

FRACCIONAMIENTO ELECTROFORÉTICO DE LAS PROTEÍNAS DE LECHE DE CABRA DE RAZA MURCIANO-GRANADINA

Electrophoretic fractions of proteins of milk from the murciano-granadina goat during lactation

Quiles, A. *; Hevia, M. *; Fuentes, F. *; Barcina, Y. **; Ramírez, A. *

* Departamento de Producción Animal. Universidad de Murcia. Apartado 4021. Murcia.

** Universidad Pública de Navarra. Pamplona 31006

Recibido: 9 Octubre 1992
Aceptado: 13 Febrero 1993

RESUMEN

Se ha realizado el análisis electroforético en gel de poliacrilamida-SDS de la leche de 108 cabras de raza Murciano-Granadina, con el objeto de determinar la evolución de los porcentajes relativos del fraccionamiento caseínico y sérico de las proteínas lácteas en los periodos de calostro, amamantamiento, destete y ordeño de la curva de lactación.

En los primeros cuatro días post-parto los valores relativos del fraccionamiento protéico sufren la variación más importante de toda la lactación. Esta evolución resulta especialmente significativa ($p \leq 0,001$) para las proteínas del lactosuero.

Durante el periodo de amamantamiento (15 a 70 días post-parto) se registraron los valores medios de 21,74%, 71,06% y 7,10% para la α , β y K-caseína, respectivamente; y de 63,52%, 12,94% y 23,50% para la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina y otras proteínas del lactosuero, respectivamente.

El destete no parece alterar la composición relativa del fraccionamiento proteico en los cuatro días posteriores al mismo.

En el periodo de ordeño se detectan variaciones porcentuales más importantes que las registradas para los periodos de amamantamiento y destete. Los valores relativos medios desde el destete (70 días post-parto) hasta el secado (210 días post-parto) fueron de 26,43%, 65,50% y 8,03% para la α , β y K-caseína, respectivamente, y de 66,53%, 18,14% y 15,34% para la β -lactoglobulina, α -lactoalbumina y otras proteínas del lactosuero, respectivamente.

Palabras clave: Leche de cabra, proteínas, electroforesis.

SUMMARY

Sodium dodecylsulfate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis of the milk of 108 goats of the Murciano-Granadina breeds was made for the purpose of determining the relative percentages of the casein and whey protein fractions in the colostrum, suckling, weaning and milking periods of the lactation curve.

In the first four days after parturition, the relative values of the protein fractioning undergo the most important change in the whole of lactation period. This is especially significant ($p \leq 0,001$) in the whey proteins.

During the suckling period (15 to 70 days after parturition) the overall relative means of 21,74%, 71,06% and 7,10% for α , β and K- casein respectively, were recorded; and overall relative means of 63,52%, 12,94% and 23,50% for β -lactoglobulin, α -lactoalbumin and other whey proteins respectively.

Weaning does not appear to change the relative or percentage composition of the protein fractions during the four days following.

More important percentage variations were detected in the milking period than those recorded in the suckling and weaning periods. The overall relative means from weaning (70 days after parturition) until milk loss (210 days after parturition) were 26,43%, 65,50% and 8,03% for α , β and K-casein respectively and 66,53%, 18,14% and 15,34% for β -lactoglobulin α -lactoalbumin and other whey proteins respectively.

Keywords: Goat's milk, protein, electrophoresis.

INTRODUCCIÓN

Diversos autores han aportado datos sobre el fraccionamiento proteico de la leche de cabra. Estos estudios hacen referencia a aspectos concretos sobre la composición cuanti y cualitativa de las proteínas, sobre los polimorfismos genéticos de tales proteínas o bien sobre sus características y propiedades fisico-químicas (ALBONICO *et al.* 1966; ZITTLE y CUSTER, 1966; STUPNITSKII e IL'CHENCO, 1967; RUSSO *et al.* 1977; BOULANGER *et al.* 1984; ADDEO *et al.* 1988; AMBROSOLI *et al.* 1988).

Así mismo, es bien conocida la importancia que el estado de lactación tiene sobre la composición química, y, concretamente sobre el contenido proteico de la leche de cabra (DEVENDRA, 1972; Mba *et al.* 1975; AKINSOYINU y AKINYELE, 1979; FAULKNER *et al.* 1982).

El presente trabajo pretende aunar ambos conceptos, mediante el estudio de la evolución del fraccionamiento proteico de la leche de cabra en las diferentes fases de la curva de lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en 108 cabras de raza Murciano-Granadina sometidas a idénticas condiciones de alimentación y manejo. De cada animal se extrajo, mediante ordeño manual una muestra diaria de 50 ml, desechando los primeros chorros de la secreción mamaria, según el siguiente calendario: Periodo de calostro: 1, 2, 3 y 4 días post-parto. Periodo de amamantamiento: 15, 30 y 68 días post-parto. Periodo de destete:

68, 69, 70, 71, 72 y 74 días post-parto. Periodo de ordeño: 85, 100, 130, 160, 190 y 210 días post-parto.

El momento de la recogida de muestras coincidió siempre con la hora del ordeño. Los animales fueron ordeñados una vez al día, a las 8 de la mañana.

Para el fraccionamiento de las proteínas lácteas se efectuaron dos migraciones electroforéticas: una para las caseínas y otras para las proteínas del lactosuero. Las caseínas fueron separadas de las proteínas séricas por precipitación isoeléctrica a pH 4,6 y disueltas en una solución de urea 6M (a la que se le añadieron 0,2 ml de 2-mercaptoetanol/ml de disolución) según metodología de NG-KWAI-HANG y KROWKER (1984).

En términos generales, se ha seguido el método electroforético vertical sobre gel de poli-acrilamida-SDS descrito por WEBER y OSBORN (1969). Esta técnica utiliza un sistema de tampón fosfato continuo a pH 7.

Los geles fueron preparados con las siguientes soluciones: 13,5 ml de la solución A (22,2 g de acrilamida y 0,6 g de bis-acrilamida, disueltos en 100 ml de agua bidestilada); 15 ml de la solución B (7,32 g de fosfato sódico monohidratado, 51,38 g de fosfato disódico dodecahidratado y 2 g de SDS, disueltos en 1000 ml de agua bidestilada y ajustando a pH 7); 1,5 ml de una solución de persulfato amónico al 1% (p/v) y 0,045 ml de TEMED (N-tetrametil etilen diamino).

El tampón de electroforesis estaba compuesto por 9,73 g de fosfato sódico monohidratado, 51,38 g de fosfato disódico dodecahidratado y 0,1 % (p/v) de SDS, disueltos en 5000 ml de agua bidestilada y ajustado a pH 7.

La electroforesis se realizó en tubos (7.5 cm x 0.8 cm) aplicándose 7 mA/gel. EL tiempo de electroforesis fue aproximadamente de 5 horas.

Para la tinción se utilizó el azul de Coomassie R-250, siguiendo el procedimiento recomendado por LKB (Sweeden). Los geles fueron leídos con densitómetro PROFIL ECRAN FLUO integrando automáticamente el área de cada una de las bandas proteicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 presenta los porcentajes medios de cada una de las fracciones proteicas en los cuatro primeros días post-parto. Estos valores experimentan una evolución de intensidad variable según la fracción considerada. En efecto, las proteínas del lactosuero presentan una evolución mucho más acusada que las caseínas del 1º al 4º día post-parto. Esta evolución relativa es más marcada en la β -lactoglobulina y, particularmente en las bandas correspondientes a las otras proteínas séricas, en donde se engloba como proteínas principales las inmunoglobulinas, responsables de la inmunidad humoral del recién nacido (BUTLER, 1974).

En este sentido, nuestros resultados corroboran la importancia de dicha fracción en las primeras 24 horas post-parto. (HALLIDAY, 1978; MARTINET y MOUDEBINE, 1982; RIBADE-AU-DUMAS, 1983)

Durante el periodo de amamantamiento (Cuadro 2), los porcentajes de las diferentes proteínas analizadas presentan variaciones estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), aunque no muy acusadas (entorno a 1-3 unidades porcentuales). En términos generales, se produce un incremento de la α -lactoalbúmina, α -caseína y K-caseína y una disminución de las otras proteínas del lactosuero y de la β -caseína. La β -lactoglobulina permanece inalterada. Los valores medios de las diferentes caseínas son comparables a los encontrados por SINGH y SINGH (1980) en las razas caprinas Jamnapari, Beetal, Barbari y Black-Bengal al principio de la lactación. Por otra parte, el porcentaje de "otras proteínas del lactosuero" (23,50%) es coherente con los contenidos en inmunoglobulinas de la leche de cabra encontrados por diversos autores, que oscilan entre el 15,1% y

el 18,3% de las proteínas séricas (HILPERT y ENKELMANN, 1963; STUPNITSKII e IL'CHENCO, 1967).

El tránsito de la lactancia natural al ordeño de los animales apenas influye en las proporciones relativas de las diferentes fracciones proteicas (Cuadro 3).

El Cuadro 4 muestra la evolución del fraccionamiento proteico a lo largo del periodo de ordeño. En esta etapa los porcentajes de cada proteína sufren oscilaciones más acusadas que las ya reseñadas para las fases de amamantamiento y destete. En este sentido, en las fracciones séricas se registra un incremento de la β -lactoglobulina (64,66% a 68,37%) y de la α -lactoalbúmina (15,12% a 19,85%) y una disminución de las otras proteínas del lactosuero (20,21% a 12,04%). En la fracción caseínica aumenta la α -caseína (22,97% a 29,97%) y decrece la β -caseína (69,09% a 61,94%), mientras que la K-caseína se mantiene prácticamente constante a lo largo del periodo de ordeño (7,91% a 8,07%).

Respecto al fraccionamiento de las caseínas nuestros resultados difieren de los reseñados por STUPNITSKII e IL'CHENCO (1967) en electroforesis en papel. Estos autores encuentran valores de 57,0% para la α -caseína y del 39,4% para la β -caseína de la leche de cabra. Sin embargo, PORTMANN y PIERRE (1974) obtienen mediante electroforesis en gel de poliacrilamida valores similares a los nuestros: 21,6% para la α -caseína y 64,9% para la β -caseína de la leche de cabra. Así mismo. SINGH y SINGH (1980) señalan en cuatro razas caprinas una evolución de las caseínas, entre el inicio y el final de la lactación, muy parecida a la encontrada por nosotros. La alta proporción de la β -caseína en comparación con las otras caseínas es también señalada por MAJUMDAR y GANGUHI (1970).

Por otra parte, el fraccionamiento caseínico de la leche de cabra presenta diferencias en comparación con la leche de vaca. NG-KWAI-HANG y KROEKER (1984) en la especie bovina detectan valores para la α , β y K-caseína de 50,0%, 35,1% y 13,9% respectivamente. Porcentajes similares son señalados por MERCIER *et al.* (1971) y BRIGNON *et al.* (1977) en esta misma especie.

		DÍAS POST-PARTO			
		1	2	3	4
α -lactoalbúmina	X	14,13 a	14,78 a	12,39 b	11,19 c
	D.E	3,65	4,06	4,01	2,88
β -lactoglobulina	X	33,02 a	54,19 b	60,76 c	63,68 d
	D.E	7,98	6,95	5,74	6,73
"Otras proteínas" séricas	X	52,83 a	30,24 b	26,83 c	24,31 d
	D.E	9,13	9,76	6,02	7,76
α -caseína	X	23,03 a	22,38 ab	21,43 bc	20,68 c
	D.E	6,42	6,76	5,25	3,88
β -caseína	X	70,69 a	71,44 ab	72,24 b	72,39 b
	D.E	5,72	6,66	4,74	3,82
K-caseína	X	6,24 a	6,15 b	6,29 b	6,91 b
	D.E	2,44	2,35	2,03	1,85
X: Medias (expresadas en tanto por ciento).					
D.E: Desviación estándar.					
Letras diferentes: $p \leq 0,05$					

CUADRO 1. Valores medios (expresados en tanto por ciento) y desviación estándar de la evolución porcentual de las diferentes proteínas en el período de calostro.

		DÍAS POST-PARTO		
		15	30	68
α -lactoalbúmina	X	12,45 a	11,63 b	14,75c
	D.E	2,46	2,12	2,91
β -lactoglobulina	X	64,26 a	63,00 b	63,32b
	D.E	6,09	6,24	6,80
"Otras proteínas" séricas	X	23,27 a	25,34 b	21,91 c
	D.E	5,81	6,39	4,71
α -caseína	X	20,65 a	21,64 b	22,93 c
	D.E	3,56	2,87	3,27
β -caseína	X	72,48 a	71,18 b	69,54 c
	D.E	3,27	3,37	3,82
K-caseína	X	6,85 a	7,16 ab	7,50 b
	D.E	1,43	1,54	2,02
X: Medias (expresadas en tanto por ciento).				
D.E: Desviación estándar.				
Letras diferentes: $p \leq 0,05$				

CUADRO 2. Valores medios (expresados en tanto por ciento) y desviación estándar de la evolución porcentual de las diferentes proteínas en el período de amamantamiento.

		DÍAS POST-PARTO					
		68	69	70	71	72	74
α -lactoalbúmina	X	14,75 ab	14,88 a	14,73 ab	13,89 c	14,51 abc	14,15 bc
	D.E	2,91	2,77	2,85	3,04	2,94	2,60
β -lactoglobulina	X	63,32 a	62,78 b	62,83 bc	62,54 b	63,03	62,88 bc
	D.E	6,80	6,25	6,66	6,22	6,84	6,76
"Otras proteínas" séricas	X	21,91 a	22,31 ab	22,43 ab	23,55 c	22,44 ab	22,96 bc
	D.E	4,71	4,21	4,78	3,02	3,27	3,46
α -caseína	X	22,93 a	22,97 a	23,18 b	22,98 a	22,69 a	22,77 a
	D.E	3,27	2,87	2,91	2,64	2,81	2,34
β -caseína	X	69,54 a	69,50 a	68,86 b	68,99 b	69,50 a	69,32 a
	D.E	3,82	3,84	3,95	3,95	3,48	4,00
K-caseína	X	7,50 a	7,51 a	7,92 ab	7,95 b	7,75 ab	7,85 ab
	D.E	2,02	1,75	1,94	1,97	1,97	1,88

X: Medias (expresadas en tanto por ciento).
D.E: Desviación estándar.
Letras diferentes: $p \leq 0,05$

CUADRO 3. Valores medios (expresados en tanto por ciento) y desviación estándar de la evolución porcentual de las diferentes proteínas en el período de destete.

		DÍAS POST-PARTO					
		85	100	130	160	190	210
α -lactoalbúmina	X	15,12 a	16,21 b	18,34 c	19,06 cd	20,30 e	19,85 de
	D.E	3,0	12,94	3,38	3,54	3,51	4,14
β -lactoglobulina	X	64,66 a	64,53 a	66,28 b	67,16bc	68,22 c	68,37 c
	D.E	5,95	6,97	6,78	6,94	6,37	6,94
"Otras proteínas" séricas	X	20,21 a	19,24 b	15,37 c	13,76 d	11,46 e	12,02 e
	D.E	3,79	3,63	3,21	3,51	2,97	3,29
α -caseína	X	22,97 a	24,03 b	25,96 c	26,46 d	28,72 e	29,97 f
	D.E	2,92	2,89	3,15	3,31	3,63	3,61
β -caseína	X	69,09 a	67,96 b	65,89 c	65,02 c	63,14 d	61,94 e
	D.E	4,15	4,00	4,63	3,87	4,59	4,55
K-caseína	X	7,15 a	7,98 a	8,08 ab	8,02 b	8,13 b	8,07 b
	D.E	2,00	2,23	2,15	2,56	2,44	2,19

X: Medias (expresadas en tanto por ciento).
D.E: Desviación estándar.
Letras diferentes: $p \leq 0,05$

CUADRO 4. Valores medios (expresados en tanto por ciento) y desviación estándar de la evolución porcentual de las diferentes proteínas en el período de ordeño.

Finalmente, los porcentajes de la fracción sérica observados en el presente estudio, presentan valores intermedios a los encontrados por STUPNITSKII e IL'CHENCO (1967) y por JENNESS (1980) en la leche de cabra (57,8% y 74,0% para la β -lactoglobulina y 19,5% y 7,1% para la α -lactoalbúmina, respectivamente). En la leche de vaca, NG-KWAI-HANG y KROEKER (1984) encuentran porcentajes medios de 59,7% para la β -lactoglobulina, 20,5% para la α -lactoalbúmina, 6,7% para la seroalbumina y 13,2% para las inmunoglobulinas, cifras similares a las reseñadas por nosotros.

BIBLIOGRAFÍA

- ADDEO, F., MAURIELLO, R. y DI LUCCIA, A. 1988. A gel electrophoresis study of caprine casein. *J. Dairy Res.*, 55: 413-421.
- AKINYOYINU, A.O. y AKINYELE, I.O. 1979. Major elements in milk of the West African dwarf goats as affected by stage of lactation. *J. Dairy Res.*, 46: 427-431.
- ALBONICO, F., GIANANI, L., RESMINI, P. y ZANINI, A. 1966. Milk of various species. IV. Goat milk casein, electrophoresis and contents of glycerides, P and aminoacids. *Ind. Latt.*, 2: 104-110; 4: 153-161.
- AMBROSOLI, R., DI STASIO, L. y MAZZOCO, P. 1988. Content of α_1 -casein and coagulation properties in goat milk. *J. Dairy Sci.*, 71: 24-28.
- BOULANGER, A., GROSCLAUDE, F. y MAHE, M.F. 1984. Polymorphisme caseins α_1 et α_2 de la chèvre (*Capra hircus*). *Genet. Sel. Evol.*, 16 (2): 157-176.
- BRIGNON, G., RIBADEAU-DUMAS, B., MERCIER, J.C. y PELISSIER, J.P. 1977. Complete aminoacid sequence of bovine α_2 -casein. *FEBS Lett.*, 76: 274-279.
- BUTLER, J.E. 1974. Immunoglobulins of the mammary secretions. In lactation: a comprehensive treatise. vol. III, pp. 217-218 (Eds. B.L. Larson and V.R. Smith). Academic Press. New York.
- DEVENDRA, C. 1972. The composition of milk of British Alpine and Anglo-Nubian goats imported into Trinidad. *J. Dairy Res.*, 39: 381-385.
- FAULKER, A., BLATCHFORD, D.R., WHITE, J.M. y PEAKER, M. 1982. Changes in the concentrations of metabolites in milk at the onset and cessation of lactation in the goat. *J. Dairy Res.*, 49: 399-405.
- FURTADO, M.M. 1983. Detection of cow milk in goat milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.*, 66: 1822-1824.
- HALLIDAY, R. 1978. Variation in immunoglobulin transfer from ewes to lambs. *Ann. Rech. Vet.*, 9: 367-374.
- HILPERT, H. y ENKELMANN, D. 1963. Citado por PARKASH, S., JENNESS, R. 1968. The composition and characteristics of goats' milk: A review. *Dairy Sci. Abstr.* 30 (2): 67-87.
- JENNESS, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: A review (1968-1979). *J. Dairy Sci.*, 63: 1605-1660.
- MAJUMDAR, G.C. y GANGULI, N.C. 1970. An appraisal of casein from different species of animals by starch gel electrophoresis. *Indian J. Dairy Sci.*, 23: 179-187.
- MARTINET, J. y MOUDEBINE, L.M. 1982. La lactación. *Mundo científico*, 14 (2): 458-478.
- MBA, A.U., BOYO, B.S. y OYENUGA, V.A. 1975. Studies on the milk composition of West African dwarf, Red Sokoto and Saanen goats at different stages of lactation. *J. Dairy Res.*, 42: 217-226.
- MERCIER, J.C., GROSCLAUDE, F. y RIBADEAU-DUMAS, B. 1971. Structure primaire de la caseine α_1 bovine. Sequence complete. *Eur. J. Bioche.*, 23: 41-51.
- NG-KWAI-HANG, K.F. y KROEKER, E.M. 1984. Rapid separation and quantification of Major casein and whey protein of bovine milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.*, 67: 3052-3056.
- PORTMANN, A. y PIERRE, A., 1971. L'application de L'electrophorese en gel de polyacrylamide a la recherche et au dosage du lait de vache dans les fromages de chevre. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 64 (696): 159-171.
- RIBADEAU-DUMAS, B., BRIGNON, G., GROSCLAUDE, F. y MERCIER, J.C. 1972. Structure primaire de la caseine bovine. Sequence complete. *Eur. J. Bioche.*, 25: 505-514.

- RIBADEAU-DUMAS, B. 1983. La leche materna. *Mundo científico*, 23 (3): 236-246.
- RICHARDSON, B.C., CREAMER, L.K. y PEARCE, K.N. 1974. II. Structure and composition of casein micelles in ovine and caprine milk as compared with those in bovine milk. *J. Dairy Res.*, 41: 239-247.
- RUSSO, V., CHIOFALO, L. y MICARI, P. 1977. Esame elettroforetico delle proteine del latte in popolazioni caprine allevate in Sicilia. *Zoot. Nutr. Anim.*, 3: 247-253.
- SABHARWAL, K. y BHALERAO, V.R. 1974. Variation in major casein fraction of various milk animals. *Indian J. Dairy Sci.*, 27: 94-98.
- SINGH, A. y GANGULI, N.C. 1977. Electrophoretic and gel filtration behaviour of goat milk proteins. *Indian J. Dairy Sci.*, 30: 304-313.
- SINGH, V.A. y SINGH, S.N. 1980. Milk casein: Electrophoresis alpha, beta and gamma fractions from four Indian goat breeds during lactation. *Int. Goat and Sheep Res.*, 1(2): 125-131.
- STUPITSKII, R.M. e IL'CHENKO, M.D. 1967. Electrophoresis of goat's milk proteins. *Fiziol. Biokhim. Sel'khot. Respub. Mezkred. Temat. Nauch.*, 5: 62-65.
- WEBER, K. y OSBORN, H. 1969. The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 224: 4406-4412.
- ZITTLE, C.A. y CUSTER, J.H. 1966. Identification of the K-casein among the components of whole goat casein. *J. Dairy Sci.*, 49: 788-791.