

Determinación de concentración peptídica total y actividad antioxidante en queso panela a base de leche de vaca y cabra

B.P. López-Villafaña¹, S. Rojas-González², G. Rodríguez-Hernández³

1 Licenciatura en ingeniería en alimentos, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. **2** Departamento de medicina veterinaria, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. **3** Departamento de alimentos, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. bp.lopezvillafana@ugto.mx

RESUMEN: En el presente trabajo se comparó la concentración peptídica total y la actividad antioxidante en filtrados obtenidos de quesos panela elaborados a base de leche de vaca y leche de cabra, la determinación de la concentración peptídica contenida en cada uno de los filtrados de queso se midió por triplicado usando el método de Bradford, (1976), el cual se basa en la reacción de las proteínas con el colorante azul brillante de (Comassie G-250 que absorbe a los 595 nm, obteniendo valores de 0.07 ± 0.03 para quesos a base de leche de vaca, así como 0.24 ± 0.03 para quesos a base de leche de cabra, presentando así diferencias significativas ($p < 0.0001$) en el tipo de leche. La actividad antioxidante fue evaluada en los filtrados de queso, por medio de la técnica espectrofotométrica descrita por (Pritchard *et al.*, 2010), la cual determina actividades de captura del radical DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso a 517 nm, los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición iguales a 24.01 ± 10.28 para quesos a base de leche de vaca y 79.71 ± 3.41 para quesos a base de leche de cabra, presentando diferencias significativas ($p < 0.0001$) en el tipo de leche.

Palabras clave: Actividad antioxidante, concentración peptídica, queso panela.

ABSTRACT: In the present work, the total peptide concentration and the antioxidant activity were compared in the panela cheese filters elaborated with a base of cow's milk and goat's milk, the concentration of peptide contained in each of the cheese filtrates was measured by The method of Bradford (1976) was used, which is based on the reaction of the proteins with the bright blue dye of the Comassie G-250 that absorbs at 595 nm, obtaining values of 0.07 ± 0.03 for the milk base of cow, as well as 0.24 ± 0.03 for a goat milk base, thus presenting significant differences ($p < 0.0001$) in the type of milk. The antioxidant activity was classified in the cheese filters, in the middle of the spectrophotometric technique described by (Pritchard *et al.*, 2010), which determines the capture activities of the DPPH radical (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) in the presence of an antioxidant substance, while the potential for inactivation of said radical in the aqueous medium at 517 nm, the results are expressed as percent inhibition is equal to 24.01 ± 10.28 for the cow's milk base and 79.71 ± 3.41 for the goat's milk base, presenting significant differences ($p < 0.0001$) in the milk type.

Key words: Antioxidant activity, peptide concentration, panela cheese.

Área: Lácteos

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Respecto a su composición, las diferentes especies de mamíferos producen leche que, en términos generales, tienen composición semejante, pero pueden presentar diferencias importantes en su composición porcentual y tener como consecuencia, propiedades muy diferentes entre ellas (mayor o menor digestibilidad, mayores porcentajes de rendimiento en la elaboración de productos lácteos, etc.) La cadena de lácteos en el mundo ha tenido como fuente primaria principal la leche de algunos mamíferos pertenecientes a las especies bovina, caprina u ovina, etc. (Ocampo *et al.*, 2016). Sin embargo, a escala mundial, la leche de vaca es la que posee mayores niveles de producción y consumo, y es así como según un estimado realizado por la FAO (2013), de los 769 millones de toneladas de leche producidas en el mundo para el año 2013, el 83% corresponde a leche vacuna, seguida de la leche de búfala (12,9%), de cabra (2,3%) y de oveja (1,3%). Aunque la producción la leche de ganado

vacuno supera ampliamente a las demás, los productos lácteos del ganado caprino pueden representar una alternativa rentable a los productores debido a sus características composicionales y nutricionales específicas, que las hacen aptas para la manufacturación de productos elaborados de muy alta calidad como los quesos y yogures gourmet (Ballard *et al.*, 2015).

Tabla I. Composición química de la leche de vaca y cabra expresada en 100 g de leche.

Especie	%lactosa	%grasa	%proteína	%ST	%SNG	MUN(mg/dL)
Vaca	4,50	3,60	3,02	11,93	8,30	18,10
Cabra	4,20	4,44	3,01	12,59	7,99	28,35

ST: Sólidos Totales; SNG:Sólidos No Grasos; MUN:Nitrógeno Ureico en leche (Ocampo, *et al.*, 2016)

El queso es el producto obtenido por coagulación de la leche cruda o pasteurizada (entera, semidescremada y descremada), constituido esencialmente por caseína de la leche (Eck, 2000). Mediante este proceso se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche, incluidas las grasas, proteínas y otros constituyentes menores, generando un sabor especial y una consistencia sólida o semisólida en el producto obtenido (Vélez-Ruiz, 2009). De acuerdo con el *Codex Alimentarius* de la FAO/OMS (2008), el queso es el producto sólido o semisólido, madurado o fresco, en el que el valor de la relación suero proteínas/caseína no supera al de la leche, y que es obtenido por coagulación (total o parcial) de la leche por medio de la acción del cuajo o de otros agentes coagulantes adecuados, con un escurrido parcial del lacto suero.

Planteamiento del problema

En la actualidad, los productos lácteos artesanales, principalmente los quesos, han llamado el interés científico como fuente y/o medio de transporte de bacterias productoras de péptidos bioactivos, en particular de aquellos potencialmente antioxidantes (Choi *et al.*, 2015). Dichos péptidos podrían jugar un papel protector a través de la reducción de la formación de radicales libres, por inhibición directa de radicales libres a través de la transferencia de hidrógenos o electrones o por inhibición de generadores de radicales libres, supresión o desactivación de radicales libres (por secuestro de metales), o participación en procesos de reparación de daños oxidativos (Madurga, 2014).

Objetivo

El objetivo del presente trabajo es comparar la concentración peptídica total y la actividad antioxidante, dadas en filtrados obtenidos de quesos panela elaborados a base de leche de cabra y de vaca.

Dados a los resultados obtenidos tanto en la concentración peptídica, así como en la actividad antioxidante podemos observar diferencias significativas entre el tipo de leche, ya que hubo variaciones muy notorias en los resultados reportados, dado a estos valores podemos concluir que el queso panela a base de leche de cabra presentó mayor concentración peptídica y actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración del queso panela

Se prepararon los quesos usando tres lotes, todos ellos basados en la siguiente metodología: Primeramente se llevará a cabo una pasteurización de la leche a 65°C por 30 minutos, se prosiguió a un enfriamiento a 37°C para la adición de CaCl₂(0.2 g/L), enseguida se le adicionará renina fuerza 1:15 000 L, después de estas adiciones se dejó en reposo por 30 min a 37°C, una vez transcurrido este tiempo se realizó un corte de la cuajada (2cm³), para después dejar en reposo de 5 min, después se procedió a un agitado y cocimiento de la cuajada a 37°C (10 min), una vez transcurrido un reposo de 5 min se desueró para pasar a un salado(10g/L-de leche inicial) se prosiguió a un agitado-homogenizado,

para pasar a un moldeado lo cual se logró con el apoyo de canastos, se realizó un volteo 2 veces cada 30 min, antes de empaquetar fue necesario someterlo a un reposo por 12 horas a 5°C .

Monitoreo de vida en anaquel

Se evaluaron los quesos almacenados a 4°C, tomándose muestra al día 1, para lo cual se tomó muestra para preparar filtrados, las cuales se trataron según lo descrito por Donkor *et al.* (2007), por tanto, se tomaron 2.5 mL de cada una y se mezclaron con 5 mL de ácido tricloroacético (ATC) al 0.75 %, pasándose la mezcla a través de papel filtro (Whatman no. 1 de 150 mm de diámetro), obteniéndose los filtrados de los quesos (FQ), mismos que fueron congelados (-20 °C) hasta su análisis.

Concentración peptídica total

Se determinó la concentración de los péptidos contenidos en cada uno de los FQ por triplicado usando el método de Bradford (1976). Este se basa en la reacción de las proteínas con el colorante azul brillante de Comassie G-250, para formar un compuesto colorido que absorbe fuertemente a los 595 nm. Para realizar la curva de calibración se prepararon 5 estándares de Albumina de Suero Bovino (BSA) a las concentraciones de 0.01; 0.02; 0.04; 0.05 y 0.1 mg/ml.

Actividad antioxidante

Esta actividad se evaluó en los FQ, por medio de la técnica espectrofotométrica descrita por (Pritchard *et al.*, 2010), la cual determina actividades de captura del radical DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso. Para lo cual, se probó una concentración inicial del radical libre a 0.1 mM DPPH en etanol, quedando así una concentración final de reactivo de 0.04 mM (750µL de los FQ + 800µL del reactivo + 450µL de agua grado HPLC). Los cuales se centrifugaron a 9470 g por dos minutos y se usaron como control agua grado HPLC disuelta en DPPH. Posteriormente, se midió la absorbancia en 517 nm. Determinándose por diferencia con el control los porcentajes de actividad antioxidante. Todas las muestras y controles se determinaron por triplicado. El porcentaje de inhibición se calculó con la Ecuación 1:

Ecuación 1: % de inhibición = $(A_{\text{control}} - A_{\text{extracto}} / A_{\text{control}}) \times 100$

Análisis estadístico

Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (2006), usándose el procedimiento GLM (Modelo lineal general), y para las diferencias de medias la prueba de TUKEY. Se usaron como variables clasificatorias los lotes, las repeticiones y los tipos de leche y como variables de respuesta la concentración peptídica y la actividad antioxidante, según cada estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de concentración peptídica en queso a base de leche de vaca y cabra

Para calcular la concentración peptídica total de los FQ, se realizó una curva de calibración , con los estándares de BSA, se graficó la curva obteniendo la siguiente ecuación ($y=3.7947x+0.334$ $R^2=0.9745$). Los resultados obtenidos del análisis de concentración peptídica son mostrados en la tabla II, e indican que existen diferencias significativas ($p<0.0001$) entre los tipos de queso a base de leche de vaca o cabra. El queso que presentó mayor concentración peptídica fue el queso a base de leche de cabra, el cual presentó un valor de 0.245 ± 0.027 mg/ml , mientras el queso a base de leche de vaca presento un valor de 0.070 ± 0.033 mg/ml. Comparando los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de Galván Martínez, et al. (2018) se presentaron concentraciones peptídicas bajas en el queso a base de leche de vaca, comparando sus valores que oscilan de 0.13 a 0.26 mg/ml. En cambio, comparando los resultados obtenidos en concentración peptídica, con otro trabajo Rodríguez-Hernández y Chávez-Martínez (2018), se presentaron concentraciones peptídicas altas ya que se presentan valores de 0.000005 a 0.000006 mg/ml en yogur a base de leche de cabra.

Tabla II. Concentración peptídica en filtrados de queso panela a base de leche de vaca y cabra correspondiente al día 1 de elaboración.

Tipo de queso	Concentración peptídica (mg/ml)
Queso panela a base de leche de vaca	0.070 ± 0.033 ^a
Queso panela a base de leche de cabra	0.245 ± 0.027 ^b

^{ab}Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas en las muestras (P<0.0001).

Determinación de actividad antioxidante en queso a base de leche de vaca y cabra

El análisis de actividad antioxidante se realizó a una longitud de onda equivalente a 517 nm, las mediciones se realizaron por triplicado, la cual nos dará como resultado el % de inhibición de la lectura, los mismos que son reportados en la tabla III, los resultados obtenidos nos indican que existe una diferencia significativa (p<0.0001) entre los tipos de queso, a base de leche de vaca y cabra. Como se puede observar el queso que presentó mayor porcentaje de inhibición fue el queso a base de leche de cabra con un valor igual a 79.71±3.41, mientras que el queso a base de leche de vaca presento un valor igual a 24.01±10.28. Si se compara los resultados obtenidos en este trabajo con los de Alyaqoubi, et al. (2014) donde presenta porcentajes de inhibición en leche de cabra en un rango de 55.29 a 64.77, por lo cual se observa que se obtuvieron valores más elevados en este trabajo. Por otro lado, el trabajo de (Nguyen, *et al.*, 2016) muestran valores arriba de los presentes en este trabajo, estos realizados en bebidas fermentadas(yogur)a base de leche de vaca con un rango de 59.47 a 77.87% de inhibición.

Tabla III. Actividad antioxidante en filtrados de queso panela a base de leche de vaca y cabra correspondiente al día 1 de elaboración.

Tipo de queso	Actividad antioxidante (% de inhibición)
Queso panela a base de leche de vaca	24.016 ± 10.281 ^a
Queso panela a base de leche de cabra	79.710 ± 3.416 ^b

^{ab}Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas en las muestras (P<0.0001).

BIBLIOGRAFÍA

- Alyaqoubi S., Abdullah A., and Radhi Addai Z., 2014. Antioxidant Activity of Goat's Milk from Three Different locations in Malaysia, AIP Conference Proceedings, Vol 1614, pp 198-201
- Ballard, O., Morrow, A. L., 2015. Human Milk Composition. *Pediatr Clin N Am.* 60:49-74.
- Choi J., Sabikhi L., Hassan A. Y Anand S. 2015. Bioactive peptides in dairy products. *International Journal of Dairy Technology.* 65 (1): 1-12
- Eck, A., 2000. What is a cheese? En: A. Eck y J.C. Gilis (Eds). *Cheesemaking: From Science to Quality Assurance.* Lavoisier Publishing. pp. 661-662.
- FAO/OMS. 2008. Leche y productos lácteos. 2da edición. Norma general del Codex para el queso. Codex Stan 283-1978. Revisión 1999, Enmienda 2006.
- Galván Martínez D.M., Gómez Salazar J. A., Mireles Arriaga A. I., Rodríguez Hernández G., 2019. Actividad proteolítica en filtrados obtenidos de queso fresco comercial. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos Vol.4*
- Madurga Cerezo R., 2014. Péptidos bioactivos en la leche de consumo, Universidad complutense de Madrid, España.

- Nguyen L., Hwang E.S., 2016. Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Yogurt Supplemented with Aronia (*Aronia melanocarpa*) Juice. US National Library of Medicine National Institutes of Health, pp 330-337
- Ocampo G. R., Gómez A. C., Restrepo V. D., Cardona C. H., 2016. Comparative study of compositional and nutritional parameters in cow, goat and buffalo milk, Antioquia, Colombia.
- Rodríguez Hernández, G. Chávez Martínez, A., 2018. Actividad proteolítica y concentración peptídica en yogur de leche de cabra adicionado con probióticos. *Interciencia* Vol 43, pp 50-54
- SAS, Statistical Analysis System. 2006. Version 9.1.3 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, N.C
- Vélez Ruiz, J.F. 2009. Rheology and Texture of Cheese. En: Sosa-Morales, M.E. y Vélez-Ruiz, J.F. (Eds). *Food Processing and Engineering Topics*. Ed. Nova Science Publishers. Nueva York. EE.UU. pp 87-122.