drackley (1998) (1) y otros estudios (23). Por otra parte en el estudio de Araúz et al., (2011), se reporta

un incremento de la concentración de inmunoglobulinas totales en función del número de partos, sin embargo en este estudio no se muestra un patrón definido de cambio; pero con respecto al contenido de grasa en el calostro, se observó mayores valores en las vacas con menor número de partos.

En la mayoría de los casos las muestras sobrepasaron los límites permitidos de células somáticas establecido por la norma INEN9 para leche cruda (7.0×10^5 recuento de células somáticas/ cm^3) (18) con porcentajes entre 31 a 84 % superiores a lo establecido por la norma. Además, se observó una correlación inversa entre el contenido de células somáticas y el contenido de inmunoglobulinas. Estos resultados concuerdan con lo reportado con otros autores, que la concentración de inmunoglobulinas disminuye en función del incremento de las células somáticas (24). Por otra parte, la mayor concentración de células somáticas en las primeras 24 horas en las haciendas La Alegría y San Carlos pudo deberse al mismo proceso de lactancia, el que ocasiona al inicio una alta inflamación de las glándulas mamarias provocando un mayor conteo de células somáticas, mientras que a medida que el ternero succiona el fluido materno, la glándula tiende a recuperarse hasta alcanzar un conteo de leucocitos bajo, mostrando así la salud de la glándula mamaria, tal como señalan otros autores (21,25,26). Además, se debe considerar que si el conteo de células somáticas se mantienen por tiempos prolongados, eso significaría que la glándula mamaria se encuentra afectada, lo que provocaría la aparición de mastitis, lo que ocasionaría una disminución de la cantidad de leche secretada y de la calidad nutricional de la leche, con el subsecuente incremento de microorganismos presentes en el mismo, tal como sugieren otros autores (27).

Por otra parte, la hacienda San Carlos en la mayoría de los casos sobrepasó los límites de conteo total establecido por la norma INEN9 para leche cruda (1.5×10^6 recuento de microorganismos aerobios UFC/ cm^3) con porcentajes entre 16 a 90 % superiores a lo establecido por la norma; mientras que, la hacienda La Alegría solo reportó contaminación a las 6 HDP. La deficiente calidad microbiológica en las muestras de la hacienda San Mateo, estuvo relacionada con un menor contenido de los parámetros en estudio comparados con los valores de las otras haciendas. Estos resultados concuerdan con lo establecido en otros estudios, que señalan que una menor concentración de inmunoglobulinas favorece el ataque de patógenos a la glándula mamaria ya que la secreción mamaria es una fuente importante de nutrientes para que se desarrollen, además acompañado de la temperatura corporal que contribuye al desarrollo de los mismos (20,21).

Por otra parte, el análisis factorial mostró que las condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda y las HDP fueron los factores que mayormente influyeron sobre las características químicas evaluadas en este estudio. Estos resultados se relacionan con lo establecido en otros trabajos, en los que se señalan que la leche cruda está compuesta por proteína, agua, lactosa, minerales, grasa y vitaminas los cuales determinan la calidad nutricional de este fluido, y

que los parámetros antes mencionados varían en función de la raza y el tipo de alimentación que se ofrezca al animal (28).

Aplicación de microfiltración tangencial

El contenido de proteína de las corrientes del proceso de microfiltración tangencial son satisfactorios ya que como se indicó anteriormente, las proteínas son sensibles al calor y un proceso en frío como es la microfiltración tangencial, favorecería la conservación de las proteínas. Además, debido a la interacción encontrada entre péptidos de calostro humano y bovino en otros estudios (11), el concentrado de proteínas podría ser empleado en la elaboración de leches en polvo para lactantes y productos nutricionales en general, los cuales proporcionarían beneficios en la salud del consumidor ya que se ha encontrado presentan actividad anti-hipertensiva, antioxidante, antitrombótica, antimicrobiana, inmunomodulatoria, anticoagulante y anticancerosa, tal como sugieren otros autores (3,6,7)

CONCLUSIONES

En general, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la evolución del contenido de proteína del calostro bovino después del parto y el efecto de la aplicación de microfiltración tangencial sobre la concentración de proteína de calostro bovino como una fuente alimenticia y medicinal. En este estudio se cuantificó los parámetros químicos tales como grasa, densidad, lactosa, acidez, proteína total, inmunoglobulinas totales, inmunoglobulina G, sólidos totales y **sólidos no grasos**, y parámetros microbiológicos tales como conteo de células somáticas y recuento total en muestras colectadas a diferentes horas después del parto. Los resultados mostraron que a las primeras horas después del parto, las concentraciones de acidez, sólidos totales, sólidos no grasos, proteína total e inmunoglobulinas totales mostraron mayores valores; sin embargo, los parámetros antes mencionados disminuyen con el paso de las horas. Por otra parte, los valores de los parámetros químicos en la mayoría de los casos mostraron concentraciones superiores a los establecidos por la normativa INEN9 con porcentajes de aumento entre 23 a 76 %. La comparación de los valores de calostro con leche cruda comercial, se realizó debido a que no existe una norma específica para calostro, por tal motivo se tomó como referencia dicha normativa. En general, se observó en un tiempo determinado algunas diferencias estadísticas de los parámetros químicos en estudio, mientras que en la mayoría de los casos en los parámetros **microbiológicos. A su vez, el análisis factorial mostró** que las condiciones de crianza de las vacas en cada hacienda y las horas después del parto, fueron los factores que mayormente influyeron sobre la concentración de los parámetros químicos y microbiológicos. Además, la aplicación de la microfiltración tangencial empleando una membrana de 0,45 μm , provocó la concentración de la inmunoglobulina G en un 27 %, favoreciendo la obtención de un fluido con gran cantidad de péptidos bovinos. Este fluido podría ser empleado en la elaboración de diferentes productos que presten beneficios nutricionales y medicinales a la salud del consumidor.

FINANCIAMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad Politécnica Salesiana y Universidad UTE, por el soporte financiero.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a todos los técnicos del Laboratorio de la leche de la Universidad Politécnica Salesiana y los ayudantes de la planta piloto de la Universidad UTE.

CONFLICO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses financieros.

REFERENCIAS

1. Elizondo-Salazar JA. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agron Mesoam*. 2014;18(2):271.
2. Gill HS, Doull F, Rutherford KJ, Cross ML. Immunoregulatory peptides in bovine milk. *Br J Nutr*. 2008;84(S1).
3. Rantamäki P, Loimaranta V, Vasara E, Latva-Koivisto J, Korhonen H, Tenovuo J, et al. Edible films based on milk proteins release effectively active immunoglobulins. *Food Qual Saf*. 2019;(January):23–34.
4. Flores R, Romero A. Calidad del calostro y estatus inmunitario de terneras en su primera semana de vida por medio de la densidad de proteínas sericas en cuatro ganaderías lecheras del departamento de sonsonate, El Salvador. Universidad de El Salvador; 2013.
5. Sozańska B. Raw cow's milk and its protective effect on allergies and asthma. *Nutrients*. 2019;11(2):469.
6. Fuentes-García P. Péptidos bioactivos derivados de la leche de bovino y sus efectos fisiológicos en humanos: generalidades y aspectos moleculares. *CBG-IPN*. 2017;(January).
7. Abbring S, Hols G, Garssen J, van Esch BCAM. Raw cow's milk consumption and allergic diseases – The potential role of bioactive whey proteins. *Eur J Pharmacol [Internet]*. 2019;843(November 2018):55–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.11.013>
8. Tsipori S, Robertson D, Chapman C. Remission of diarrhoea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;293(6557):1276–7.
9. Huppertz HI, Rutkowski S, Busch DH, Eisebit R, Lissner R, Karch H. Bovine colostrum ameliorates diarrhea in infection with diarrheagenic *Escherichia coli*, Shiga toxin-producing *E. coli*, and *E. coli* expressing intimin and hemolysin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999;29(4):452–6.
10. Tacket CO, Binion SB, Bostwick E, Losonsky G, Roy MJ, Edelman R. Efficacy of bovine milk immunoglobulin concentrate in preventing illness after *Shigella flexneri* challenge. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;47(3):276–83.
11. Cao X, Yang M, Yang N, Liang X, Tao D, Liu B, et al. Characterization and comparison of whey N-glycoproteomes from human and bovine colostrum and mature milk [Internet]. Vol. 276, *Food Chemistry*. 2019. 266–273 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.174>
12. Arrutiá F, Rubio R, Riera F. Production and membrane fractionation of bioactive peptides from a whey protein concentrate. *J Food Eng*. 2016;184:1–9.
13. Atra R, Vatai G, Bekassy-Molnar E, Balint A. Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *J Food Eng*. 2005;67(3):325–32.
14. Saxena A, Tripathi B, Kumar M, Shahi V. Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Adv Colloid Interface Sci*. 2009;145(1–2):1–22.
15. INEN0011. Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 0011. Leche. Determinación de la densidad relativa. Ecuador; 1984.
16. INEN0013. Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 0013. Leche. Determinación de la acidez titulable. Ecuador; 1984.

17. 3M-Petrifilm. Guía de interpretación 3M Petrifilm Placas para

- recuento de coliformes totales y *Escherichia coli*. 2015.
18. INEN9. Norma Inen Leche Cruda. Inst Ecuatoriano Norm [Internet]. 2012;9(5):1–9. Available from: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0009.2008.pdf>
 19. Haug A, Høstmark A, Harstad O. Bovine milk in human nutrition - A review. *Lipids Health Dis*. 2007;6:1–16.
 20. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci*. 2009;87(13):3–9.
 21. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón J, Cajero-Juárez M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza J, Bravo-Patiño A, et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Br Infect Soc*. 2007;54:399–409.
 22. Alais C. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Science Du. Lacasa A, editor. México: S.E.P.A.I.C.; 1988.
 23. Araúz E, Fuentes E, Batista J, Ramón V, Caballero S. Potencial calostropoietico en vacas múltiples 3 / 4 pardo suizo x 1 / 4 cebú y perfil químico , inmunológico y energético del calostro secretado en las primeras seis horas después del parto. *Rev Electrónica Vet*. 2011;12(9):1–28.
 24. Quiroz G, Bouda J, Medina M, Núñez L, Yabuta A. Impacto de la administración y la calidad el calostro sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en becerros. *Vet México*. 1998;29(2):161–6.
 25. Reyes H, Manuel J, Veterinario M. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET Rev electrónica Vet*. 2008;IX(8):1–34.
 26. Dego O, Dijk J, Nederbragt H. Factors involved in the early pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis with emphasis on bacterial adhesion and invasion . A review Factors involved in the early pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis with emphasis on bacterial. *Vet Q* 2011;2176.
 27. Borne B, Schaik G, Lam T, Nielen M, Frankena K. Intramammary antimicrobial treatment of subclinical mastitis and cow performance later in lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. 2019;1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16254>
 28. WingChing-Jones R, Mora-Chaves E. Composición de la leche entera cruda de bovinos antes y después del filtrado. *Agron Mesoam*. 2013;24(1):203–7.