



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

**Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente
Carrera de Ingeniería Agroindustrial**

TEMA

**“DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y
DIGESTIBILIDAD (*in vitro*) EN AISLADOS PROTEICOS DE LECHE
BOVINA DEL SECTOR SALINAS PROVINCIA BOLÍVAR.”**

**Proyecto de Investigación Previo a la Obtención del Título de Ingeniero
Agroindustrial, Otorgado por la Universidad Estatal De Bolívar a través de
la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente,
Carrera de Ingeniería Agroindustrial.**

AUTORES:

Gabriela Carolina Arguello Guizado

Edwin David Punina Rochina

DIRECTORA:

Dra. Herminia Sanaguano Ph.D

Guaranda – Ecuador

2018

TEMA

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y
DIGESTIBILIDAD (*in vitro*) EN AISLADOS PROTEICOS DE LECHE
BOVINA DEL SECTOR SALINAS PROVINCIA BOLÍVAR.**

REVISADO Y APROBADO POR:

Dra. Herminia del Rosario Sanaguano Salguero Ph.D

DIRECTORA

Ing. José Luis Altuna Vásquez MSc.

BIOMETRISTA

Ing. Iván Marcelo García Muñoz. Mg.

REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, Gabriela Carolina Arguello Guizado con C.I. 0202311221 y Edwin David Punina Rochina con C.I.1804243390, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

Gabriela Carolina Arguello Guizado

C.I. 0202311221

Edwin David Punina Rochina

C.I.1804243390

Dra. Herminia del Rosario Sanaguano Salguero Ph.D

C.I. 0601587280

DIRECTORA

Ing. Iván Marcelo García Muñoz. Mg.

C.I. 0201093960

REDACCION TÉCNICA

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi familia, principalmente a mi madre María, así como también a mi padre Enrique; a ellos por estar a mi lado, su apoyo incondicional, por sus consejos, sus valores, por su motivación constante lo cual me ha permitido hacer grandes cosas y ser una gran persona, pero más que nada por su Amor, faltarían palabras para expresar cuan agradecido estoy con ellos.

David

DEDICATORIA

A Dios quien ha sido mi guía, fortaleza y su mano de fidelidad y amor han estado conmigo hasta el día de hoy.

A mis padres Rosaura y Nelson quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi hija por ser la razón de mí existir, sin ella las fuerzas de levantarme cada día para ser mejor persona no sería una realidad, gracias Isabellita por existir.

A mis hermanos Alexandra, Andreé y Katerine porque con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a mi sobrina Simoné a quien quiero como a una hija, por compartir momentos significativos conmigo y regalarme mucha felicidad.

Carolina

AGRADECIMIENTO

A mi madre María, que ha sido el ejemplo, apoyo incondicional durante toda mi vida y por el valor mostrado para salir adelante.

A mi compañera de trabajo Gabriela ya que con dedicación, perseverancia y mucho esfuerzo se puede lograr cosas grandes.

A mis amigos por sus consejos, su tiempo, el cariño, el apoyo mutuo, durante nuestra formación Universitaria.

A mi Tribunal de Proyecto de Titulación, Dra. Herminia Sanaguano, Ing. José Luis Altuna, Ing. Marcelo García; por su apoyo, paciencia, compromiso y por ser un pilar más para lograr este trabajo.

Al Proyecto de Investigación AGROPROBIOPEP y el Departamento de Investigación UEB, por facilitar las instalaciones, sus trabajadores investigativos; por guiarme, brindarme sus consejos y experiencias.

Agradezco a la Ing. María Fernanda Quinteros, por el apoyo, paciencia y confianza además de su capacidad para guiar durante el trabajo de investigación.

David

AGRADECIMIENTO

En primer lugar doy infinitamente gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado por parte de mis padres, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me han demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi amigo y compañero David, por su paciencia y porque sin el equipo que formamos, no hubiéramos logrado esta meta.

A mi Tribunal de Proyecto de Titulación, Dra. Herminia Sanaguano, Ing. José Luis Altuna, Ing. Marcelo García; por su paciencia, compromiso, y por ser un apoyo más para lograr este trabajo.

Al Proyecto de Investigación AGROPROBIOPEP y el Departamento de Investigación UEB, por todo el apoyo y facilidades de las instalaciones que nos fueron otorgadas. Por darnos la oportunidad de crecer profesionalmente y aprender cosas nuevas.

Agradezco a la Ing. María Fernanda Quínteros por brindarnos sus conocimientos y guiarnos durante nuestro trabajo de investigación.

Carolina

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA

TEMA

CERTIFICACIÓN DE AUDITORÍA

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

RESUMEN

SUMARY

Pág.

CAPÍTULO I

1. Introducción 1

CAPÍTULO II

2. Problema 3

2.1. Formulación del problema 3

2.2. Justificación 3

CAPÍTULO III

3. Marco Teórico 5

3.1. Leche. 5

3.1.1. Leche cruda 5

3.1.2. Calidad de la leche 5

V

3.1.2.1. Densidad relativa	5
3.1.2.2. Acidez titulable de la leche	5
3.1.2.3. Sólidos totales de la leche	6
3.1.2.4. Cenizas de la leche	6
3.1.3. Naturaleza y composición de la leche	6
3.1.4. Producción de leche	7
3.2. Ácidos Grasos	7
3.2.1 Perfil de ácidos grasos en la leche	8
3.2.2. Ácidos grasos en leche de vaca	8
3.2.3. Ácidos grasos en la nutrición	8
3.2.4. Grasas y ácidos grasos en la dieta	8
3.2.5. Principales ácidos grasos en la leche	9
3.3. Aislados proteicos y sus aplicaciones	10
3.3.1. Obtención de aislados proteicos	11
3.4. Hidrolizados proteicos	11
3.4.1. Hidrólisis Enzimática de Proteínas	11
3.5. Proteína en la leche	11
3.6. Digestibilidad gastrointestinal in vitro	12
3.7. El papel de la FAO en la producción animal.	12
3.8. Ganado vacuno en el Ecuador	13
3.9. Principales Razas de Bovinos	13
3.9.1. Razas de Lecheras	13
3.9.1.1. Raza Jersey	13
3.9.1.2. Raza Brown Swiss o Pardo Suizo	14

3.9.1.3. Raza Ayrshire	15
3.9.1.4. Raza Mestiza	15
3.10. Cromatografía de Gases	16
3.11. Fundamentos de la electroforesis	16
CAPÍTULO IV	
4. Marco Metodológico	17
4.1. Ubicación del experimento	17
4.1.1. Situación geográfica y climática	17
4.1.2. Material experimental	18
4.1.3. Materiales de campo	18
4.1.4. Materiales de oficina	19
4.1.5. Reactivos	19
4.1.6. Equipos de laboratorio	20
4.2. Métodos	21
4.2.1. Tipo de estudio	21
4.2.2. Modelo matemático del experimento	22
4.2.3. Prueba de rangos múltiples	23
4.2.3.1. Análisis estadístico	23
4.3. Procedimiento	23
4.3.1. Análisis proximal de leche cruda bovina	23
4.3.2. Método de obtención de aislado de proteína descrito por Martínez y Añón (1996) con modificaciones	23
4.3.2.1. Análisis del aislado proteico liofilizado	24
4.3.3. Técnica analítica de electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), descrito por Laemmli (1970) con modificaciones	24

4.3.4. Método de digestión gástrica <i>in vitro</i> descrita por Jiménez (2011) con modificaciones	25
4.3.5. Método de digestión duodenal <i>in vitro</i> descrito por Martos (2010) con modificaciones	26
4.3.6. Estudio del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC/MSD (aislados proteicos), metodo descrito por Carrillo (2017) con modificaciones	27
4.3.6.1. Extracción de grasa por método Soxhlet	27
4.3.6.2. Esteres metílicos de grasas y aceites descrito por el Diario Oficial de las Comunidades Europeas	27
4.3.6.3. Metodo de análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases-detector de masa selectiva (GC/MSD)	28
CAPÍTULO V	
5. Resultados y Discusiones	29
5.1. Análisis Fisicoquímicos y Bromatológicos de la materia prima	29
5.1.1. Análisis Fisicoquímicos	29
5.1.2. Análisis Bromatológicos	30
5.2. Evaluación del rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas	31
5.3. Cuantificación proteica	33
5.4. Caracterización de proteínas aisladas de leche cruda bovina mediante la aplicación de técnicas electroforéticas en gel de poliacrilamida en presencia de (SDS-PAGE)	36
5.5. Estudio de la digestibilidad gastrointestinal (<i>in vitro</i>) de proteínas aisladas de leche cruda bovina	38
5.6. Identificación del perfil de ácidos grasos en aislados proteicos liofilizados de leche cruda bovina por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC/MSD.	39
5.7. Cuantificación de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina	48

CAPITULO VI

6. Comprobación de hipótesis	71
6.1. Hipótesis Nula (Ho) 1	71
6.2. Hipótesis Alternativa (Ha) 1	71
6.3. Hipótesis Nula (Ho) 2	71
6.4. Hipótesis Alternativa (Ha) 2	71

CAPÍTULO VII

7. Conclusiones y Recomendaciones	72
7.1. Conclusiones	72
7.2. Recomendaciones	74
Bibliografía	75
Anexos	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores promedios de la composición de leche cruda de vaca	6
Tabla 2. Composición porcentual promedio de ácidos grasos de leche de vaca	10
Tabla 3. Composición de la leche de diferentes razas (Porcentaje)	15
Tabla 4. Parámetros climáticos de cantón Guaranda	17
Tabla 5. Características del experimento	22
Tabla 6. Análisis de las propiedades Fisicoquímicas de leche cruda de las cuatro razas bovinas	29
Tabla 7. Análisis de las propiedades Bromatológicas de leche cruda de las cuatro razas bovinas	30
Tabla 8. Rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda de las cuatro razas bovinas	31
Tabla 9. Análisis de varianza del rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas	32
Tabla 10. Comparación de medias del Rendimiento mediante Tuckey de las proteínas aisladas liofilizadas	32
Tabla 11. Valor promedio de la cuantificación proteica aislada liofilizada	33
Tabla 12. Análisis de varianza de cuantificación proteica aislada liofilizada de leche cruda bovina	34
Tabla 13. Comparación de medias del Tratamiento mediante Tuckey de cuantificación proteica aislada liofilizada	35
Tabla 14. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Jersey	41
Tabla 15. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Brown Swiss	43
Tabla 16. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Ayrshire	45
Tabla 17. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas	47
	X

de leche cruda bovina de la Raza Mestiza

Tabla 18. Análisis de varianza del Ácido Butilbórico de los ácidos grasos	48
Tabla 19. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido Butilbórico	48
Tabla 20. Análisis de varianza del 2 – Ácido metilheptanoico de los ácidos grasos	49
Tabla 21. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del 2 – Ácido metilheptanoico	50
Tabla 22. Análisis de varianza del Metil 8-metil-nonanoato de los ácidos grasos	51
Tabla 23. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Metil 8-metil-nonanoato	51
Tabla 24. Análisis de varianza del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico de los ácidos grasos	52
Tabla 25. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	53
Tabla 26. Análisis de varianza del Isomiristato de metilo de los ácidos grasos	54
Tabla 27. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Isomiristato de metilo	54
Tabla 28. Análisis de varianza del Ácido azelaico de los ácidos grasos	55
Tabla 29. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido azelaico	56
Tabla 30. Análisis de varianza del Ácido palmítico, éster metílico de los ácidos grasos	57
Tabla 31. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido palmítico, éster metílico	57
Tabla 32. Análisis de varianza del Ácido estearico, éster metílico de los ácidos grasos	58
Tabla 33. Comparación de medias en el Tratamiento mediante	59

Tuckey del Ácido estearico, éster metílico	
Tabla 34. Análisis de varianza del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico de los ácidos grasos	60
Tabla 35. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	60
Tabla 36. Análisis de varianza del Ácido trans-oleico de los ácidos grasos	61
Tabla 37. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido trans-oleico	62
Tabla 38. Análisis de varianza del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato de los ácidos grasos	63
Tabla 39. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato	63
Tabla 40. Análisis de varianza del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato de los ácidos grasos	64
Tabla 41. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato	65
Tabla 42. Análisis de varianza del Ácido mirístico de los ácidos grasos	66
Tabla 43. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido mirístico	66
Tabla 44. Análisis de varianza del I-Gala-I-ido-octosa de los ácidos grasos	67
Tabla 45. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del I-Gala-I-ido-octosa	68
Tabla 46. Comparación de medias de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de todos los tratamientos	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Localización de la investigación	17
Cuadro 2. Factores de estudio	21
Cuadro 3. Tratamientos	21
Cuadro 4. Modelo de análisis de varianza	22

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Medias del Rendimiento en proteínas aisladas liofilizadas	33
Gráfico 2. Medias del Tratamiento de cuantificación proteica aislada liofilizada	35
Gráfico 3. Medias de los Tratamientos del Ácido Butilbórico	49
Gráfico 4. Medias de los Tratamientos del 2 – Ácido metilheptanoico	50
Gráfico 5. Medias de los Tratamientos del Metil 8-metil-nonanoato	52
Gráfico 6. Medias de los Tratamientos del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	53
Gráfico 7. Medias de los Tratamientos del Isomiristato de metilo	55
Gráfico 8. Medias de los Tratamientos del Ácido azelaico	56
Gráfico 9. Medias de los Tratamientos del Ácido palmítico, éster metílico	58
Gráfico 10. Medias de los Tratamientos del Ácido estearico, éster metílico	59
Gráfico 11. Medias de los Tratamientos del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	61
Gráfico 12. Medias de los Tratamientos del Ácido trans-oleico	62
Gráfico 13. Medias de los Tratamientos del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato	64
Gráfico 14. Medias de los Tratamientos del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato	65
Gráfico 15. Medias de los Tratamientos del Ácido mirístico	67
Gráfico 16. Medias de los Tratamientos del I-Gala-I-ido-octosa	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Caracterización electroforética SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina	36
Figura 2. Caracterización electroforética SDS-PAGE en ausencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina	37
Figura 3. Hidrolizados de proteínas aisladas de leche cruda bovina de las Razas: Mestiza y Jersey; llevados a digestión gástrica y duodenal (<i>in vitro</i>), analizados por la técnica de electroforesis (SDS-PAGE)	38
Figura 4. Hidrolizados de proteínas aisladas de leche cruda bovina de las Razas: Brown Swiss y Ayrshire; llevados a digestión gástrica y duodenal (<i>in vitro</i>), analizados por la técnica de electroforesis (SDS-PAGE)	39
Figura 5. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Jersey	40
Figura 6. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Brown Swiss	42
Figura 7. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Ayrshire	44
Figura 8. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Mestiza	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Mapa de la ubicación	80
Anexo 2. Resultados de los análisis de laboratorio	81
Anexo 3. Base de datos	96
Anexo 4. Formato de fichas de recolección de datos	97
Anexo 5. Fotografías de la investigación	98
Anexo 6. Glosario de términos	101

RESUMEN

El presente proyecto de investigación se basó en la determinación y caracterización en aislados proteicos de leche cruda bovina de las razas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire y Mestiza procedentes de la Parroquia Salinas, Provincia Bolívar.

Los análisis proximales se realizaron en muestras de leche cruda en cual se determinó densidad relativa, acidez titulable, sólidos totales, cenizas, contenido de grasa y proteína a partir de los métodos dispuestos en las Normas INEN, las cuales comprobaron que los valores reportados en la investigación muestran similitudes en los rangos permitidos.

A continuación se realizó el proceso de aislado y liofilizado de las proteínas mediante precipitación isoelectrica a pH 4,6; la cuantificación proteica de los aislados se ejecutó a través del método Sulf1 el cual permite cuantificar el porcentaje de nitrógeno donde multiplicando por el factor de conversión de 6,38 para leche, la raza Ayrshire presento el porcentaje más alto en el contenido de proteína analizado seguido de raza la Mestiza, Jersey y Brown Swiss respectivamente.

La caracterización de la proteína de los aislados se determinó a través de la técnica de electroforesis SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio), en presencia y ausencia del agente reductor 2- β -mercaptoetanol, donde se observaron péptidos como (α CN), (β -CN), (κ -CN) y (α -LA) con un peso molecular entre 15-32 kDa correspondientes a las fracciones de las globulinas y albúminas. Posteriormente mediante simulaciones en condiciones fisiológicas de una persona adulta (enzimas, temperatura, relación enzima/sustrato, movimiento, sales biliares, entre otros); se evaluó la digestibilidad gastrointestinal (*in vitro*) de las proteínas hidrolizadas, las cuales demuestran que son digeribles completamente en el tracto gástrico consecuentemente lo es en el tracto duodenal.

La determinación del perfil de ácidos grasos se lo realizó a través de un análisis

cromatográfico en un GC/MSD (cromatógrafo de gases, detector selectivo de masas), donde se identificaron en aislados proteicos 14 compuestos diferentes entre ácidos grasos y esteres metílicos los mismos que son nuevos y propios de la leche cada uno diferenciados por la raza bovina. La cuantificación se realizó con base al porcentaje de área y el tiempo de retención de cada pico, los mismos que son representados en el perfil (cromatograma); Los cuatro tratamientos investigados se diferencian por el tipo y número de compuestos reportados de acuerdo a su naturaleza.

Palabras Clave: Leche cruda, proteínas, liofilizado, electroforesis, hidrolizados, digestibilidad gastrointestinal, cromatográfico.

SUMMARY

The present research project was based on the determination and characterization in isolated protein from bovine raw milk of the races: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire and Mestizos from the parish Salinas, province Bolivar.

Proximal analyses were performed on samples of raw milk in which determined, relative density, titrable acidity, total solids, ashes, content of fat and protein from willing at the INEN standards methods, which proved that the values reported in the research show similarities in the allowed ranges.

Here was the process of isolated and lyophilized protein by isoelectric precipitation at pH 4.6; protein quantification of the isolates was executed through the Sulf1 method which allows to quantify the percentage of nitrogen where by multiplying by the conversion factor of 6,38 for milk, the Ayrshire breed presented the highest percentage in protein content followed by race analyzed the Mestizo, Jersey and Brown Swiss respectively.

The characterization of the isolated protein was determined by the technique of electrophoresis, SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis), in the presence and absence of the reducing agent 2- β beta;-mercaptoethanol, you were observed where peptides such as (α CN), (β -CN), (κ -CN) and (α -LA) with a molecular weight between 15-32 kDa corresponding to fractions of globulins and albumins. Then via simulations under physiological conditions of an adult person (enzymes, temperature, enzyme/substrate, movement, bile salts, among others); evaluated the gastrointestinal digestibility (*in vitro*) hydrolysed proteins, which show that they are digestible completely in the gastric tract as a result is in the duodenum tract.

The determination of the fatty acid profile was made through a GC/MSD (gas chromatograph, mass selective detector) in chromatographic analysis, where have been identified in isolated protein 14 different compounds between fatty acids and methyl esters which are new and own milk each differentiated by the bovine. The quantification was carried out based on the percentage of area and the retention

time of each peak, the same that are represented in the profile (chromatogram);
The four investigated treatments differ by the type and number of compounds reported according to their nature.

Key words: Raw milk, protein, freeze-dried, electrophoresis, hydrolysates, gastrointestinal digestibility, chromatographic.

CAPÍTULO I

1. Introducción

La leche de vaca sigue siendo un componente importante de la alimentación humana. Su relevancia nutricional radica fundamentalmente en dos componentes: 1) la fracción lipídica, formada principalmente por ácidos grasos saturados, monoinsaturados, y poliinsaturados, y 2) la fracción proteica, donde se distinguen las caseínas, las proteínas del lactosuero y las proteínas de la membrana del glóbulo graso (García et al. 2014).

En Ecuador la producción de leche es de 7,20 litros/vaca en la Región Sierra, 4,70 litros/vaca en la Región Oriental y 3,52 litros/vaca en la Región Costa (ESPAAC 2016).

La presencia de los AG en la grasa de la leche, que se denomina "perfil de AG", incluye por término medio un 70% de AG saturados, un 30% de monoinsaturados y un pequeño porcentaje de poli-insaturados. Los perfiles de AG se utilizan para determinar la salubridad de las grasas, ya que los AG Omega-3 (eicosapentenoico o EPA, docosohexenoico ó DHA y el alfa linolénico ó ALA) son cardiosaludables y esenciales -no sintetizables por los humanos como las vitaminas-, característica que comparten con los AG Omega-6 que abundan en los alimentos de origen vegetal (Baro de la Fuente 2016).

Aislados proteicos desde fuentes no convencionales podrían tener un alto valor como ingredientes funcionales o en nutrición para fortificación de alimentos o en aplicaciones para cosméticos y farmacéuticos (Martinez et al. 2011).

La digestibilidad es la base de las metodologías de evaluación de los alimentos, por definición, es la fracción de alimento consumido que no aparece en las heces y por lo tanto se absorbe en el tracto gastrointestinal, en el método in vitro se usa enzimas y técnicas de fermentación. Este método nos ayudará a determinar los coeficientes de digestibilidad (Osorio et al. 2012).

De esta manera se presentan los siguientes objetivos:

Determinar el Perfil de Ácidos Grasos y Digestibilidad (*in vitro*) en Aislados Proteicos de Leche Bovina del Sector Salinas, Provincia Bolívar.

- Realizar el análisis proximal de: Densidad Relativa, Acidez Titulable, Sólidos Totales, Cenizas, Contenido de Grasa y Proteína ; de las diferentes muestras de leche cruda bovina.
- Obtener aislados proteicos de leche cruda provenientes de cuatro razas bovinas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire y Mestiza mediante precipitación isoeléctrica.
- Caracterizar la proteína aislada de leche cruda de 4 razas bovinas mediante electroforesis (SDS-PAGE).
- Evaluar la digestibilidad gastrointestinal (*in vitro*) en aislados proteicos liofilizados de leche bovina.
- Identificar el perfil de ácidos grasos en aislados proteicos de leche cruda bovina por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC/MSD.

CAPÍTULO II

2. Problema

2.1. Formulación del problema

¿Cuáles son los ácidos grasos presentes en aislados proteicos de leche bovina?

¿Cuál es la digestibilidad (*in vitro*) en aislados proteicos de leche bovina?

2.2. Justificación

La grasa de la leche de vaca es considerada como una de las grasas más complejas de origen natural, debido a la gran cantidad de ácidos grasos con diferentes estructuras bioquímicas, peso molecular, y grado de insaturación. En el año 1963, Garton citó por primera vez un estudio que informó acerca de la presencia de 64 ácidos grasos individuales en la grasa láctea. Pero fue hasta el año 2002 cuando gracias a una combinación de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, se logró identificar la presencia de aproximadamente 416 ácidos grasos diferentes en la fracción lipídica de la leche bovina (García et al. 2014).

Las proteínas poseen propiedades y características físico-químicas que las diferencian unas de otras, por medio de ellas pueden ser separadas y aisladas de sus fuentes. Entre las propiedades más importantes se menciona la solubilidad, el punto isoeléctrico, la desnaturalización, la solvatación o hidratación, la densidad y el comportamiento en presencia de sales (León 2016).

Las proteínas, más allá de su actividad como macronutriente, son un producto necesario como ingrediente en la producción tecnológica de muchos alimentos tratados. A partir de esta necesidad, se desarrollaron los procesos necesarios para aislar o extraer las proteínas de sus fuentes orgánicas originales. Se obtienen así los denominados concentrados proteicos y aislados proteicos, que constituyen un purificado proteico a partir del alimento o fuente orgánica inicial (Toapanta 2016).

La digestibilidad es uno de los parámetros más utilizados para determinar la calidad de las proteínas. Uno de los métodos que generalmente se aplica para la digestibilidad de las proteínas es el enzimático, ensayo que se basa en crear

un medio muy similar al de las personas con una mezcla de enzimas y sales biliares (León 2016).

Al no haber estudios realizadas sobre el perfil de ácidos grasos y de digestibilidad gastrointestinal (*in vitro*) en aislados proteicos de leche cruda las razas bovinas provenientes de la Parroquia Salinas, Provincia Bolívar; se ha estimado aplicar una investigación esperando a que los resultados obtenidos sean un aporte valioso para la Universidad y la colectividad.

CAPITULO III

3. MARCO TEORICO

3.1. Leche

Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo (NTE INEN 9 2012).

3.1.1. Leche cruda

Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C) (NTE INEN 9 2012).

3.1.2. Calidad de la leche

La calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda define los parámetros de inocuidad, salubridad y durabilidad de la leche pasteurizada y derivados lácteos. Ningún proceso mejora la calidad higiénica sanitaria de la leche cruda una vez extraída de la glándula mamaria (Calderón 2016).

La grasa de la leche de vaca es considerada como una de las grasas más complejas de origen natural, debido a la gran cantidad de ácidos grasos con diferentes estructuras bioquímicas, peso molecular, y grado de insaturación (García et al. 2014).

3.1.2.1. Densidad relativa

Es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, consideradas ambas a una temperatura determinada (NTE INEN 11 2012).

3.1.2.2. Acidez titulable de la leche

Es la acidez de la leche, expresada convencionalmente como contenido de ácido

láctico, y determinada mediante procedimientos normalizados (NTE INEN 13 2012).

3.1.2.3. Sólidos totales de la leche

Es el producto resultante de la desecación de la leche mediante procedimientos normales (NTE INEN 14 2012).

3.1.2.4. Cenizas de la leche

Es el producto resultante de la incineración de los sólidos totales de la leche mediante procedimientos normalizados (NTE INEN 14 2012).

Tabla 1. Valores promedios de la composición de leche cruda de vaca

Especie	Agua	Grasa	Caseína	Proteína	Lactosa	Cenizas	Energía (kcal/100 g)
Vaca	87.3	3.9	2.6	0.6	4.6	0.7	66

Fuente: (Chisag 2011)

3.1.3. Naturaleza y composición de la leche

La secreción láctea de las glándulas mamarias de los mamíferos es un líquido de composición compleja, de color blanco opalescente, con un pH cercano al neutro y de sabor dulce. Su propósito natural es la alimentación de la cría durante sus primeros meses de vida (Urdiales 2015).

La composición de la leche puede verse influenciada por diferentes factores genéticos y ambientales tales como: la raza, la edad, la etapa de lactación, el número de lactaciones, el nivel de producción, la estación del año, la dieta, la ocurrencia de enfermedades y otros muchos factores. El agua es el componente más abundante donde, el cloro, sodio y potasio están en dispersión iónica, la lactosa y parte de la albumina en dispersión molecular, la caseína y fosfatos en dispersión coloidal y la materia grasa en emulsión (Urdiales 2015).

3.1.4. Producción de leche

Existen a nivel nacional 896.170 de vacas ordeñadas, la disponibilidad de leche diaria para consumo humano e industrial representa alrededor de 5.319.288 (ESPAC 2016).

Bolívar provee 159.055 litros de leche cruda al día, con una existencia a nivel provincial de 40.595 vacas ordeñadas (ESPAC 2016).

3.2. Ácidos Grasos

La grasa láctea está compuesta por más de 400 tipos de ácidos grasos, la mayoría originándose como intermediarios durante el metabolismo de los lípidos por la flora ruminal. El porcentaje de grasa láctea depende de la raza, nutrición y etapa de lactancia (Nahum 2016).

Solo un número próximo a 30 ácidos grasos se encuentra en una proporción superior al 0,1%; el resto está presente a nivel de trazas. Los ácidos grasos mayoritarios presentes en la grasa de leche derivada de rumiantes son saturados (C4:0- C18:0) y monoinsaturados (MUFA). Entre estos últimos destaca el ácido oleico (cis-9 C18:1). Respecto a los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), el más abundante en grasa láctea es el ácido linoleico (cis-9, cis-12 C18:2 omega-6), característico de los aceites de oleaginosas, seguido del ácido α -linolénico (cis-9, cis-12, cis-15 C18:3), el único ácido graso omega-3 presente de forma natural, aunque con niveles que no suelen superar el 0,7% del total de ácidos grasos (Gómez 2010).

En la leche, la mayoría de los ácidos grasos de 16 carbonos y los de mayor longitud derivan de la captación mamaria de ácidos de cadena larga provenientes de la absorción intestinal y la movilización de reservas corporales. Se estima que un 50% de los ácidos grasos de la leche son sintetizados por la glándula mamaria in situ y el resto proviene de la absorción digestiva, aunque esto depende del estado fisiológico del animal (Nahum 2016).

3.2.1. Perfil de ácidos grasos en la leche

Uno de los parámetros para medir la calidad de la leche es a través del perfil de ácidos grasos pues una grasa con un elevado contenido de ácidos grasos de alto punto de fusión, tales como el ácido palmítico, será dura, mientras que una grasa con gran contenido de ácido oleico que tiene un bajo punto de fusión da lugar a una mantequilla blanda (Calderón 2016).

3.2.2. Ácidos grasos en leche de vaca

La leche de vaca sigue siendo un componente importante de la alimentación humana. Su relevancia nutricional radica fundamentalmente en dos componentes: 1) la fracción lipídica, formada principalmente por ácidos grasos saturados, monoinsaturados, y poliinsaturados, y 2) la fracción proteica, donde se distinguen las caseínas, las proteínas del lactosuero, y las proteínas de la membrana del glóbulo graso (García et al. 2014).

3.2.3. Ácidos grasos en la nutrición

La grasa de la leche y de productos lácteos contribuye al consumo de ácidos grasos (AG) esenciales, proteínas y vitaminas en la dieta humana y juega un papel crítico en las propiedades sensoriales de esos alimentos (Ortega et al. 2013).

Las actuales tendencias nutricionales promueven una disminución en la ingesta de ácidos grasos saturados p. ej., palmítico y mirístico, y un incremento en el consumo de ácidos grasos y péptidos biológicamente activos p. ej., ácido linoleico conjugado, y lactoglobulina. Ello ha suscitado un gran interés científico en tecnologías que permiten modificar la composición química de la grasa y la proteína de la leche de vaca. Dentro de estas estrategias, destacan: la manipulación nutricional, el efecto de la raza, la modificación del ambiente ruminal, y la influencia de variantes genéticas (García et al. 2014).

3.2.4. Grasas y ácidos grasos en la dieta

En los ácidos grasos insaturados existen tres grupos importantes en la familia omega (ω), la familia omega ω -3, omega ω -6 y omega ω -9, y en los animales las

transformaciones entre ácidos por extensión de la cadena siempre producen otro de la misma familia o de otra con distancia mayor, pero no menor. De éstas, las dos primeras familias, ω -3 y ω -6, se forman respectivamente a partir de los ácidos linolénico 18:3 (ω -3), y linoleico 18:2 (ω -6) que se consideran ácidos grasos esenciales para el desarrollo de los organismos acuáticos y por ende para el ser humano (Pinto 2015).

A menudo es necesario identificar y cuantificar los ácidos grasos individuales de una mezcla, tanto en estudios metabólicos como en las investigaciones de los lípidos, para ello el uso de la cromatografía o de la electroforesis son los procesos adecuados para averiguar el número y la cantidad relativa de los diferentes ácidos grasos presentes en la muestra. La técnica de la cromatografía de gas-líquido es conocida como una herramienta que ha marcado grandes avances en el campo de la biología, bioquímica, química orgánica y sobre todo en las ciencias de los alimentos, donde ha tenido aplicación en análisis de múltiples sustancias y particularmente en los ácidos grasos (Pinto 2015).

3.2.5. Principales ácidos grasos en la leche

Los cuatro ácidos grasos más abundantes de la leche son los ácidos mirístico, palmítico, esteárico y oleico (Calderón 2016).

El ácido 18:1 n-7 es el AG monoinsaturado (MUFA, por sus siglas en inglés) más abundante en la leche, el resto son en su mayoría isómeros trans de 16:1, 18:1 y 20:1. La grasa de la leche es también una fuente importante de ácido linoleico conjugado (CLA, por sus siglas en inglés). El CLA es un término colectivo que describe una mezcla de isómeros dienoicos, geométrica y posicionalmente conjugados derivados del ácido 18:2 n-6. Así, se ha reportado la presencia de 14 isómeros de CLA, pero el mayor interés se ha enfocado al CLA 18:2 n-7 cis-9 trans-11 y CLA 18:2 n-6 trans-10 cis-12 porque tienen función anticancerígena, antiarteriogénica, inmunomoduladora, promueven el crecimiento y una masa corporal magra (Ortega et al. 2013).

Tabla 2. Composición porcentual promedio de ácidos grasos de leche de vaca

Ácidos grasos	Número de carbonos	% en peso
Saturados		
Butírico	C4:0	3.6
Caproico	C6:0	2.5
Caprílico	C8:0	1-1.5
Cáprico	C10:0	2
Laúrico	C12:0	3.0
Mirístico	C14:0	11.0
Palmítico	C16:0	25-30
Monoinsaturados		
Miristoleico	C14:1	1.3
Palmitoleico	C16:1	2.5
Oleico	C18:1	15.2
Poliinsaturados		
Linoleico	C18:2	2.1
Linolénico	C18:3	0.7

Fuente:(Calderón 2016)

3.3. Aislados proteicos y sus aplicaciones

Un aislado proteico es aquel cuyo contenido de proteínas es mayor al 70% y que las proteínas constituyentes deben ser exactamente las que se encontraban en la fuente orgánica inicial, sin haber sufrido proceso de degradación o hidrólisis no deseables. Su proceso de elaboración supone una serie de etapas encaminadas a eliminar o disminuir los componentes no proteicos, para lograr un producto final con el 70-80% de proteína (Nazate 2016).

Además, los aislados proteicos presentan mayor digestibilidad y bajo carácter alergénico que la proteína en estado nativo, permiten mejorar sus propiedades funcionales y nutricionales como son: emulsificación, estabilización e incremento de viscosidad, mejoramiento de la apariencia, del gusto, la textura, que facilitan su incorporación en sistemas alimenticios de consumo humano y puedan ser

utilizados en la elaboración de diferentes productos, tales como: productos horneados, bebidas para deportistas, embutidos y alimentos para bebés, por mencionar algunos (Nazate 2016).

3.3.1. Obtención de aislados proteicos

Para la obtención de un aislado proteico los procedimientos más utilizados son el método tradicional y el método enzimático por la facilidad de su implementación, por los altos rendimientos obtenidos; además permiten la fácil separación de sustancias no proteicas tales como: azúcares, fibra, lípidos y otros componentes no deseables en el producto final (Nazate 2016).

3.4. Hidrolizados proteicos

En los hidrolizados de proteína se potencian diversas características funcionales, tales como viscosidad baja, mayor capacidad de agitación, dispersión y alta solubilidad, que les conceden ventajas para el uso en muchos productos alimenticios, respecto a las proteínas originales (Benítez et al. 2008).

3.4.1. Hidrólisis Enzimática de Proteínas

La hidrólisis proteica se realiza normalmente en un reactor, con control de agitación, pH, temperatura y tiempo del proceso. El sustrato se disuelve o resuspende en agua hasta que el pH y la temperatura se estabilizan; a continuación se agrega la proteasa dando inicio a la hidrólisis. A medida que ésta progresa se produce una disminución del pH debido a la rotura de los enlaces peptídicos. En los casos de hidrólisis enzimática el pH debe ser mantenido en el óptimo de la enzima mediante la adición de base diluida. Para finalizar la hidrólisis proteica la enzima puede ser inactivada con calor, mediante una disminución del pH o con una combinación de ambos. O también puede ser retirada del medio mediante filtración y la proteína finalmente precipitada (Benítez et al. 2008).

3.4. Proteína en la leche

La leche de vaca presenta un contenido proteico que oscila entre el 3 y el 4 %, distinguiendo tres categorías para el nitrógeno proteico: 1) las caseínas, 2) las

proteínas del lactosuero, y 3) las proteínas de la membrana del glóbulo graso (García et al. 2014).

Las caseínas constituyen alrededor del 78 % de las proteínas lácteas, se precipitan cuando se acidifica la leche a un pH de 4.6, y se encuentran unidas principalmente con fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en una estructura sólida y esponjosa llamada micela (García et al. 2014).

Las caseínas de la leche se clasifican en función de su movilidad electroforética como: αS1 -caseína ($\alpha\text{S1-CN}$), αS2 -caseína ($\alpha\text{S2-CN}$), β -caseína ($\beta\text{-CN}$), $\kappa\text{-CN}$, y γ -caseína ($\gamma\text{-CN}$) (García et al. 2014).

3.6. Digestibilidad gastrointestinal in vitro

El valor nutritivo de las proteínas depende de su digestibilidad y ésta se lleva a cabo mediante la acción enzimática. Primero se lleva a cabo en la boca, donde se tritura y se mezcla con la saliva, después el proceso de hidrólisis se da en el estómago, donde el pH del medio depende de la edad del individuo y estado de salud, en esta fase actúa principalmente la pepsina que es una proteasa cuyo pH óptimo está alrededor de 2 y actividad es proporcional a la cantidad de sustrato (Poveda 2016).

Después los alimentos pasan al duodeno en donde actúan algunas enzimas (proteasas, amilasas, lipasas) y sales biliares, al culminar esta fase, las proteínas se encuentran hidrolizadas en moléculas de pesos moleculares muy pequeños (péptidos) y pueden atravesar la capa del moco del epitelio (Poveda 2016).

3.7. El papel de la FAO en la producción animal

El sector ganadero se ha transformado a un ritmo sin precedentes en las últimas décadas. El ganado aporta un 40 por ciento del valor de la producción agrícola mundial y sostiene los medios de vida y la seguridad alimentaria de casi 1 300 millones de personas. El sector ganadero es uno de los sectores que más rápido crece en la economía agrícola. El crecimiento y la transformación del sector ofrecen oportunidades para el desarrollo agrícola, la reducción de la pobreza y la mejora de la seguridad alimentaria, pero la rapidez de los cambios corre el riesgo

de marginalizar a los pequeños agricultores, y los riesgos sistémicos para los recursos naturales y la salud humana deben ser abordados para garantizar la sostenibilidad (FAO 2017).

3.8. Ganado vacuno en el Ecuador

El año 2016, la tasa anual de variación del ganado vacuno registro un incremento de 0,29% con relación al 2015 a nivel nacional, se observa que la región Sierra cuenta con mayor cantidad de ganado con un 49,48% del total nacional, seguida por la Costa con 41,96% y el Oriente con 8,51% (ESPAC 2016).

La región Sierra tuvo un crecimiento de 5,17%, mientras que, la Costa y el Oriente presentaron decrementos de 2,17% y 10,21% respectivamente. En cuanto a la producción de leche, la región Sierra aporta un 77,21% del total nacional, seguido de la Costa con el 17,96% y el Oriente con el 4,82%. Del total de hembras existentes a nivel nacional el 55,23% son vacas, seguidas por las vaconas con el 25,39%. En relación al promedio de litros de leche por vaca producidos, la Sierra se destaca con 7,20 litros/vaca, debido a la gran cantidad de ganado lechero existente y al cultivo de pastos (cultivados y naturales) que sirven para su alimentación. La región Oriental ocupa el segundo lugar con 4,70 litros/vaca y por último la región Costa con 3,52 litros/vaca (ESPAC 2016).

3.9. Principales Razas de Bovinos

3.9.1. Razas de Lecheras

Considera que no son nativos de América, los bovinos se han convertido el eje de la producción pecuaria; y además se han desarrollado las razas mestizas, adaptados a las condiciones que requiere el animal (Chisag 2011).

3.9.1.1. Raza Jersey

Hace miles de años la isla de Jersey estuvo pegada al continente europeo, allí había un ganado local, mezcla de varias razas de la isla mayor, pero al desprenderse del continente quedó aislada y se formó una raza especial que tomaría el nombre de esta isla, especializada en producir leche de alta calidad por

poseer un porcentaje de grasa de 4.2% y 3,8 % de proteína.

La asociación de esta raza en el Ecuador toma un nuevo impulso con la llegada en 1987 de 600 animales hembras de Estados Unidos y 20 machos, allí se reestructura la asociación e ingresan 22 nuevos socios. Luego en 1990 se importa ganado Jersey desde Costa Rica, Colombia, Estados Unidos y el Canadá. Se crean importantes hatos en la Costa Ecuatoriana (Asociación Raza Jersey del Ecuador 2015).

No cabe duda que cada raza cumple su objetivo, así la raza jersey está creada para producir leche de alta calidad en sólidos y grasa, siendo muy popular, en Nueva Zelanda, debido a lo conocida que es por sus ancestros ganaderos ingleses y en base a ella, han formado algunos importantes cruces para distintos objetivos productivos, muchas de estas vacas y cruces han llegado al Ecuador. En cuanto a sus exigencias se consideran animales rústicos, pero no logran prosperar en campos o en climas severos (Asociación Raza Jersey del Ecuador 2015).

En relación con su tamaño, es una excelente productora de leche, pudiendo llegar hasta 10.000 Kg por periodo de lactancia sus glóbulos grasos son de gran tamaño, prestándose muy especialmente para la producción de grasa es la raza de menor producción de leche en cantidad pero de mayor porcentaje de grasa (Asociación Raza Jersey del Ecuador 2015).

3.9.1.2. Raza Brown Swiss o Pardo Suizo

Ningún ganadero puede negar la gran facilidad con que esta raza en muchos casos sin dirección pre concebida se ha propagado por todo el País. Es una raza muy popular con su típico color barroso, que pinta a miles de vacas cruzadas que deambulan desde los altos páramos, hasta el nivel del mar y la amazonia (Asociación de la raza Brown Swiss del Ecuador 2015).

La raza Brown Swiss llegó a nuestro litoral para quedarse, sea como animal puro o en sus cruces, debido a que los ganaderos siguen aprovechando sus ventajas (Asociación de la raza Brown Swiss del Ecuador 2015).

Es una constante, que en las ganaderías de leche en la zona del trópico, sea muy común ver esta vaca ordeñándose. En Ecuador y en Colombia países de iguales variables climáticas, a esta se la denomina la Brown Swiss, “la vaca de todos los climas”, concepto que le hace justa y por ende se adaptado a las condiciones de clima y ambiente (Asociación de la raza Brown Swiss del Ecuador 2015).

Su producción lechera oscila entre 3.300-4.500 kg./ lactancia Tiene un porcentaje de grasa entre 3-4% y de proteína de 3,3%. El record de producción por animal está en 16.000 litro (Asociación de la raza Brown Swiss del Ecuador 2015).

3.9.1.3. Raza Ayrshire

Su Origen es de Escocia, de color blanco y rojizo, a veces con estos colores entre mezclados, sus cuernos son largos y torcidos hacia arriba, semejando una lira, lo cual nos da un hermoso fenotipo. No son de gran tamaño corporal y excelente lecheras, además su leche contiene un alto porcentaje de grasa, hasta 5 %. Peso en machos 750 – 900 Kg. en las hembras oscila entre 650 – 700 Kg. los terneros tienen un peso al nacimiento entre 35 y 40 Kg. la producción de leche oscila entre 4000 y 5000Kg. por lactancia; una de las características que la leche de esta Raza posee de glóbulos de grasa muy pequeños, parecido a la cabra, lo que aumenta su digestibilidad y es recomendada para la alimentación de los niños y ancianos con problemas digestivos (Chisag 2011).

3.9.1.4. Raza Mestiza

Es la raza más antigua de las que existen en América, y en el mundo. Su origen remonta a los primeros vacunos traídos por Cristóbal Colón en su segundo viaje a América en 1493. Estos vacunos fueron seleccionados en Andalucía y se difundieron por el nuevo mundo con las expediciones colonizadoras (Chisag 2011).

Tabla 3. Composición de la leche de diferentes razas (Porcentaje)

Raza	Grasa	Proteína	Lactosa	Ceniza	S.N.G**	S.T***
-------------	--------------	-----------------	----------------	---------------	----------------	---------------

Jersey	5,37	3,92	4,93	0,71	9,54	14,91
Brown S.	4,01	3,61	5,04	0,73	9,40	12,41
Ayrshire	4,00	3,53	4,67	0,68	8,90	12,90

Fuente: (Urdiales 2015)

S.N.G = sólidos no grasos.

S.T = sólidos totales.

3.10. Cromatografía de Gases

Está técnica fue descubierta en 1952 por A.T. James y A. J. Martin, desde entonces es una de las técnicas más utilizadas para el estudio de ácidos grasos. La determinación de los perfiles de ácidos grasos en muestra de leche por cromatografía gaseosa incluye diversos pasos como son: extracción, esterificación, separación, identificación y cuantificación, cada uno de ellos deben ser optimizados para alcanzar resultados exactos y precisos (Calderón 2016).

3.11. Fundamentos de la electroforesis

La electroforesis es la migración de solutos iónicos bajo la influencia de un campo eléctrico; estas partículas migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos - y +), en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura tridimensional (Morales y Gallo 2006).

Es de destacar que a escala analítica, los métodos electroforéticos son de alta sensibilidad, poder de resolución y versatilidad, y sirven como método de separación de mezclas complejas de ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas, donde aportan un potente criterio de pureza. Se pueden conocer también mediante estas técnicas, las características ácido-básicas de las proteínas presentes en un extracto crudo, lo que da la información necesaria si se pretende realizar una separación cromatográfica basada en diferencias de carga. Es útil además para determinar otros parámetros como peso molecular, punto isoeléctrico y número de cadenas polipeptídicas de las proteínas (Morales y Gallo 2006).

CAPÍTULO IV

4. Marco metodológico

4.1. Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio perteneciente al departamento de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, su localización es la siguiente:

Cuadro 1. Localización de la investigación

Ubicación	Localidad
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Sector	Laguacoto II
Dirección	Vía Guaranda – San Simón Km 1 ½

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

4.1.1. Situación geográfica y climática

Tabla 4. Parámetros climáticos de cantón Guaranda

Parámetros Climáticos	Valor
Altitud	2800 m.s.n.m
Longitud	79° 00' 02" Oeste
Latitud	01° 34' 15" Sur
Temperatura Media	13° C
Temperatura Máxima	18° C
Temperatura Mínima	8° C
Humedad	75 %

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Estación Meteorológica de la Universidad Estatal de Bolívar. Laguacoto II, 2018

4.1.2. Material experimental

Leche cruda bovina de:

- Raza Jersey
- Raza Brown Swiss
- Raza Ayrshire
- Raza Mestiza

4.1.3. Materiales de campo

- Balones de aforo
- Envases herméticos
- Espátula
- Goteros
- Guantes látex
- Kit micro pipetas
- Magneto
- Mascarillas
- Pizetas
- Probetas
- Puntas para micropipetas
- Rotuladores
- Tiras de pH
- Tubos eppendorf
- Tubos para centrifugar
- Varillas de agitación
- Vasos de precipitación
- Dedales

- Matraz
- Viales cromatograficos
- Columna Agilent DB-WAXETR (60 m × 250 μm × 0.25 μm, Agilent 122-7362)

4.1.4. Materiales de oficina

- Computadora
- Impresora
- Papel bond tamaño A4
- Lápices
- Esferográficos
- Cámara fotográfica
- Flash memori
- Marcadores
- Libreta de apuntes

4.1.5. Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH 2 N)
- Ácido clorhídrico (HCl 2 N)
- Cloruro de sodio (NaCl 0,35 M)
- Bicarbonato de sodio (NaHCO₃ 1M)
- Fosfato de potacio monobásico (KH₂PO₄)
- Enzimas SFG, Pepsina, SFD, Protein Dual Xtra Standards
- β-mercaptoetanol
- Tris-Cl a pH 8,8 y 6,8 %
- Acrilamida 30%
- Tetrametiletildiamina (C₆H₁₆N₂)

- Dodecil sulfato sódico (SDS10%)
- Persulfato de amonio (PSA 10%)
- Azul de coomassie
- Buffer
- Éter
- Hexano grado cromatográfico
- Metanol
- Solución metalónica de KOH 0,5M
- Solución metalónica de HCL
- Helio

4.1.6. Equipos de laboratorio

- Equipos utilizados durante la investigación realizada; marca, modelo, país de fabricación.
- Balanza analítica, Shimadu, ATX224, Japón
- Plancha de Agitación, Ika, cmag hs7, USA
- Potenciómetro, Hach, HQ40dMulti Meter, USA
- Estufa, Memmert, Germany
- Centrifuga, eppendorf, Centrifuge 5804R, Germany
- Liofilizador christ, alpa1-4Dplus, Germany
- Electrophoresis power supply, Analitikjena, PS 305 XL, Francia
- Mufla, Thermo Scientific, Thermolyne, USA
- Termo agitador, Ivymen, TR100, España
- Ultra congelador, Panasonic, MDF-U76UA-PA, Canadá
- Analizador elemental, Elementar, Macro cube, Germany
- Sistema Soxhlet, Trape Raypa, SX-6, España

- Baño maria, Memmert, Germany
- Sistema Agilent Technologies 7990A GC equipado con MSD 5977A GC / MSD, USA.

4.2. Métodos

4.2.1. Tipo de estudio

El presente trabajo corresponde a un estudio experimental de campo.

Cuadro 2. Factores de estudio

Factores	Código	Detalle
Factor 1 Leche cruda	A	A1.Raza Jersey A2. Raza Brown Swiss A3. Raza Ayrshire A4. Raza Mestiza

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Factor A: Corresponde a las muestras leche cruda de las razas de ganado bovino Jersey, Brown Swiss, Ayrshire y Mestiza; provenientes de la Parroquia Salinas Provincia de Bolívar.

Cuadro 3. Tratamientos

Se realizaron las siguientes combinaciones de factores para obtener los tratamientos.

N°	Tratamientos	Código	Descripción Niveles.
			A
1	T1	A1	Raza Jersey
2	T2	A2	Raza Brown Swiss
3	T3	A3	Raza Ayrshire
4	T4	A4	Raza Mestiza

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 5. Características del experimento

Detalle	Descripción
Factor en estudio (FE)	1
Tratamientos (t)	4
Repeticiones (r)	3
Unidades experimentales (t*r)	12
Tamaño unidad experimental	500 mL

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

4.2.2. Modelo matemático del experimento

El diseño estadístico es un monofactorial.

Si las respuestas experimentales las denotamos por y , el modelo aplicable a un diseño experimental de este tipo es:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

En donde:

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij -ésima unidad experimental

μ = Efecto de la media general

t_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

ε_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la i -ésima unidad experimental.

Cuadro 4. Modelo de análisis de varianza

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Factor A	SC_A	$a - 1$	CM_A	CM_A/CM_E	$P(F > F \frac{A}{0})$
Factor B	SC_B	$b - 1$	CM_B	CM_B/CM_E	$P(F > F \frac{B}{0})$
Error	SC_E	$ab(n- 1)$	CM_E		
Total	SC_T	$Abn - 1$			

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

En donde:

Razón-F: Estadística de prueba

Valor-p : Significancia observada

4.2.3. Prueba de rangos múltiples

4.2.3.1. Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics Centurión y Test Tukey.

4.3. Procedimiento

4.3.1. Análisis proximal de leche cruda bovina

En estos análisis se determinaron los contenidos de: Proteína (NTE INEN - ISO 8968-1 2015), Determinación de la Densidad Relativa (NTE INEN 11 2012), Determinación de la Acidez Titulable (NTE INEN 13 2012), Determinación de Sólidos Totales y Cenizas (NTE INEN 14 2012), Determinación del contenido de Grasa (NTE INEN - ISO 2446 2013).

4.3.2. Método de obtención de aislado de proteína descrito por (Martínez y Añón 1996) con modificaciones

- 1.- Se tomó 50 ml de leche cruda bovina, se ajustó a pH 8,0 con la solución de NaOH 2 N.
- 2.- La mezcla fue llevada a centrifugación durante 20 minutos a 5 °C y 4.500 rpm.
- 3.- Se descartó el sobrenadante y se trabajó con el precipitado, el mismo que fue ajustado a pH 4,6 con solución HCl 2 N.
- 4.- El sobrenadante quedó en reposo durante 24 horas a temperatura de refrigeración (4 a 8 °C) con la finalidad de precipitar las proteínas.
- 5.- Los precipitados fueron neutralizados con NaOH 0,2M.

6.- Los aislados y concentrados proteicos fueron llevados a -80°C en un ultra congelador.

7.- Para el proceso de liofilización de las muestras se trabajó bajo condiciones estándares del equipo de liofilización.

Liofilización

7.1.- Acondicionamiento del sistema y calentamiento de la bomba de vacío 20 minutos a -57°C .

7.2.- Secado principal durante 12 horas a presión de 0,03 milibar (a menor temperatura la presión es menor, directamente proporcional), en esta etapa se da la sublimación y empieza a liofilizar la muestra.

7.3.- secado final durante 36 horas a presión de 0,03 milibar.

4.3.2.1. Análisis del aislado proteico liofilizado

En este análisis se determinaron el contenido de proteína a través del método Sulfl establecido en la norma española (EN 15104).

4.3.3. Técnica analítica de electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), descrito por (Laemmli 1970) con modificaciones

1.- Se preparó geles de 1 mm de espesor, en donde el gel separador fue preparado al 12% y el gel concentrador al 4% de solución acrilamida.

1.1. Preparación gel separador 12%.

Se utilizó agua destilada 1.425ml, Tris 1M HCl pH 8.8 3ml, Acrilamida 30% 3ml, SDS10% 75ul, Temed 9ul, PSA10% 30ul.

1.2. Preparación de gel concentrador 14%.

Se utilizó agua destilada 2.2ml, Tris 1.5M HCl pH 6.8 0.42ml, Acrilamida 30% 0.7ul, SDS10% 75ul, Temed 6ul, PSA10% 20ul.

- 2.- Preparación de las muestras.
- 3.- Se pesó 10 mg de proteínas aisladas liofilizadas de los tratamientos.
- 4.- Se añadió 1 ml de agua y se mezclaron en el vortex.
- 5.- Se tomó 200 μ L y se mezcló con 200 μ L de buffer de muestra.
- 6.- Se llevó las muestras a una temperatura de 80 °C durante 10 minutos en un termoagitador.
- 7.- Una vez gelificado, el gel fue trasladado a la cámara electroforética donde se puso 10 μ L de la muestra y 10 μ L del estándar en los respectivos pocillos formados por el peine.
- 8.- La separación electroforética se realizó bajo influencia de un campo eléctrico con un voltaje de 220 Vv y un tiempo de 45 min.
- 9.- Los geles fueron teñidos durante 8h con solución de azul de coomassie, y fueron desteñidos con mezcla de metanol, etanol y ácido acético.
- 10.- Los geles fueron interpretados de acuerdo a su peso molecular (PM).

4.3.4. Método de digestión gástrica *in vitro* descrita por (Jiménez-Saiz et al. 2011) con modificaciones

- 1.- Se pesó 10 mg de proteína aislada de los tratamientos de cada raza bovina estudiadas, en un tubo eppendorf de 1.5ml y se añadió 1 ml de agua y Simulador de Fluido Gástrico (SGF, NaCl 0,35 M) a pH 2 durante 2 horas a 37°C por 500 rpm en un termoagitador, se detiene la digestión al agrega 200ul de bicarbonato de sodio 1M a 10min por 80°C termoagitador.
- 2.- Se realizó los digeridos gástricos, utilizando la enzima pepsina a una concentración de 2250 U simulando condiciones de una persona adulta.
- 3.- Se puso 10 μ L de la muestra y 10 μ L de Precisión Plus Protein Dual Xtra Standards, se rellenó la cámara electroforética con la solución del buffer running.

- 4.- Se realizó la separación por electroforesis de proteínas bajo influencia de un campo eléctrico con un voltaje de 220 V y un tiempo de 45 min.
- 5.- Los geles fueron teñidos durante 8h con solución de azul de coomassie, y fueron desteñidos con mezcla de metanol, etanol y ácido acético.
- 6.- Los geles fueron interpretados de acuerdo a las bandas de proteínas digeridas.

4.3.5. Método de digestión duodenal *in vitro* descrito por (Martos et al. 2010) con modificaciones

Preparación SFD Simulador de Fluido Duodenal. Fosfato de potasio monobásico KH_2PO_4 mas NaOH ajustado a pH 6.8 a 7, se tomó el 1ml KH_2PO_4 y se diluyo en 200ml de agua a una concentración final 100 ul.

- 1.-Se Mezcló en una relación 1:1 el digerido gástrico 1 ml más 1ml SFD a pH 7.
- 2.- Las reacciones se llevó a cabo a 37 °C durante 120 minutos.
- 3.- Se detuvo por calentamiento a 80 °C durante 10 minutos, permitiendo de esta manera la desactivación de las enzimas.
- 4.- Los digeridos gástricos fueron analizados mediante la técnica de electroforesis SDS-PAGE.
- 5.- Se puso 10 μL de la muestra y 10 μL de Precision Plus Protein Dual Xtra Standards, se rellenó la cámara electroforética con la solución del buffer running.
- 6.-Se realizó la separación por electroforesis de proteínas bajo influencia de un campo eléctrico con un voltaje de 220 Vv y un tiempo de 45 min.
- 7.- Los geles fueron teñidos durante 8h con solución de azul de coomassie, y fueron desteñidos con mezcla de metanol, etanol y ácido acético.
- 8.- Los geles fueron interpretados de acuerdo a las bandas de proteínas digeridas.

4.3.6. Estudio del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC/MSD (aislados proteicos), metodo descrito por (Carrillo et al. 2017) con modificaciones.

4.3.6.1. Extracción de grasa por método Soxhlet

- 1.- Pesar en duplicado 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado.
- 2.- Registrar peso.
- 3.- Secar el matraz de extracción por 30 min a $103 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 4.- Pesar el matraz de extracción. Registrar m1.
- 5.- Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz.
- 6.- Extraer la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6gotas/seg.
- 7.- Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en el rotavapor o baño Maria bajo campana. Hasta que no se detecte olor a éter.
- 8.- Secar el matraz con la grasa en la estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 min, enfriar en el desecador y pesar. Registrar m2. (Official Methods of Analysis A.O.A.C. 15th Edition, U.S.A.(1990))

4.3.6.2. Esteres metílicos de grasas y aceites descrito por el Diario Oficial de las Comunidades Europeas

- 1.- En un tubo de tapa rosca negra de 20ml, pesar entre 0.020g-0.025g de grasa extraída.
- 2.- Adicionar 2ml de solución metalónica de KOH 0.5M realizar la reacción a Baño Maria, ebullición durante 10 min y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Solución de KOH 0.5M en metanol

3.- Añadir 1ml de solución metabólica HCl. Colocar el tubo a baño María a 50°C durante 25min y dejar a temperatura ambiente.

Solución Ácido clorhídrico HCl-Metanol (1:4 V/V)

4.- Añadir 3ml de Agua destilada y agitar.

5.- Para extraer los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Colocar 10ml de Hexano grado cromatográfico y agitar durante 10 seg.

6.- Extraer 1ml de extracto de hexano a un vial cromatográfico para posterior separación en el cromatógrafo de gases.

4.3.6.3. Metodo de análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases-detector de masa selectiva (GC/MSD)

Se realizó las modificaciones a partir de la composición de ácidos grasos de grasa extraída en aislados proteicos de leche bovina se analizó mediante la inyección de ésteres metílicos de ácidos grasos en un sistema Agilent Technologies 7990A GC equipado con MSD 5977A GC / MSD, columna Agilent DB-WAXETR (60 m × 250 µm × 0.25 µm, Agilent 122-7362).

La temperatura del horno se programó de la siguiente manera: a partir de 80 ° C; rampa 1: a 100 ° C a 20 ° C / min durante 1 minuto; rampa 2: a 200 ° C a 25 ° C / min durante 10 minutos; rampa 3: a 250 ° C a 2 ° C / min. Las temperaturas del inyector y del detector se establecieron a 250 ° C. El helio se usó como gas portador a una velocidad de flujo lineal de 0.7 ml / min.

CAPÍTULO V

5. Resultados y Discusiones

5.1. Análisis Fisicoquímicos y Bromatológicos de la materia prima

A continuación, se detallan los datos obtenidos en el laboratorio.

5.1.1. Análisis Fisicoquímicos

En la Tabla 6. Se da a conocer los resultados de los análisis Fisicoquímicos de la materia prima leche cruda bovina, los análisis realizados son: Densidad Relativa, Acidez Titulable y Solidos Totales de las cuatro razas.

Tabla 6. Análisis de las propiedades Fisicoquímicas de leche cruda de las cuatro razas bovinas

Ensayos	Método Utilizado	Jersey	Brown Swiss	Ayrshire	Mestiza
Densidad Relativa (g/mL)	NTE INEN 11	1,030	1,0295	1,030	1,0285
Acidez Titulable (%)	NTE INEN 13	0,166	0,189	0,188	0,175
Solidos Totales (%)	NTE INEN 14	14,06	13,77	12,75	12,06

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Los datos de la Densidad Relativa detallada en la Tabla 6. Es similar a la densidad relativa mencionada por (Guamán 2015), cuyos valores fueron 1.031 g/mL en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 1.029-1,033 g/mL, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la investigación.

Los datos de la Acidez Titulable detallada en la Tabla 6. Es similar a la acidez titulable mencionada por (Mansouri 2016), cuyos valores fueron 0.15% en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 0.13 - 0.16%, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la

investigación.

Los datos de los Sólidos Totales detallada en la Tabla 6. Es similar a los sólidos totales mencionada por (González et al. 2013), cuyos valores fueron 12,41% en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 11,4 min %, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la investigación.

Análisis Bromatológicos

En la Tabla 7. Se da a conocer los resultados de los análisis Bromatológicos de la materia prima leche cruda bovina, los análisis realizados son: Cenizas, Proteína y Grasa Totales de las cuatro razas.

Tabla 7. Análisis de las propiedades Bromatológicas de leche cruda de las cuatro razas bovinas

Ensayo	Método Utilizado	Jersey	Brown Swiss	Ayrshire	Mestiza
Cenizas (%)	NTE INEN 14	0,77	0,80	0,78	0,75
Proteína (%)	NTE INEN 16	2,94	2,90	2,80	2,93
Grasa (%)	NTE INEN-ISO 2446	5,52	3,95	2,91	3,03

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Los datos de Cenizas detallada en la Tabla 7. Es similar a la cenizas mencionada por (González et al. 2013), cuyos valores fueron 0,73% en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 0,65 min %, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la investigación.

Los datos de Proteína detallada en la Tabla 7. Es similar a la proteína mencionada por (Mansouri 2016), cuyos valores fueron 3,3 % en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 2,9 %, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la investigación.

Los datos de Grasa detallada en la Tabla 7. Es similar a la grasa mencionada por (Guamán 2015), cuyos valores fueron 3,67 % en leche bovina y de la misma manera la Norma (NTE INEN 9 2012) reporta un valor de 3,2 min %, estos valores se encuentran cercanos a lo obtenido dentro de la investigación.

5.2. Evaluación del rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas

Tabla 8. Rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda de las cuatro razas bovinas

Propiedad	Jersey	Brown Swiss	Ayrshire	Mestiza	Formula
Rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas.	62,74	60,31	49,03	56,89	$\%R = \frac{W_0}{W_f} * 100$

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

En el Tabla 8 se reportan los valores promedios del rendimiento de la proteína liofilizada; los cuales son similares a los mencionados por (Cárdenas 2016), en el cual el rendimiento de proteína liofilizada de Chia precipitada a pH 5 reporta el valor de 34,73 %. De la misma manera (Quinteros 2016) nos manifiesta en su estudio proteína liofilizada de Sacha Inchi precipitada a pH 5 obtiene un rendimiento de 20,50 %. Del mismo modo (Cobo 2016), nos manifiesta en su investigación de proteína liofilizada de Guayusa precipitada a pH 4,5 obtiene un rendimiento de 5,63%.

Tabla 9. Análisis de varianza del rendimiento de proteínas aisladas liofilizadas

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	321,44	3	107,147	3,4	0,0944 ns
Replica	3,85032	2	1,92516	0,06	0,9413 ns
Error Experimental	189,114	6	31,5189		
Total	514,404	11			
CV %	9,81				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante un Tabla ANOVA del rendimiento para la variable proteína aislada liofilizada obtenidas en la Tabla 9, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); no existe una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico altamente significativo sobre las réplicas con un 95,0% de nivel de confianza. No existen interacciones debido a que es un diseño Mono factorial.

Tabla 10. Comparación de medias del Rendimiento mediante Tuckey de las proteínas aisladas liofilizadas

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
1.Jersey	62,74	A
2.Brown Swiss	60,31	A
4.Mestiza	56,89	A
3.Ayrshire	49,03	A

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose un grupo (A). Del cual el Tratamiento 1 que corresponde a la Raza Jersey ha

alcanzado el rendimiento más alto con una valoración de 62,74 % mencionado en la Tabla 10.

Gráfico 1. Medias del Rendimiento en proteínas aisladas liofilizadas



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

5.3. Cuantificación proteica

Se determinó el valor promedio de las siguientes razas:

1. Raza Jersey
2. Raza Brown Swiss
3. Raza Ayrshire
4. Raza Mestiza

Tabla 11. Valor promedio de la cuantificación proteica aislada liofilizada

Razas bovinas	Proteína %
Jersey	38,47
Brown Swiss	37,96
Ayrshire	45,08
Mestiza	43,41

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

En la Tabla 11. Se observa el porcentaje de la cuantificación proteica realizado a través del analizador elemental, que consigue cuantificar porcentualmente: Nitrógeno (N); de esta forma con un factor de conversión para leche de 6,38 mencionado por (Mansouri 2016) se calculó el contenido de proteína.

De los valores promedios de proteínas en los aislados liofilizados: la raza Ayrshire contiene el valor más alto con 45,08 %, seguido de la raza Mestiza con 43,41 %, la raza Jersey con 38,47 % y la raza Brown Swiss con 37,96 % respectivamente.

Tabla 12. Análisis de varianza de cuantificación proteica aislada liofilizada de leche cruda bovina

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	113,634	3	37,8782	4,91	0,0469*
Replica	30,3913	2	15,1956	1,97	0,2201 ns
Error Experimental	46,3031	6	7,71719		
Total	190,329	11			
CV %	6,74				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

*: Diferencia estadística significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante un Tabla ANOVA de la cuantificación proteica para la variable leche bovina obtenida se presenta en la Tabla 12. Se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre la Proteína con un 95,0% de nivel de confianza. No existen interacción debido a que es un diseño Mono factorial.

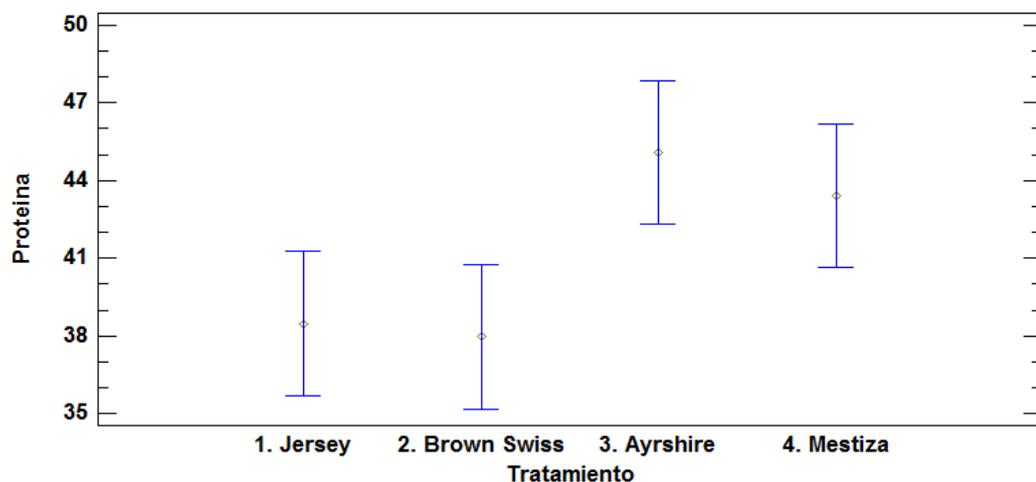
Tabla 13. Comparación de medias del Tratamiento mediante Tuckey de cuantificación proteica aislada liofilizada

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
3.Ayrshire	45,08	A
4.Mestiza	43,41	A
1.Jersey	38,47	A
2.Brown Swiss	37,96	A

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose un grupo (A). Del cual el Tratamiento 3 que corresponde a la Raza Ayrshire ha alcanzado el contenido de Proteína más alto con una valoración de 45,08 mencionado en la Tabla 13.

Gráfico 2. Medias del Tratamiento de cuantificación proteica aislada liofilizada



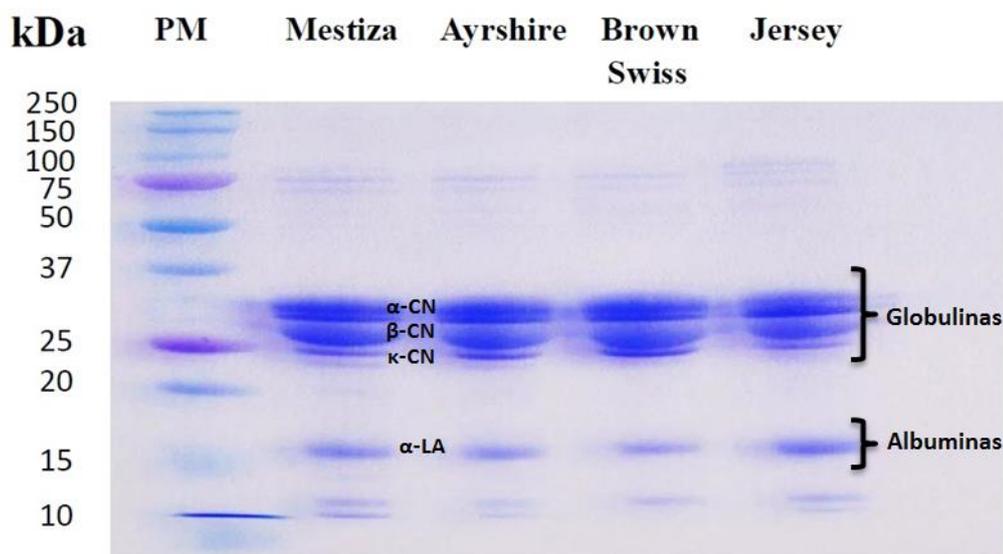
Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

5.4. Caracterización de proteínas aisladas de leche cruda bovina mediante la aplicación de técnicas electroforéticas en gel de poliacrilamida en presencia de (SDS-PAGE)

Las proteínas aisladas fueron obtenidas mediante precipitación isoelectrica a pH 4,6 y fue analizado a una concentración de 10 mg/mL.

El gel debe leer de izquierda a derecha guiándose por el tipo de muestra y con su peso molecular KiloDalton (kDa) leyendo el gel de arriba hacia abajo, comparando siempre la muestra con el estándar de proteínas (PM) empleado (Quinteros 2016). En los geles obtenidos se observa la presencia de bandas similares de proteínas. Estas bandas permiten deducir la existencia de proteínas que se caracterizaron por presentar péptidos; se identificó globulinas como: caseínas de peso molecular entre 25-37 kDa y además se logró identificar albuminas como: α -lactoalbuminas (α LA) de peso molecular de 15 kDa.

Figura 1. Caracterización electroforética SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2- β -mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina



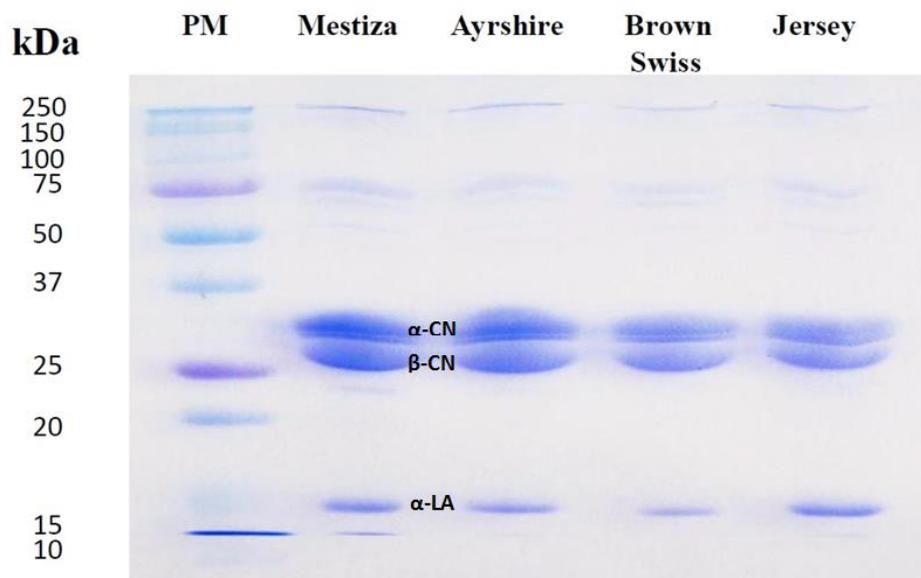
Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 1. Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2- β -mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza, Ayrshire, Brown Swiss y Jersey, respectivamente).

Se puede observar que los pesos moleculares de las distintas caseínas encontradas en esta investigación coinciden con los valores mencionados por (Guzmán 2016) en donde la α -caseína (α CN), β -caseína (β -CN) tienen un peso molecular en el rango 27-32 kDa, la κ -caseína (κ -CN) tiene un peso molecular de 21-26 kDa y α -lactoalbuminas (α -LA) tiene un peso molecular de 15 kDa.

Figura 2. Caracterización electroforética SDS-PAGE en ausencia del agente reductor 2- β -mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

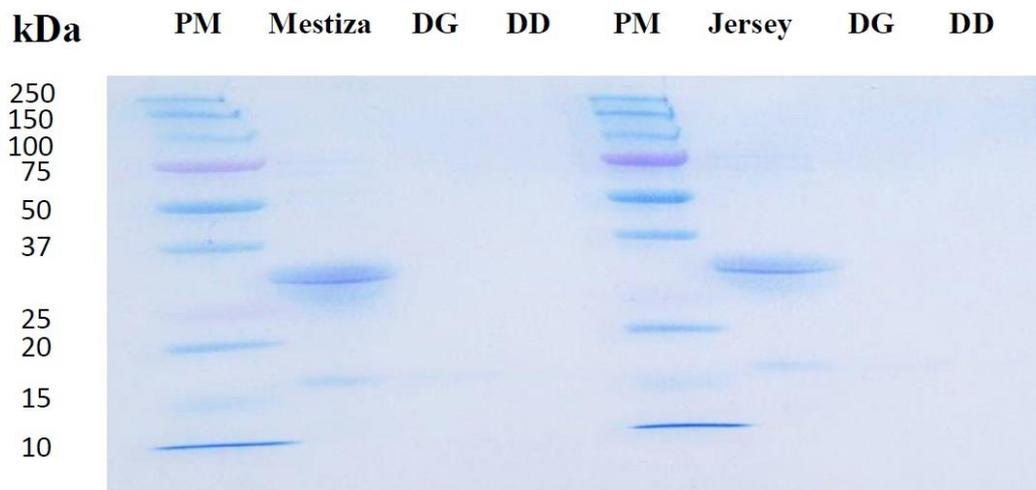
Figura 2. Electroforesis SDS-PAGE en ausencia del agente reductor 2- β -mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche cruda bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza, Ayrshire, Brown Swiss y Jersey, respectivamente).

Se puede observar que los pesos moleculares de las distintas caseínas encontradas en esta investigación coinciden con los valores mencionados por (Lapeña y Hierro 2018), en donde la α -caseína (α CN), β -caseína (β -CN) tienen un peso molecular en el rango 27-32 kDa y la α -lactoalbuminas (α -LA) tiene un peso molecular de 15 kDa.

5.5. Estudio de la digestibilidad gastrointestinal (*in vitro*) de proteínas aisladas de leche cruda bovina

Simulando las condiciones fisiológicas humanas (enzimas, temperatura, relación enzima/sustrato, movimiento, sales biliares, etc) menciona (Quinteros 2016). Las proteínas fueron sometidas a una fase que simuló la digestión gástrica (DG) con pepsina y una fase digestión duodenal (DG) con pancreatina la cual se simuló en dos etapas con la mezcla de pepsina y pancreatina.

Figura 3. Hidrolizados de proteínas aisladas de leche cruda bovina de las Razas: Mestiza y Jersey; llevados a digestión gástrica y duodenal (*in vitro*), analizados por la técnica de electroforesis (SDS-PAGE)



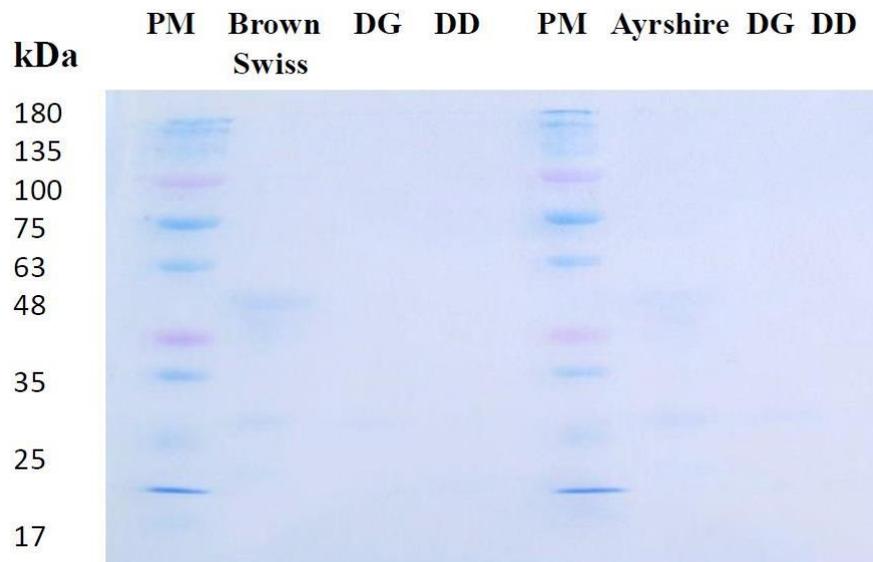
Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 3. Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas e hidrolizadas (*in vitro*) de leche cruda bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza y Jersey) obtenidas mediante precipitación isoelectrica a pH 4,6; fue analizado a una concentración de 10 mg/mL.

Las simulaciones gástricas y duodenales demostraron que las proteínas fueron completamente digeridas al no mostrar en las bandas la presencia de algún tipo de proteína.

Figura 4. Hidrolizados de proteínas aisladas de leche cruda bovina de las Razas: Brown Swiss y Ayrshire; llevados a digestión gástrica y duodenal (*in vitro*), analizados por la técnica de electroforesis (SDS-PAGE)



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 4. Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas e hidrolizadas (*in vitro*) de leche cruda bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Brown Swiss y Ayrshire) obtenidas mediante precipitación isoeléctrica a pH 4,6; fue analizado a una concentración de 10 mg/mL.

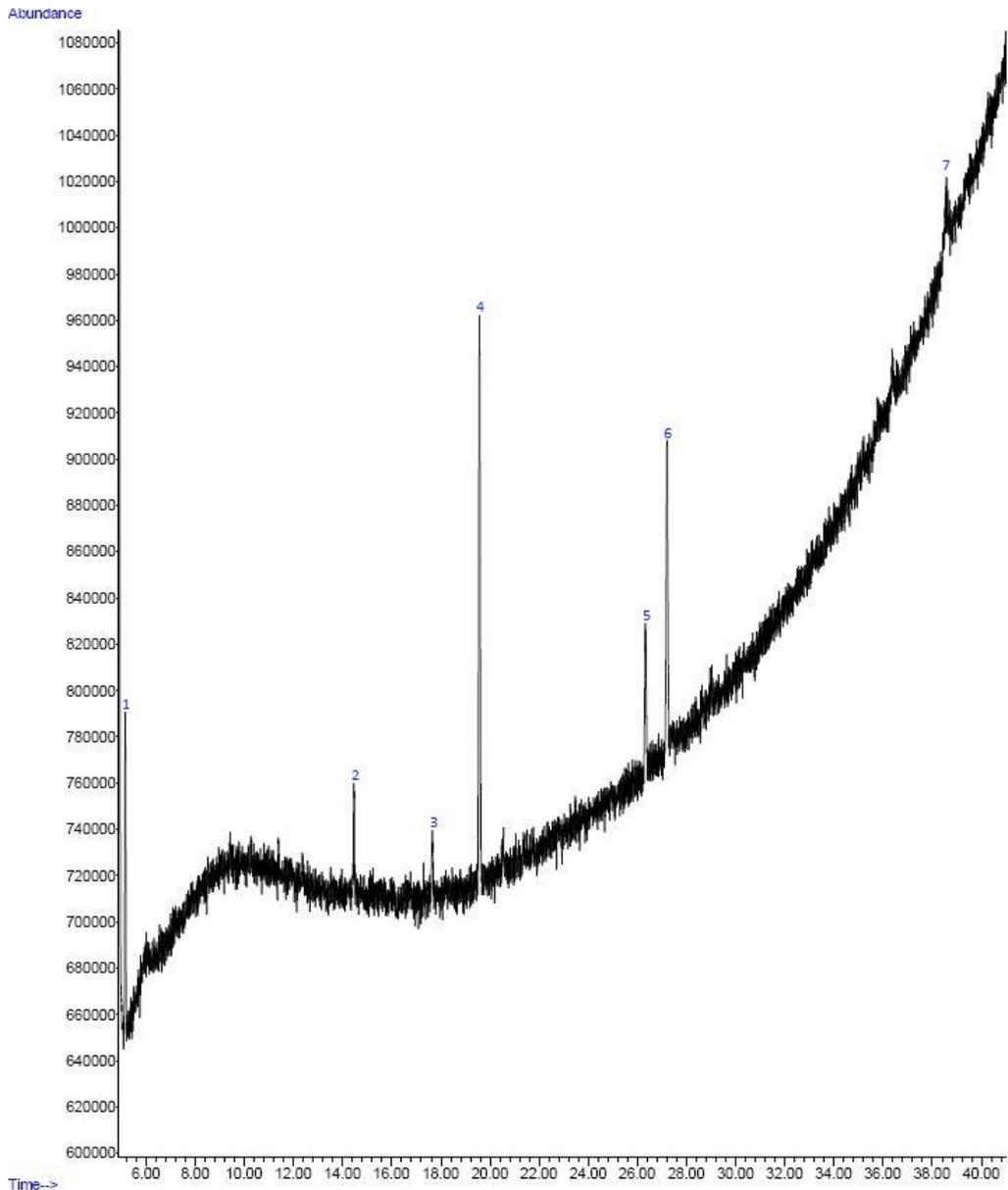
Las simulaciones gástricas y duodenales demostraron que las proteínas fueron completamente digeridas al no mostrar en las bandas la presencia de algún tipo de proteína.

5.6. Identificación del perfil de ácidos grasos en aislados proteicos liofilizados de leche cruda bovina por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC/MSD.

Para la determinación de los ácidos grasos presentes en aislados proteicos liofilizados de leche cruda bovina, se empleó el método de (Carrillo et al. 2017) con modificaciones, mientras que la cuantificación se realizó con base al porcentaje de área de cada pico y el tiempo de retención del cromatograma. Se consideraron los valores promedios de las tres replicas reportándose los mejores cromatogramas, además que se identificó compuestos nuevos encontrados en los

tratamientos cuyos resultados se deben a varios factores que pueden influir en el análisis realizado entre ellos: la raza bovina, la región, la altura, tipo de alimentación entre otros.

Figura 5. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Jersey



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 5. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche cruda bovina Raza Jersey del sector Salinas Provincia Bolívar.

Tabla 14. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Jersey

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,153	C8H16O2	Ácido Butilbórico	15,35±1,395
2	14,458	C15H30O2	Isomiristato de metilo	5,98±1,788
3	17,651	C9H16O4	Ácido azelaico	1,77±1,975
4	19,569	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	39,58±0,822
5	26,326	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	9,15±2,656
6	27,198	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	24,14±1,531
7	38,544	C8H16O8	I-Gala-I-ido-octosa	1,50±1,897

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

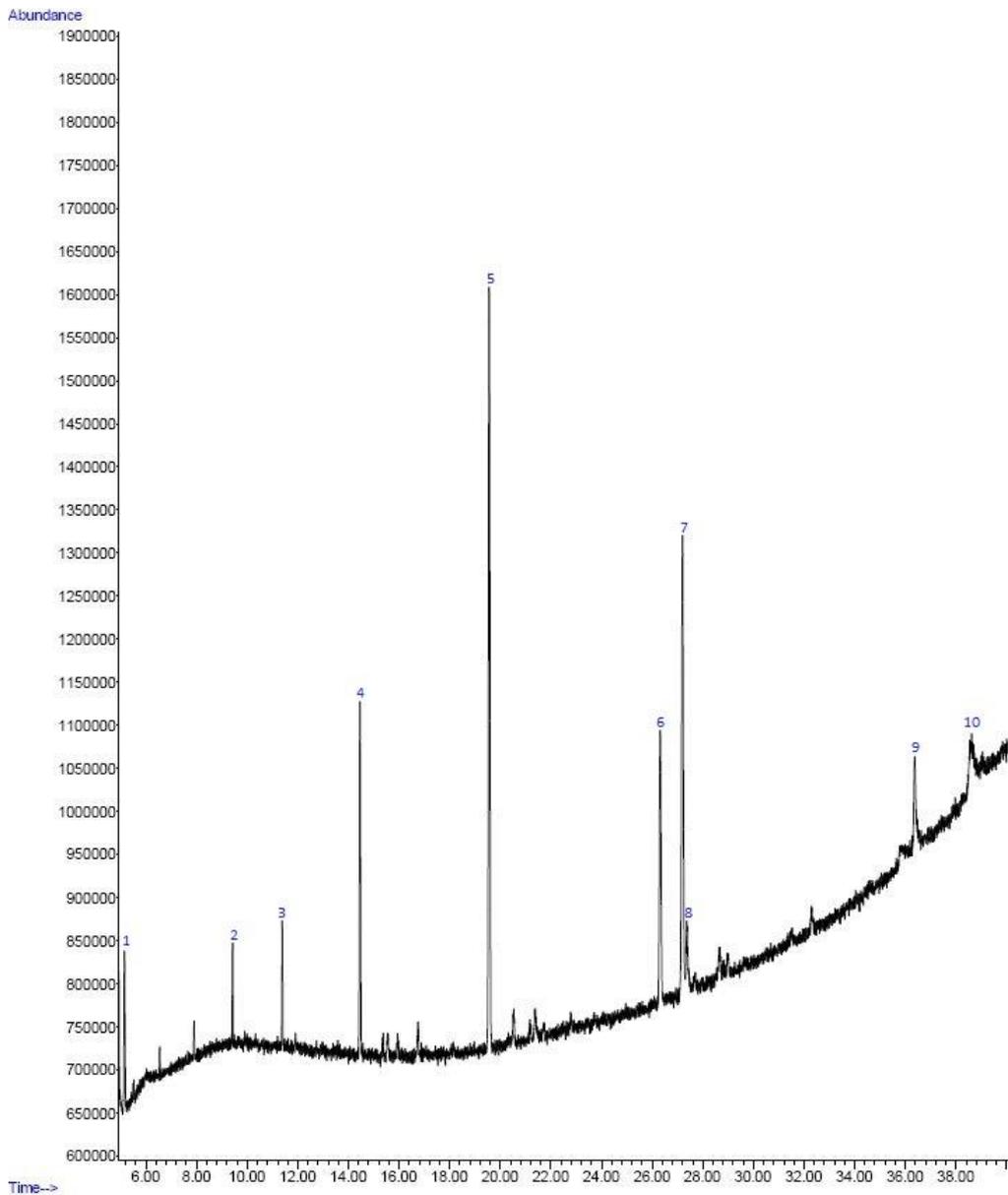
Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Tabla 14. Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido; Cada valor representa la media \pm de la desviación estándar (SD).

Se identificaron 7 compuestos presentes en el Tratamiento 1 (Raza Jersey) de las cuales son los ácidos: (Ácido palmítico, éster metílico; Ácido 13-octadecanoico, éster metílico; Ácido Butilbórico; Ácido esteárico, éster metílico; Isomiristato de metilo; Ácido azelaico; I-Gala-I-ido-octosa) respectivamente desde el más representativo.

En la investigación de (Herrera et al. 2015), menciona los ácidos grasos propios de la leche, los cuales concuerdan a los compuestos obtenidos en aislados proteicos de leche cruda de la Raza Jersey. Aquellos compuestos que no coinciden con bibliografía fueron denominados como compuestos nuevos.

Figura 6. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Brown Swiss



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 6. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche cruda bovina Raza Brown Swiss del sector Salinas Provincia Bolívar.

Tabla 15. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Brown Swiss

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,152	C4H11BO2	Ácido Butilbórico	4,95±0,231
2	9,423	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	2,05±0,064
3	11,388	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	3,11±0,064
4	14,458	C15H30O2	Isomiristato de metilo	11,53±0,201
5	19,564	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	33,10±0,676
6	26,315	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	13,86±0,194
7	27,196	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	23,60±0,421
8	27,373	C18H34O2	Ácido trans-oleico	1,87±0,544
9	36,370	C14H28O2	Ácido mirístico	4,77±0,755
10	38,549	C8H16O8	I-Gala-I-ido-octosa	0,11±0,127

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

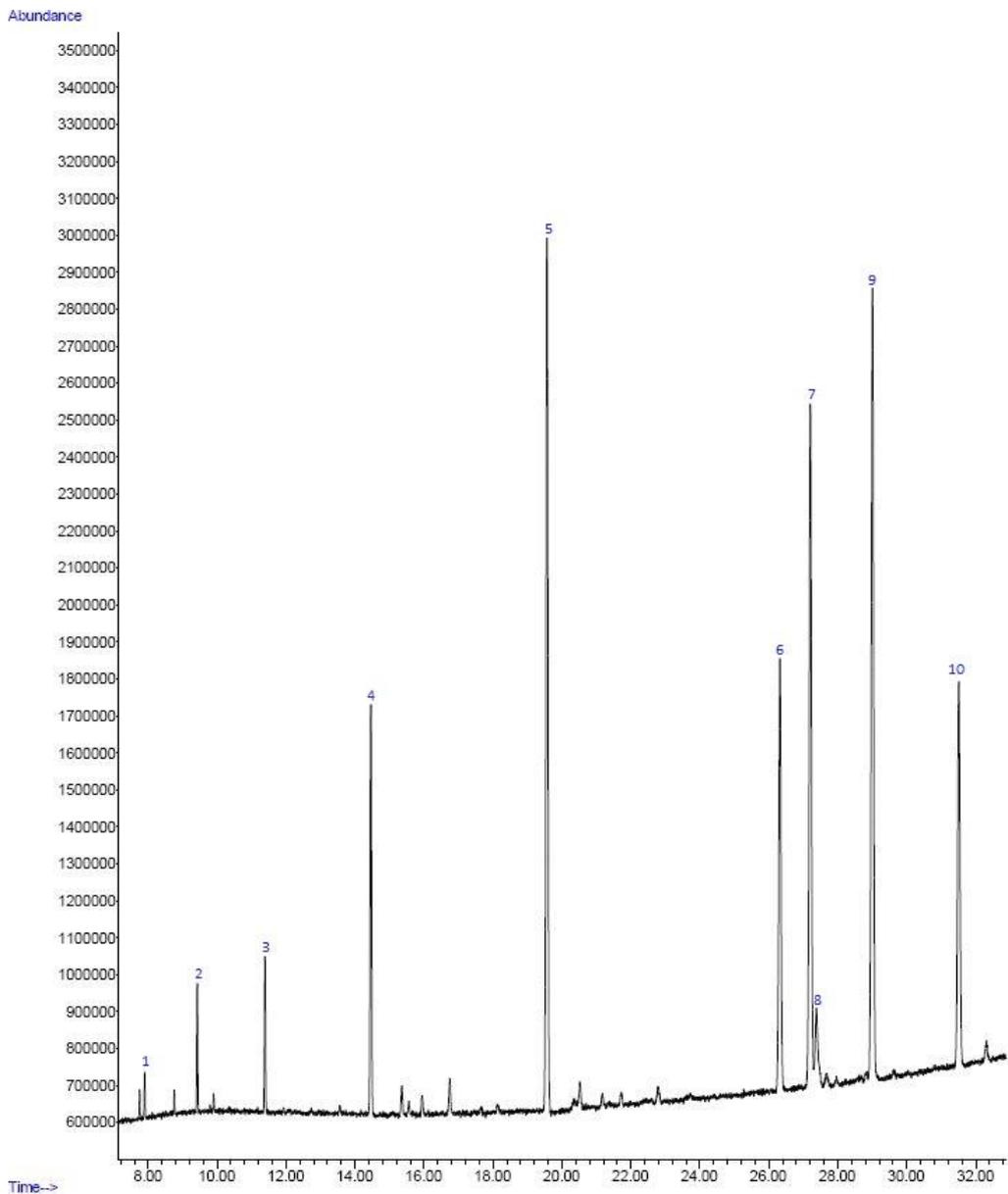
Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Tabla 15. Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido; Cada valor representa la media \pm de la desviación estándar (SD).

Se identificaron 10 compuestos presentes en el Tratamiento 2 (Raza Brown Swiss) de las cuales los ácidos: (Ácido palmítico, éster metílico; Ácido 13-octadecanoico, éster metílico; Ácido estearico, éster metílico; Isomiristato de metilo; Ácido Butilbórico; Ácido mirístico; Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico; Metil 8-metil-nonanoato; Ácido trans-oleico; I-Gala-I-ido-octosa) respectivamente desde el más representativo.

En la investigación de (Prieto y Mahecha 2017), menciona los ácidos grasos propios de la leche, los cuales concuerdan a los compuestos obtenidos en aislados proteicos de leche cruda de la Raza Brown Swiss. Aquellos compuestos que no coinciden con bibliografía fueron denominados como compuestos nuevos.

Figura 7. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Ayrshire



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 7. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche cruda bovina Raza Ayrshire del sector Salinas Provincia Bolívar.

Tabla 16. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Ayrshire

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula Química	Compuesto	Área (%)
1	7,900	C8H16O2	2 – Ácido metilheptanoico	0,51±0,025
2	9,425	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	1,50±0,085
3	11,392	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	2,10±0,095
4	14,465	C15H30O2	Isomiristato de metilo	7,58±0,125
5	19,577	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	21,25±0,366
6	26,332	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	11,79±0,299
7	27,212	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	19,14±0,097
8	27,387	C18H34O2	Ácido trans-oleico	1,60±1,454
9	29,014	C19H34O2	Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato	23,01±0,411
10	31,519	C20H24O2	Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato	11,70±0,381

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

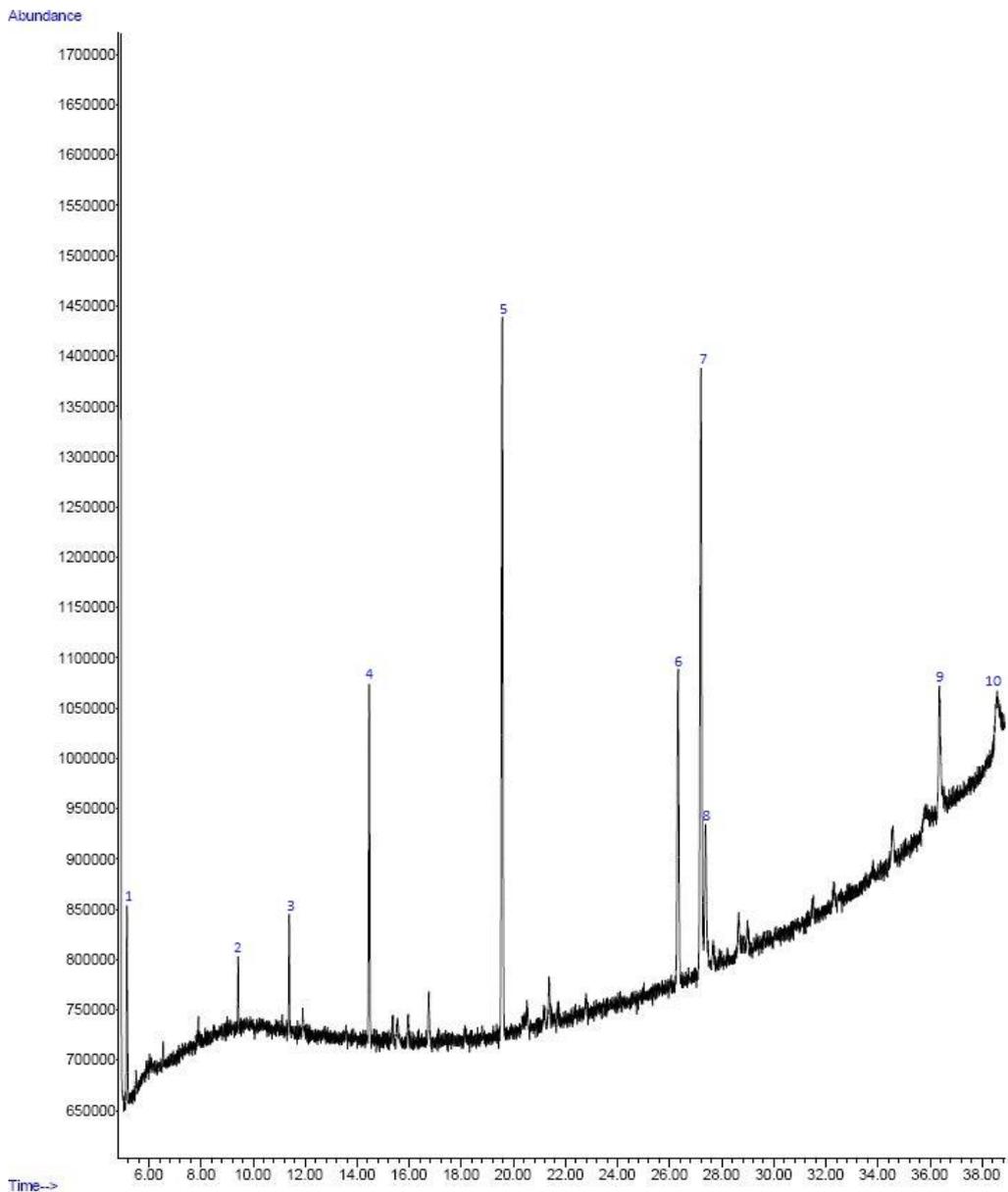
Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Tabla 16. Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido; Cada valor representa la media \pm de la desviación estándar (SD).

Se identificaron 10 compuestos presentes en el Tratamiento 3 (Raza Ayrshire) de las cuales los ácidos: (Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato; Ácido palmítico, éster metílico; Ácido 13-octadecanoico, éster metílico; Ácido estearico, éster metílico; Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato; Isomiristato de metilo; Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico; Ácido trans-oleico; Metil 8-metil-nonanoato; 2 – Ácido metilheptanoico) respectivamente desde el más representativo.

En la investigación de (Ortega et al. 2013), menciona los ácidos grasos propios de la leche, los cuales concuerdan a los compuestos obtenidos en aislados proteicos de leche cruda de la Raza Ayrshire. Aquellos compuestos que no coinciden con bibliografía fueron denominados como compuestos nuevos.

Figura 8. Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Mestiza



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Figura 8. Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche cruda bovina Raza Mestiza del sector Salinas Provincia Bolívar.

Tabla 17. Ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de la Raza Mestiza

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,153	C8H16O2	Ácido Butilbórico	5,08±0,236
2	9,424	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	1,42±0,140
3	11,388	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil, éster metílico	2,49±0,257
4	14,459	C15H30O2	Isomiristato de metilo	10,11±0,356
5	19,568	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	26,76±0,920
6	26,323	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	13,80±0,363
7	27,199	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	27,07±0,630
8	27,381	C18H34O2	Ácido trans-oleico	5,33±0,550
9	36,362	C14H28O2	Ácido mirístico	6,07±0,072
10	38,620	C8H16O8	I-Gala-I-ido-octosa	0,93±1,025

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Fuente: Laboratorio del Departamento de Investigación, UEB

Tabla 17. Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido; Cada valor representa la media \pm de la desviación estándar (SD).

Se identificaron 10 compuestos presentes en el Tratamiento 4 (Raza Mestiza) de las cuales los ácidos: (Ácido 13-octadecanoico, éster metílico; Ácido palmítico, éster metílico; Ácido estearico, éster metílico; Isomiristato de metilo; Ácido mirístico; Ácido trans-oleico; Ácido Butilbórico; Ácido undecanoico, 10-metil, éster metílico; Metil 8-metil-nonanoato; I-Gala-I-ido-octosa) respectivamente desde el más representativo.

En la investigación de (Schettino et al. 2011), menciona los ácidos grasos propios de la leche, los cuales concuerdan a los compuestos obtenidos en aislados proteicos de leche cruda de la Raza Mestiza. Aquellos compuestos que no coinciden con bibliografía fueron denominados como compuestos nuevos.

5.7. Cuantificación de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina

La cuantificación se realizó con base al porcentaje de área de cada pico y la identificación de acuerdo al tiempo de retención del cromatograma.

Tabla 18. Análisis de varianza del Ácido Butilbórico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	374,813	3	124,938	306,49	0,0000**
Replica	1,66355	2	0,831775	2,04	0,2108 <i>ns</i>
Error Experimental	2,44585	6	0,407642		
Total	378,922	11			
CV %	10,06				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido Butilbórico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 18, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido Butilbórico con un 95,0% de nivel de confianza.

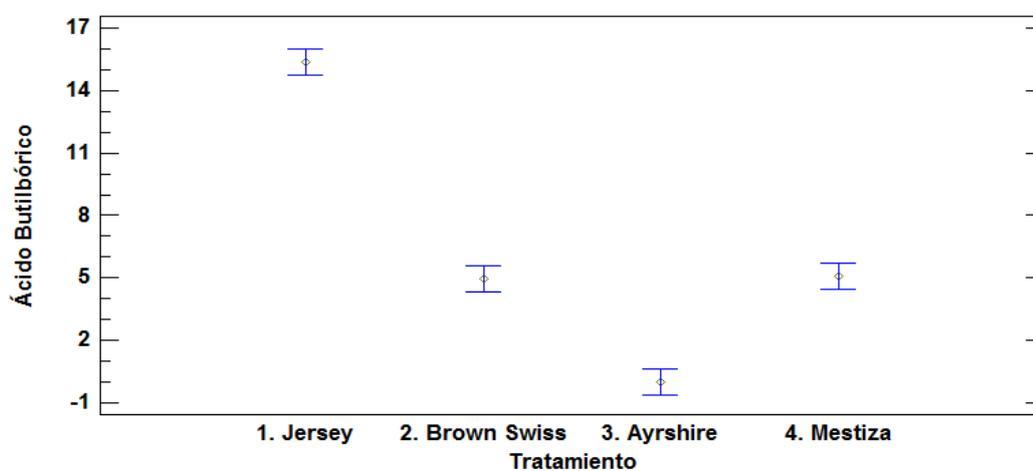
Tabla 19. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido Butilbórico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
1.Jersey	15,35	A
4.Mestiza	5,08	B
2.Brown Swiss	4,95	B
3.Ayrshire	0,00	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido Butilbórico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el Tratamiento 1 que corresponde a la Raza Jersey ha alcanzado el contenido de Ácido Butilbórico más alto con una valoración de 15,35 mencionado en la Tabla 19.

Gráfico 3. Medias de los Tratamientos del Ácido Butilbórico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 20. Análisis de varianza del 2 – Ácido metilheptanoico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	0,5929	3	0,197633	1248,21	0,0000**
Replica	0,000317	2	0,000158	1	0,4219ns
Error Experimental	0,00095	6	0,000158		
Total	0,594167	11			
CV %	9,80				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del 2 – Ácido metilheptanoico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 20, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el 2 – Ácido metilheptanoico con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 21. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del 2 – Ácido metilheptanoico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
3.Ayrshire	0,51	A
2.Brown Swiss	0,00	B
1.Jersey	0.00	B
4.Mestiza	0,00	B

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del 2 – Ácido metilheptanoico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose dos grupo (A y B). De los cuales el Tratamiento 3 que corresponde a la Raza Ayrshire ha alcanzado el contenido de 2 – Ácido metilheptanoico más alto con una valoración de 0,51 mencionado en la Tabla 21.

Gráfico 4. Medias de los Tratamientos del 2 – Ácido metilheptanoico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 22. Análisis de varianza del Metil 8-metil-nonanoato de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	6,86136	3	2,28712	292,49	0,0000**
Replica	0,015417	2	0,007708	0,99	0,4264 <i>ns</i>
Error Experimental	0,046917	6	0,007819		
Total	6,92369	11			
CV %	7,13				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Metil 8-metil-nonanoato para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 22, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Metil 8-metil-nonanoato con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 23. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Metil 8-metil-nonanoato

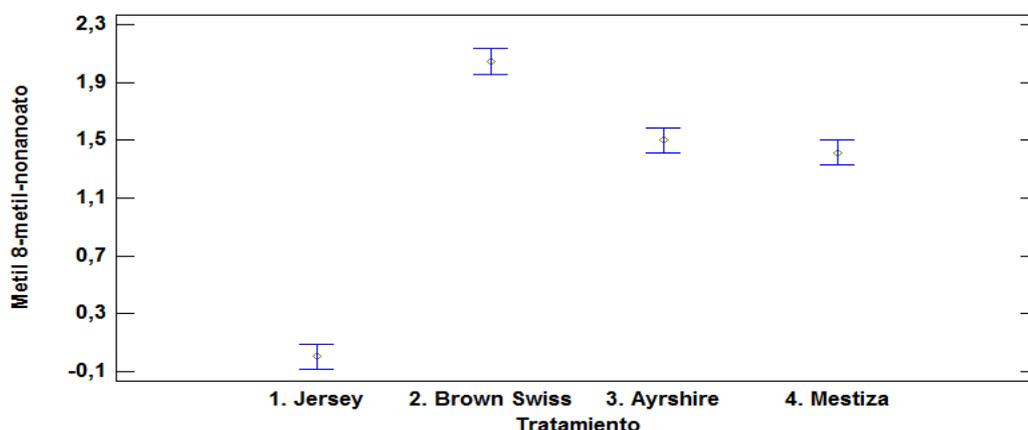
Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
2.Brown Swiss	2,05	A
3.Ayrshire	1,50	B
4.Mestiza	1,42	B
1.Jersey	0,00	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Metil 8-metil-nonanoato, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el Tratamiento 2 que corresponde a la Brown Swiss ha alcanzado el contenido de Metil 8-metil-

nonanoato más alto con una valoración de 2,05 mencionado en la Tabla 23.

Gráfico 5. Medias de los Tratamientos del Metil 8-metil-nonanoato



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 24. Análisis de varianza del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	16,3406	3	5,44687	254,23	0,0000**
Replica	0,02945	2	0,014725	0,69	0,5386 <i>ns</i>
Error Experimental	0,12855	6	0,021425		
Total	16,4986	11			
CV %	7,61				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 24, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico con un 95,0% de nivel de confianza.

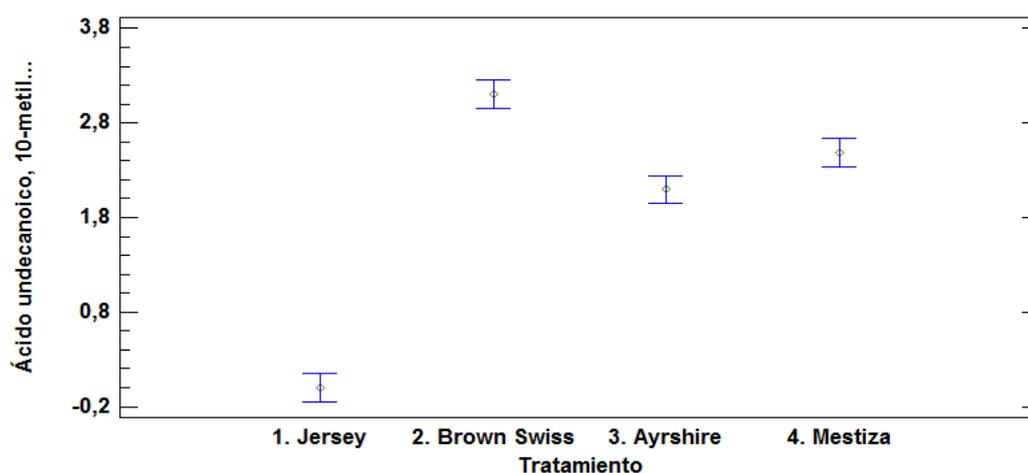
Tabla 25. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
2.Brown Swiss	3,11	A
4.Mestiza	2,49	B
3.Ayrshire	2,10	B
1.Jersey	0,00	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el Tratamiento 2 que corresponde a la Raza Brown Swiss ha alcanzado el contenido de Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico más alto con una valoración de 3,11 mencionado en la Tabla 25.

Gráfico 6. Medias de los Tratamientos del Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 26. Análisis de varianza del Isomiristato de metilo de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	55,7767	3	18,5922	19,55	0,0017**
Replica	1,05422	2	0,527108	0,55	0,6013 ns
Error Experimental	5,70538	6	0,950897		
Total	62,5363	11			
CV %	11,08				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

****:** Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Isomiristato de metilo para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 26, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Isomiristato de metilo con un 95,0% de nivel de confianza.

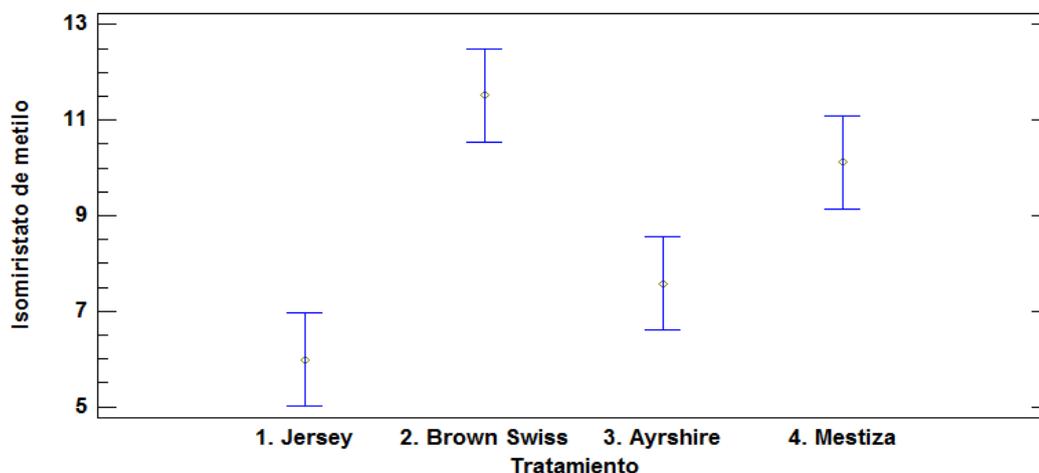
Tabla 27. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Isomiristato de metilo

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
2.Brown Swiss	11,53	A
4.Mestiza	10,11	A B
3.Ayrshire	7,58	B C
1.Jersey	5,98	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Isomiristato de metilo, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el Tratamiento 2 que corresponde a la Raza Brown Swiss ha alcanzado el contenido de Isomiristato de metilo más alto con una valoración de 11,53 mencionado en la Tabla 27.

Gráfico 7. Medias de los Tratamientos del Isomiristato de metilo



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 28. Análisis de varianza del Ácido azelaico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	7,04903	3	2,34968	2,41	0,1654 ns
Replica	1,94985	2	0,974925	1	0,4219 ns
Error Experimental	5,84955	6	0,974925		
Total	14,8484	11			
CV %	223,14				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

ns: Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido azelaico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 28, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); no existe una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido azelaico con un 95,0% de nivel de confianza.

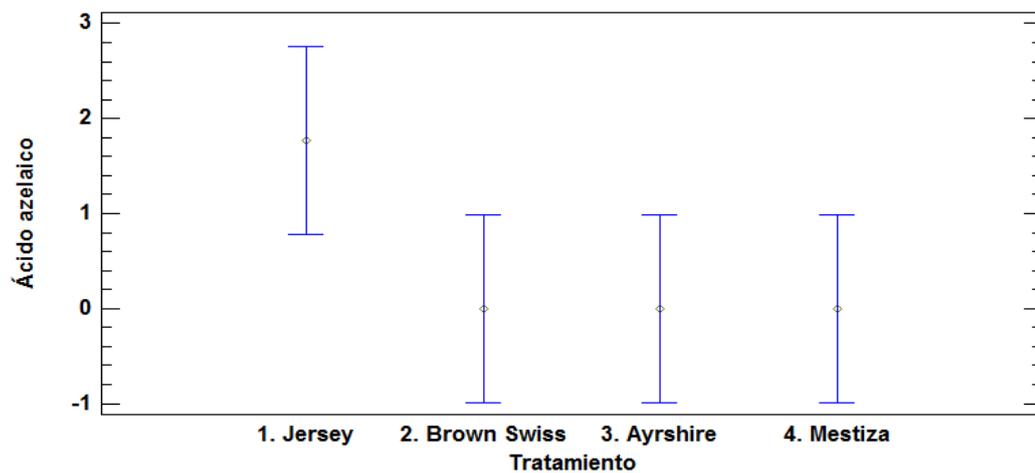
Tabla 29. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido azelaico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
1.Jersey	1,77	A
3.Ayrshire	0,00	A
4.Mestiza	0,00	A
2.Brown Swiss	0,00	A

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido azelaico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose un grupo (A). Del cual el Tratamiento 1 que corresponde a la Raza Jersey ha alcanzado el contenido de Ácido azelaico más alto con una valoración de 1,77 mencionado en la Tabla 29.

Gráfico 8. Medias de los Tratamientos del Ácido azelaico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 30. Análisis de varianza del Ácido palmítico, éster metílico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	565,102	3	188,367	497,75	0,0000**
Replica	1,95712	2	0,978558	2,59	0,1549 ns
Error Experimental	2,27062	6	0,378436		
Total	569,33	11			
CV %	2,04				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

****:** Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido palmítico, éster metílico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 30, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido palmítico, éster metílico con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 31. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido palmítico, éster metílico

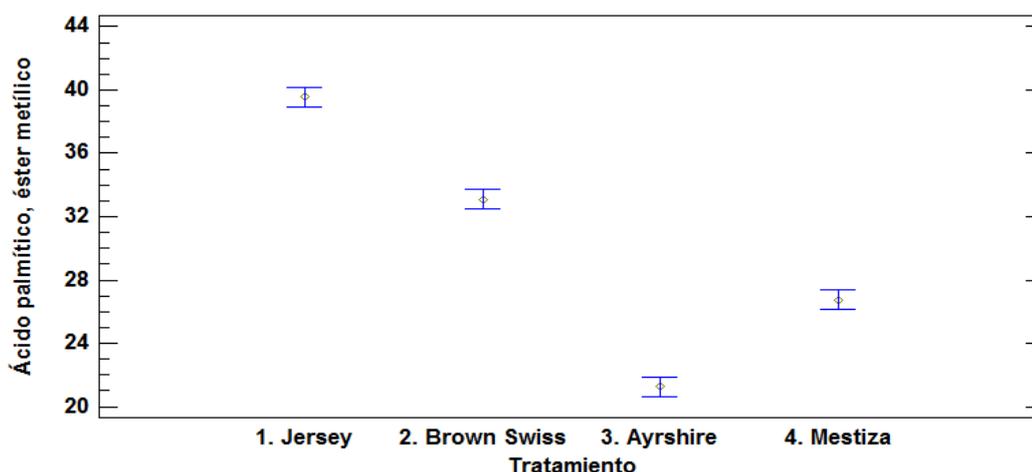
Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
1.Jersey	39,58	A
2.Brown Swiss	33,10	B
4.Mestiza	26,76	C
3.Ayrshire	21,25	D

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido palmítico, éster metílico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose cuatro grupos (A, B, C y D). De los cuales el Tratamiento 1 que corresponde a la Raza Jersey ha alcanzado el contenido de

Ácido palmítico, éster metílico más alto con una valoración de 39,58 mencionado en la Tabla 31.

Gráfico 9. Medias de los Tratamientos del Ácido palmítico, éster metílico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 32. Análisis de varianza del Ácido estearico, éster metílico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	44,3628	3	14,7876	8,41	0,0143*
Replica	4,07222	2	2,03611	1,16	0,3756ns
Error Experimental	10,5487	6	1,75811		
Total	58,9837	11			
CV %	10,91				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

*: Diferencia estadística significativa

ns: Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido estearico, éster metílico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 32, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el

Ácido estearico, éster metílico con un 95,0% de nivel de confianza.

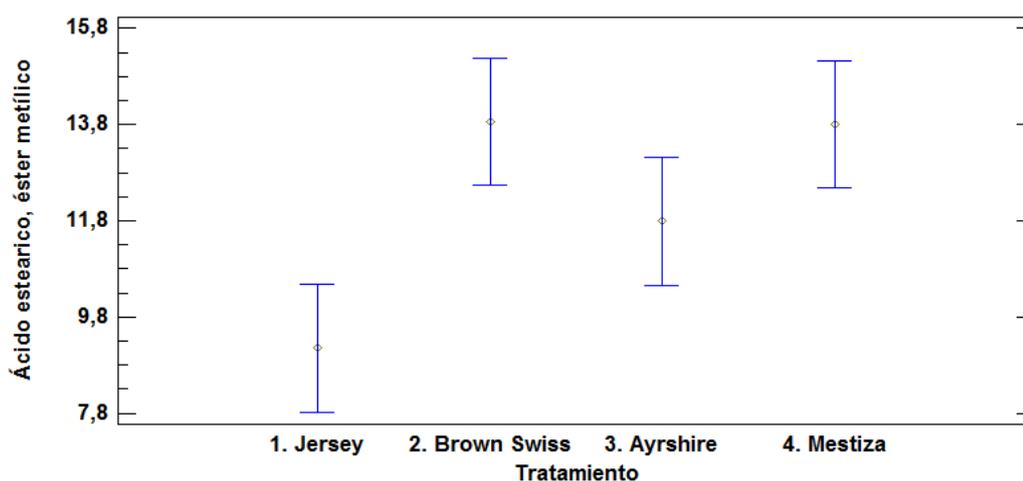
Tabla 33. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido estearico, éster metílico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
2.Brown Swiss	13,86	A
4.Mestiza	13,80	A
3.Ayrshire	11,79	A B
1.Jersey	9,15	B

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido estearico, éster metílico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose dos grupos (A y B). De los cuales el Tratamiento 2 que corresponde a la Brown Swiss ha alcanzado el contenido de Ácido estearico, éster metílico más alto con una valoración de 13,86 mencionado en la Tabla 33.

Gráfico 10. Medias de los Tratamientos del Ácido estearico, éster metílico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 34. Análisis de varianza del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	96,5466	3	32,1822	62,43	0,0001**
Replica	2,76292	2	1,38146	2,68	0,1473ns
Error Experimental	3,09295	6	0,515492		
Total	102,402	11			
CV %	3,06				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 34, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido 13-octadecanoico, éster metílico con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 35. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico

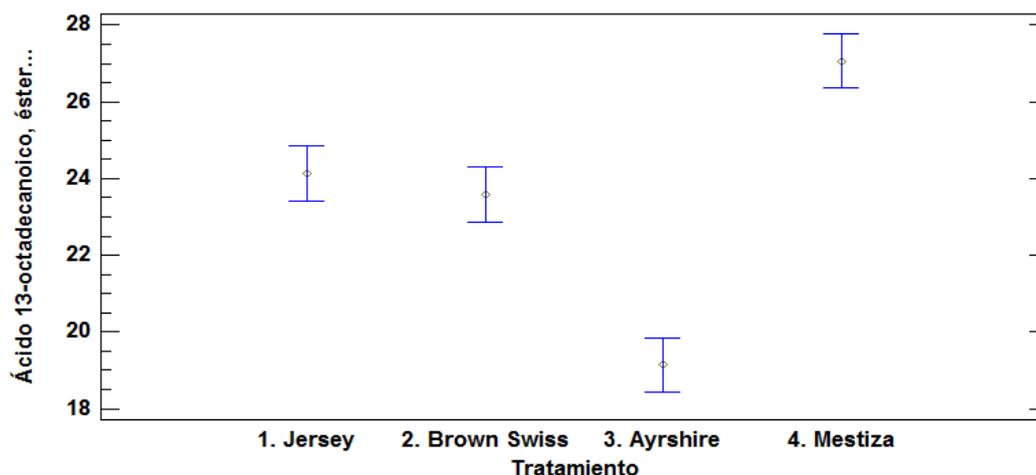
Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
4.Mestiza	27,07	A
1.Jersey	24,14	B
2.Brown Swiss	23,60	B
3.Ayrshire	19,14	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el

Tratamiento 4 que corresponde a la Raza Mestiza ha alcanzado el contenido de Ácido 13-octadecanoico, éster metílico más alto con una valoración de 27,07 mencionado en la Tabla 35.

Gráfico 11. Medias de los Tratamientos del Ácido 13-octadecanoico, éster metílico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 36. Análisis de varianza del Ácido trans-oleico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	45,38	3	15,1267	19,75	0,0016**
Replica	0,829617	2	0,414808	0,54	0,6078 <i>ns</i>
Error Experimental	4,59465	6	0,765775		
Total	50,8043	11			
CV %	39,76				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido trans-oleico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 36, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa

($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido trans-oleico con un 95,0% de nivel de confianza.

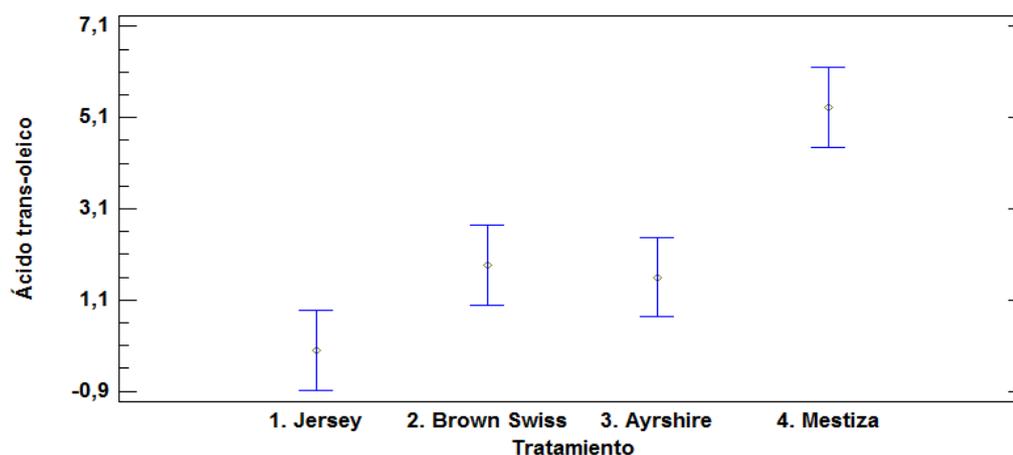
Tabla 37. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tukey del Ácido trans-oleico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
4.Mestiza	5,33	A
2.Brown Swiss	1,87	B
3.Ayrshire	1,60	B
1.Jersey	0,00	B

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido trans-oleico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose dos grupos (A y B). De los cuales el Tratamiento 4 que corresponde a la Raza Mestiza ha alcanzado el contenido de Ácido trans-oleico más alto con una valoración de 5,33 mencionado en la Tabla 37.

Gráfico 12. Medias de los Tratamientos del Ácido trans-oleico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 38. Análisis de varianza del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	1191,63	3	397,21	9405,13	0,0000**
Replica	0,084467	2	0,042233	1	0,4219ns
Error Experimental	0,2534	6	0,042233		
Total	1191,97	11			
CV %	3,57				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 38, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 39. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
3.Ayrshire	23,01	A
2.Brown Swiss	0,00	B
1.Jersey	0,00	B
4.Mestiza	0,00	B

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose dos grupos (A y B). De los cuales el

Tratamiento 3 que corresponde a la Raza Ayrshire ha alcanzado el contenido de Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato más alto con una valoración de 23,01 mencionado en la Tabla 39.

Gráfico 13. Medias de los Tratamientos del Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 40. Análisis de varianza del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	307,827	3	102,609	2829,94	0,0000**
Replica	0,072517	2	0,036258	1	0,4219 ns
Error Experimental	0,21755	6	0,036258		
Total	308,117	11			
CV %	6,51				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

** : Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del 9, 12, 15-octadecatrienoato para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 40, se

comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el 9, 12, 15-octadecatrienoato con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 41. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
3.Ayrshire	11,70	A
4.Mestiza	0,00	B
2.Brown Swiss	0,00	B
1.Jersey	0,00	B

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose dos grupos (A y B). De los cuales el Tratamiento 3 que corresponde a la Raza Ayrshire ha alcanzado el contenido de 9, 12, 15-octadecatrienoato más alto con una valoración de 11,70 mencionado en la Tabla 41.

Gráfico 14. Medias de los Tratamientos del Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 42. Análisis de varianza del Ácido mirístico de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Tratamiento	90,6642	3	30,2214	201,64	0,0000**
Replica	0,25055	2	0,125275	0,84	0,4784 ns
Error Experimental	0,89925	6	0,149875		
Total	91,814	11			
CV %	14,29				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

****:** Diferencia estadística altamente significativa

ns : Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del Ácido mirístico para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 42, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); existe una diferencia estadística altamente significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el Ácido mirístico con un 95,0% de nivel de confianza.

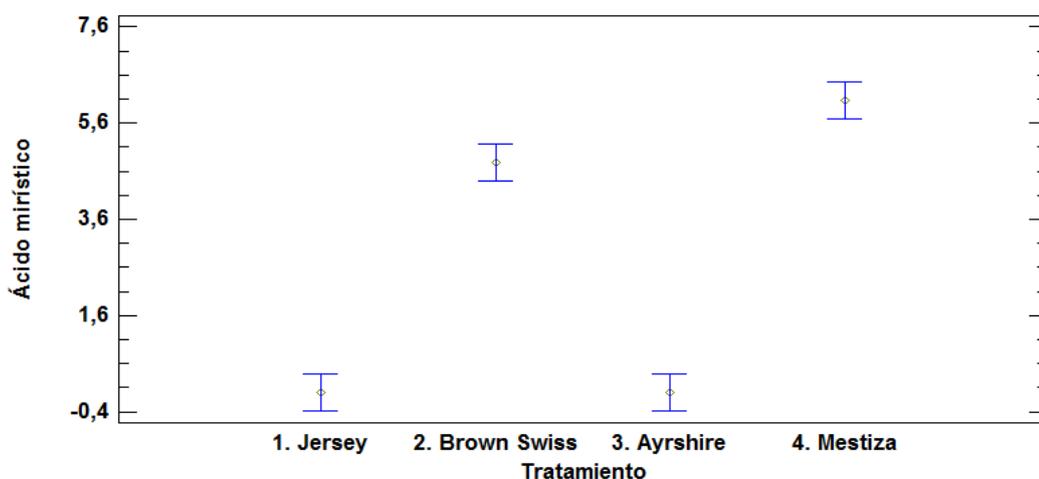
Tabla 43. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del Ácido mirístico

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
4.Mestiza	6,07	A
2.Brown Swiss	4,77	B
3.Ayrshire	0,00	C
1.Jersey	0,00	C

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del Ácido mirístico, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose tres grupos (A, B y C). De los cuales el Tratamiento 4 que corresponde a la Raza Mestiza ha alcanzado el contenido de Ácido mirístico más alto con una valoración de 6,07 mencionado en la Tabla 43.

Gráfico 15. Medias de los Tratamientos del Ácido mirístico



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 44. Análisis de varianza del I-Gala-I-ido-octosa de los ácidos grasos

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- <i>p</i>
Tratamiento	4,51457	3	1,50486	0,99	0,458 ns
Replica	0,46865	2	0,234325	0,15	0,8603 ns
Error Experimental	9,10848	6	1,51808		
Total	14,0917	11			
CV%	194,03				

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

ns: Diferencia estadística no significativa

Tras el análisis de varianza mediante una Tabla ANOVA del I-Gala-I-ido-octosa para la variable ácidos grasos obtenidas en la Tabla 44, se comprueba que en el Tratamiento (Razas); no existe una diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), el cual tiene un efecto estadístico significativo sobre el I-Gala-I-ido-octosa con un 95,0% de nivel de confianza.

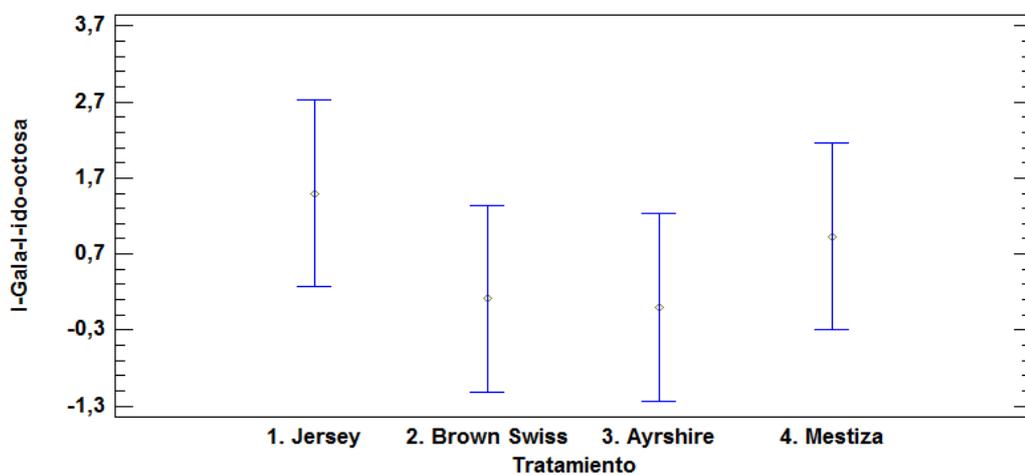
Tabla 45. Comparación de medias en el Tratamiento mediante Tuckey del I-Gala-I-ido-octosa

Tratamiento	Medias	Grupos Homogéneos
1.Jersey	1,50	A
4.Mestiza	0,93	A
2.Brown Swiss	0,11	A
3.Ayrshire	0,00	A

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Al comparar las medias obtenidas tras la evaluación del I-Gala-I-ido-octosa, se observa los rangos obtenidos de la prueba de Tukey al 5% de nivel de significancia, determinándose un grupo (A). Del cual el Tratamiento 1 que corresponde a la Raza Jersey ha alcanzado el contenido de I-Gala-I-ido-octosa más alto con una valoración de 1,50 mencionado en la Tabla 45.

Gráfico 16. Medias de los Tratamientos del I-Gala-I-ido-octosa



Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 46. Comparación de medias de ácidos grasos presentes en proteínas aisladas liofilizadas de leche cruda bovina de todos los tratamientos

Ácido graso	Nombres	Área (%)			
		T1	T2	T3	T4
		Jersey	Brown Swiss	Ayrshire	Mestiza
1	Ácido Butilbórico	15,35±1,395	4,95±0,231	0,00	5,08±0,236
2	2 – Ácido metilheptanoico	0,00	0,00	0,51±0,025	0,00
3	Metil 8-metil-nonanoato	0,00	2,05±0,064	1,50±0,085	1,42±0,140
4	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	0,00	3,11±0,064	2,10±0,095	2,49±0,257
5	Isomiristato de metilo	5,98±1,788	11,53±0,201	7,58±0,125	10,11±0,356
6	Ácido azelaico	1,77±1,975	0,00	0,00	0,00
7	Ácido palmítico, éster metílico	39,58±0,822	33,10±0,676	21,25±0,366	26,76±0,920
8	Ácido estearico, éster metílico	9,15±2,656	13,86±0,194	11,79±0,299	13,80±0,363
9	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	24,14±1,531	23,60±0,421	19,14±0,097	27,07±0,630
10	Ácido trans-oleico	0,00	1,87±0,544	1,60±1,454	5,33±0,550
11	Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato	0,00	0,00	23,01±0,411	0,00
12	Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato	0,00	0,00	11,70±0,381	0,00
13	Ácido mirístico	0,00	4,77±0,755	0,00	6,07±0,072
14	I-Gala-I-ido-octosa	1,50±1,897	0,11±0,127	0,00	0,93±1,025

Elaborado por: Arguello & Punina, 2018

Tabla 46. Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido; Cada valor representa la media \pm de la desviación estándar (SD).

En la investigación se identificaron 14 compuestos diferentes entre compuestos propios de la leche, como también de nuevos encontrados en los aislados proteicos; los cuatro tratamientos se diferencian por el tipo y número de compuestos encontrados en su naturaleza.

En el Tabla 46 se da a conocer las medias más altas de acuerdo al porcentaje de área de los ácidos grasos y tratamientos determinaron el Ácido palmítico, éster metílico correspondiente al Tratamiento 1 (Raza Jersey) reporta un 39,58 %, el Ácido 13-octadecanoico, éster metílico correspondiente al Tratamiento 4 (Raza

Mestiza) reporta un 27,07 %, el Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato correspondiente al Tratamiento 3 (Raza Ayrshire) reporta un 23,01 %, el Ácido Butilbórico correspondiente al Tratamiento 1 (Raza Jersey), reporta un 15,35 %, el Ácido estearico, éster metílico correspondiente al Tratamiento 2 (Raza Brown Swiss) reporta un 13,86 %.

CAPITULO VI

6. Comprobación de hipótesis

Las hipótesis de la investigación planteadas fueron

6.1. Hipótesis Nula (Ho) 1: Los aislados proteicos hidrolizados de leche cruda no son digeribles en el tracto gástrico como duodenal.

6.2. Hipótesis Alternativa (Ha) 1: Los aislados proteicos hidrolizados de leche cruda son digeribles en el tracto gástrico como duodenal.

La Hipótesis 1, determinó que los aislados proteicos hidrolizados de leche cruda son digeribles completamente en el tracto gástrico por lo tanto lo fue en el duodenal. Cabe recalcar que en este proceso no hubo análisis estadístico porque los resultados obtenidos son cualitativos, de manera que se acepta la (Ha) y se rechaza la (Ho).

6.3. Hipótesis Nula (Ho) 2: La investigación no muestra la presencia del perfil de ácidos grasos en aislados proteicos de leche cruda provenientes de cuatro razas de bovinas.

6.4. Hipótesis Alternativa (Ha) 2: La investigación muestra la presencia de ácidos grasos en aislados proteicos de leche cruda provenientes de cuatro razas bovinas.

La Hipótesis 2, determinó que la investigación muestra la presencia de ácidos grasos en aislados proteicos de leche cruda provenientes de cuatro razas bovinas. La verificación de la hipótesis se realizó mediante la comparación de los valores de F calculado de cada uno de los compuestos encontrados, dando como resultado 14 componentes de los cuales 12 tienen diferencia significativa, de esta manera se rechaza la (Ho) y se acepta la (Ha).

CAPÍTULO VII

7. Conclusiones y Recomendaciones

7.1. Conclusiones

- Se determinó a través de un análisis en un GC/MSD, 14 compuestos diferentes en el Perfil de Ácidos Grasos variados por cada una de las razas bovinas entre compuestos propios de la leche y componentes nuevos; por otra parte la Digestibilidad (*in vitro*) tanto gástrica como duodenal demuestra que son digeridas completamente, estos fueron a partir de Aislados Proteicos de leche bovina provenientes de la Parroquia Salinas, Provincia Bolívar.
- Se realizó el análisis proximal en muestras de leche cruda bovina del cual se analizó la densidad relativa, la acidez titulable, solidos totales, las cenizas, el contenido de grasa y proteína a partir de los métodos dispuestos en las Normas INEN las cuales determinaron que los valores reportados en la investigación muestran similitudes de los rangos permitidos.
- Se obtuvo mediante precipitación isoeléctrica, aislados proteicos de leche cruda bovina en la cual la raza Ayrshire presento el porcentaje más alto en el contenido de proteína analizado, seguido de raza la Mestiza, Jersey y Brown Swiss respectivamente.
- Se caracterizó la proteína aislada de leche cruda de las 4 razas bovinas mediante la aplicación de electroforesis (SDS-PAGE); proporcionando como resultado en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol el contenido de globulinas en composición de (α-CN), (β-CN) que tienen un peso molecular en el rango 27-32 kDa y (κ-CN) que tiene un peso molecular de 21-26 kDa, asimismo del contenido de albuminas en composición de (α-LA) la cual tiene un peso molecular de 15 kDa. Por otra parte en ausencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol presenta una diferenciación al o poseer la globulina (κ-CN).
- La evaluación de la digestibilidad gastrointestinal (*in vitro*) en aislados proteicos liofilizados provenientes de las razas bovinas investigadas;

demuestran que las simulaciones realizadas a condiciones de una persona adulta, fueron digeridas completamente en el tracto gástrico consecuentemente lo hubo en el tracto duodenal.

- Se identificaron 14 componentes entre ácidos grasos y ésteres metílicos en aislados proteicos procedentes de leche cruda bovina mediante GC/MSD. La cuantificación se realizó con base al porcentaje de área y el tiempo de retención de cada pico, los mismos que son representados en el perfil (cromatograma); como resultados obtenidos se encuentran compuestos nuevos y propios de la leche los cuales son: (Ácido Butilbórico), (2 – Ácido metilheptanoico), (Metil 8-metil-nonanoato), (Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico), (Isomiristato de metilo), (Ácido azelaico), (Ácido palmítico, éster metílico), (Ácido estearico, éster metílico), (Ácido 13-octadecanoico, éster metílico), (Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato), (Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato), (Ácido mirístico) y (I-Gala-I-ido-octosa). Los cuatro tratamientos investigados se diferencian por el tipo y número de compuestos reportados de acuerdo a su naturaleza; dentro de los factores que influyen pueden ser: la raza bovina, la región, la altura, tipo de alimentación entre otros.

7.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios en leche cruda de otras razas bovinas pertenecientes a la misma zona y también de otras localidades.
- Se recomienda realizar estudios en el sobrenadante de los aislados proteicos ya que se trabajó solo con el precipitado en esta investigación.
- Se recomienda evaluar la digestión gastrointestinal *in vitro* simulando a diferentes edades, por que el estudio solo fue simulado hacia una persona adulta.
- Se recomienda evaluar de la digestión gastrointestinal, *in vivo* para así respaldar más la investigación.
- Se recomienda seguir con el estudio de digestibilidad por cromatografía HPLC.
- Se recomienda realizar estudios de los ácidos grasos en leche cruda como tal de las razas investigadas, ya que por motivo en costos de investigación no se logró realizarlos y solo se trabajó con aislados proteicos.
- Se recomienda producción y aplicación de los aislados proteicos.

BIBLIOGRAFÍA

Asociación de la raza Brown Swiss del Ecuador. (2015). Raza Brown Swiss. s.l., s.e.

Asociación Raza Jersey del Ecuador. (2015). Raza Jersey. s.l., s.e.

Baro de la Fuente, J. 2016. Perfil de Ácidos Grasos (en línea). Universidad de Valladolid 2(4):e000092. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000092>.

Benítez, Ri; Ibarz, A; Pagan, J. 2008. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. Química Biológica :2.

Calderón, N. 2016. Cromatografía de AGV y Células Somáticas como Indicadores de la Calidad de Leche, bajo dos Sistemas de Ordeño. Manabí-Ecuador". s.l., Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Cárdenas, K. 2016. Obtención de aislados proteicos de chíá (*Salvia hispánica* L.) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante". Universidad Técnica De Ambato Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos Carrera De Ingeniería En Alimentos :6-20.

Carrillo, W; Carpio, C; Morales, D; Vilcacundo, E; Álvarez, M; Silva, M. 2017. Content of fatty acids in corn (*Zea mays* L.) oil from Ecuador. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 10(8):2015-2018. DOI: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.18786>.

Chisag, L. 2011. Estudio de la producción Lechera Bovina en la Parroquia Simiatug Provincia de Bolívar. s.l., Universidad Estatal de Bolívar.

Cobo, C. 2016. Determinación de la actividad antioxidante, polifenoles, actividad antiinflamatoria y digestión gastrointestinal in vitro en proteínas de hoja de *Ilex guayusa* (en línea). Disponible en <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24099/1/AL615.pdf>.

ESPAC. 2016. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua.

FAO. 2017. Producción animal (en línea, sitio web). Disponible en <http://www.fao.org/animal-production/es/>.

García, C; Montiel, R; Borderas, TF. 2014. Grasa y Proteína de la Leche de Vaca: Componentes, Síntesis y Modificación. 63:85-105.

Gómez, P. 2010. Efecto de la Suplementación de la Dieta Ovina con Distintas Fuentes Lipídicas sobre el Perfil de Ácidos Grasos de la Leche. s.l., Universidad Complutense de Madrid.

González, G; Molina, B; Coca, R. 2013. Calidad De La Leche Cruda (en línea). Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz :10. Disponible en https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDE LALECHECRUDA.pdf.

Guamán, N. 2015. Comparación de los métodos convencionales y equipo digital ultrasónico (Ekomilk), en el análisis físico-químico de leche cruda, aplicando el método estadístico de Bland - Altman.

Guzmán, E. 2016. Estudio del Contenido proteico en diferentes leches comerciales de vaca en Ecuador y su Actividad antioxidante in vitro. s.l., Universidad Técnica de Ambato.

Herrera, MD; Jesús, MDE; Nájera, F; Carrasco, AP; Gabriela, O; Bugarín, R; R, CD V; Diciembre, Z; José, M; Calzada, E; Fernando, L; Lui, F. 2015. Metodología para la extracción, identificación y cuantificación de ácidos grasos en la dieta y leche de cabras. (74).

Jiménez-Saiz, R; Martos, G; Carrillo, W; López-Fandiño, R; Molina, E. 2011. Susceptibility of lysozyme to in-vitro digestion and immunoreactivity of its digests. Food Chemistry 127(4):1719-1726. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.047>.

Laemmli, UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259):680-685. DOI: <https://doi.org/10.1038/227680a0>.

Lapeña, S; Hierro, E. 2018. Alergia a proteínas de leche de vaca. (2):76-86.

León, S. 2016. Caracterización de las Proteínas de Tocte (*Juglans neotropica* Diels) y su Digestibilidad Gastrointestinal in vitro.

Mansouri, S. 2016. Validación de calidad de los parámetros grasa, densidad, proteína, agua y acidez para la leche que ingresa a la empresa TROVICA S.A., cumpliendo la norma NTE INEN 0009:2012.

Martínez, EN; Añón, MC. 1996. Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(9):2523-2530. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf960169p>.

Martinez, J; Medina, O; Zambrano, R. 2011. Bistua : Revista de la Facultad de Ciencias Básicas ISSN : 0120-4211 Universidad de Pamplona Colombia Martínez , José J .; Medina , Oscar J .; Zambrano , Rocio Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora*.

Martos, GG; Contreras, PA; Molina, E; López-Fandiño, R. 2010. Egg white ovalbumin digestion mimicking physiological conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*. *Journal of agricultural and food chemistry* (58 9, 5640-8).

Morales, D; Gallo, L. (2006). Plataformas de Proteómica. s.l., s.e.

Nahum, M. 2016. Perfil de ácidos grasos lácteos en vacas lecheras postparto alimentadas con soiling o ensilaje de alfalfa bajo sistema de confinamiento. 36:29-36.

Nazate, F. 2016. Obtención de Proteína Hidrolizada de Quinoa *Chenopodium Quinoa Willd* a partir de n Aislado Proteico. s.l., Universidad Técnica del Norte. 15 p.

NTE INEN - ISO 2446. 2013. Leche - Determinación del contenido de grasa (IDT). 014.

NTE INEN - ISO 8968-1. 2015. Determinación del contenido de nitrógeno (en línea). Norma técnica ecuatoriana 0970:1-5. Disponible en <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0016.1984.pdf>.

NTE INEN 11. 2012. Leche. Determinación de la densidad relativa. 0011.

NTE INEN 13. 2012. Leche. Determinación de la acidez titulable. 0013.

NTE INEN 14. 2012. Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas. 0014.

NTE INEN 9. 2012. Leche Cruda. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización.

Ortega, R; Espinoza, J; Palacios, E; Palacios, A; Arjona, O; Murillo, B; Rivera, F. 2013. Perfil de ácidos grasos en leche de vacas Chinampas (Bos taurus) alimentadas con forraje fresco de matorral sarcocauléscente o heno de alfalfa Fatty acids profile in milk of Chinampo cows (Bos taurus) fed fresh forage from sarcocauléscent shrubs or al. 51:45-51.

Osorio, E; Giraldo, J; Narvaéz, Wi. 2012. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina Methodologies to determinate the digestibility of foods used in feeding dogs (en línea). Vet Zootec 6(1):87-97. Disponible en [http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ6\(1\)_9.pdf](http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ6(1)_9.pdf).

Pinto, A. 2015. Análisis Comparativo del Perfil de Ácidos Grasos en Aceites de Pescado Comerciales Utilizados en la Provincia de El Oro. s.l., Universidad Técnica De Machala. 6 p.

Poveda, T. 2016. Evaluación del grado de Digestibilidad gastrointestinal, Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de Aislados proteicos de torta de sésamo (Sesamum indicum). s.l., Universidad Técnica de Ambato. 32 p.

Prieto, E; Mahecha, L. 2017. Grasa y ácidos grasos en leche de vacas pastoreando. 28(1):19-42. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22816>.

Quinteros, M. 2016. Estudio de la Digestibilidad gastrointestinal, citotoxicidad y Actividad antiinflamatoria de proteínas extraídas de la torta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Universidad Técnica de Ambato :98.

Schettino, B; Pérez, J; Gutiérrez, R; León, SV; Faure, R; Escobar, A. 2011. Grasos por cromatografía gaseosa en leche de cabra. 33(2):83-89.

Toapanta, M. 2016. Caracterización de aislados proteicos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y su digestibilidad gástrica y duodenal (in vitro). s.l., s.e.

Urdiales, J. 2015. Diagnóstico del sector Lechero y propuesta para su desarrollo en las Parroquias Rurales del Cantón Chordeleg. s.l., Universidad de Cuenca.

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de la ubicación



Anexo 2. Resultados de los análisis de laboratorio

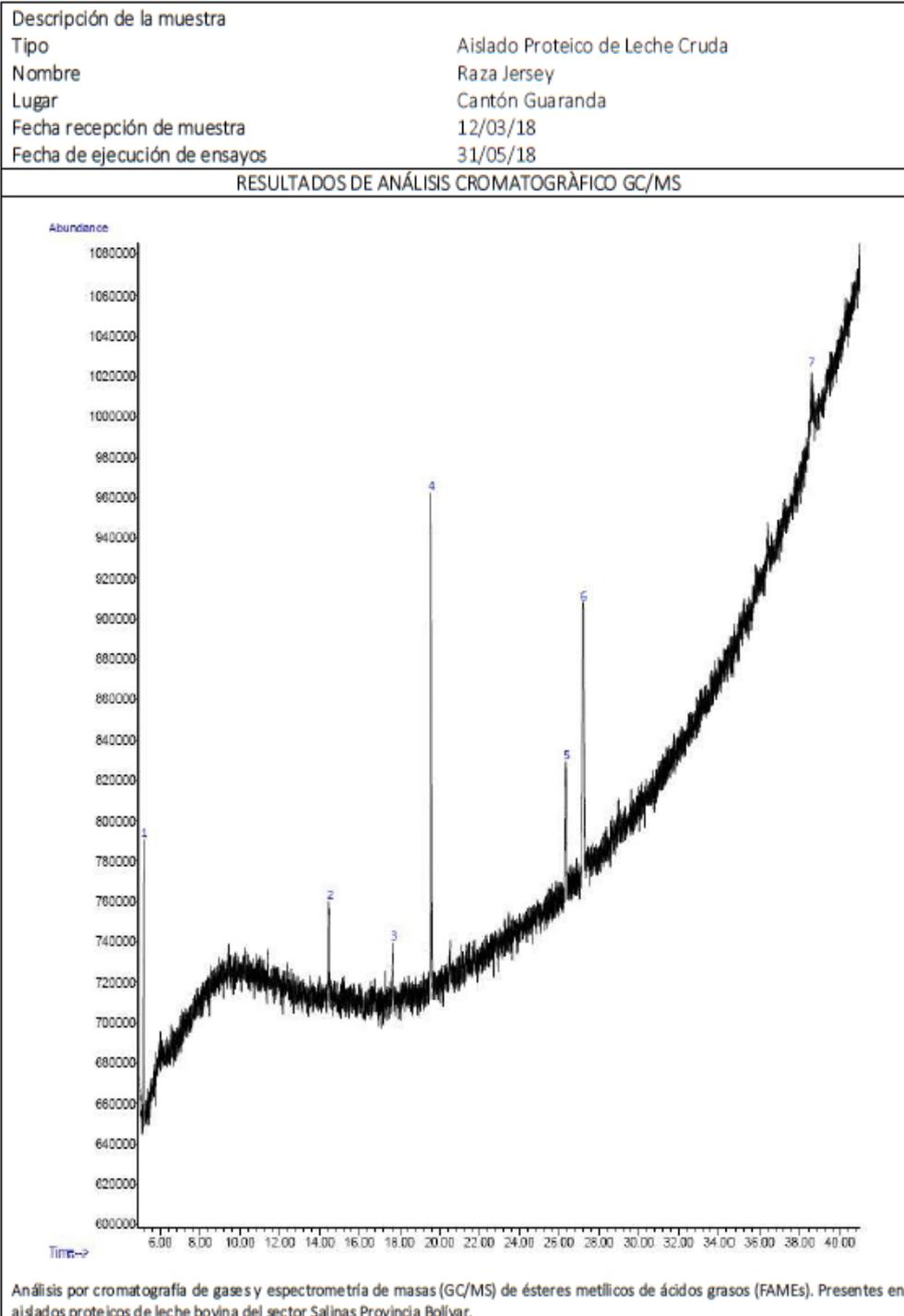


PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183



Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,153	C8H16O2	Ácido Butilbórico	15,35±1,395
2	14,458	C15H30O2	Isomiristato de metilo	5,98±1,788
3	17,651	C9H16O4	Ácido azelaico	1,77±1,975
4	19,569	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	39,58±0,822
5	26,326	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	9,15±2,656
6	27,198	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	24,14±1,531
7	38,544	C8H16O8	I-Gala-l-ido-octosa	1,50±1,897

Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido.

Condiciones ambientales:
Tº: 21
HR: 50



Ing. Marcelo Vilcacando
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

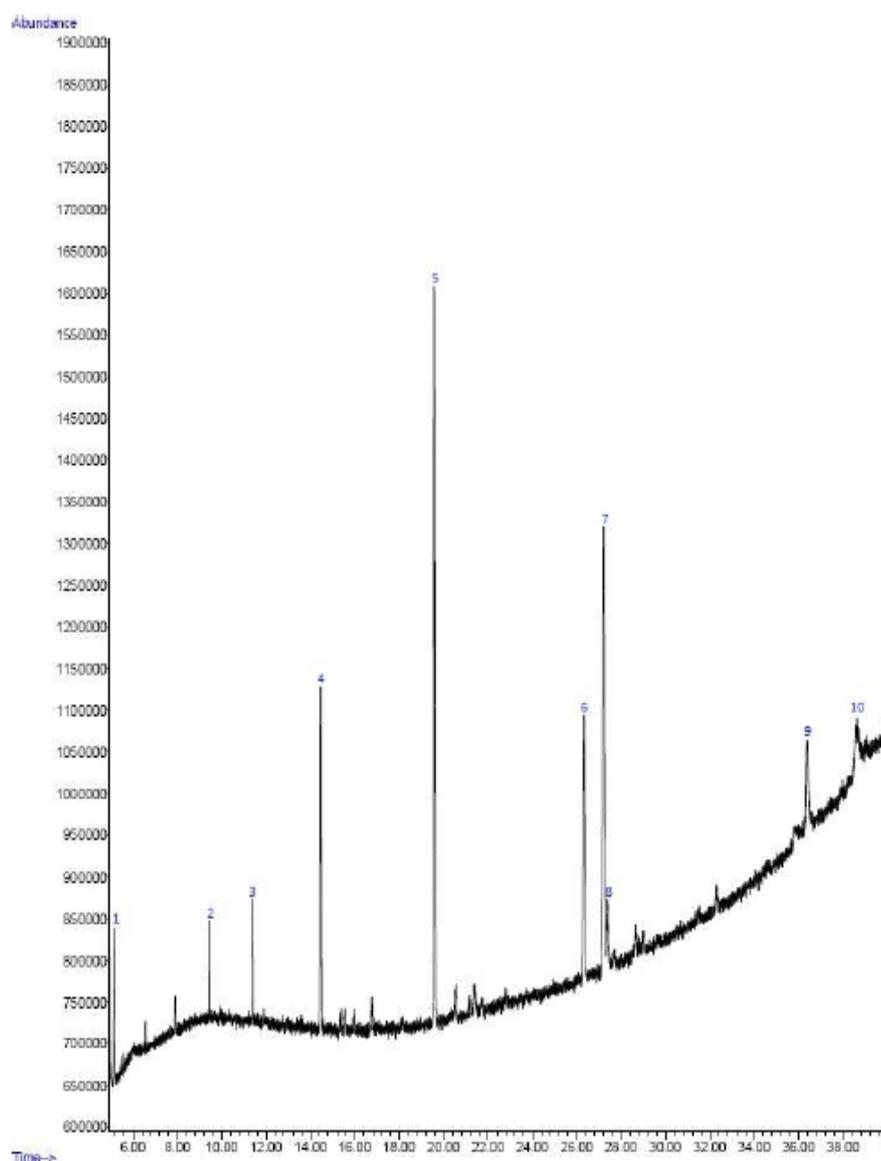
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico de Leche Cruda
Nombre	Raza Brown Swiss
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	12/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	31/05/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO GC/MS



Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar.

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,152	C4H11BO2	Ácido Butilbórico	4,95±0,231
2	9,423	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	2,05±0,064
3	11,388	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	3,11±0,064
4	14,458	C15H30O2	Isomiristato de metilo	11,53±0,201
5	19,564	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	33,10±0,676
6	26,315	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	13,86±0,194
7	27,196	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	23,60±0,421
8	27,373	C18H34O2	Ácido trans-oleico	1,87±0,544
9	36,370	C14H28O2	Ácido mirístico	4,77±0,755
10	38,549	C8H16O8	l-Gala-l-ido-octosa	0,11±0,127

Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido.

Condiciones ambientales:
Tº: 21
HR: 50


Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

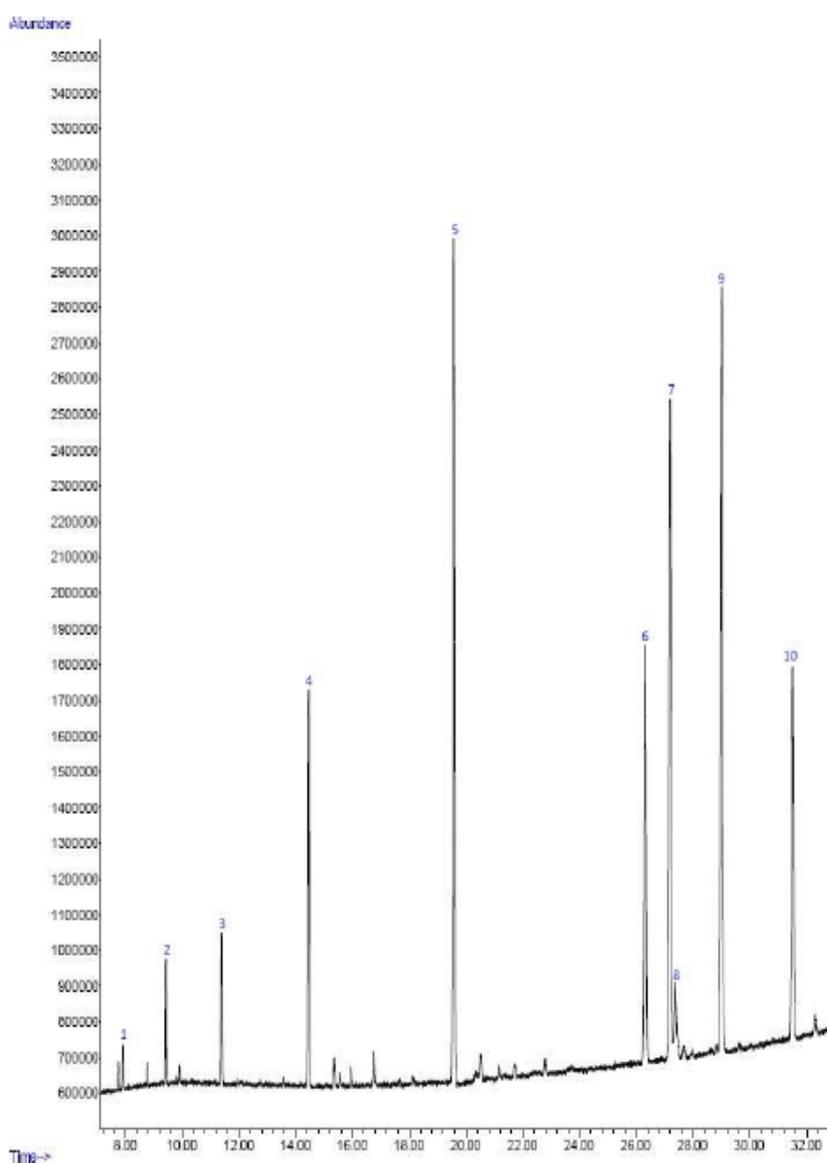
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico de Leche Cruda
Nombre	Raza Ayrshire
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	12/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	31/05/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS GC/MS



Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar.

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula Química	Compuesto	Área (%)
1	7,900	C8H16O2	2 – Ácido metilheptanoico	0,51±0,025
2	9,425	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	1,50±0,085
3	11,392	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	2,10±0,095
4	14,465	C15H30O2	Isomiristato de metilo	7,58±0,125
5	19,577	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	21,25±0,366
6	26,332	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	11,79±0,299
7	27,212	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	19,14±0,097
8	27,387	C18H34O2	Ácido trans-oleico	1,60±1,454
9	29,014	C19H34O2	Metil 9-cis, 11-trans-octadecadienoato	23,01±0,411
10	31,519	C20H24O2	Etilo 9, 12, 15-octadecatrienoato	11,70±0,381

Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido.

Condiciones ambientales:

Tº: 21

HR: 50



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2

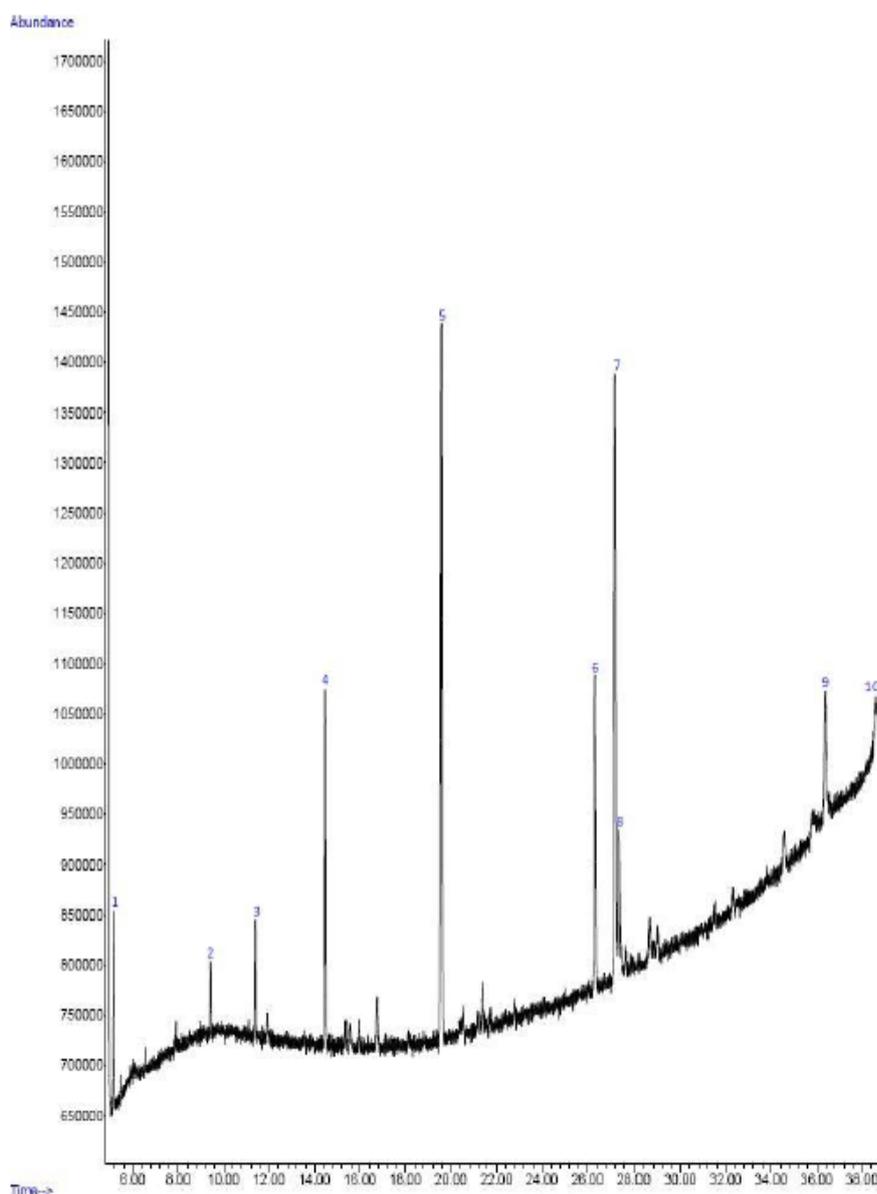


TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra

Tipo	Aislado Proteico de Leche Cruda
Nombre	Raza Mestiza
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	12/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	31/05/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO GC/MS



Análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Presentes en aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar.

Nº	Tiempo de retención (min)	Fórmula	Compuesto	Área (%)
1	5,153	C8H16O2	Ácido Butilbórico	5,08±0,236
2	9,424	C11H22O2	Metil 8-metil-nonanoato	1,42±0,140
3	11,388	C13H26O2	Ácido undecanoico, 10-metil-, éster metílico	2,49±0,257
4	14,459	C15H30O2	Isomiristato de metilo	10,11±0,356
5	19,568	C17H34O2	Ácido palmítico, éster metílico	26,76±0,920
6	26,323	C19H38O2	Ácido estearico, éster metílico	13,80±0,363
7	27,199	C19H36O2	Ácido 13-octadecanoico, éster metílico	27,07±0,630
8	27,381	C18H34O2	Ácido trans-oleico	5,33±0,550
9	36,362	C14H28O2	Ácido mirístico	6,07±0,072
10	38,620	C8H16O8	I-Gala-I-ido-octosa	0,93±1,025

Composición total de lípidos y ácidos grasos de aislados proteicos de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar por análisis GC/MS y su contenido.

Condiciones ambientales:

T°: 21

HR: 50



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR II
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2

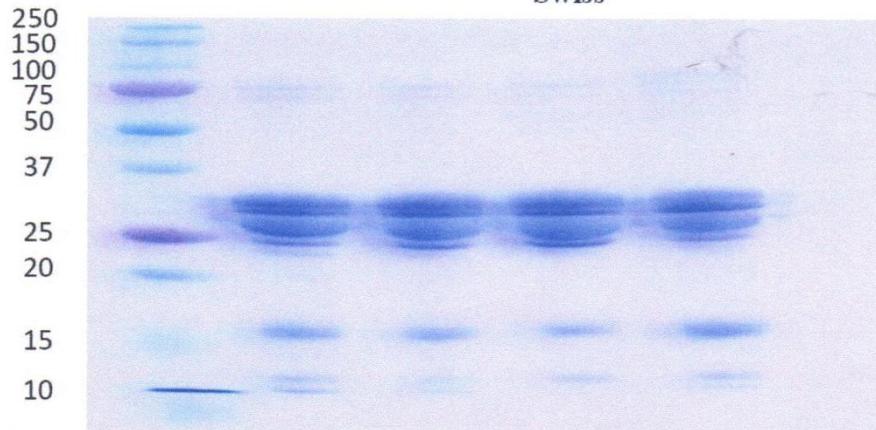


TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico de Leche Cruda
Nombre	Razas bovinas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire, Mestiza
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	26/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	26/03/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS PROTEÓMICOS

kDa **PM** **Mestiza** **Ayrshire** **Brown Swiss** **Jersey**



Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza, Ayrshire, Brown Swiss y Jersey, respectivamente) obtenidas mediante precipitación isoeléctrica a pH 4,6.

Condiciones ambientales:

T°: 25

HR: 33

Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

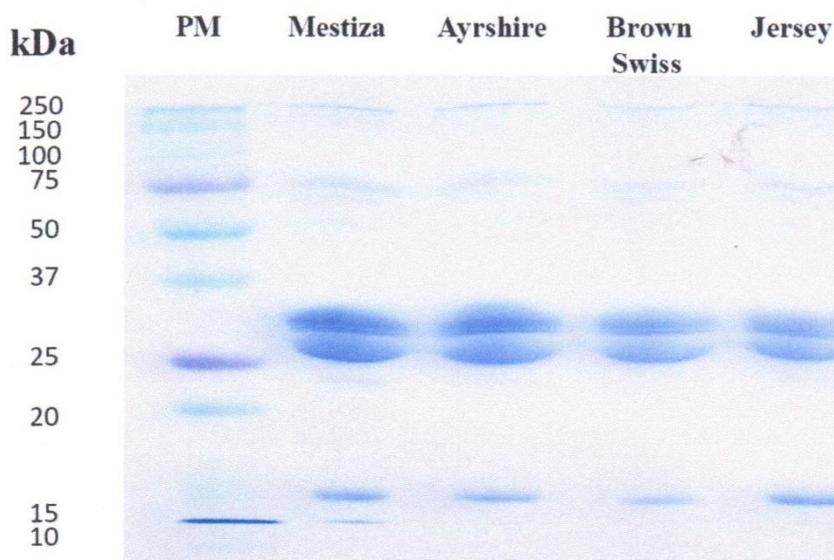
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR II
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico de Leche Cruda
Nombre	Razas bovinas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire, Mestiza
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	27/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	27/03/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS PROTEÓMICOS



Electroforesis SDS-PAGE en ausencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza, Ayrshire, Brown Swiss y Jersey, respectivamente) obtenidas mediante precipitación isoeléctrica a pH 4,6.

Condiciones ambientales:

T°: 25
HR: 33



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

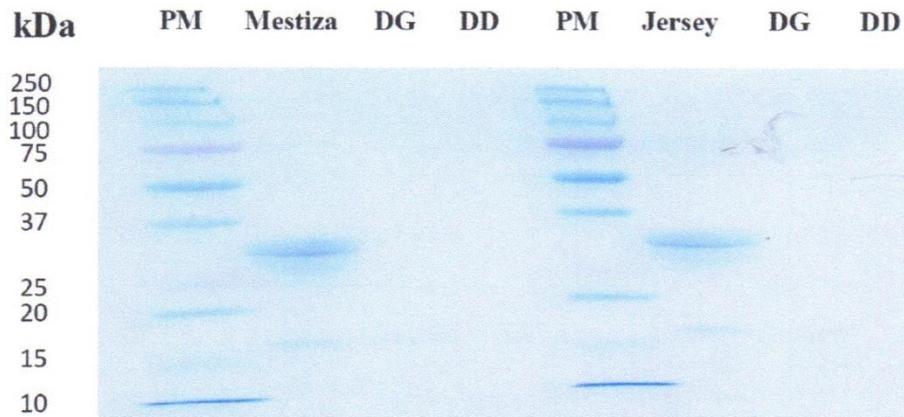
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR II
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico e Hidrolizado (<i>in vitro</i>) de Leche Cruda
Nombre	Razas bovinas: Mestiza y Jersey
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	28/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	28/03/18

RESULTADOS DE ANÁLISIS PROTEÓMICOS



Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas e hidrolizadas *in vitro* de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Mestiza y Jersey) obtenidas mediante precipitación isoeléctrica a pH 4,6.

Condiciones ambientales:

T°: 25
HR: 33


Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

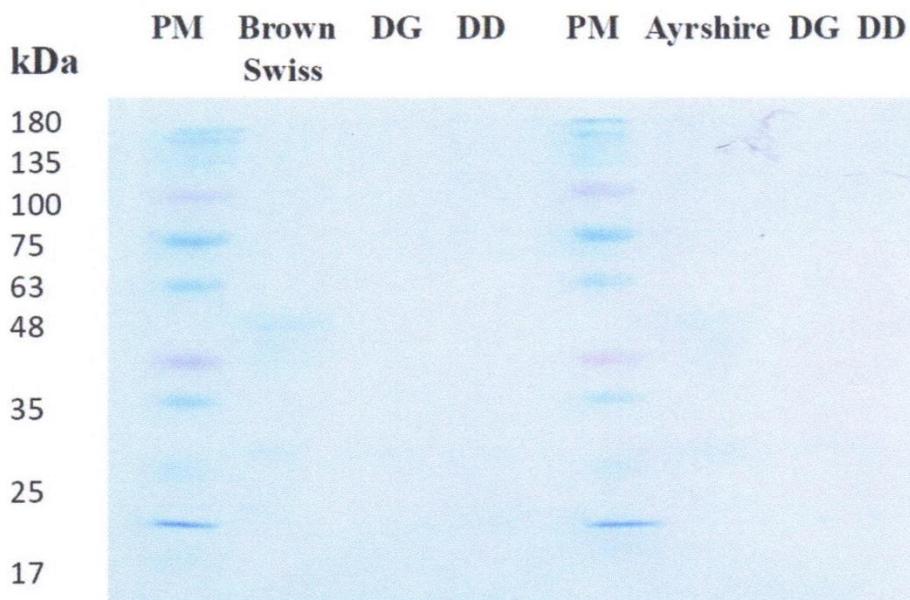
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR II
CANTÓN GUARANDA LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Aislado Proteico e Hidrolizado (<i>in vitro</i>) de Leche Cruda
Nombre	Razas bovinas: Brown Swiss y Ayrshire
Lugar	Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	29/03/18
Fecha de ejecución de ensayos	29/03/18

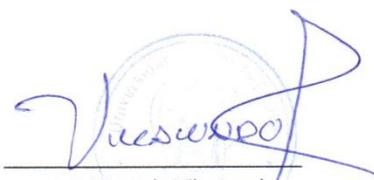
RESULTADOS DE ANÁLISIS PROTEÓMICOS



Electroforesis SDS-PAGE en presencia del agente reductor 2-β-mercaptoetanol de proteínas aisladas e hidrolizadas *in vitro* de leche bovina del sector Salinas Provincia Bolívar (Razas: Brown Swiss y Ayrshire) obtenidas mediante precipitación isoeléctrica a pH 4,6.

Condiciones ambientales:

T°: 25
HR: 33


 Ing. Marcelo Vilcacundo
 Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

CANTÓN GUARANDA

LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra	
Tipo	Leche cruda bovina
Nombre	Razas bovinas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire, Mestiza
Lugar	Parroquia Salinas - Cantón Guaranda
Fecha recepción de muestra	12/03/2018
Fecha de ejecución de ensayos	23/03/2018

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Muestra	Ensayo	Método	Unidad	Resultado
Raza Jersey	Densidad relativa	NTE INEN 11	%	1,030
	Acidez titulable	NTE INEN 13	%	0,166
	Solidos totales	NTE INEN 14	%	14,06
Raza Brown Swiss	Densidad relativa	NTE INEN 11	%	1,0295
	Acidez titulable	NTE INEN 13	%	0,189
	Solidos totales	NTE INEN 14	%	13,77
Raza Ayrshire	Densidad relativa	NTE INEN 11	%	1,030
	Acidez titulable	NTE INEN 13	%	0,188
	Solidos totales	NTE INEN 14	%	12,75
Raza Mestiza	Densidad relativa	NTE INEN 11	%	1,285
	Acidez titulable	NTE INEN 13	%	0,175
	Solidos totales	NTE INEN 14	%	12,06

Condiciones ambientales:

T°: 21

HR: 40


Ing. Marcelo Vilcacundo
Director del Departamento



PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

CANTÓN GUARANDA

LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra				
Tipo	Leche cruda bovina			
Nombre	Razas bovinas: Jersey, Brown Swiss, Ayrshire, Mestiza			
Lugar	Parroquia Salinas - Cantón Guaranda			
Fecha recepción de muestra	12/03/2018			
Fecha de ejecución de ensayos	23/03/2018			
RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS				
Muestra	Ensayo	Método	Unidad	Resultado
Raza Jersey	Proteína	NTE INEN 16	%	2,94
	Cenizas	NTE INEN 14	%	0,77
	Grasa	NTE INEN-ISO 2446	%	5,52
Raza Brown Swiss	Proteína	NTE INEN 16	%	2,90
	Cenizas	NTE INEN 14	%	0,8
	Grasa	NTE INEN-ISO 2446	%	3,95
Raza Ayrshire	Proteína	NTE INEN 16	%	2,80
	Cenizas	NTE INEN 14	%	0,78
	Grasa	NTE INEN-ISO 2446	%	2,91
Raza Mestiza	Proteína	NTE INEN 16	%	2,93
	Cenizas	NTE INEN 14	%	0,75
	Grasa	NTE INEN-ISO 2446	%	3,03
Condiciones ambientales:				
T°: 21				
HR: 40				
 Ing. Marcelo Vilcacundo Director del Departamento				



PROVINCIA BOLÍVAR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE BIOMASA

CANTÓN GUARANDA

LAGUACOTO 2



TELF: 2206010 EXT 1183

Descripción de la muestra				
Tipo		Aislados proteicos de leche cruda bovina		
Nombre		Cuantificación proteica en aislados		
Lugar		Parroquia Salinas - Cantón Guaranda		
Fecha recepción de muestra		12/03/2018		
Fecha de ejecución de ensayos		23/03/2018		
RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS				
Muestra	Ensayo	Método	Unidad	Resultado
Raza Jersey	Proteína	EN 15104	%	38,47
Raza Brown Swiss	Proteína	EN 15104	%	37,96
Raza Ayrshire	Proteína	EN 15104	%	45,09
Raza Mestiza	Proteína	EN 15104	%	43,41
Condiciones ambientales:				
T°: 24				
HR: 40				
 Ing. Marcelo Vilcacundo Director del Departamento				

Anexo 3. Base de datos

No. Tratamientos	Código	Descripción Niveles	Peso g
		A	
T1	A1	Raza Jersey	
T2	A2	Raza Brown Swiss	
T3	A3	Raza Ayrshire	
T4	A4	Raza Mestiza	

Anexo 4. Formato de fichas de recolección de datos

Muestras	Densidad relativa	Acidez titulable	Sólidos totales	Cenizas	Grasa	Proteína
1						
2						
3						
4						

Tratamientos	Proteína Aislada
1	
2	
3	
4	

Anexo 5. Fotografías de la investigación



Ilustración 1. Toma de muestras.



Ilustración 2. Análisis de proteína.



Ilustración 3. Análisis de densidad relativa.



Ilustración 4. Análisis de acidez titulable.



Ilustración 5. Análisis de sólidos totales.



Ilustración 6. Análisis de cenizas.



Ilustración 7. Análisis de grasa.



Ilustración 8. Muestras centrifugadas.



Ilustración 9. Precipitación por su punto isoeléctrico.



Ilustración 9. Proceso de liofilizado.



Ilustración 10. Muestra liofilizada.



Ilustración 11. Preparación de muestra para caracterizar la proteína.



Ilustración 12. Calentado de muestra a 80°C.

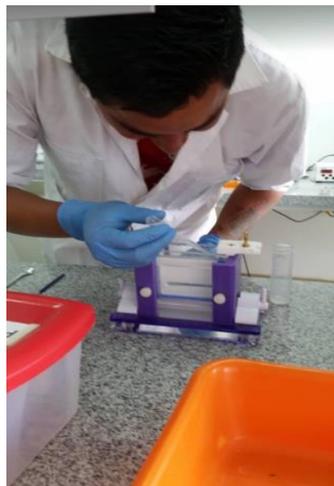


Ilustración 13. Técnica analítica de electroforesis en gel de poliacrilamida.



Ilustración 14. Teñido de geles.



Ilustración 15. Desteñido de geles.



Ilustración 16. Simulación gástrica y duodenal.



Ilustración 17. Corrida de geles.



Ilustración 18. Digeridos analizados.



Ilustración 19. Extracción de grasa de muestra liofilizada.

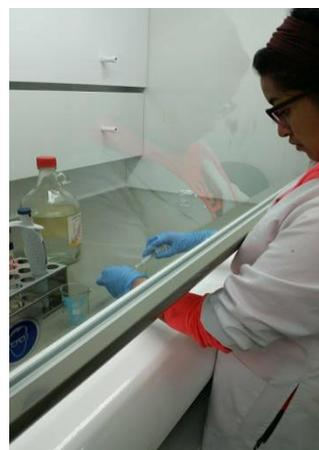


Ilustración 20. Preparación de ésteres metílicos.



Ilustración 21. Inyección de muestra.



Ilustración 22. Corrida de muestras.



Ilustración 23. Interacción de cromatogramas.

Anexo 6. Glosario de terminos

Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos monoenoicos, que se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes.

Caseínas

Proteína de la leche de los mamíferos que contiene gran cantidad de fosfato y que se emplea en la industria del papel, de pieles, de pintura, en medicina y en alimentación.

Cromatografía

Método de análisis que permite la separación de gases o líquidos de una mezcla por adsorción selectiva, produciendo manchas diferentemente coloreadas en el medio adsorbente; está basado en la diferente velocidad con la que se mueve cada fluido a través de una sustancia porosa.

Digestibilidad

Es la cantidad de alimento ingerido que se absorbe y pasa, finalmente, a sangre. Este término hace referencia al grado de utilización de los nutrientes y se calcula a través del coeficiente de digestibilidad, que tiene en cuenta la cantidad ingerida y la eliminada por heces. De este modo, se considera que todo aquello que no se ha eliminado por el colon, ha sido digerido y absorbido.

Electroforesis

La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de éstas en un campo eléctrico. La separación puede realizarse sobre la superficie hidratada de un soporte sólido.

Esterificación

Se denomina esterificación al proceso por el cual se sintetiza un éster. Un éster es un compuesto derivado formalmente de la reacción química entre un ácido carboxílico y un alcohol.

Hidrolizado

Que ha sido descompuesto por la acción del agua, de un ácido o de un fermento.

In vitro

Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

Lactoglobulina

Es una proteína análoga a la seroglobulina, se encuentra principalmente en el suero de la leche de vaca.

Liofilización

Método de desecación en el que se elimina el agua por congelación del producto húmedo y posterior sublimación del hielo en condiciones de vacío. Al suministrar calor el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquida.

Pancreatina

Es una combinación de enzimas digestivas (proteínas). Estas enzimas son normalmente producidas por el páncreas y son importantes en la digestión de grasas, proteínas y azúcares.

Pepsina

Enzima que segregan algunas glándulas del estómago de los vertebrados y que interviene en la digestión de las proteínas.

Peptido

Son un tipo de moléculas formadas por la unión de varios aminoácidos mediante enlaces peptídicos.

Punto Isoeléctrico

El punto isoeléctrico se define como el pH en el cual el número de cargas positivas se iguala al número de cargas negativas que aportan los grupos ionizables de una molécula.