



Nota Técnica

Caracterización de proteínas obtenidas de tres productos lácteos desarrollados en la cooperativa de producción agropecuaria salinas

Characterization of proteins obtained from three dairy products developed in the Salinas agricultural production cooperative

José Altuna¹; Alejandra Barrionuevo¹; Favian Bayas¹; Roberto Verdezoto¹; Alejandra Coloma¹

¹ Universidad Estatal de Bolívar. Campus Académico “Alpachaca” Av. Ernesto Che Guevara s/n y Av. Gabriel Secaira, Guaranda, Ecuador. xhachi@ueb.edu.ec

Rec.: 22.07.2021 Acept.: 03.10.2021

Publicado el 30 de diciembre de 2021

Resumen

La presente investigación tiene como objetivo la caracterización proteica de tres bebidas lácteas que son elaboradas a partir de lacto suero dulce con aportes proteicos de dos matrices vegetales (bebida láctea a base de quinua, bebida láctea a base de soya y bebida láctea fermentada), para la investigación se concentró la proteína mediante precipitación isoelectrónica a valores de pH 4.0 sin solubilidad, y mediante electroforesis identificamos el perfil proteico de las bebidas lácteas, encontrándose bandas con pesos moleculares entre 16 a 85 KDa en la bebida láctea fermentada y la bebida láctea a base de soya, y de 16 a 79 KDa en la bebida láctea a base de quinua. Se estableció la digestibilidad gastrointestinal donde se desarrolló la digestión gástrica con la enzima pepsina, y la digestión duodenal con la enzima pancreatina, posterior a la reacción enzimática se aplicó la técnica de electroforesis y se comprobó que cada una de las bebidas lácteas es digerible dentro del organismo. Con esta investigación se busca fortalecer el desarrollo de la agroindustria local y sobre todo demostrar que las tres bebidas lácteas desarrolladas son de fácil digestión y por ende aptas para el consumo humano y sus proteínas descritas son un aporte importante en la nutrición del organismo, de tal forma que la liberación de los péptidos, aunada al tamaño, hidrofobicidad y secuencia de los mismos constituyen requisitos indispensables para convertirlos en péptidos con actividad biológica. Éstos últimos, también considerados como péptidos bioactivos o biopéptidos, han despertado recientemente el interés de los investigadores debido a que pueden influenciar favorablemente las funciones que llevan a cabo los sistemas inmune, gastrointestinal, nervioso y cardiovascular impactando la salud del consumidor.

Palabras Clave: lacto suero, isoelectrónica, electroforesis, digestión gástrica, digestión duodenal.

Abstract

The objective of this research is the protein characterization of three milk beverages that are made from sweet whey with protein contributions from two vegetable matrices (quinoa-based milk drink, soy-based milk drink and fermented milk drink), to The research concentrated the protein by isoelectric precipitation at pH 4.0 values without solubility, and by means of electrophoresis we identified the protein profile of milk drinks, finding bands with molecular weights between 16 and 85 KDa in the fermented milk drink and the milk-based drink. of soy, and 16 to 79 KDa in the quinoa-based milk drink. Gastrointestinal digestibility was established where gastric digestion with the enzyme pepsin was developed, and duodenal digestion with the enzyme pancreatin, after the enzymatic reaction, the electrophoresis technique was applied and it was verified that each of the milk beverages is digestible within the organism. This research seeks to strengthen the development of local agribusiness and above all to demonstrate that the three dairy drinks developed are easily digested and therefore suitable for human consumption and their proteins described are an important contribution to the nutrition of the body. in such a way that the release of peptides, together with their size, hydrophobicity and sequence, constitute essential requirements to convert them into peptides with biological activity. The latter, also considered as bioactive peptides or biopeptides, have recently aroused the interest of researchers because they can favorably influence the functions carried out by the immune, gastrointestinal, nervous and cardiovascular systems, impacting consumer health.

Keywords: serum lacto, isoelectric, electrophoresis, gastric digestion, duodenal digestion.

Introducción

En la actualidad, el consumo de bebidas lácteas a partir de suero está muy difundido por su valor nutritivo y menor costo. Industrialmente el suero sirve como ingrediente en la elaboración del kéfir, kumis y bebidas lácteas con frutas y cereales. Otra línea de producción creciente son las bebidas lácteas fermentadas con bacterias, las cuales generalmente se mezclan con frutas o saborizantes (Montesdeoca, 2017)

En la parroquia de Salinas del cantón Guaranda, provincia Bolívar la producción de leche y sus derivados es de gran importancia para la sustentabilidad económica de sus habitantes, en la producción de queso, se obtiene como subproducto gran cantidad de lactosuero, el cual no es aprovechado al 100%, sobre todo en la industria quesera conocida como Cooperativa de Producción Agropecuaria el “Salinerito”, tradicionalmente el suero se emplea como alimentos para animales o vertidos directamente hacia el desagüe, desaprovechando así sus propiedades (Gallardo & Zhunio, 2015).

En la investigación desarrollada por Guamingo (2019), se enfocó en dar valor agregado al lactosuero que resulta como desecho de la producción de queso de la Cooperativa de Producción Agropecuaria el “Salinerito”, con características proteicas que son aprovechadas para la transformación de subproductos con la combinación de otras materias primas con características nutricionales, así obteniendo bebidas con beneficios nutricionales para el consumo humano. La caracterización de proteínas es de relevante importancia debido que, al variar los procesos unitarios, los resultados obtenidos van a ser diferentes de acuerdo a las necesidades. Al iniciar un proceso de caracterización se puede conocer en detalle las características generales y particulares de las proteínas.

Las proteínas son macronutrientes esenciales que adquirimos a través de los alimentos y que cumplen funciones importantes para el buen funcionamiento del organismo, por lo tanto, las proteínas son indispensables para la formación o reparación de los músculos, huesos u otros tejidos, algunas proteínas funcionan como enzimas que facilitan las reacciones químicas del cuerpo, otras trabajan como transportadoras que llevan nutrientes como lípidos (lipoproteínas), vitaminas o minerales (Ortiz, 2019).

El desarrollo de nuestra investigación está basada en el estudio de productos desarrollados previamente (bebida láctea fermentada, bebida láctea a base de soya y bebida láctea a base de quinua) por lo que dar continuidad a la investigación estableció dar un mayor realce a estas bebidas elaboradas a partir del lacto suero dulce obtenido de la empresa PRODUCCOOP, así los productos analizados se permitirán fundamentar el

ser consumidas y comercializadas sin ningún tipo de dificultad o alteración al sistema digestivo, a través de esta investigación.

Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en el complejo Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y en la empresa PRODUCCOOP ubicada en la parroquia Salinas; la parte experimental se realizó en las instalaciones del laboratorio perteneciente al Departamento de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar.

Cuadro 1. Material experimental

Muestra	Cantidad en gramos
Bebida láctea a base de soya (<i>Gycine max</i>).	100
Bebida láctea a base de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>)	100
Bebida láctea fermentada (<i>Lactobacillus, Streptococcus</i>)	100

Obtención de aislados proteicos mediante el punto isoeléctrico.

Para la obtención de aislados proteicos realizamos por el método sin solubilidad para ajustar las muestras a un pH 4.0 con la ayuda de ácido clorhídrico donde se centrifugo a 4500 revoluciones por minuto con un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 5° C.

Liofilización de las muestras.

El acondicionamiento del sistema y el calentamiento de la bomba son condiciones estándar del equipo, el secado principal fue durante 12 horas a una presión de 0.3 milibares, en esta etapa de la sublimación empieza a liofilizar la muestra por lo que el secado final total es de 36 horas a presión de 0.3 milibares. El acondicionamiento y preparación de la muestra se lo realizo en un ultracongelador.

Procedimiento para la caracterización mediante electroforesis en gel de acrilamida (SDS-PAGE).

Se utilizo el método descrito por (Laemmli, 1970) donde utilizamos las muestras liofilizadas realizadas en la obtención de aislados proteicos se modificó en el porcentaje de concentración de los geles, al 12% para el gel separador y al 14% del gel concentrador, posteriormente se calentó las muestras, después de este proceso colocamos 10µl de muestra en cada pocillo y 10µl del estándar, se utilizó con parámetros de tiempo de 45 min a 220 voltios. Una vez transcurrido el tiempo

de espera separamos el gel de las placas de vidrio, teñimos con solución de coomasie R250 durante 4 horas con una velocidad de agitación de 400 rpm. Ya obtenido el gel teñido procedimos a retirar el exceso del colorante con agua destilada, luego realizamos el desteñido colocando en un recipiente el gel con solución de desteñido (ácido acético y metanol) por un tiempo de 2 horas en agitación.

Procedimiento para la evaluación de la digestibilidad gastrointestinal *in vitro*.

Dentro de la digestibilidad gastrointestinal *in vitro* utilizamos la metodología descrita por Vilcaindo *et al.* (2018) con modificaciones. La digestión gástrica realizamos con pepsina de origen animal más SDF (Simulador de fluido gástrico), la simulación realizamos a un pH 2.0, a temperatura de 37°C por un tiempo de 120 min en el termoagitador. Para la digestión duodenal utilizamos pancreatina más SFD (Simulador de fluido duodenal), se trabajó con un pH de 7.0 a una temperatura de 37°C durante 120 min utilizando un termo-agitador. Realizamos la electroforesis SDS – PAGE utilizando el equipo Mini – Protean (marca Bio-Rad) con 12% de gel separador y 14% de gel concentrador, los geles se tiñeron con Coomassie Brilliant Blue G-250.

Resultados y discusión

Como se evidencia en la Figura 1 en donde se muestra los datos obtenidos en las tres bebidas lácteas y al comparar con otras investigaciones, se identificó la presencia de α -lactoalbúmina con un peso molecular de 16 kDa, la β -lactoglobulina con un peso de 18 a 27 kDa, también tenemos la presencia de seroalbúminas con peso de 60 a 76 kDa, y la lactoferrina fue encontrada a un peso de 80 a 85 kDa.

En la bebida láctea a base de soya se obtuvo la 7S globulina o β -conglucina es una glicoproteína compuesta por un trímero de masa molecular 150-210 kDa con tres subunidades: α (57-76 kDa), α' (57-83 kDa) y β (42- 53 kDa). También la globulina 11S o glicina estructuralmente está formada por dos hexámeros unidos por puentes disulfuro. En cada hexámero, entre un 45 y 50% de las subunidades tienen naturaleza ácida (34-40 kDa) y entre el 50 y 55% naturaleza básica (18- 20 kDa).

Mediante la caracterización a través de electroforesis en gel de poliacrilamida logramos obtener resultados de proteína en la bebida láctea a base de quinua por lo que se podría decir la presencia de albuminas y globulinas, las globulinas tienen dos subunidades que consisten de un polipéptido ácido (AS) (32-36 kDa) y un polipéptido básico (AB) (20-22 kDa.). Las 2S albúminas han sido descritas como una

banda de bajo peso molecular < 14,4 kDa.

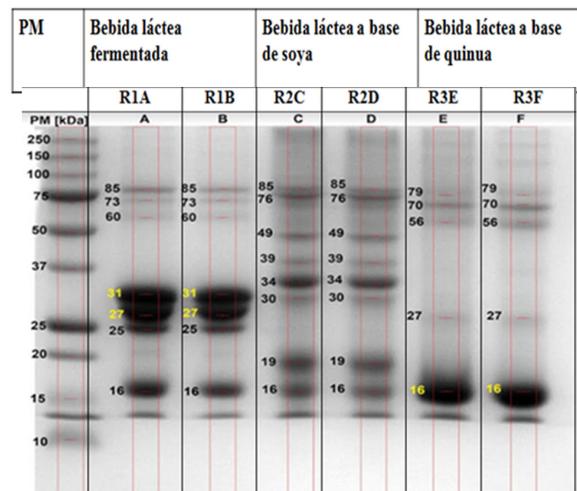


Figura 1 Caracterización electroforética SDS-PAGE de las Bebidas lácteas

De acuerdo a la Figura 2, y como resultado de la digestibilidad gastrointestinal realizada a un pH 4.0 la muestra de las bebidas lácteas (bebida láctea fermentada, bebida láctea a base de soya, bebida láctea a base de quinua) fueron totalmente digeridas, por lo que se evidenció que hubo una hidrólisis o una digestión completa desde la digestión gástrica evidenciando que en el gel ya no hay presencia de proteínas es decir que las proteínas se han roto.

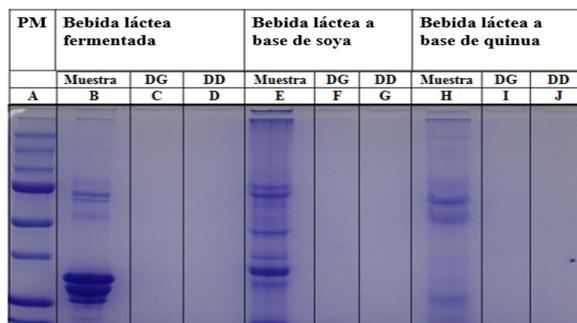


Figura 2. Digestibilidad Gastrointestinal *in vitro* de las bebidas lácteas

Conclusiones

Se caracterizaron las proteínas de las bebidas lácteas a base de suero mediante electroforesis (SDS-PAGE). Donde las principales proteínas encontradas para los tres casos corresponden a las α -lactoalbúmina con un peso molecular de 16 kDa, la β -lactoglobulina con un peso de 18 a 27 kDa, también tenemos la presencia de seroalbúminas con peso de 60 a 76 kDa, y la lactoferrina fue encontrada a un peso de 80 a 85 kDa.

Considerando que la bebida con mayor concentración de proteína es la bebida láctea de soya.

Existe evidencia que sustenta que algunos péptidos liberados de las proteínas de origen láctico, presentan bioactividad. Dichos péptidos se encuentran inactivos cuando están encriptados en las proteínas, pero al hidrolizarse por las enzimas digestivas o microbianas, pueden ejercer su función actuando sobre los sistemas gastrointestinal, nervioso, cardiovascular e inmune influyendo positivamente en la salud del consumidor.

La digestibilidad gastrointestinal *in vitro* de las proteínas caracterizadas comprobó que en todos los casos las proteínas contenidas en las bebidas analizadas son seguras tanto a nivel gástrico como a nivel duodenal. Lo que permitirá considerar que los productos desarrollados pueden ser alimentos con características funcionales.

En la bebida láctea a base de soya se deberá realizar una prueba de alérgenos, debido a que presenta una gran cantidad de proteínas.

Agradecimientos

A la Universidad Estatal de Bolívar, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, a la Carrera de Ingeniería Agroindustrial por permitir participar en el desarrollo del proyecto de investigación denominado “ESTUDIO DE MOLÉCULAS BIOACTIVAS DE MATRICES VEGETALES UTILIZADAS EN LA AGROINDUSTRIA”

Al equipo técnico del Laboratorio del Departamento de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar.

A la Cooperativa de Producción Agropecuaria Salinas “PRODUCCOOP” por permitirnos continuar con esta investigación y llevarla con éxito en sus instalaciones.

Literatura citada

Gallardo, G., & Zhunio, B. (2015). Análisis del potencial turístico rural, artesanal e industrial de Sainas de Tomebamba. *Kalpana*, 5-7.

Guamingo, A., & Medina, V. (2019). *Evaluación del lactosuero producido en la Asociación PRODUCCOOP de Salinas de Guaranda, para la elaboración de bebidas con características nutricionales*. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar.

Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of the heat bacteriophage T4. *Nature*, 680-686.

Montesdeoca, R. (2017). Procedimiento para la

producción de bebida láctea fermentada utilizando lactosuero. *SciELO*, 39-40.

Ortiz, A. (2019). Qué son las proteínas y para qué sirven. *Nutrición*, 1 - 10.

Vilcacundo, R., Barrio, D. A., Piñuel, L., & Boeri, P. (2018). Inhibition of Lipid Peroxidation of Kiwicha (*Amaranthus caudatus*) Hydrolyzed Protein Using Zebrafish Larvae and Embryos. *Journal plants*, 3-14.