

Caracterización de inmunoglobulinas G en calostro bajo diferentes tratamientos conservadores

Vázquez-Flores, S.^{1,2}, Tovar-García, A. B.¹

1 Departamento Regional de Bioingeniería y 2 Campo Agropecuario Experimental del Tecnológico de Monterrey- campus Querétaro svazquef@tec.mx

RESUMEN: El calostro bovino es un alimento indispensable para la sobrevivencia del bovino neonato. En el campo, se han empleado distintos productos conservadores para el almacenamiento del calostro, cuya efectividad puede impactar en su calidad inmunológica. Se estudió la efectividad de tres tratamientos para la conservación del pool de calostro del establo del Tecnológico de Monterrey (CAE-TEC): Producto comercial (4ml/L), benzoato de sodio (1 g/L), sorbato de potasio (1 g/L) y el testigo negativo (sin conservador añadido). Se realizó un ensayo de 72 horas de duración, en el cual se añadieron los tratamientos a volúmenes iguales del calostro analizándose inmunológicamente y microbiológicamente a las 0, 24, 48 y 72 horas. Para el análisis inmunológico se midieron grados Brix con refractómetro manual y digital, y cuantificación de IgG con inmunodifusión radial. Para el análisis microbiológico se realizó el pre-enriquecimiento en caldo LB y se sembraron las muestras de calostro en placas con medio Salmonella-Shigella y con medio agar ENDO-C. Los resultados indican que el mejor control de bacterias fue con el benzoato de sodio, mostrando más densidad del calostro en grados Brix en comparación con los otros tratamientos. Para la conservación de IgG mg/dl el sorbato de potasio fue mejor.

Palabras clave: Calostro, conservadores, inmunoglobulinas.

ABSTRACT: Bovine colostrum is an indispensable product for calf survival. Colostrum preservation has been used for storage, where commercial products have been used and can damage immunoglobulins. Three preservatives were tried for microbiological control, a commercial product (4 ml/L), sodium benzoate (1g/L), potassium sorbate (1 g/L) vs. control (raw colostrum). Follow-up of the colostrum was done for 72 hours, with same proportional volumes of colostrum: preservative studied at 0, 24, 48 and 72 hours. Immunological analysis was performed with Brix analysis and IgG radioimmunodiffusion test. Microbiological tests included Salmonella-Shigella and ENDO-C cultures. Results indicate that sodium benzoate was more effective in bacteria control and higher colostrum density, while potassium sorbate preserved IgG better than the other treatments.

Keywords: Colostrum, preservatives, immunoglobulins.

Área: Microbiología y biotecnología

INTRODUCCIÓN

El calostro bovino es un alimento que contiene las secreciones de la glándula mamaria acumuladas durante las últimas semanas de gestación, por lo que es rico en proteínas, inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM) y diferentes componentes del sistema inmune como linfocitos, factores de crecimiento, citoquinas, vitaminas y minerales. Es por ello que el calostro se considera un alimento de suma importancia para el animal recién nacido, pues su primera protección inmunológica depende totalmente de los anticuerpos recibidos a través del calostro los cuales le confieren inmunidad pasiva (Tizard, 2018). Así mismo es indispensable como estímulo inicial de su sistema inmune (Vázquez-Flores, S, *et al.*, 2017).

Métodos de conservación del calostro

Dada la importancia del calostro como alimento funcional, se han utilizado distintos métodos de conservación que permitan almacenar el calostro para su uso en el campo, incluyendo la congelación, pasteurización, liofilización y la adición de productos conservadores. De manera general, los alimentos se desnaturalizan por la producción de sustancias tóxicas por los microorganismos, por lo cual los conservadores se utilizan para evitar la proliferación de bacterias principalmente, durante el tiempo de vida del producto hasta su consumo. La esterilización mediante calor y la inactivación por congelación

generalmente se consideran indeseables pues perjudican la calidad de los productos (Regalado, 2000). Se ha reportado que el método de conservación puede disminuir en la calidad del calostro, al afectar la concentración de compuestos bioactivos, principalmente las inmunoglobulinas. En el caso de la congelación a -20°C se ha encontrado que disminuye la concentración de IgM y de IGF-1, mientras que la pasteurización a 63°C por 30 min y a 72°C por 15 s causa una disminución significativa en la concentración de IgG y aumento en la viscosidad, mientras que la liofilización no presenta un efecto significativo en los componentes bioactivos (Abd El-Fattah, Abd Rabo, El-Dieb, & Satar El-Kashef, 2014).

En el caso de los productos conservadores, algunos de los más estudiados para la conservación del calostro bovino incluyen el sorbato de potasio y el benzoato de sodio (Jenny, Costello, & Van Dijk, 1980; Jenny, Hodge, O'Dell, & Ellers, 1984; Stewart *et al.*, 2005). De acuerdo con la FDA, tanto el benzoato de sodio como el sorbato de potasio se consideran GRAS (“Generalmente Reconocido como Seguro” por sus siglas en inglés) mientras se añadan a los alimentos en una concentración máxima de 0.1% (p/v) (U.S. Food and Drug Administration, 2018). Adicionalmente se han utilizado productos conservadores comerciales que contienen compuestos con propiedades empleadas para la preservación de alimentos. El producto comercial estudiado se compone de los siguientes compuestos: **Dioxano** que generalmente se utiliza como conservador en productos cosméticos y shampoos, **ácido etilen diamino tetrasódico** que se suele usar como secuestrante, agente quelante y como lubricante de superficies en contacto con productos alimenticios, **óxido de cobre** que se utiliza como conservador por sus propiedades como fungicida, insecticida y bactericida y **lauril éter sulfato sódico** el cual es una sal sódica de lauril sulfato soluble en agua que se utiliza como aditivo en alimentos, emulsificante y surfactante (Ash & Ash, 2004).

El presente estudio evaluó y comparó la inhibición bacteriológica de productos conservadores utilizados en campo para determinar su impacto en la calidad inmunológica (concentración de IgG) del calostro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Origen del calostro

El calostro se colectó de dos becerras primíparas, conservándose en congelación hasta el momento de llegar al laboratorio de microbiología molecular.

Tratamientos con conservadores

El pool de calostro a analizar se divide en 12 partes iguales de 15 ml para realizar el ensayo portriplicado. A cada parte se le añadirá el producto conservador como sigue y se dejará actuar por 0, 24, 48 y 72 horas).

Testigo negativo: Sin producto conservador añadido.

Conservador (producto comercial que contiene dioxano, ácido etilen diamino tetrasódico, óxido de cobre, lauril éter sulfato sódico): Se añade al calostro en una concentración de 4 ml/L.

Benzoato de sodio: Se añade al calostro en una concentración de 0.5-1 g/L (para este ensayo se usará 1g/L).

Sorbato de potasio: Se añade al calostro en una concentración de 0.5-1 g/L (para este ensayo se usará 1g/L).

Imitación del uso de conservadores en campo

Se dejaron las muestras de calostro a temperatura ambiente durante la duración de todo el ensayo. Se dividieron 12 muestras, homogeneizadas, se diluyeron a 1:100. Para el estudio microbiológico se pre-enriquecieron en caldo LB, después de incubarse a 35°C por 24 horas, se inocularon en placas de Salmonella-Shigella y ENDO. Se incubaron a 37°C por 24 y 48 horas para determinar crecimiento y caracterización de los aislados.

Determinación de grados Brix e IgG

Se homogenizaron las muestras y se realizó a lectura de grados Brix en un refractómetro digital y refractómetro manual a las 0, 24, 48 y 72. Se realizó la caracterización de la cantidad de IgG por medio del sistema de difusión radial con un kit comercial. Los resultados se calibraron con los estándares de la prueba.

Análisis estadístico

Los resultados de inmunoglobulinas se analizaron con el sistema estadístico JMP 10.1 para determinar diferencias paramétricas y no paramétricas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación con los análisis microbiológicos el grupo que mostró mayor control de crecimiento bacteriano en el medio Salmonella-Shiguelia y ENDO, fue el de sorbato de potasio.

El análisis inmunológico demostró que el calostro en general presentaba un bajo nivel de inmunoglobulinas IgG mg/dl, dado que el nivel ideal es de 1000 g/dl para una protección adecuada del becerro neonato (Smith y Foster, 2007). El promedio obtenido de IgG en todos los grupos de estudio fue de 987.844 IgG g/dl (Figura 1).

El calostro al ser sometido a los diferentes conservadores demostró que había variación en las IgG, es estudio se hizo por triplicado para poder incrementar la certeza del resultado. Se determinaron los promedios y desviaciones estándar de los grados Brix e IgG mg/dl (Tabla I).

En el caso de grados Brix, comparando con la media mínima del calostro para ganado Holstein de 22 grados Brix, se encontraba en un nivel muy inferior en promedio. Cuando se sometió a benzoato de sodio, la densidad del calostro aumentó, no siendo así con los demás tratamientos y testigo. En cuanto al nivel de inmunoglobulinas, el potasio de sodio demostró un mayor nivel de conservación de inmuglobulinas, sin embargo, los tratamientos y testigo mostraron una gran disparidad en los resultados. Al hacer los análisis estadísticos, no se demostraron diferencias significativas, pese a que uno de los valores era cercano a 1299.0 ± 33.9 . Se hizo la prueba de Poisson, la que indicó que realmente si bien el tiempo es fijo, es alta la probabilidad que la diferencia de inmunoglobulinas responde a un efecto aleatorio.

<i>Tratamiento</i>	<i>Horas</i>	<i>Promedio o grados Brix</i>	<i>IgG mg/dl Promedio ± DS</i>
SP	0	17.2	1079.5 ± 9.2
SP	24	17.3	1041.5 ± 0.1
SP	48	16.9	994.0 ± 2.6
SP	72	17.1	1299.0 ± 33.9
Conservador	0	18.7	854.5 ± 119.5
Conservador	24	18.9	925.0 ± 38.2
Conservador	48	18.8	872.5 ± 4.9
Conservador	72	18.8	1054.5 ± 30.4

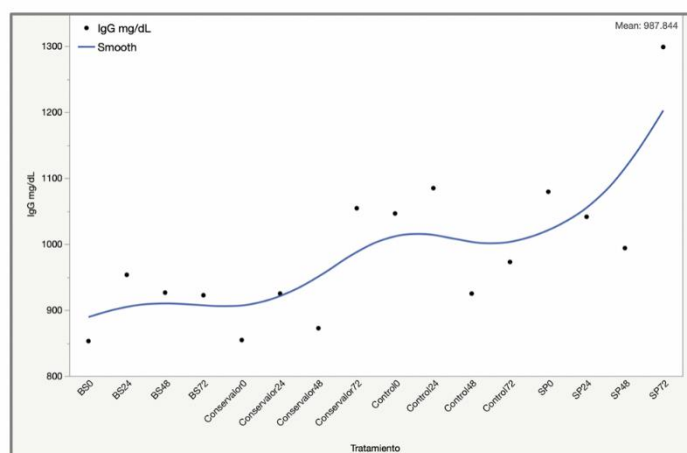


Figura 1. Distribución de IgG g/dl en calostro sometido a tres conservadores.

BS	0	20.6	853.0 ± 48.1
BS	24	20.5	953.5 ± 36.1
BS	48	20.0	926.5 ± 4.98
BS	72	20.4	922.5 ± 50.2
Testigo	0	18.5	1046.5 ± 45.9
Testigo	24	18.4	1085.0 ± 49.5
Testigo	48	18.1	925.0 ± 26.9
Testigo	72	18.3	973.0 ± 51.6

BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Fattah, A. M., Abd Rabo, F. H. R., El-Dieb, S. M., & Satar El-Kashef, H. A. (2014). Preservation methods of buffalo and bovine colostrum as a source of bioactive components. *International Dairy Journal*, 39(1), 24-27.
- Ash, M., & Ash, I. (2004). *Handbook of Preservatives*: Synapse Information Resources.
- Jenny, B. F., Costello, B. A., & Van Dijk, H. J. (1980). Performance of Calves Fed Colostrum Treated with Sodium Benzoate or Benzoic Acid1. *Journal of Dairy Science*, 63(6), 959-963.
- Jenny, B. F., Hodge, S. E., O'Dell, G. D., & Eilers, J. E. (1984). Influence of Colostrum Preservation and Sodium Bicarbonate on Performance of Dairy Calves1. *Journal of Dairy Science*, 67(2), 313-318.
- Regalado, V. M. R. (2000). *Química General*: Grupo Editorial Patria.
- Smith, G. W., & Foster, D. M. (2007). Absorption of protein and immunoglobulin G in calves fed a colostrum replacer. *Journal of dairy science*, 90(6), 2905-2908.
- Stewart, S., Godden, S., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., Ferrouillet, C. (2005). Preventing Bacterial Contamination and Proliferation During the Harvest, Storage, and Feeding of Fresh Bovine Colostrum. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2571-2578. Retrieved from
- Tizard, I. R. (2018). *Inmunología veterinaria*: Elsevier Health Sciences.
- Vázquez-Flores, S. A. J. Geiger, A. E. Olamendi-Uresti, D. M. Aguilar-López, L. E. Díaz, and C. L. Rodríguez (2018). Supplementing pasteurized colostrum from primiparous cows with colostrum replacer improves colostrum quality and serum IgG levels in Holstein neonate calves. *J. Dairy. Sci* (101) Suppl. 2. pp 262.
- U.S. Food and Drug Administration. (2018). Food Additive Status List. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm091048.htm#ftnS>