

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

**Comparación del Perfil Proteínico de leche de cabra de tres razas
(*Alpino Francés, Nubio y Criollo*) con leche bovina *Holstein***

TESIS

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable**

Presenta

Q.F.B. Florencia Muñoz Salinas

Dirigido por

Dr. Héctor Mario Andrade Montemayor

Asesores:

Dr. Miguel Ángel Duarte Vázquez

Dra. Karina de la Torre Carbot

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

M en C. Carlos Raúl García Ugalde

Santiago de Querétaro, Qro., Octubre, 2016.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

**Comparación del Perfil Proteínico de leche de cabra de tres razas
(Alpino Francés, Nubio y Criollo) con leche bovina Holstein**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

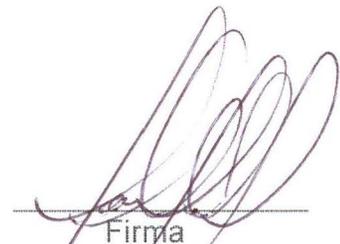
Q.F.B. Florencia Muñoz Salinas

Dirigido por:

Dr. Héctor Andrade Montemayor

SINODALES

Dr. Héctor Andrade Montemayor
Presidente



Firma

Dr. Miguel Ángel Duarte Vázquez
Secretario



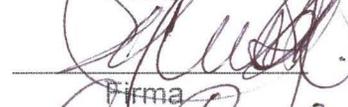
Firma

Dra. Karina de la Torre Carbot
Vocal



Firma

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Suplente



Firma

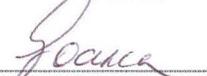
M. en C. Carlos Raúl García Ugalde
Suplente



Firma



Dra. Margarita Teresa de Jesús
García Gasca
Directora de la Facultad



Dra. Ma. Guadalupe Flavia
Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Octubre 2016
México

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar el perfil proteínico de la leche de cabra de tres razas (*Alpino francés*, *Nubio* y *Criollo*) comparado con leche de vaca de la raza *Holstein*, para lo cual se analizó la leche de 30 cabras (10 animales por raza) que habían tenido entre 2 y 4 partos, con un peso de 45 ± 5 kg. La alimentación consistió en 8 horas de pastoreo en agostadero y una suplementación con 800 g de concentrado (18.5% PC, 1.9 Mcal ENI/kg MS), 0.8 kg de alfalfa y 0.8 kg de ensilado de maíz por animal en la mañana y en la tarde. La leche de vaca se utilizó como referencia, bajo una alimentación a base de alfalfa, ensilado y concentrado. La cuantificación de proteína total en la leche se realizó por ensayo Qubit para una posterior electroforesis SDS-PAGE de la leche de cada animal. La extracción de caseínas por precipitación se realizó a $\text{pH}=4.3$ y fueron separadas con electroforesis UREA-PAGE para una posterior secuenciación con método de Cromatografía de líquidos acoplado a masas con trampa de iones. Además se evaluó el contenido de glicomacropéptido de caseína en leche de cabra y vaca por Western Blot. Se realizó un Anova y las diferencias entre medias fueron analizadas por prueba de Tukey. Se encontró una relación proteína de suero: caseína de 40:60 en la leche de cabra. En la comparación entre especies, en la leche de vaca existe una mayor abundancia relativa de α -caseína respecto a la leche de cabra. Entre especies la raza *Criollo* presenta una mayor abundancia relativa de β -caseína 34.25 ± 3.27 , 30.54 ± 2.77 para *Alpino Francés* y 30.87 ± 4.01 para *Nubio*. Teniendo β -caseína de la raza *Criollo* diferencia estadística significativa respecto a las otras dos razas. Los resultados muestran que α -caseína es menos abundante que β -caseína en la leche de cabra. La abundancia relativa de κ -caseína es 9.98 ± 2.81 para la raza *Criollo*, 11.73 ± 2.32 para *Alpino Francés* y 14.46 ± 3.41 para la *Nubio*, es menor en la raza *Criollo* y presenta diferencia significativa entre razas pero son muy superiores a la leche de vaca *Holstein* 3.38 ± 1.18 con diferencia significativa. Se encontró diferencia en la secuencia de la β -caseína de la leche de las diferentes razas caprinas ya que la hidrólisis dio como resultados diferentes péptidos. El glicomacropéptido de caseína se separa en dos bandas con un diferente peso molecular cada una y se encontró que no existe diferencia significativa para las dos especies (vaca y cabra) en estudio. En el estudio se encontraron diferencias importantes en el contenido y tipo de proteína entre la leche de cabra y la de vaca. Por su bajo contenido de α -caseína y mayor concentración de β -caseína, la leche de cabra puede considerarse como una alternativa a la leche de vaca en especial para infantes con problemas de alergia a la leche de vaca, debido a que a la α -caseína es una proteína a la que se le confiere alergenicidad.

(Palabras clave: β -caseína, proteínas del suero, proteína cruda, cromatografía de líquidos acoplado a masas, Alergenicidad)

SUMMARY

The aim of this study was to characterize the protein profile of milk goat from three races (French Alpine, Nubian and Criollo) compared with cow milk from Holstein race. To this end the milk of 30 goats (10 animals per race) weighing 45 ± 5 kg with 2 or 4 births was analyzed. The food consisted of 8 hours of grazing pasture and supplementation with 800 g of concentrated (18.5% CP, 1.9 Mcal ENI/kg DM), 0.8 kg alfalfa and 0.8 kg corn silage by animal at the morning and evening. The composition of milk obtained from cows under a diet based on alfalfa, silage and concentrate was used as reference. The quantification of total protein in milk from each animal was assayed by Qubit method. After that proteins were separated by SDS-PAGE by animal. The caseins were precipitated to pH=4.3 and then separated by UREA-PAGE electrophoresis. The characteristic band of β -casein was removed for subsequent sequencing method of liquid chromatography coupled to mass ion trap. Also was evaluated the casein-glycomacropeptide in goat and cow milk from each animal by Western Blot. An ANOVA was run and the differences between means were analyzed by Tukey test. For goat milk we found a whey protein:caseins ratio of 40:60. In interspecies comparison in cow milk there is a higher concentration of α -casein regarding goat milk. B-casein concentration expressed as % of total protein among goat races was as follows: Criollo breed 34.25 ± 3.27 , French Alpine 30.54 ± 2.77 and Nubio 30.87 ± 4.01 . Criollo breed was statistical different ($p < 0.005$) BS French Alpine and Nubian. In goat milk the concentration of α -casein was lower than β -casein. The percentage of κ -casein was lower in the Criollo breed 9.98 ± 2.01 ($p < 0.05$) as compared French Alpine (11.73 ± 2.32) and Nubian (14.46 ± 3.41) but they are higher that cow milk Holstein 3.38 ± 1.18 ($p < 0.05$). According to protein sequencing Criollo race had different type of β -casein as compared with Alpine French and Nubio since the amount of hydrolyzed and sequenced peptides was different. The casein-glycomacropeptide is separated into two bands with different molecular weight and wasn't statistical different between species. Due to the lower concentration of α -casein and higher concentration of β -casein of goat milk in comparison with cow milk, it can be considered as an alternative to cow's milk especially for infants who have allergies to cow milk protein.

(keywords: β -casein, whey protein, crude protein, method of liquid chromatography coupled to mass, allergenicity)

DEDICATORIAS

A MI FAMILIA POR SU APOYO, POR TRATAR DE COMPRENDER MIS LOCURAS, PORQUE CON ELLAS BUSCÓ MI FUTURO DE VIDA.

“El abuelo le dice a su nieta; me gustaría que tú fueses como el lápiz con el que estoy escribiendo, pero todo depende del modo como mires las cosas. Hay en él cinco cualidades que harán siempre de ti una persona empaz con el mundo:

Primero: Puedes hacer grandes cosas pero no olvides nunca que existe una mano que guía tus pasos. Esta mano la llamamos Dios y él siempre te conducirá en dirección a su voluntad.

Segundo: Debes en cuanto necesites dejar lo estás escribiendo usar el sacapuntas, eso hace que el lápiz sufra un poco pero al final estará más afilado, por lo tanto debes ser capaz de soportar algunos dolores porque te harán mejor persona.

Tercero: El lápiz siempre permite que usemos una goma para borrar aquello que está mal. Entiende que corregir algo que hemos hecho no es necesariamente algo malo, sino algo importante para mantenernos en el camino de la justicia.

Cuarto: Lo que realmente importa en el lápiz no es la madera ni su forma exterior sino el grafito que hay adentro. Por lo tanto cuida siempre de lo que sucede en tu interior.

Quinto: Siempre deja una marca, de la misma manera haz de saber que todo lo hagas en la vida dejará trazos, por eso intenta ser consiente de cada acción”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida, por la oportunidad de permitirme realizar otro proyecto de gran satisfacción para mí.

Al destino por poner en mi camino la Maestría en salud animal, una gran experiencia y de mucho aprendizaje en el área que me apasiona. “Todo pasa por algo y cada quien está donde debe estar”

A mi familia; mis padres, hermanos por su apoyo, por comprender mis sueños, gustos y deseos.

Al Dr. Héctor Andrade por apoyarme en lo que podía, por aguantarme. Yo creo que más de una vez lo desespero por mis múltiples ocupaciones por ejemplo la escaramuza.

Al Dr. Miguel Duarte por aceptar formar parte de mí comité tutorial, por todo el apoyo, por abrirme las puertas en el Laboratorio de Biología Molecular de Nucitec, por apoyar en la realización de este proyecto. Por todo su conocimiento aportado. Un agradecimiento muy especial porque sin su apoyo no se hubiera realizado.

A mis sinodales la Dra. Karina de la Torre y la Dra. Tere Gasca muchas gracias por su apoyo y su disposición. Por aceptar formar parte de mi comité tutorial.

Al M. en C. Carlos Raúl por todo el apoyo, conocimiento, asesoría, por resolver mis dudas, de verdad gracias Charly compañero de Licenciatura. A Mariana Villegas compañera del laboratorio gracias por tu ayuda y por los momentos de alegría, de risa que pasamos. Fue un tiempo muy agradable.

Al Conacyt por la beca, al programa FOPER UAQ por el financiamiento, a la empresa Nucitec, Dr. Jorge Luis Rosado Loria por permitirme realizar la parte experimental del proyecto y sin olvidar a laboratorios como la Unidad de Proteogenómica Neurobiología UNAM Dra. Anaid Antaramian, Biología Molecular del Posgrado en Alimentos UAQ Dra. Rosalia Reynoso, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes Dra. Norma Chávez y al Campus Amazcala UAQ por contribuir a la realización del proyecto.

Y otro agradecimiento muy especial a la persona que más confió en mí, que apoyo para que yo entrara al Posgrado, por su ayuda incondicional, gracias Dr. Germinal J. Cantó Alarcón, gracias por tanta ayuda, gracias por confiar en mí, no le quede mal.

ÍNDICE

Páginas

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros	viii
Índice de figuras	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades de la cabra	3
2.2 Raza de cabras	3
2.3 Generalidades de la leche	5
2.4 Composición de la leche de cabra	5
2.5 Proteínas de la leche de cabra	8
2.5.1 Caseínas (α y β)	9
2.5.2 κ -caseína	10
2.5.3 Proteínas del suero	10
2.6 Péptidos Bioactivos en leche	12
2.7 Glicomacropéptido de caseína (GMP)	13
2.7.1 Propiedades fisicoquímicas del glicomacropéptido de caseína	15
2.8 Aminoácidos en la leche de cabra	16
2.9 Alergenicidad a las proteínas de la leche	16
2.10 Beneficios nutricionales de la leche de cabra	18
2.11 Factores que afectan la composición de la leche	19
2.11.1 Proteínas	19
2.11.2 Grasas y Carbohidratos	20
III. OBJETIVOS	21
3.1 General	21

3.2 Específicos	21
IV. METODOLOGÍA	22
4.1 Animales de experimentación	22
4.2 Análisis general de leche por ultrasonido	22
4.3 Extracción y purificación de proteínas totales de leche de cabra y bovina	23
4.4 Cuantificación de proteína total por ensayo Qubit™	23
4.5 Determinación del perfil proteínico de leche de cabra y leche bovina	24
4.6 Análisis densitométrico de los geles (abundancia relativa)	24
4.7 Separación de las variantes genéticas de β -caseína (BCN) en leche de cabra	25
4.8 Determinación de la secuencia de β -caseína (BCN) obtenida mediante UREA-PAGE	26
4.9 Determinación de glicomacropéptido de caseína (GMP) por Western Blot	27
4.9.1 Extracción de glicomacropéptido de caseína	27
4.9.2 Western Blot	28
4.10 Determinación del Perfil de Aminoácidos de la leche de cabra	29
4.11 Análisis Estadístico	29
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1 Análisis nutrimental general de la leche de cabra y vaca	30
5.2 Evaluación del perfil proteínico de la leche de cabra (<i>Criollo, Alpino Francés y Nubio</i>) y leche de vaca (<i>Holstein</i>)	32
5.3 Separación de las variantes genéticas de β -caseína (BCN) en la leche de cabra.	37
5.4 Evaluación de glicomacropéptido de caseína (GMP)	41
5.5 Composición de aminoácidos	44
VI. CONCLUSIONES	47
VII. LITERATURA CITADA	49

VIII. ANEXOS	61
Preparación de las soluciones para el método de Western Blot	61
Preparación de las soluciones para el método de Cromatografía de Intercambio Iónico	61
Cuantificación de Proteína por ensayo Qubit™ para evaluación del Perfil Proteínico Total	63
Geles SDS-PAGE obtenidos para el Perfil Proteínico	64
Análisis densitométrico de geles SDS-PAGE para obtener el Perfil Proteínico	66
Geles para la evaluación de glicomacropéptido de caseína	68
Gráfico de análisis general de la leche de cabra y vaca	70
Gráfico comparativo de glicomacropéptido de caseína	70
Gráfico comparativo del Perfil Proteínico de leche de cabra y vaca	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Páginas
1	Composición de leche humana, vaca y cabra	6
2	Cantidad total de oligosacáridos y lactosa en leche de cabra, vaca, oveja y humana	7
3	Composición de las fracciones de proteína en leche humana, vaca y cabra (g/L)	8
4	Funciones biológicas de proteínas del suero de la leche	11
5	Propiedades biológicas de glicomacropéptido de caseína (GMP) unido a ácido siálico y péptidos	15
6	Preparación de tubos para la cuantificación de proteína	24
7	Análisis general de leche de cabra de las diferentes razas <i>Criollo</i> , <i>Alpino Francés</i> y <i>Nubio</i> comparada con leche de vaca <i>Holstein</i>	30
8	Perfil proteínico de leche de cabra por raza comparado con leche de vaca <i>Holstein</i>	33
9	Secuencia de péptidos hidrolizados de β -caseína en leche de cabra	39
10	Evaluación de glicomacropéptido de caseína por Western Blot en leche de cabra (<i>Alpino Francés</i> , <i>Nubio</i> y <i>Criollo</i>) comparado con leche de vaca <i>Holstein</i> .	42
11	Evaluación de casein-glicomacropéptido por Western Blot en leche de cabra (<i>Alpino Francés</i> , <i>Nubio</i> y <i>Criollo</i>) comparado con leche de vaca <i>Holstein</i> .	44

ÍNDICE DE FÍGURAS

Figura		Páginas
1	Cabras lecheras raza <i>Nubio</i>	4
2	Cabras lecheras raza <i>Alpino Francés</i>	4
3	Cabras lecheras raza <i>Criollo</i>	5
4	Estructura primaria de glicomacropéptido de caseína variante A y B	14
5	Representación del análisis densitométrico de las bandas que corresponden a una proteína específica	25
6	Electroforesis en gel de acrilamida SDS-PAGE de proteína total de diferentes muestras	33
7	Electroforesis de caseínas en geles de urea UREA-PAGE en diferentes muestras	38
8	Membranas obtenidas al evaluar glicomacropéptido de caseína por Western Blot	42

I. INTRODUCCIÓN

La desnutrición tiene impactos negativos en la salud, educación y economía convirtiéndose en un freno para el desarrollo de un país. Algunos de los efectos de la desnutrición son la pérdida de capital humano, deserción escolar y mayor incidencia de casos de muerte debido a enfermedades asociadas a la desnutrición (Arias et al., 2010). La leche es un alimento fundamental en la dieta del ser humano, por su aporte de proteínas, vitaminas y minerales. Es un fluido biológico complejo producido por las glándulas mamarias con tres funciones diferentes: nutricional, inmunológico y fisiológico (Alais, 1971).

La presente investigación está encaminada a identificar alternativas alimenticias para mejorar el estado nutricional humano y ofrecer alimentos adecuados para una alimentación balanceada. Actualmente la leche de cabra puede ser una alternativa de nutrición infantil por ser más tolerada por niños con problemas alérgicos a la leche de vaca, por su mayor digestibilidad, así como sus altos contenidos de grasa y proteína (Salvador y Martínez, 2007).

A pesar de sus aparentes beneficios, no se ha permitido un desarrollo significativo de la producción láctea caprina debido a la pobre cultura de consumo de sus productos por lo que se requiere conocer que la composición nutricional de la leche caprina difiere de otras especies por múltiples factores entre ellos, el tipo de alimentación, medioambiente, manejo, sistema productivo, etapa de lactancia, y el estado sanitario de los animales (Arias et al., 2010).

El número de cabras en todo el mundo ha aumentado en un 60% (Orman et al., 2011) en los últimos 20 años. Del 2000 a la fecha, se ha incrementado de 750 millones a poco más de 1000 millones de cabras en el mundo en especial en países en desarrollo (FAO, 2014). Los caprinos representan la subsistencia de más de 450,000 familias en nuestro país. Se encuentran ubicados principalmente en la región semiárida tal como la Mixteca, Coahuila, Durango, Zacatecas y

Querétaro en donde la población es de 100,000 animales y más del 60% se encuentra en la región del semiárido (Salinas et al., 2010).

“La cabra es la vaca de la gente pobre” por lo que la manutención y producción de su leche es usualmente más barata comparada con la leche de vaca y por lo tanto el precio en mercado es menor, pero con la única diferencia que la cantidad de fluido obtenido es menor. Son animales que se adaptan fácilmente a las diferentes condiciones climáticas y sistemas de alimentación (Arias et al., 2010).

Los productos lácteos de cabra no son ricos en grasa, son más digeribles, son saludables para muchas enfermedades gastrointestinales y son menos alergénicas que la leche de vaca (Orman et al., 2011).

Por lo tanto el presente estudio plantea conocer y comparar las diferencias proteínicas de la leche de cabra con la leche de vaca. Se pretende resaltar propiedades nutricionales del fluido secretado por las glándulas mamarias de la cabra como son las diferentes proteínas, el porcentaje de glicomacropéptido de caseína presente en la leche y con ello ser reconocido como un alimento nutracéutico con utilidad en alimentación humana, particularmente en el infante.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la cabra

La cabra es poliéstrica estacional y la duración de la estación reproductiva está regulada por la combinación de factores genéticos y ambientales. Elementos climáticos como temperatura y fotoperiodo regulan la respuesta fisiológica. La duración de la gestación varía entre los 144 y 151 días y tiene una lactancia de 151 días. Las cabras son únicas entre los rumiantes domésticos debido a su capacidad para sobrevivir y reproducirse en condiciones desfavorables. El intervalo entre partos se ve afectado por la raza, edad, parición de la cabra, el nivel de producción de leche, porcentaje de partos, estación del año y nivel de nutrición, siendo el intervalo entre partos que puede oscilar entre los 240 y 350 días, teniendo un número de cabritos nacidos por parto que varía entre el 1.01 y 2.05 (Walkden y Bocquier, 2000).

Una de las características más importantes en la leche de cabra, es la naturaleza de su grasa; la cual es rica en triglicéridos de cadena media (TCM), que son compuestos de ácidos grasos que están constituidos de 6 a 12 átomos de carbono. Esta es la razón por la se denomina así a los ácidos grasos conocidos como caproico (C6), caprílico (C8) y cáprico (C10). Estos tres ácidos grasos componen de 15 a 18% de la leche de cabra, pero sólo 9.5% de la leche de vaca (Boza y Sanz Sampelayo, 1997; Chilliard et al., 2006).

2.2 Raza de cabras

Existen más de 60 razas de cabras reconocidas y más de 211 variedades de cabras en todo el mundo. Podemos mencionar algunas de las razas; Criolla, Murciana Granadina, Toggenburg, Boher, Saanen, Nubia, Alpina (Inifap, 2008). Las razas que se describen a continuación fueron las utilizadas para el desarrollo del estudio. La raza *Nubia* surgió en el Desierto de Nubia en África de la cruce de cabras Inglesas e Irlandesas dando origen a la Anglo Nubia. Es la raza más usada

para cruzamiento con ganado criollo por la mejora en producción de leche y el peso del cabrito. Entre sus características morfológicas son: cabeza convexa, orejas largas, anchas y en forma de campana, con la punta redondeada y con el cartílago suave y bien definido (ADGA, 2004).



Figura 1: Cabras lecheras raza *Nubio* (Muñoz, 2015)

Otra raza de cabras lecheras es la originaria de los Alpes Franceses (Suiza-Francesa), región considerada como la cuna de las más importantes razas caprinas lecheras del mundo. La *Alpina* es una raza lechera rústica, adaptable a climas templados y con excelente capacidad lechera (ADGA, 2004).

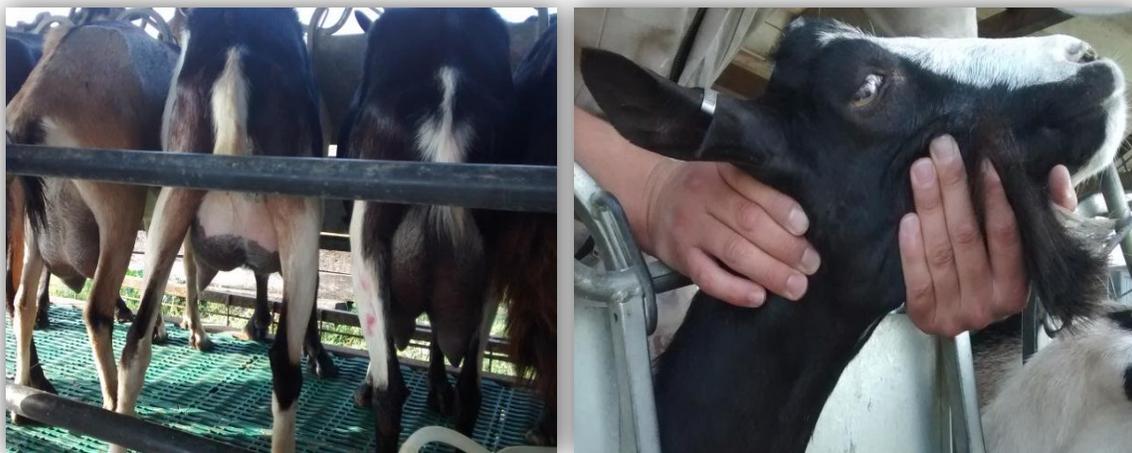


Figura 2: Cabras lecheras raza *Alpino Francés* (Muñoz, 2015)



Figura 3: Cabras lecheras raza *Criollo* (Muñoz, 2015)

2.3 Generalidades de la leche

La leche es el líquido segregado por las hembras de los mamíferos a través de las glándulas mamarias, con la finalidad de alimentar a su cría durante un tiempo determinado. Tiene gran importancia por su alto valor nutricional, representando el alimento más balanceado (Alais, 1971).

Es una mezcla compleja de distintas sustancias, presentes en suspensión o emulsión y otras en solución. En su composición presenta sustancias definidas como agua, grasa, proteína, lactosa, vitaminas, minerales denominado extracto seco o sólidos totales. Estos varían dependiendo de la raza, el tipo de alimentación, el medio ambiente y el estado sanitario de los animales (Agudelo y Bedoya, 2005).

2.4 Composición de la leche de cabra

La leche de cabra tiene una alta digestibilidad, propiedades inmunológicas y cuenta con una alta concentración de minerales como calcio y magnesio. Los componentes de la leche son fundamentales y su composición es diferente a la del

ganado ovino, bovino y a la leche materna como se reporta en el cuadro 1 (Slacanac et al., 2010).

Cuadro 1. Composición de leche humana, vaca y cabra

Parámetro	Humana	Vaca	Cabra
Agua (%)	87.6	87.3	87.5
Residuo seco (g/L)	11.7	12.5	13.6
Proteínas totales (g/L)	10	34	33
Carbohidratos (g/L)	70	48	51
Lípidos totales (g/L)	38	37	29
Nitrógeno no proteico (g/L)	3.2	2.5	3.2
Calcio (mg/L)	33	125	124
Fósforo (mg/L)	15	96	105

(Greppi et al., 2008).

La leche de cabra contiene mayor cantidad de vitamina A, (2.074 UI) comparada con la leche de vaca (1.560 UI), lo cual ocurre debido a que los caprinos convierten todo el caroteno en vitamina A, razón por la cual es más blanca que la leche de vaca. Adicionalmente la leche de cabra es una fuente rica en riboflavina que actúa como factor de crecimiento y niacina alcanzado un 350% más de niacina que la leche de vaca (Park, 2006).

La lactosa es el mayor carbohidrato presente en la leche de cabra y su valor promedio se encuentra en el orden de 4.1 g por 100 g de leche. Es sintetizada a partir de glucosa en la glándula mamaria con la participación activa de la proteína α -lactoalbúmina y favorece la absorción intestinal de calcio, magnesio, fósforo y la utilización de la vitamina D. Es un componente que varía según el nivel de producción láctea y no por efecto directo del tipo de dieta suministrada, por lo tanto su importancia radica en el mantenimiento del equilibrio osmótico en el torrente sanguíneo y las células alveolares de la glándula mamaria durante la síntesis de la leche. Las cantidades de oligosacáridos que están

presentes en la leche de caprinos fluctúan en un rango de 250 a 300 mg/L, lo cual representa 4 ó 5 veces más que los valores encontrados en la leche de vaca (Cuadro 2: Martínez, 2004).

Cuadro 2: Cantidad total de oligosacáridos y lactosa en leche de cabra, vaca, oveja y humana.

Origen	Oligosacáridos (g/L)	Lactosa (g/L)
Leche caprina	0.25 -0.30	45
Leche bovina	0.03 – 0.06	46
Leche ovina	0.02 – 0.04	48
Leche humana	0.5 – 0.8	68

(Martínez, 2004).

En la leche de cabra también se encuentran algunos lípidos simples como los diacilgliceroles y los ésteres de colesterol, así como fosfolípidos y compuestos liposolubles como los esteroides y el colesterol. El consumo de leche de cabra también reduce los niveles de colesterol total y la fracción LDL debido a la alta cantidad de triglicéridos de cadena media (TCM), los cuales constituyen hasta el 36% del total de la grasa en leche de cabra mientras que en la leche de vaca representan sólo el 21% de la grasa, disminuyendo la síntesis de colesterol endógeno. Los lípidos en la leche de cabra se encuentran de manera abundante en forma de glóbulos con un tamaño de menos de 3 μm , lo cual permite una mayor digestibilidad y una mayor eficiencia en el metabolismo lipídico comparado con la leche de vaca (Haenlein, 2004). La leche de cabra no contiene aglutinina, proteína encargada de concentrar los glóbulos grasos para generar estructuras más complejas y de mayores dimensiones, razón por la cual los glóbulos permanecen dispersos y pueden ser atacados más fácilmente por las enzimas digestivas (Rodden, 2004).

Barrionuevo et al., en el 2002 realizaron un estudio en el cual ratas con condiciones patológicas de síndrome de mala absorción fueron alimentadas con leche de cabra. Los resultados arrojados mostraron un incremento en la digestibilidad y absorción de hierro y cobre. (Haenlein, 2004).

2.5 Proteínas de la leche de cabra

Entre las principales proteínas presentes en la leche de los mamíferos se encuentran la α 1, α 2, β y κ -caseínas como se está reportando en el cuadro 3. Se encuentran valores promedio de proteínas en la leche de cabra 4.5%, superiores al ganado bovino 3.3% pero inferiores al ganado ovino 5.8%, dichos porcentajes corresponden a gramos de proteína en 100 g de leche (Park, 2006).

Cuadro 3. Composición de las fracciones de proteína en leche humana, vaca y cabra (g/L)

Proteínas	Humana	Vaca	Cabra
Total	9-15	32-34	28-32
Caseínas	2.0-2.5	26-37	22-28
α 1-caseína	-	11-15	10
α 2-caseína	-	3-4	3
β -caseína	1.5	9-11	11
κ -caseína	0.5	2-4	4
Suero	6.3	5.8-6.5	5.5-6.5
α -lactoalbúmina	1.9-2.6	0.6-1.5	1.2
β -lactoglobulina	-	3-4	3.1
Albúmina sérica	0.4	0.4	0.5
Inmunoglobulina	1.1	1.0	1.0
Lactoferrina	1.7-2	0.1	0.02-0.2
Lisozima	0.04-0.2	-	-

(Greppi et al., 2008).

Las inmunoglobulinas presentes en la leche de cabra son muy similares a la leche de vaca y se encuentran siempre en mayores cantidades durante las fases iniciales de la lactancia, principalmente en el calostro (Park, 2006). La alergia a la proteína de leche, es una patología cada vez más común en la población infantil. Por la gran variedad de polimorfismos genéticos de las diferentes caseínas y proteínas del suero de la leche de vaca es complejo determinar cuál proteína es la responsable de la reacción alérgica de la leche. Estudios clínicos realizados por Reinert y Fabre (1997) encontraron que niños alérgicos a la leche de vaca, al ser alimentados con leche de cabra tuvieron resultados positivos en 93% de los niños y fue recomendada como una valiosa ayuda en nutrición infantil por su baja alergenicidad y mejor biodigestibilidad que la leche de vaca.

Las proteínas de la leche de cabra son similares a las proteínas mayores de la leche de vaca en su clasificación general de α , β , κ -caseínas, β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina pero difieren en el polimorfismo genético (Park et al., 2007).

2.5.1 Caseínas (α y β)

La variante de α s-1-caseína tiene seis diferentes tipos A, B, C, D, E, F y estas son nulas en la leche de cabra. En leche de vaca la variante α s-1-caseína es la mayor α s-caseína. La variante mayor de caseínas en leche de cabra es la α s-2-caseína, la cual tiene diferente digestibilidad (Remeuf, 1993).

La leche de vaca es rica en α s1-caseína, mientras que β -caseína es más frecuente en la leche de cabra en la que representa entre 48-60% del total de caseínas (Potocnik et al., 2011). La α s1-caseína representa del 36-40% del total de las caseínas en la leche de vaca y en el caso de la leche de cabra el contenido está en un rango de 0-25% del total de caseínas (Martin, 1997; Bramanti et al., 2003).

2.5.2 κ -caseína

La κ -caseína es una proteína glicosilada con residuos de ácido siálico (Lönnerdal, 2003). Azuma et al., en 1981 demostraron que la κ -caseína humana estimulaba el crecimiento de *Bifidobacterium infantis*, una bacteria que inhibe la colonización con *E. coli* y protege el tracto gastrointestinal de enfermedades. El efecto es más pronunciado cuando se trata con pepsina o quimosina y se forma un glicomacropéptido. Se ha demostrado que la molécula de κ -caseína altamente glicosilada inhibe la adhesión de *Helicobacter pylori* a la mucosa gástrica humana (Strömquist et al., 1995).

2.5.3 Proteínas del suero

El suero representa una rica y variada mezcla de proteínas. Las proteínas del suero suponen alrededor del 20% de las proteínas de la leche de vaca, no sólo juegan un papel nutritivo como rica y balanceada fuente de aminoácidos sino que además ejercen efectos biológicos y fisiológicos. Se incluyen proteínas como α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas, glicomacropéptido y una gran variedad de factores de crecimiento. Estas mismas proteínas, al ser hidrolizadas parcialmente, sirven de fuente como fuente de péptidos con actividades biológicas y fisiológicas (Cuadro 4). Sus principales funciones son su actividad anticancerosa, un papel protector frente al cáncer de colon y estimulador del sistema inmune (Hernández y Vélez, 2014).

La lactoferrina es una de las más abundantes glicoproteínas en la leche humana y rumiantes con un peso molecular de 78 kDa (Froehlich et al., 2010). La concentración en rumiantes oscila en un rango de 0.02 a 0.2 mg/mL (Hiss et al., 2008). Tiene amplia actividad biológica, como antioxidantes, antibacterial y antiviral, inmunomodulación, unión con hierro y otros minerales (Lönnerdal, 2003).

Cuadro 4: Funciones biológicas de las proteínas del suero de la leche

Proteína	Función biológica
β -lactoglobulina	Transportador de retinol, ácidos grasos, vitamina D y colesterol Aumento de la actividad esterasa pregástrica. Transferencia de inmunidad Regulación de la glándula mamaria en el metabolismo del fósforo
α -lactoalbúmina	Prevención del cáncer Síntesis de lactosa Tratamiento de la enfermedad inducida por el estrés crónico Prebiótico Absorción de hierro, zinc
Albúminas de suero	Función antimutagénica Prevención del cáncer Inmunomodulación
Inmunoglobulinas	Prevención y tratamiento de diversas infecciones microbianas (infecciones de las vías respiratorias superiores, gastritis, caries dental, diarrea).
Lactoferrina	Actividades antibacterianas, antivirales, antifúngicas. Evita varias infecciones microbianas y varios tipos de cáncer Actividad prebiótica
Lactoperoxidasa	Prevención de cáncer de colon y cáncer de piel
Glicomacropéptido	Interacción con toxinas, virus y bacterias (mediada por la fracción de carbohidratos) Control de la formación de ácido en la placa dental Actividad de inmunomodulador

(Mendes da Silva, 2011)

La α -lactoalbúmina, es una proteína pequeña con un peso molecular de 14.2 kDa y que tiene unido al ión calcio en su cadena polipeptídica de 123 aminoácidos, 67 de los cuales son esenciales (Jovanovic et al, 2005). La β -

lactoglobulina es una proteína globular pequeña con un peso molecular de 18.4 kDa, con estructura secundaria y terciaria. Está compuesta de 162 aminoácidos, 84 son aminoácidos esenciales y cuatro residuos de cisteína (Jovanovic et al, 2005).

2.6 Péptidos Bioactivos en leche

Son considerados fragmentos de proteínas, resultado de hidrólisis proteolítica, enzimática o por fermentación de caseínas y proteínas del suero. Dichas moléculas imparten funciones o condiciones positivas que influyen en la salud humana (Kitts y Weiler, 2003). La actividad de los péptidos es basada en su composición de aminoácidos y secuencia, ya que el tamaño de la secuencia activa puede variar de dos a veinte residuos de aminoácidos. Se han caracterizado péptidos con las siguientes funciones biológicas; antihipertensivo, antitrombótico, antimicrobiano, antioxidante, inmunomodulador y péptidos opioides (Korhonen y Pihlanto, 2006; Phelan et al., 2009; Nagpal et al., 2011).

Chessa et al, en el 2009 encontraron péptidos bioactivos de la leche de cabra que tienen relación con la leche de vaca, de los cuales 9 muestran actividad opioide, 5 se enlazan con proteínas, 23 muestran actividad hipotensiva, 3 son antitrombóticos y 6 son inmunomoduladores.

Así como la leche humana, la leche de cabra contiene péptidos bioactivos, nucleótidos, poliaminas, ácido siálico, aminoácidos libres y factores de crecimiento que optimizan el desarrollo. La actividad antimicrobiana de la leche de cabra es atribuida a inmunoglobulinas y no a inmuno-proteínas como la lactoferrina, lactoperoxidasa y lisozima. Los péptidos antibacteriales encontrados son agonistas activos de microorganismos patógenos como los del género *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, levaduras y hongos filamentosos (Atanasova y Ivanova, 2010).

2.7 Glicomacropéptido de caseína (GMP)

Cuando la κ -caseína es tratada con quimosina durante la obtención de quesos, la proteína es hidrolizada entre los aminoácidos 105 y 106 de la κ -caseína, que son fenilalanina y metionina respectivamente, dando como resultado dos fracciones que son: para- κ -caseína (residuo 1 – 105) y GMP (residuo 106 - 169), el cual es removido con el suero de quesería. El GMP queda soluble en el suero después de separar la cuajada, pero no está presente en la leche. Es un péptido de gran interés ya que se le atribuyen numerosas funciones biológicas como ser factor estimulador de bifido bacterias al contener oligosacáridos, ser fuente de ácido siálico (importante para el desarrollo cerebral) del lactante, actividad antiviral por los residuos de ácido siálico, modulador de las secreciones gástricas y objeto de nuevas digestiones dando lugar a péptidos bioactivos con actividad antitrombótica (Jiménez et al., 2001).

El glicomacropéptido es rico en aminoácidos como prolina, glutamina, serina, tirosina, treonina pero deficiente en triptófano, tirosina, fenilalanina y cisteína (Kreuz et al., 2009b). Es rico en aminoácidos ramificados isoleucina y valina, bajo en metionina lo que lo hace útil en dietas para pacientes que sufren enfermedades hepáticas. Además por no contener fenilalanina es importante para pacientes que sufren fenilcetonuria (Wang et al., 2007)

Los carbohidratos están unidos a κ -CSN en el aminoácido treonina de la posición 131, 133, 135, 142 y a la serina de la posición 141, están unidos por una orto-glicosilación (Figura 4). Estas posiciones están localizadas más o menos a la mitad del péptido (Eigel et al., 1984). Las cadenas heterogéneas de carbohidratos son la característica de glicomacropéptido y no se encuentran en los residuos restantes de la estructura de la κ -caseína (1 al 105). Cada una de las fracciones del glicomacropéptido con diferentes carbohidratos en la cadena son las responsables de las funciones biológicas (Li y Mine, 2004).

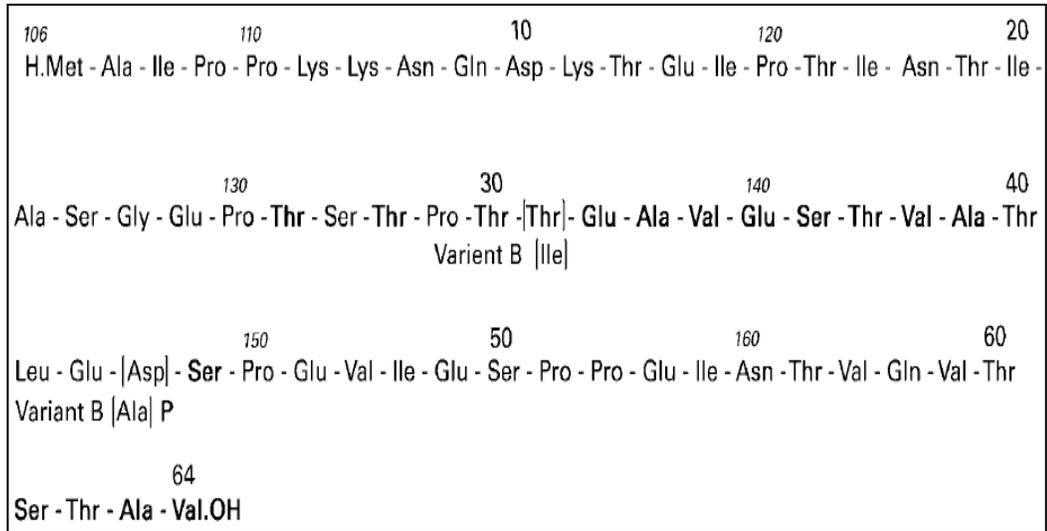


Figura 4: Estructura primaria de glicomacropéptido de caseína variante A y B (Eigel et al., 1984).

El glicomacropéptido de caseína (GMP) presenta la característica particular de ser rico en ácido siálico, sustituido por los derivados de ácido neuramínico, siendo las formas más representativas el ácido n-acetilneuramínico y el ácido n-glicolilneuramínico (Salcedo et al., 2011). Muchas de las propiedades biológicas y funcionales del GMP (Cuadro 5) pueden ser atribuidas al ácido siálico pero también puede estar ligado a péptidos (Fernando y Woonton, 2010). Una de las aplicaciones del GMP es en los pacientes con fenilcetonuria, debido a que carecen de la capacidad para metabolizar la fenilalanina haciendo que sea más fácilmente tolerable. (Nielsen y Tromholt, 1994).

Cuadro 5: Propiedades biológicas de glicomacropéptido de caseína (GMP) unido a ácido siálico y péptidos

Casein-glicomacropéptido unido a ácido siálico	Casein-glicomacropéptido unido a péptidos
Inhibición de la toxina del cólera	Reducción de la secreción gástrica
Modulación de la respuesta inmune	Prebiótico
Inhibición de la hemaglutinación	Modulación de la respuesta inmune
Prevención de infección intestinal	Actividad antibacterial y probacterial
Estimulación de la liberación de colecistocinina	Efecto anti-cariogénico
	Estimulación de la liberación de colecistocinina
	Manejo nutricional de la fenilcetonuria

(Neelima et al., 2012)

2.7.1 Propiedades fisicoquímicas de glicomacropéptido de caseína

Thomä et al, en el 2006, reportaron que el casein-glicomacropéptido es un péptido ácido con un punto isoeléctrico de 4 debido a la alta cantidad de los aminoácidos glutamina y asparagina, además de la heterogeneidad en glicosilación y fosforilación. Es altamente soluble y estable en el calor según lo que mencionan KreuB et al., 2008. El GMP contiene dos asparaginas, siete u ocho glutaminas dependiendo de la variante genética, una serina fosforilada y tres residuos de lisina (Farías et al., 2010).

El peso molecular del GMP es bajo (8000 Da), la proteína tiene una carga neta negativa lo que hace una difícil visualización con azul de coomasie en electroforesis SDS-PAGE (Gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico). Para la cuantificación de GMP se requiere precipitación con ácido tricloroacético o enzimática, el GMP se concentra en la fracción del suero (Sharma et al., 1993).

2.8 Aminoácidos en la leche de cabra

El contenido de aminoácidos en la leche de cabra y leche de vaca es más alto que en la leche humana, principalmente en los aminoácidos de cadena ramificada (Leucina, isoleucina y valina). La α -caseína de la leche de cabra contiene más aspartato, lisina y tirosina que la β -caseína y esta última tiene más leucina, prolina y valina que α -caseína (Davis et al., 1994).

En la leche de cabra el aminoácido libre taurina derivado de aminoácidos que contienen azufre, tiene importantes funciones metabólicas como lo hace la carnitina que es un nutriente valioso para el recién nacido humano. Está implicado en la formación del cerebro del lactante y de las sales biliares, en la homeostasis del calcio, antioxidante, excitabilidad de las neuronas y en la estabilización de las membranas (Redmond et al., 1998). La leche de cabra contiene una importante cantidad de taurina y contribuye al tratamiento de pacientes diabéticos (Anaeto et al., 2010).

2.9 Alergenicidad a las proteínas de la leche

Las reacciones adversas que se presentan por el consumo de leche pueden ser por intolerancia a la lactosa y reacciones alérgicas provocadas por varias proteínas de la leche. Las proteínas con mayor potencial alérgico de la leche son especialmente α 1-caseína, α 2-caseína y β -lactoglobulina, las cuales no se encuentran en la leche humana (Crittenden y Bennett, 2005).

La ocurrencia de alelos asociados con un nulo o bajo contenido de proteínas alérgicas puede ser explotado para la producción de leche con una calidad nutricional particular por ejemplo una leche hipoalérgica (Caroli et al., 2009). Los epítopes de proteínas de la leche comprenden secuencias altamente conservadas que son las responsables de la reactividad cruzada de IgE con

proteínas de la leche de otros mamíferos, incluyendo las correspondientes a los seres humanos (Wal, 2004).

Investigaciones extensas en leche de cabra revelan la presencia de un alto número de alelos en el locus 4 de la caseína y el polimorfismo de la caseína está asociado con diferentes niveles en su síntesis distinguiéndose alelos fuertes, medios, débiles y nulos. El estudio del locus de caseína en cabras permitió diferenciar animales con alelos de caseína débiles y nulos, que podrían ser usados para programas de alimentación con el objetivo de producir leche con propiedades hipoalergénicas, mientras que animales con alelos fuertes, podrían ser usados para mejorar la calidad de la leche y sus productos como el queso (Albenzio et al., 2009, Roncada et al, 2002, Sacchi et al, 2005).

La leche de cabra está ganando importancia en nutrición humana para pacientes con problemas de alergia a la proteína de la leche de vaca (APLV) y desordenes gastrointestinales (Haenlein, 2004). Se ha encontrado que en la raza *Garganica*, la alta frecuencia de alelos débiles F, la presencia de alelos nulos para α 1-caseína (CSN1S1) y la alta frecuencia del genotipo A0 en el locus CSN1S2 para α 2-caseína podría ser explotado para la alimentación de pacientes con APLV (Albenzio et al., 2009).

Albenzio et al., en el 2012 estudiaron la respuesta inflamatoria del consumo de leche de cabra *Garganica* en infantes con alergia a la leche de vaca evaluando la producción de citosinas por las células mononucleares de la sangre. En el estudio las proteínas de la leche de cabra disminuyeron la producción de citosinas proinflamatorias (TNF- α : factor de necrosis tumoral, IL-10: interleucina 10, IL-12: interleucina 12). Los resultados en TNF- α evidencian que es una importante fuente agonista de reactividad inmune. Por su parte la IL-10, es una de las mayores citosinas producidas por la regulación de células T, particularmente suprimiendo la formación de citosinas proinflamatorias como TNF- α .

2.10 Beneficios nutricionales de la leche de cabra

La leche de cabra tiene un interés particular por su composición específica, la cual es relevante en la dieta humana por su valor nutricional, digestibilidad, terapéutica y características dietarias. (Raynal-Ljutovac et al., 2008). Bouckennooghe et al., en el 2006 mencionan que la leche de cabra puede tener gran utilidad en la manufactura de fórmulas infantiles por sus múltiples beneficios nutricionales.

Un gran número de estudios han identificado algunos compuestos bioactivos de la leche de cabra y productos con características bioquímicas, fisiológicos y funciones nutricionales que tienen un gran potencial en la salud humana como las que se mencionan a continuación:

- Desarrollo gastrointestinal tanto en función como en actividad
- Desarrollo infantil
- Desarrollo inmunológico y funcional
- Actividad microbiológica, como antibiótico y acción probiótica.

(Gobbetti et al., 2007).

Además, la leche de cabra presenta alta digestibilidad, alcalinidad distintiva, gran capacidad de amortiguador, alto contenido de ácidos grasos de cadena corta, ácidos grasos de cadena media, zinc, hierro, magnesio y calcio, fuerte actividad antimicrobiana por la presencia de lactoperoxidasa, características inmunológicas y antibacteriales y altos niveles de aminoácidos como valina, glicina e histidina. Por ello la leche de cabra se ha recomendado con fines nutricionales, y como un alimento con funciones terapéuticas para pacientes que sufren varias alergias y para quienes necesitan una mejor absorción de nutrientes, además de su alta capacidad de amortiguador que es utilizada para tratamiento de ulcera péptica (Park, 1994; Scalanac et al., 2010).

Otra característica importante de la leche de cabra es el contenido de ácido siálico, el cual se encuentra en concentraciones de hasta 8 mg/dL mientras que en la leche humana se encuentra en una concentración de aproximadamente 30 mg/dL. El ácido siálico se encuentra en alta concentración en los gangliósidos del cerebro, los cuales tienen una estructura importante y elementos funcionales para el cerebro. Los infantes pueden no tener suficiente y eficiente síntesis de ácido siálico por lo inmaduro de su hígado por lo que se tiene que recurrir a la suplementación del ácido siálico en la dieta. Dichas alternativas pueden ser la leche materna o de alguna otra forma de alimentación, incluida la leche de cabra (Wang et al., 2001).

2.11 Factores que afectan la composición de la leche

2.11.1 Proteínas

El contenido de proteína es afectado por diferentes factores: raza, alimentación, régimen alimenticio, tecnología en producción, estación, estro (periodo de modificación de la conducta sexual de la hembra), zona geográfica, porcentaje de partos, estado de lactación, hora del día. La estación puede modificar la cantidad de proteína en la leche, con niveles más altos en otoño e invierno que en primavera y verano. La hora del día también modifica los niveles de proteína, con valores más bajos en la mañana que en la tarde (Bendelja et al., 2011).

Los genotipos de las proteínas de la leche tienen efectos, especialmente en las diferentes variantes de β -lactoglobulina, κ -caseína, α_{s1} -caseína, β -caseína (Bobe et al., 2007, Cardak, 2005). La genética y las correlaciones fenotípicas entre proteína y el contenido de caseínas son de 0.91-0.99 y 0.92-0.97 respectivamente, las cuales son valores muy altos (Ikonen et al., 2004, Samoré et al., 2007). De acuerdo a lo reportado por Bonfatti et al., en el 2011, la heredabilidad de los contenidos de proteínas en leche varía en los rangos de 0.11 para α -lactoalbúmina

y 0.52 κ -caseína. Para α_{s1} -caseína, κ -caseína, β -caseína está se encuentra en el rango de 0.63 a 0.69 mientras que la heredabilidad para para α_{s2} -caseína, β -lactoglobulina fueron de 0.28 y 0.34 respectivamente. Esta información indica que el principal objetivo de la selección es aumentar la producción de leche y poder cambiar la composición de la misma.

2.11.2 Grasas y Carbohidratos

La suplementación lipídica en la dieta de las cabras incrementa el contenido de grasa en la leche y permite que tenga menos ácidos grasos saturados, mucho más ácido oleico, ácidos grasos de cadena larga, más ácido α -linolénico (omega 3) y otros ácidos grasos trans (Sanz Sampelayo et al., 2007).

En los rumiantes el acetato y β -hidroxibutirato son precursores de ácidos grasos como el ácido palmítico (C16). La mayor parte del ácido esteárico (C18) viene de los triglicéridos de la sangre y no del ácido butírico (C4) como en otras especies. Muchos de los ácidos grasos insaturados de la leche son derivados de la deshidrogenación de los ácidos grasos saturados como el ácido esteárico; además las glándulas mamarias no convierten un ácido graso insaturado a saturado. El glicerol es principalmente sintetizado a partir de la glucosa en la glándula mamaria y una pequeña parte viene de los triglicéridos absorbidos de la sangre. La glucosa es el precursor primario de los ácidos grasos en la leche de especies no rumiantes (Barry, 1964).

El 80% de las grasas neutras y ácidos grasos volátiles, son tomados por la glándula mamaria apareciendo en la leche y por otro lado sólo el 50% de la glucosa aparece como lactosa, mientras que el resto es usado para producir energía (Linzell, 1960).

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

Caracterizar la leche de cabra de tres razas (*Alpino Francés, Nubio y Criollo*) y comparar en proteínas totales, caseínas, proteínas del suero, glicomacropéptido de caseína con respecto a leche bovina.

3.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar y cuantificar α -caseína, β -caseína, κ -caseína, lactoferrina, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina en leche.
- Secuenciar la β -caseína de la leche de cabra.
- Evaluar el glicomacropéptido de caseína (GMP) en leche.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Animales de experimentación

Se trabajó con 30 cabras productoras de leche de tres razas diferentes (*Alpino Francés*, *Nubio* y *Criollo*), con 2 y 4 partos y un peso de 45 ± 5 kg. La alimentación se basó en pastoreo suplementado o semiintensivo con 8 horas de agostadero semiárido y suplementación dos veces al día (por la mañana y por la tarde). La dieta suplementada se conformó de 800 g de concentrado de maíz, soya, salvado de trigo, gluten, grano seco, vitaminas, minerales, secuestrante de micotoxina (18.5% de proteína cruda, 1.9 Mcal ENI/kg de materia seca), 800 g de alfalfa y 800 g de ensilado de maíz. Estas dietas fueron elaboradas en el Campus Amazcala Área Pecuaria de la Universidad Autónoma de Querétaro mismo lugar donde se encontraron los animales de experimentación. El consumo de alimento y agua administrada fue *ad libitum*.

Se utilizaron 10 animales por raza y la toma de muestra se realizó en el mes de julio del 2015. Las muestras fueron obtenidas por la mañana, se identificaron y mantuvieron en refrigeración a 4°C para un posterior almacenamiento en congelación a -20°C.

La muestra de leche bovina fue de raza *Holstein* con un total de 10 animales y sólo se utilizó como punto de comparación general, bajo una alimentación a base de alfalfa, ensilado y concentrado de maíz.

4.2 Análisis general de leche por ultrasonido

Se trabajó con una mezcla de leche de diez animales por raza y por especie después se realizó un análisis en el equipo LactoScan colocando cada muestra por triplicado. El análisis general de leche comprende la determinación de proteínas, grasa, lactosa, sólidos totales, densidad entre otros.

4.3 Extracción y purificación de proteínas totales de leche de cabra y bovina

Se descremaron 30 mL de leche por medio de centrifugación a 4500 g por 30 minutos, se realizó este paso hasta que la muestra estuviera libre de grasa, se decantó el líquido hasta un volumen aproximado de 15 mL. Se adicionaron 20 mL de alcohol etílico y se mezcló, se procedió con la adición de 5 mL de cloroformo y se mezcló. La mezcla se incubó a -20°C durante la noche para después centrifugar a 4500 g por 25 minutos, se desechó el sobrenadante y se dejó reposar el pellet y con ello volatilizar el solvente. Para el lavado del pellet se agregaron 15 mL de acetona al 90% a -20°C, se mezcló la muestra y se incubó en hielo por 15 minutos. Se continuó con la centrifugación a 4500 g por 25 minutos, se desechó el sobrenadante y se repitió el procedimiento de lavado dos veces para posteriormente secar el pellet. Se resuspendió el pellet de proteína con 10 mL de agua HPLC y se procedió a la cuantificación de proteínas.

4.4 Cuantificación de proteína total por Ensayo Qubit™

La concentración de proteínas en leche se determinó por medio del equipo Qubit® 2.0 Fluorometer. Para la cuantificación se colocaron 3 tubos para los estándares de proteína y un tubo por cada muestra (Cuadro 6). La solución de trabajo se preparó diluyendo el reactivo Qubit™ a 1:200 en buffer Qubit™. Después se prepararon 200 µL de la solución de trabajo para cada muestra y estándar. Las muestras se prepararon de acuerdo al cuadro 6. Se mezclaron los tubos con ayuda de un vortex por 2 a 3 segundos, después se incubaron los tubos por 2 minutos a temperatura ambiente aproximadamente por 15 minutos y protegidos de la oscuridad. Para la cuantificación se insertó el tubo en el Qubit 2.0 Fluorometer, se procedió al registro de la lectura.

Cuadro 6: Preparación de tubos para la cuantificación de proteína

	Estándar	Muestra
Volumen de solución de trabajo	190 µL	180-199 µL
Volumen de estándar	10 µL	---
Volumen de muestra	---	1-20 µL
Total de volumen de cada tubo	200 µL	200 µL

(Invitrogen, 2010).

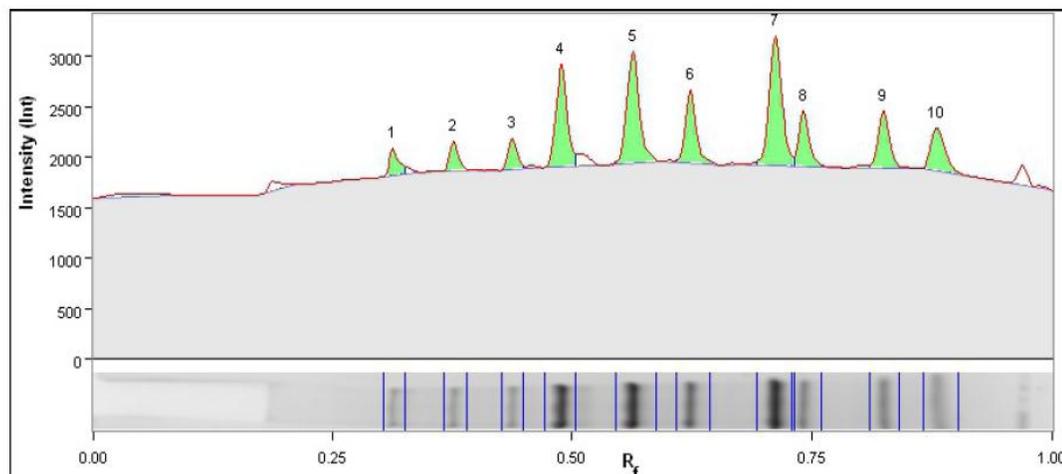
4.5 Determinación del perfil proteínico de leche de cabra y bovina

Las proteínas presentes en las diferentes muestras de leche se separaron de acuerdo a su peso molecular mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras. Los geles utilizados tenían un gradiente de concentración de acrilamida 4-20% (geles de gradiente). Las condiciones de corrida de los geles fueron las siguientes: 70 Voltios por 10 minutos y aproximadamente 1.2 horas a 120 Voltios. Se fijaron los geles con solución fijadora (alcohol etílico: ácido acético glacial: agua) por 20 minutos y posteriormente se lavaron con agua para eliminar el resto de la solución de fijado, se procedió a la tinción con azul brillante de coomassie G250 por un lapso de 12 horas a temperatura ambiente y con agitación constante. Después de transcurrido el tiempo se procedió a lavar el gel para eliminar el exceso de colorante y proceder con la cuantificación y el análisis densitométrico de las bandas. Para la identificación de proteínas, se comparó su peso molecular con el de estándares de peso molecular conocido. Se utilizó el marcador de peso molecular Precision Plus Protein™

4.6 Análisis densitométrico de los geles (abundancia relativa)

Para el análisis cuantitativo de las proteínas de cada muestra de leche se realizó un análisis densitométrico utilizando para ello el equipo Gel DOC™ EZ Imager. En la figura 6 se muestra la imagen de un gel de proteínas al ser

cuantificado. Cada pico corresponde a una banda dentro del mismo carril de carga. Para la cuantificación se determinó la abundancia relativa de cada banda con respecto a la suma de todas las bandas dentro del carril. El resultado arrojado está dado en porcentaje respecto a la suma total de bandas dando un 100 por ciento.



Band No.	Band Label	Mol. Wt. (KDa)	Relative Front	Volume (Int)	Abs. Quant.	Rel. Quant.	Band %
1		250.0	0.314	173,229	N/A	N/A	3.5
2		150.0	0.377	169,579	N/A	N/A	3.4
3		100.0	0.438	180,310	N/A	N/A	3.6
4		75.0	0.489	786,867	N/A	N/A	15.8
5		50.0	0.563	908,558	N/A	N/A	18.3
6		37.0	0.623	499,466	N/A	N/A	10.0
7		25.0	0.712	1,075,363	N/A	N/A	21.6
8		20.0	0.741	375,658	N/A	N/A	7.5
9		15.0	0.824	409,895	N/A	N/A	8.2
10		10.0	0.880	398,361	N/A	N/A	8.0

Figura 5: Representación del análisis densitométrico de las bandas que corresponde a una proteína específica.

4.7 Separación de las variantes genéticas de β -caseína (BCN) en leche de cabra

Para separar las variantes genéticas de leche de cabra se llevó a cabo una electroforesis en gel de poliacrilamida con urea (UREA-PAGE) de acuerdo a la metodología establecida por Andrews, 1983.

La leche fue descremada por medio de centrifugación a 4500 g, por 20 minutos. Se calentó la muestra de proteína total a 37°C para después llevar a cabo la precipitación de la fracción de caseína con ácido acético 1 M hasta llegar a un pH=4.3 para la leche de cabra y 4.6 para la leche bovina. Se centrifugó la muestra a 4500 g por 20 minutos y se decantó el sobrenadante. Se continuó con el lavado del pellet de proteína con 30 mL de agua ácida (ácido acético 1 M) y se centrifugó a 4500 g por 20 minutos y se decantó el sobrenadante. El pellet de caseína se dispersó en una solución diluida de NaOH pH 9, se mezcló la muestra con el amortiguador y se inyectaron 4.5 µg de proteína en los pozos del gel. También se inyectó 4.5 µg de proteína estándar de BCN bovina.

Los geles consistieron en 4%T el concentrador y 15%T el separador, donde T representa el porcentaje en peso del monómero total empleado (acrilamida + bis-acrilamida en gramos/100 mL). El amortiguador concentrador fue 0.06 M Tris, 4.5 M urea a pH 7.6 y el separador fue 0.76 M Tris, 9 M urea a pH 8.9. El amortiguador de corrida fue una solución de 0.02 M Tris, 0.19 M glicina. Se efectuó la separación electroforética usando una cámara vertical (SE 280 Hoefer Scientific Instruments) a 4°C y 20 mV en el gel concentrador, aumentando a 30 mV en el gel separador. Las corridas tuvieron una duración promedio de 90 min. Los geles se tiñeron con azul brillante de coomassie G250. La densidad de las bandas de proteína se determinaron mediante el fotodocumentador Alphamager® HP System (Protein Simple, Santa Clara, CA, EUA). La determinación cuantitativa de las bandas se realizó con el Software —Alphaviewll mediante la integración del área bajo la curva de los picos de cada banda.

4.8 Determinación de la secuencia de β -caseína (BCN) obtenida mediante UREA-PAGE

La secuencia y la masa molecular de la BCN de la leche de cabra se determinó por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas con trampa lineal de iones (HPLC-LTQ MS). Para esto,

las bandas de beta-caseína separadas previamente mediante UREA-PAGE fueron digeridas con termolisina. Los péptidos resultantes, fueron sometidos en un sistema LC-MS bomba de nanoflujo EASY-nLC II (Thermo-Fischer Co. San José, CA) acoplado a un espectrómetro de masas LTQ-Orbitrap Velos (Thermo-Fischer Co., San José CA) con sistema de ionización tipo nano-electroaspersión.

En el sistema de cromatografía de líquidos se utilizó gradiente de 10-80% del solvente (agua/acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico) en 120 minutos; utilizando una columna capilar (ID 0.75 μm y 10 cm de largo RP-C18), el flujo fue de 300 nl/min. Para la fragmentación de los péptidos se utilizaron los métodos de CID y HCD que por sus siglas en inglés significan disociación inducida por colisión y disociación por colisión de alta energía, donde solamente los iones con carga 1+ y 2+ fueron seleccionados para los eventos de fragmentación.

4.9 Determinación de glicomacropéptido de caseína (GMP) por Western Blot

4.9.1 Extracción de glicomacropéptido de caseína

Las muestras de leche fueron sometidas a una reacción de hidrólisis con quimosina (cuajo vegetal grado alimenticio Universal Tradher S. de R. L.) para romper la cadena de kappa-caseína y obtener la fracción de glicomacropéptido de caseína (GMP). Se descremaron 30 mL de leche mediante centrifugación a 4500 g por 30 minutos. El proceso se repitió hasta que la muestra estuviera libre de grasa. Cada muestra se analizó por duplicado. Posteriormente se adicionó el cuajo vegetal en relación 1:1 con agua destilada. La mezcla se calentó a una temperatura de 35-40°C para acelerar la precipitación de las caseínas. Se centrifugó y se obtuvo el sobrenadante (representa la fracción del suero). La proteína del suero se cuantificó por medio del ensayo QubitTM. Se utilizaron geles de gradiente SDS-PAGE de 4 a 20% y se corrieron a 120 Voltios por 1.2 horas. Se inyectó la misma cantidad de proteína (80 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) contenidos en 20 μL de muestra.

4.9.2 Western Blot

Después de la separación electroforética de las proteínas de suero, estas fueron transferidas a membranas PVDF (Polivinilideno difloruro) por medio del equipo Trans-Blot® Turbo™ con un protocolo estándar de transferencia por BIO RAD bajo las siguientes condiciones de trabajo; 25 Voltios, 1 Ampere por un tiempo de 30 minutos. Después de transcurrido el tiempo de transferencia se lavó la membrana con agua y se procedió al bloqueo de la misma con leche bloqueadora al 5% en TBS, el tiempo de bloqueo fue de 4 horas. La detección de GMP se realizó con los anticuerpos anti-GMP bovino (dilución 1:500). El anticuerpo primario fue adquirido de la casa matriz Universidad Autónoma de Aguascalientes y la incubación fue de 12 horas en refrigeración en solución bloqueadora al 5% con agitación lenta. Se continuó con 6 ciclos de lavado con TTBS de 5 a 10 minutos cada uno. Con ello se preparó la membrana para la incubación del segundo anticuerpo el cual consistió en Goat anti-Rabbit IgG (dilución 1:5000; marca comercial Científica Senna) en TTBS por un tiempo de 5 horas a temperatura ambiente, agitación lenta y protegido de la luz. Transcurrido el tiempo de incubación del segundo anticuerpo se procedió al lavado (6 ciclos de 5 a 10 minutos cada uno). Se realizó un último lavado con TBS para eliminar el exceso de Tween 20 y se almacenó la membrana en TBS para su posterior revelado.

El revelado de la membrana fue realizado por medio del protocolo Clarity Western ECL Substrate Quick Start Guide, para lo cual se incubó la membrana con la solución de revelado por un tiempo de 20 minutos con agitación lenta y protegida de la luz. La membrana se observó con el equipo Storm 850 en condiciones de oscuridad (Alcázar et al., 2000).

4.10 Determinación del Perfil de Aminoácidos de leche de cabra

Para determinar el perfil de aminoácidos de leche de cabra se llevó a cabo un método de cromatografía de intercambio iónico. La preparación de los reactivos usados para la oxidación e hidrólisis de la proteína de las muestras, se encuentra en el Anexo 1.

Primeramente las muestras se desgrasaron con éter de petróleo. Para la oxidación, se pesaron 0.2 mg de cada muestra. Se colocaron en un frasco de 100 ml en baño de hielo. Se agregaron 5 ml de la mezcla de oxidación ácido per fórmico-fenol (ver Anexo 1), mezclando con espátula de vidrio. Se selló el frasco y se dejó a 0°C durante 16 h. Después de esto, se agregaron 0.84 g de bisulfito de sodio.

A la muestra oxidada se le agregaron 25 ml de la mezcla de hidrólisis (ver Anexo 1). El frasco se colocó en la estufa y se ajustó la temperatura a 110°C. Se dejó tapado durante 23 h. Una vez terminada la hidrólisis, se abrió el frasco y se colocó en un baño de hielo. Se tomó el hidrolizado y se neutralizó con 17 ml de la solución de hidróxido de sodio (ver Anexo 1). Se ajustó el pH a 2.2. El hidrolizado se transfirió cuantitativamente a un frasco graduado de 200 ml. Se agregaron 2 ml del estándar interno y se llegó a la marca con amortiguador de citrato (ver Anexo 1). Se agitó la mezcla del hidrolizado y se filtró por una membrana de 0.2 µm. La solución filtrada se sometió a cromatografía de intercambio iónico, usando un cromatógrafo de líquidos de alta resolución.

4.11 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un ANOVA para determinar si existía diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) y la diferencia entre medias fueron analizadas por Prueba de Tukey. El paquete estadístico utilizado fue SPSS V2.

V. RESULTADOS Y DICUSIÓN

5.1 Análisis general de la leche de cabra y vaca

En el cuadro 7 se muestran los resultados del análisis general de la leche de cabra de las diferentes razas *Criollo*, *Alpino Francés* y *Nubio* en comparación con la leche de vaca *Holstein*. La leche de la raza *Criollo* tiene un porcentaje superior de grasa, lactosa y proteína respecto a la raza *Alpino Francés* y *Nubio* y además superior a la leche de vaca. El parámetro de densidad también es superior en la raza *Criollo*, esto debido a concentración de los macronutrientes.

Cuadro 7: Análisis general de leche de cabra de las diferentes razas *Criollo*, *Alpino Francés*, *Nubio*, comparada con la leche de vaca *Holstein*

Parámetro	<i>Criollo</i>	<i>Alpino Francés</i>	<i>Nubio</i>	<i>Vaca (Holstein)</i>
g/100 g de Leche				
Grasa	5.09±0.02	3.30±0.02	4.21±0.07	4.80±0.03
Lactosa	5.26±0.01	4.18±0.01	4.86±0.02	4.79±0.01
Proteína	3.63±0.01	2.91±0.01	3.37±0.02	3.20±0.01
Densidad	29.27±0.03	23.63±0.04	27.14±0.11	29.34±0.07
Sólidos no grasos	9.69±0.01	7.72±0.02	8.96±0.04	9.6±0.02

Se reporta la media±D.E. n=3 repeticiones por raza y por especie.

La composición de la leche varía de acuerdo al genotipo, individualidad, el estado de lactación, parición, alimentación, administración de alimento, reproducción, características sanitarias de los animales, zona geográfica y ambiente socioeconómico. Para la leche de cabra se han reportado los siguientes valores; 3.8% de grasa, 4.1% de lactosa y 3.4% de proteína, mientras que para la leche de vaca reportan 3.6% de grasa, 4.7% de lactosa y 3.3% de proteína (Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010).

Los valores de grasa, proteína y lactosa de la leche de cabra de la raza *Criollo* que están reportados en esta investigación se encuentran por encima de los valores reportados para la raza *Alpino* y *Nubio* pero son similares a lo

reportado por otros autores para la raza Murciana Granadina siendo está el origen de la raza *Criolla*; grasa de 4.5 a 6.6% y proteína de 3.5 a 3.6% (Juarez et al., 1991) mientras que los valores encontrados para la leche de vaca *Holstein* fueron similares a los reportados en bibliografía (Park et al., 2007; Slacanac et al., 2010). La raza *Alpino Francés* está por debajo en todos los parámetros nutricionales en la comparación dentro de la misma especie y entre especies.

El contenido de grasa es el componente más variable de la leche, cuantitativamente y cualitativamente, en términos de costo, nutrición, características físicas y sensoriales. El tamaño de los glóbulos de grasa en la leche de cabra es más pequeño que en la de vaca, además la grasa de la leche de cabra contiene una alta proporción de ácidos grasos de cadena corta (Jenness, 1980; Haenlein, 1992). En ambas especies el rango de los glóbulos de grasa oscila de 1 a 10 μm , pero el número de glóbulos de grasa menor de 5 μm es 60% en leche de vaca y 80% en leche de cabra. Esta diferencia hace que la textura de los productos de leche de cabra sea más suave. El menor tamaño de los glóbulos de grasa en la leche de cabra hace que tengan mejor dispersión y homogenización, además de una gran área de superficie para una mejor digestión humana por medio de las lipasas (Silanikove et al., 2010).

La lactosa es el mayor carbohidrato de la leche y este no presenta una variación excesiva. Favorece la absorción de calcio, fósforo, magnesio y utilización de la vitamina D en la digestión humana. La leche de cabra es significativamente rica en oligosacáridos derivados de lactosa a diferencia de la leche de vaca. Los oligosacáridos de la leche tienen beneficios en la nutrición humana por sus propiedades como prebióticos y anti-infección (Martínez-Férez et al., 2006). Greppi et al., en el 2008 reportan un contenido de oligosacáridos de 0.25-0.3 g/L en leche de cabra y 0.03-0.06 g/L en leche de vaca.

Referente a la cantidad de lactosa en las leches estudiadas se muestra que la raza *Nubio* es muy similar a la leche de vaca, la raza *Alpino Francés* está por

debajo y la lactosa contenida en la raza *Criollo* es muy superior a las demás. Esto pudiera hacer pensar que la leche de cabra de raza *Criollo* presenta un mayor contenido de oligosacáridos que las otras razas, pues en un 80% son derivados de lactosa. Martínez-Férez et al., 2006 reportan que la leche de cabra contiene una larga y variada cantidad de oligosacáridos diferente a la leche de vaca y oveja, presentando además gran cantidad de ácido siálico por lo que es una atractiva fuente natural de oligosacáridos con aplicación en nutrición humana por su composición y concentración de los mismos.

5.2 Evaluación del perfil proteínico de leche de cabra (*Criollo*, *Alpino Francés* y *Nubio*) y leche de vaca (*Holstein*)

En la figura 6 se muestra el perfil de proteínas de las diferentes leches analizadas en el presente estudio, obtenido por SDS-PAGE. Cada mancha representa una banda que corresponde a una proteína específica de acuerdo al peso molecular de la misma. Dentro de las caseínas encontramos alfa, beta y kapa-caseína, mientras que en las proteínas del suero están lactoferrina, albúmina, inmunoglobulinas, beta-lactoglobulina y alfa-lactoalbúmina, esto de acuerdo al peso molecular de cada proteína.

En el cuadro 8, se muestra la comparación del perfil proteínico de leche de las diferentes razas de cabras con respecto a la leche tomada como referencia. La leche de cabra tiene seis proteínas principales, β -lactoglobulina (BLG), α -lactoalbúmina (ALA), κ -caseína, β -caseína, α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína según lo reportado por Park et al., en el 2007. Dichas proteínas difieren en polimorfismo genético y en sus frecuencias en las razas de cabras (Martin, 1993). En este estudio se encontraron diferencias importantes en el contenido de las proteínas, las cuales son reportadas en el cuadro 8.

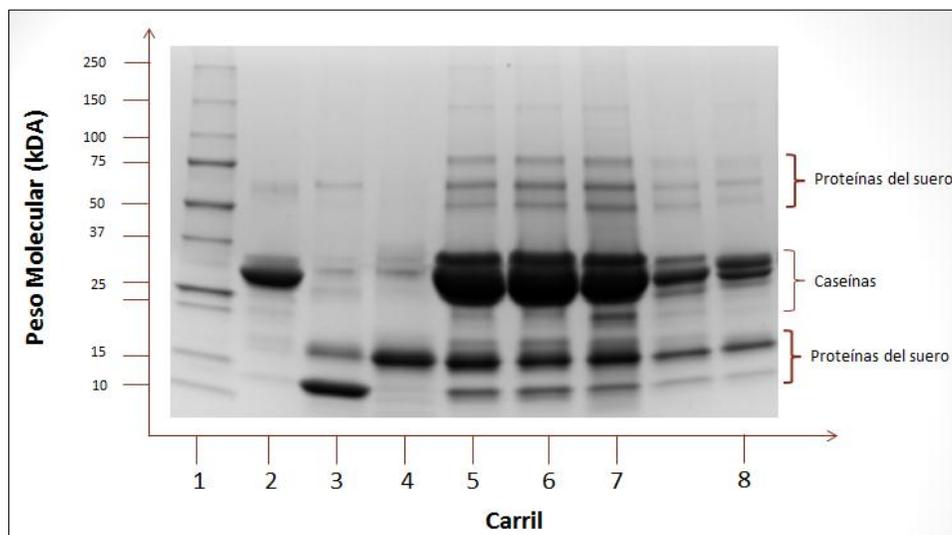


Figura 6: Electroforesis en gel de acrilamida SDS-PAGE de la proteína total de diferentes muestras. Carril 1, marcador de Peso Molecular; Carril 2, β -caseína; Carril 3, α -lactoalbúmina; Carril 4, Estándar de β -lactoglobulina; Carril 5, Leche de cabra *Alpino Francés*; Carril 6, Leche de cabra *Nubio*; Carril 7, Leche de cabra *Criollo*; Carril 8, Leche de vaca *Holstein*.

Cuadro 8: Perfil proteínico de leche de cabra por raza comparada con leche de vaca *Holstein*. Los resultados se expresan en porcentaje de acuerdo a la intensidad de la banda expresada en megapíxeles.

Proteína	<i>Criollo</i>	<i>Alpino Francés</i>	<i>Nubio</i>	Vaca (<i>Holstein</i>)	E.E
Lactoferrina	1.88±0.97 ^a	2.21±0.74 ^a	2.04±0.74 ^a	5.72±0.46 ^b	0.24
Albúmina	4.48±0.64 ^{ab}	4.07±1.24 ^a	5.28±0.91 ^b	7.31±1.01 ^D	0.31
Inmunoglobulina	2.01±1.46 ^a	2.20±0.88 ^a	1.87±0.64 ^a	6.65±0.43 ^b	0.30
α -caseína	16.28±2.06 ^a	17.71±1.81 ^a	16.09±1.77 ^a	33.14±1.96 ^b	0.60
β -caseína	34.25±3.27 ^a	30.54±2.77 ^b	30.87±4.01 ^b	15.65±1.76 ^D	0.97
κ -caseína	9.98±2.81 ^a	11.73±2.32 ^{ab}	14.46±3.41 ^b	3.88±1.18 ^D	0.81
β -lactoglobulina	13.44±2.92 ^a	9.79±2.49 ^b	13.66±2.17 ^{ad}	16.42±1.63 ^D	0.74
α -lactoalbúmina	7.72±2.20 ^b	10.33±3.48 ^{ab}	10.10±2.30 ^{ab}	11.27±1.13 ^{ac}	0.77
Proteínas del suero	38.55%	40.02%	39.47%	47.37%	
Caseínas	61.42%	59.98%	60.51%	52.67%	

Se representa la media \pm D.E, n=10 animales por raza y por especie.

Donde a, b, C, D indica que existe diferencia estadística significativa entre raza y especie ($p < 0.05$).

E. E es igual al error estándar de la media.

En cuanto al contenido de lactoferrina no hubo diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las razas de cabras, pero si fue estadísticamente diferente respecto al contenido de lactoferrina en la leche de vaca. La proporción de lactoferrina en la leche de vaca fue dos veces más alta que en la leche de cabra (Cuadro 8). Esta proteína es una importante molécula de defensa al igual que los péptidos que se liberan de ella, imparte propiedades de defensa a la misma ubre y para hacer frente a patógenos microbianos del tracto gastrointestinal, actúa como secuestrador y transportador de hierro, regula actividades del sistema inmune además de tener actividad antineoplásica en el tracto gastrointestinal asociado con el tejido linfoide (Marnila y Korhonen, 2009) por lo que es de gran importancia estar presente en la leche de cabra aunque este por debajo de la leche bovina, ya que es de valor nutricional importante.

La proporción de α -caseína fue dos veces mayor en la leche de vaca (33.14 ± 1.96) comparada con la leche de cabra independiente de la raza. Según lo reportado por Clark y Sherbon en el 2000, la α_{s1} -caseína se encuentra en un rango de 0 a 7 g/L en leche de cabra y la variabilidad de la proteína es asociada con polimorfismo en el gen correspondiente a α_{s1} -caseína. Los resultados muestran que la leche de cabra tiene mucho menos contenido de α -caseína respecto a β -caseína, mientras que en la leche de vaca la mayor proporción es α -caseína. La variabilidad en la relación α_{s1} -caseína con α_{s2} -caseína puede ser afectado por la estructura de la micela y la disponibilidad del calcio.

Con respecto a β -caseína la proporción fue mayor en la leche de cabra que en la leche de vaca (Cuadro 8). Lamothe et al., 2007, encontró que la extracción de β -caseína fue 53% más alta en leche de cabra que en vaca. La abundancia relativa de esta proteína fue de $34.25 \pm 3.27\%$ para la raza *Criollo*, $30.54 \pm 2.77\%$ para *Alpino Francés* y *Nubio* $30.87 \pm 4.01\%$. La diferencia en el contenido de β -caseína entre las diferentes razas de cabra fue estadísticamente significativa. La ausencia relativa de α_{s1} -caseína y la gran proporción de β -caseína hace que la leche de cabra presente un parecido cercano a la leche humana. Además la β -

caseína tiene un impacto importante en la estructura y diferencias nutricionales entre leche de cabra y vaca.

Muchos estudios sobre κ -caseína indican que dicha proteína está asociada con producción de leche, composición de la leche y elaboración de queso, según la variante de que se trate, por ejemplo la variante B está asociada con la resistencia térmica, el corto tiempo de coagulación y tamaño de la micela, mientras que la variante A está asociada con alto rendimiento de la leche (Comin et al., 2008; Caroli et al., 2009; Azevedo et al., 2008). De acuerdo a los resultados que se presentan en el perfil de proteínas (Cuadro 8) hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de κ -caseína entre la leche de cabra y vaca. Además, en el comparativo entre las razas de cabra hubo diferencia significativa en κ -caseína entre la raza *Criollo* (9.98 ± 2.81) y la raza *Nubio* (14.46 ± 3.41). Dentro de la especie de cabras existen diferencias entre razas lo que sugiere que haya razas con mayores volúmenes de producción de leche (*Alpino Francés* y *Nubio*) y razas con un perfil nutrimental mayor en proteínas, lactosa y grasa (*Criollo*). Por lo anterior se da importancia en la selección de los animales de acuerdo al objetivo que se plantee. La κ -caseína es una proteína importante para este estudio porque al ser hidrolizada se genera un péptido denominado glicomacropéptido de caseína, el cual tiene importancia nutricional que se mencionara más adelante.

Con respecto a la proteína β -lactoglobulina (β -LG), la abundancia relativa de esta proteína es similar en la leche de cabra de la raza *Criollo* ($13.44 \pm 2.92\%$) y *Nubio* ($13.66 \pm 2.17\%$), mientras que la raza *Alpino Francés* presentó una abundancia relativa menor de esta proteína ($9.79 \pm 2.49\%$). La abundancia relativa de β -lactoglobulina de la leche de cabra de las razas *Criollo* y *Nubio* fue similar a la de la leche de vaca. La β -lactoglobulina es el mayor componente de las proteínas del suero en la leche de vaca en la que llega a contribuir con el 10% de la proteína total. Chatterton et al., en 2006 reportó que β -LG está asociada con efectos antimicrobianos, anti-carcinogénicos y hipocolesterolémicos y contribuye a la prevención de adhesión patógena. Además varios autores mencionan que la β -

LG de la leche de vaca, cabra y oveja es una excelente fuente de péptidos bioactivos como antihipertensivo, antimicrobiano, antioxidante, anti-carcinogénico (Hernández-Ledesma et al., 2008; Park, 2009; Recio et al., 2009a). Dicha proteína no se encuentra presente en la leche humana (Edwards et al., 2009), por lo que es una de las proteínas más alergénicas para el humano.

Monaci et al., 2006 reportaron que por medio de IgE el 61% de los pacientes presenta sensibilidad a esta proteína. Recientemente Hernández-Hernández et al., 2011 observó que existe una glicación de la β -LG con galactoligosacáridos (GOS) y forma péptidos glicosados que expresan actividad bifidogénica por medio de la digestión realizada y ello le confiere una característica prebiótica.

La abundancia relativa de la α -lactoalbúmina (α -LA) en la leche de las tres razas de cabra fue de (10.10 \pm 2.30%) para *Nubio*, (10.33 \pm 3.48%) para *Alpino Francés* y 7.72 \pm 2.20 para *Criollo* siendo similares entre ellas. No hubo diferencia significativa entre razas. La abundancia relativa de la α -lactoalbúmina en la leche de vaca fue diferente a la leche de cabra, pero sólo presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) con la raza *Criollo*, teniendo está una proporción inferior respecto a la leche de vaca. La α -LA es sintetizada en la glándula mamaria donde actúa como coenzima para la biosíntesis de lactosa. En la leche humana es la proteína de suero más predominante, constituyendo del 10-20% del total de la proteína en leche madura (Lönnerdal, 2011).

La concentración de α -LA disminuye cerca del final de la lactación, mientras que las proteínas mayores incrementan con el progreso de la lactación. La disminución en la concentración de α -LA está correlacionado con la disminución en la concentración de lactosa en la leche (Ullah, 2011; Davies y Law, 1980). Cabe hacer mención que las cabras utilizadas en el experimento se encontraban al final de la lactación, por lo cual puede ser una razón por la que las concentraciones se encuentren por debajo de la leche de vaca.

La α -LA intacta es uno de los mayores alérgenos en la leche de vaca, mientras que enlazada con el calcio influye en la conformación espacial y la estabilidad de la proteína presentando funciones como acarreador de calcio. Es una fuente importante de péptidos bioactivos como antimicrobianos y presenta un alto contenido en triptófano (Pinlanto, 2001b).

5.3 Separación de las variantes genéticas de β -caseína (BCN) en leche de cabra

En esta parte del experimento se da a conocer como el polimorfismo genético en la leche de cabra está asociado con la composición proteínica de la misma y puede ser la responsable de la generación de un amplio espectro de péptidos derivados de la caseína como lo reporta Korhonen y Pihlanto en el 2006.

Santillo et al., en el 2009 reportan el rol de la serina-proteinasa en la liberación de péptidos con bioactividad potencial derivados de β -caseína y α_{s2} -caseína, donde casi el 90% de los péptidos identificados presenta homología compartida con los péptidos liberados en la leche caprina y bovina. Algunos de los péptidos presentan actividad antihipertensiva y antioxidante.

En la figura 7 se muestra la migración relativa en UREA-PAGE de α y β -caseína de las razas de cabras *Nubio*, *Criollo* y *Alpino Francés* respectivamente. Existe una separación perfectamente definida entre las caseínas de interés. Cabe hacer mención que κ -caseína ya no está presente debido a que éstas son las proteínas coagulables que se presentan después de la hidrólisis ácida a la que es sometida la muestra.

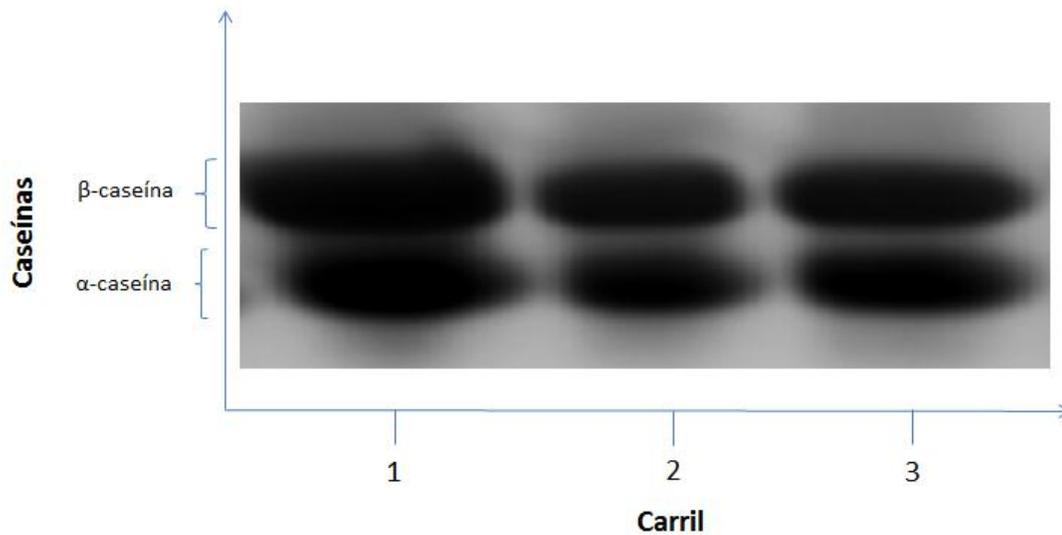


Figura 7: Electroforesis de caseínas en geles de urea UREA-PAGE en diferentes muestras. Carril 1, Leche de cabra *Nubio*; Carril 2, Leche de cabra *Criollo*; Carril 3, Leche de cabra *Alpino Francés*

La enzima proteolítica comercial termolisina ha sido empleada para la liberación de varios péptidos bioactivos de caseínas y proteínas de suero (Philanto-Leppälä et al., 2000; Otte et al., 2007; Ortiz-Chao et al., 2009). En el cuadro 11, se presenta la secuencia de aminoácidos de los péptidos encontrados al ser hidrolizada la proteína β-caseína en la leche de cabra por medio de la enzima termolisina.

Así como en la leche humana, la leche de cabra contiene péptidos bioactivos, nucleótidos, poliaminas, ácido siálico, aminoácidos libres y factores de crecimiento que optimizan el desarrollo. La actividad antimicrobiana de la leche de cabra es atribuida a inmunoglobulinas y inmuno-proteínas como la lactoferrina, lactoperoxidasa y lisozima. Los péptidos antibacteriales encontrados son agonistas activos de microorganismos patógenos como *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, levaduras y hongos filamentosos (Atanasova y Ivanova, 2010).

Cuadro 9: Secuencia de Péptidos hidrolizados de β -caseína en leche de cabra.

PROTEÍNA: BETA-CASEÍNA		GEN: CSN2
BOS TAURUS (Bovino) Peso molecular: 24 KDa Péptido señal: 15 aminoácidos Cadena madura: 209 aminoácidos	CAPRA HIRCUS (Caprino) Peso molecular: 23.3 KDa Péptido señal: 9 péptidos Cadena madura: 207 aminoácidos	
Secuencia de aminoácidos RELEELNVPGIVEISLSSSEESITRINKKIEKFQSEEQQTEDELQDK HPFAQTQSLVYPPGPIPNLSLPQNIPLTQTPVVVPPFLQPEVMGV SKVKEAMAPKHKEMPFKYPVEPFTEQSLLTLDVENLHLLPLLQ SWMHQPHQPLPPTVMFPPQSVLSLSQSKVLPVQKAVPYQQRD MPIQAFLLYQEPVLGVPVRGPFPIIV	Secuencia de aminoácidos REQEELNVVGETVESLSSSEESITHINKKIEKFQSEEQQTEDELQ DKIHPPFAQAQSLVYPPFTGPIPNLSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEI MGVPKVKETMVPKHKEMPFKYPVEPFTEQSLLTLDVEKLHLP LPLVQSWMHQPPQLSPTVMFPPQSVLSLSQPKVLPVQKAVP QRDMPIQAFLLYQEPVLGVPVRGPFPIIV	Difieren en: 43 aminoácidos
RAZAS DE CABRAS (Animales en estudio)		
<i>Alpino Francés</i>	<i>Nubio</i>	<i>Criollo</i>
20 péptidos hidrolizados	20 péptidos hidrolizados	21 péptidos hidrolizados
FQSEEQQTEDELQDK	FQSEEQQTEDELQDK	FQSEEQQTEDELQDK
mVPKHKEmPFPKYP	mVPKHKEmPFPKYP	mVPKHKEmPFPKYP
		HPFAQAQSLVYP
FTGPIPNLSLPQN	FTGPIPNLSLPQN	FTGPIPNLSLPQN
REQEELN	REQEELN	REQEELN
AVPQRDmP	AVPQRDmP	AVPQRDmP
mHQPPQP	mHQPPQP	mHQPPQP
VLPVPQK	VLPVPQK	VLPVPQK
LSSSEES	LSSSEES	LSSSEES
mFPPQS	Mfppqs	mFPPQS
LTDVEK	LTDVEK	LTDVEK
FTESQS	FTESQS	FTESQS
LHLPLP	LHLPLP	LHLPLP
VRGPFPP	VRGPFPP	VRGPFPP
LYQEP	LYQEP	LYQEP
LQPEI	LQPEI	LQPEI
LSQPK	LSQPK	LSQPK
LTQTP	LTQTP	LTQTP
mGVPK	mGVPK	mGVPK
VQSW	VQSW	VQSW
INKK	INKK	INKK

Chessa et al., en el 2009 encontraron péptidos bioactivos de la leche de cabra que tienen relación con la leche de vaca, de los cuales nueve muestran actividad opioide, cinco se enlazan con proteínas, veintitrés muestran actividad hipotensiva, tres son antitrombóticos y seis funcionan como inmunomodulador.

La β -casomorfina-7 (BCM-7) es un péptido encontrado en β -caseína y está asociado con un incremento en el riesgo de enfermedades como el autismo, cardiovasculares y diabetes tipo I (McLachlan, 2001). Su liberación es determinada por las variantes genéticas de proteínas y está asociada con la raza

específica. Las principales variantes polimórficas de β -caseína en la leche de las razas de vacas lecheras más común se denominan A1, A2 y B. El aminoácido presente en la posición 67 de la secuencia de β -caseína es crítico para la liberación de BCM-7. En la variante A2 un residuo de Prolina ocurre en la posición 67, donde la variante A1 y B tienen un residuo de histidina en esta posición. En el caso de la variante A2 la hidrólisis de Isoleucina 66 – Prolina 67 no ocurre o se realiza en un rango bajo. Para la variante A1, la liberación de BCM-7 se genera por la acción de pepsina. La síntesis proteolítica está involucrada en la fermentación de la leche o en la manufactura del queso y puede potencialmente hidrolizar β -caseína a BCM-7 u otras beta-casomorfina (EFSA, 2009). De acuerdo con el proceso de hidrólisis y la secuencia de los péptidos analizados se obtuvo que para β -caseína de las tres razas de cabras el aminoácido presente en la posición 67 es una Prolina, en el 66 corresponde a isoleucina por lo que se asume que la variante de β -caseína de la leche de cabra es del tipo A2, de tal forma que en su proceso hidrolítico no se produce o se produce en bajas cantidades el péptido.

Esto tiene una gran relevancia para la nutrición humana ya que el péptido β -casomorfina-7 se ha relacionado como precursor de varias enfermedades tales como autismo, diabetes tipo I y problemas cardiovasculares (McLachlan, 2001). Por lo que la leche de cabra tiene esta gran ventaja con respecto a la leche de vaca para su uso en la alimentación humana.

Otros péptidos liberados en la hidrólisis de β -caseína son los tripéptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) los cuales tiene la siguiente secuencia de aminoácidos Valina-Prolina-Prolina (VPP) e Isoleucina-Prolina-Prolina (IPP) y son encontrados en la leche de cabra o productos derivados como el queso, los cuales muestran actividad cardiovascular y antihipertensiva (López-Fandino et al., 2006; Murray y FitzGerald, 2007; Ricci et al., 2010). Estos péptidos son fuertemente incrementados por la presencia de cadenas hidrofóbicas de tripéptidos con aminoácidos aromáticos o ramificados

(Ricci et al., 2010). Pihlanto-Leppälä et al, en 1998 demostraron que la fermentación de la leche con cultivos celulares no es suficiente para generar la actividad inhibitoria de ECA, es necesaria una digestión con pepsina y tripsina. Con ello se explica lo que puede suceder bajo condiciones en vivo en el tracto gastrointestinal cuando se ingieren productos fermentados. En la β -caseína de leche de vaca *Holstein* se encuentran dos secuencias de aminoácidos precursores de péptidos inhibidores de ECA y estos están en la posición 74 y 84, mientras que en la β -caseína de leche de cabra sólo tiene una secuencia precursora de dichos péptidos en la posición 84.

5.4 Evaluación de Glicomacropéptido de caseína (GMP)

En la figura 8 se muestra los resultados de Western Blot utilizado para evaluar el glicomacropéptido de las diferentes muestras de leche. Se encontraron dos bandas características del péptido que también se presentan en el control positivo. Los resultados numéricos indican que no existe diferencia estadística significativa en la abundancia relativa de glicomacropéptido de caseína entre raza y especie. Dicho péptido surge de la hidrólisis de κ -caseína por la acción de la quimosina. El GMP es la fracción de proteína más abundante en el suero obtenido después del proceso de elaboración del queso (Abd El-Salam et al, 1996).

En el cuadro 10 son reportadas las proporciones obtenidas para dicho péptido dependiendo la raza y las especies en estudio. Se muestran dos bandas características del péptido que también se presentan en el control positivo. Los resultados numéricos indican que no existe diferencia estadística significativa entre raza y especie.

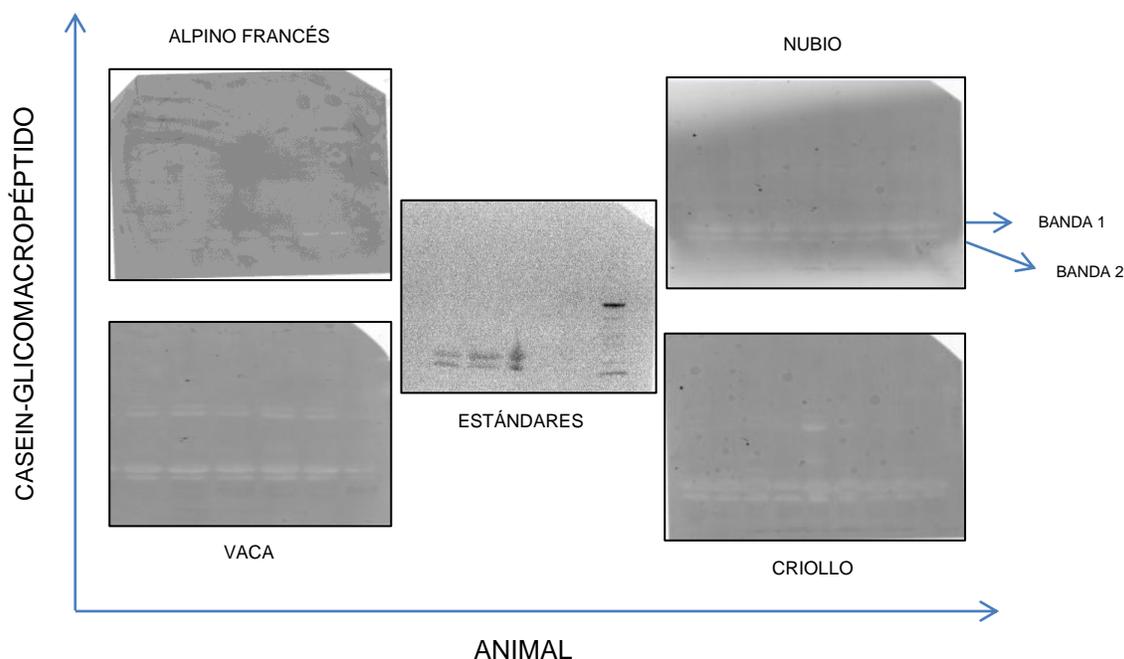


Figura 8. Membranas obtenidas al evaluar glicomacropéptido de caseína por Western Blot. Evaluación de proteína de suero de las razas *Criollo*, *Alpino Francés* y *Nubio* comparado con proteínas de suero de vaca *Holstein*.

En cada muestra se presentan la banda 1 y banda 2.

n=10 animales por raza; Control (+): Lacprodan cGMP-10.

Cuadro 12: Evaluación de glicomacropéptido de caseína por Western Blot en leche de cabra (*Alpino Francés*, *Nubio* y *Criollo*) comparado con leche de vaca (*Holstein*).

Variante	<i>Alpino Francés</i>	<i>Nubio</i>	<i>Criollo</i>	<i>Vaca (Holstein)</i>
GMP (Banda 1)	37.64±3.46	35.15±3.11	36.77±4.18	31.13±3.07
GMP (Banda 2)	62.36±3.46	64.85±3.11	64.23±4.18	68.87±3.07

Cada valor representa media ± E.E; n =10 animales por raza

Los resultados indican que no existe diferencia entre la proporción de GMP en el suero de leche de cabra y vaca, sin embargo autores reportan que la composición de aminoácidos y la secuencia de GMP en cabra en los residuos del 105-171 difieren del GMP bovino en los residuos del 105-169, siendo el péptido dos aminoácidos más largo en la cabra. Además mencionan que existen

diecinueve sustituciones y dos inserciones (Valina-132 e Histidina-133) en la secuencia de cabra que difiere en la secuencia bovina. Estas diferencias se presentan por las trazas de glicina y leucina que están presentes en el GMP bovino pero no en el caprino (Silva et al., 2002).

El GMP caprino y bovino forma dímeros, esta situación está reportada en el suero de leche bovina y es observado en electroforesis SDS-PAGE, así mismo lo reportó Nakano y Ozimek en el 2000, describiendo que existe una importante afinidad entre SDS y GMP aniónico permitiendo una fácil disociación en el dímero, como se muestra en la figura 8.

La importancia del glicomacropéptido de caseína (GMP) radica en que es rico en ácido siálico, sustituido por los derivados de ácido neuramínico, siendo las formas más representativas el ácido n-acetilneuramínico y el ácido n-glicolilneuramínico (Salcedo et al., 2011). El GMP es rico en aminoácidos de cadena ramificada y bajo en metionina, lo cual lo hace un ingrediente útil en la dieta de pacientes que sufren enfermedades hepáticas. Además no contiene fenilalanina y es adecuado para pacientes que sufren fenilcetonuria. Estudios en modelos animales han sugerido que el alto contenido de ácido siálico en GMP puede presentar efectos benéficos en el desarrollo y mejoramiento de la habilidad de aprendizaje (Wang et al., 2007).

Por sus propiedades nutricionales y fisicoquímicas el GMP independiente de la especie sea cabra o vaca, ya que no se encontraron diferencias en la cantidad obtenida puede tener beneficios en la modulación de la microflora intestinal como promotor del crecimiento de las bifidobacterias (Recio et al., 2009b). En estudios in vitro y en modelos animales han mostrado que el GMP inhibe las secreciones gástricas y reduce la motilidad estomacal por estimulación de colecistoquinina, hormona involucrada en el control del consumo de alimento y la digestión en animales y humanos (Burton-Freeman, 2008; Guilloteau et al., 2010).

5.5 Composición de aminoácidos

En el cuadro 11 se muestra la composición de aminoácidos de la proteína de la leche de cabra. Se comparó el perfil de aminoácidos de la muestra de leche de cabra con lo reportado en la literatura para la proteína de leche de vaca (Haenlein, 2004). Según los resultados la leche de cabra presenta mayor contenido en los aminoácidos prolina y treonina respecto a la leche de vaca. A sí mismo tiene menor contenido que la leche de vaca en los siguientes aminoácidos: arginina, isoleucina, tirosina y contenidos similares en el resto de aminoácidos. La cantidad de proteína es diferente entre las especies por lo que son reportados gramos de aminoácido por gramos de proteína.

Cuadro 11: Determinación de aminoácidos en leche de cabra y comparación con aminoácidos en leche de vaca según lo reportado por Haenlein, 2004.

Reportado en g/100 g de proteína.

Aminoácido	Leche de cabra (Criollo)	Leche de Vaca (Holstein)
Acido aspártico	7.34	7.20
Acido glutámico	20.11	20.17
Alanina	2.99	3.17
Arginina	2.45	3.46
Cisteína	1.09	0.86
Glicina	1.90	2.02
Histidina	2.45	2.59
Isoleucina	4.62	5.76
Leucina	9.51	9.22
Lisina	7.88	7.49
Metionina	2.45	2.31
Fenilalanina	4.62	4.61
Prolina	10.33	9.22
Serina	5.43	5.19
Treonina	5.16	4.32
Tirosina	3.80	4.61
Valina	6.79	6.34
Triptófano	1.09	1.44
Proteína Total (g/100 g de leche)	3.68	3.43

No fue posible realizar un análisis estadístico por la cantidad de repeticiones dentro de la misma muestra y entre las diferentes razas ya que el análisis presenta un costo elevado que no estuvo al alcance de las posibilidades, por lo que en este estudio sólo se realizó la comparación general de leche de cabra en particular de la raza *Criollo* con lo reportado en bibliografía para la leche de vaca.

El contenido de aminoácidos esenciales de leche de cabra y vaca es mayor que en la leche humana. Dentro de las proteínas de la leche; α_s -caseína contiene más aspartato, lisina y tirosina que β -caseína. Por su parte β -caseína contiene más leucina, prolina y valina que α_s -caseína (Davis et al., 1994). En la leche de cabra se encontró una ligera mayor cantidad de leucina, prolina y valina que en la leche de vaca, esto pudiera deberse a la diferencia en la relación β -caseína: α -caseína, siendo mayor en la leche de cabra.

En leche de cabra, los aminoácidos libres como taurina, son derivados de aminoácidos que contienen azufre y tienen importantes funciones metabólicas como otro aminoácido libre que es la carnitina, la cual tiene un alto valor nutricional para neonatos, ya que está involucrada en la formación del cerebro y sales biliares del infante, además participa en el flujo del calcio, actividad antioxidante, excitabilidad neuronal y estabilización de membranas (Redmond et al., 1998).

Al realizar la comparación de aminoácidos de la leche de cabra con los aminoácidos de la leche humana la cual es el prototipo para nutrición infantil, se encuentra que la leche de cabra contiene una mayor cantidad de los siguientes aminoácidos; valina, lisina, metionina, treonina y menor cantidad en isoleucina y tirosina. La comparación de aminoácidos se realiza en los esenciales que son los que deben estar aportados en la alimentación.

La concentración de los siguientes aminoácidos está dada en una relación, debido a los rangos cuantificados para la leche humana y la proteína del cuerpo. La relación en la concentración de fenilalanina: tirosina y metionina: cisteína es de 0.7 a 1.5 ó 1 a 1 para las dos relaciones (Jensen, 1995; Pencharz y Ball, 2004; Shoveller et al., 2003). De acuerdo a lo que reportaron dichos autores, en la leche de cabra la relación fenilalanina: tirosina es 1.22 mientras que en la leche de vaca es 1.0 y en la leche humana 1.07, pudiendo decir la leche de cabra cumple con el rango ideal para dichos aminoácidos. En la relación metionina: cisteína se tienen los siguientes valores: 2.25 para leche de cabra, 2.69 para leche de vaca y 0.7 para la leche humana, se tiene estos resultados ya que la concentración de cisteína es mayor que metionina en la leche humana mientras que en la leche de cabra y vaca no se cumplen debido a que contienen una baja concentración de cisteína y con ello la relación está por arriba de lo reportado (Koletzko et al., 2005).

Otro aminoácido esencial a considerar es el triptófano, en la leche humana tiene una concentración de 1.8 g/100 g de proteína mientras que en la leche de cabra se tiene 1.09 y en la de vaca 1.44. Por lo tanto la cantidad de triptófano está por debajo de la concentración ideal que es la contenida en la leche humana y también por debajo de la leche de vaca (Koletzko et al., 2005).

VI. CONCLUSIONES

Después de discutir los resultados obtenidos en el presente estudio se llegan a las siguientes conclusiones: la raza de cabras *Criollo* presenta una mayor cantidad de proteína respecto a la raza *Alpino Francés* y *Nubio*, siendo una raza con un valor nutrimental importante que puede ser explotada además de ser una raza nativa de México.

La leche de las razas *Alpino Francés* y *Nubio*, son razas con una composición nutrimental adecuada, además por la proporción de κ -caseína que registran son de especial interés para fines tecnológicos, siendo muy importante en la elaboración de queso por las cantidades de producción de leche.

Respecto a las proteínas la concentración de α -caseína en la leche de cabra es mucho menor a β -caseína, teniendo una implicación importante para la nutrición ya que es una proteína con alta alergenicidad. Mientras que la proporción de β -caseína en la leche de vaca es menor a α -caseína, marcándose una diferencia importante con la leche de cabra independiente de la raza que se trate. Por lo anterior se describe a la leche de cabra como una alternativa al ser un alimento nutracéutico por su baja alergenicidad y su valor nutricional adecuado.

La β -caseína A2 es la de mayor porcentaje en la leche caprina, sin descartar la posibilidad de que exista la variante A1. Respecto a los péptidos liberados de β -caseína caprina, son diferentes de los encontrados en la leche de vaca, esto en cuanto a beta-casomorfina 7 y péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. Además otro péptido de importancia es el glicomacropéptido de caseína liberado de la hidrólisis de κ -caseína que está presente tanto en la leche de cabra como en la de vaca presentando importantes beneficios para la nutrición humana.

Por último se concluye que el valor nutricional de la leche de cabra es alto, puede ser considerado como un alimento nutracéutico por las características mencionadas a lo largo del estudio, pero también se pueden tener ciertas características en la leche por medio de un proceso de selección de razas de acuerdo a los intereses que se tengan. La finalidad de esta investigación fue proponer a la leche de cabra como una leche hipoalergénica y dentro de las razas de cabras la raza *Criollo* tiene una importancia muy particular.

VII. LITERATURA CITADA

Abd El-Salam, M. H., El-Shibini, S., Buchheim, W. 1996. Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *Int Dairy J.* Vol. 6: 327-341.

Agudelo, G. A., Bedoya, M. O. 2005. Composición Nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación.* Vol. 2: 38-42.

Alais, C. 1971. *Ciencia de la leche.* Compañía Editorial Continental. México.

Albanzio, M., Santillo, A., D'Angelo, F., Sevi, A. 2009. Focusing on casein gene cluster and protein profile in Garganica goat milk. *J Dairy Res.* Vol: 76: 83-89.

Albanzio, M., Campanozzi, A., D'Apolito, M., Santillo, A., Mantovani Pettoello, M., Sevi, A. 2012. Differences in protein fraction from goat and cow milk and their role on cytokine production in children with cow's milk protein allergy. *Small Rum Res.* Vol. 105 (1): 202-205.

Alcázar, M. C. Rosas, J., Jaramillo, A. C. Peña, S. 2000. Detección de glicomacropéptido (GMP) como indicador de adulteración con suero de quesería en leche deshidratada. *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.* Vol. 37: 217-222.

American Dairy Goat Association. 2000. Performance summary Nubian. Spindale. N.C. Vol. 47: 1-146.

American Dairy Goat Association. 2004. Guide book. Spindale. N.C. USA. 1-131.

Anaeto, M., Adeyeye, J. A., Chioa, G. O., Olarinmoye, A. O., Tayo, G. O. 2010. Goat products meeting the challenges of human health and nutrition. *Agriculture and Biology Journal of South America.* Vol. I. 1231-1236.

Andrews, T. A. 1983. Proteinase in normal bovine milk and their action on caseins. *J Dairy Res.* Vol. 50: 45-55.

Arias, R., Cali, A., Lara, H., García, A., Díaz, C. 2010. La leche de cabra como alternativa para reducir la desnutrición infantil. *Acontecer ovino, caprino.* México. Vol. 46: 62-64.

Atanasova, J., Ivanova, I. 2010. Antibacterial peptides from goat and sheep milk proteins. *Biotechnol Biotechnological Equipment.* Vol. 24: 1799-1803.

Azevedo, A. L. S., Nascimento, C. S., Steinberg, R. S., Carvalho, M. R. S., Peixoto, M. G. C. D., Teodoro, R. L., Verneque, R. S., Guimaraes, S. E. F., Machado, M. A. 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genet Mol Res*. Vol. 7: 623-630.

Azuma, N., Kaminogawa, S., and Yamauchi, K. 1981. Properties of glycomacropeptide and para-k-casein derived from human k-casein and comparison of human and bovine k-caseins as to susceptibility to chymosin and pepsin. *Agric. Biol. Chem*. Vol. 48: 2025-2031.

Barrionuevo, M., Alferez, M. J. M., López, A. I., Sanz, S. M. R., Campos, M. S. 2002. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption síndrome. *J Dairy Sci*. Vol. 85: 657-664.

Barry, J. M. 1964. A quantitative balance between substrates and metabolic products of the mammary gland. *Biol Rev*. Vol. 39: 194-213.

Bendelja, D., Prpic, Z., Mikulec, N., Ivkic, Z., Havranek, J., Antunac, N. 2011. Milk urea concentration in Holstein and Simmental cows. *Mljekarstvo*. Vol. 61: 45-55.

Bobe, G., Lindberg, G. L., Freeman, A. E., Beitz, D. C. 2007. Composition on milk protein and milk fatty acids in stable for cows differing in genetic merit for milk production. *J Dairy Sci*. Vol. 90: 3955-3960.

Bonfatti, V., Cecchinato, A., Gallo, L., Blasco, A., Carnier, P. 2011. Genetic analysis of detailed milk protein composition and coagulation properties in Simmental cattle. *J Dairy Sci*. Vol. 94: 5183-5193.

Bouckenooghe, T., Remacle, C., Reusens, B. 2006. Is taurine a functional nutrient? Current opinion. *Clin Nutr Met Care*. Vol. 9: 728-733.

Boza, J., Sanz Sampelayo, M. R. 1997. Aspectos nutricionales de la leche de cabra. *Acad Cienc Vet Andal. Orient*. Vol. 10: 109–139.

Bramanti, E., Sortino, C., Onor, M. 2003. Separation and determination of denatured alpha (S1), alpha (S2), beta and kappa-caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows, ewes and goats milk, milk mixtures and cheeses. *J Chromatogr*. Vol. 994: 59-74.

Burton-Freeman, B. M. 2008. Glycomacropeptide (GMP) is not critical to whey-induced satiety, but may have a unique role in energy intake regulation through cholecystikinin (CCK). *Physiol Behav.* Vol. 93: 379-387.

Cardak, A. D. 2005. Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmentaler cows. *S Afr J Anim Sci.* Vol. 35: 41-47.

Caroli, A. M., Chessa, S., Erhardt, G. J. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *J Dairy Sci.* Vol. 92: 5335-5352.

Chatterton, D. E. W, Smithers, G., Roupas, P., Brod Korb, A. 2006. Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactoalbumin technological implications for processing. *Int Dairy J.* Vol. 16: 1240-1290.

Chessa, S., Chiatti, F., Rignanese, D., Ceriotti, G., Caroli, A., Pagnacco, G. 2009. Nutraceutical properties of goat milk: in silico analysis of the casein sequences. *Options Mediterranéennes.* Vol. 91: 241-243.

Chilliard, Y., Rouel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljutovac, Lauret, A., and Leroux, C. 2006. Optimising goat milk and cheese fatty acid composition: effects of genotype, feeding factors and dairy technology. *Woodhead Publ.* 281–312.

Crittenden, R. G., Bennett, L. E. 2005. Cow's milk allergy a complex disorder. *J Am Coll Nutr.* Vol. 24: 5825-5915.

Clark, S. y Sherbon, J. W. 2000. Genetic variants of α_{s1} -CN in goat milk: breed distribution and associations with milk composition and coagulation properties. *Small Rum Res.* Vol. 38: 135-143.

Comin, A., Casandro, M., Chessa, S., Ojala, M., Dal Zotto, P., De Marchi, M., Carnier, P., Gallo, L., Pagnacco, G., Bittane, G. 2008. Effects of composite β and κ -casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows. *J Dairy Sci.* Vol. 91. 4022-4027.

Davies, D. T., Law, A. J. R. 1980. The content and composition of protein in creamery milks in south-west Scotland. *J Dairy Res.* Vol. 47: 83-90.

Davis, T. A., Nguyen, H. V., García-Bravo, R., Florotto, N. L., Jackson, E. M., Lewis, D. S., Lee, D. R., Reeds, P. J. 1994. Aminoacid composition of Human milk is not unique. *J Nutr.* Vol. 124: 1126-1130.

Del Mar Contreras, M., Carron, R., Montero, M. J., Ramos, M., Recio, I. 2009. Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity. *Int Dairy J.* Vol. 19: 566-573.

Edwards, P. B., Creamer, L. K., Jameson, G. B. 2009. Structure and stability of whey proteins, In: *Milk Proteins: From expression to food.* Academic Press, San Diego. 163-203.

Eigel, W., Butler, J., Ernstrom, C., Farrell, H., Harwalkar, V., Jenness, R., Whitney, R. M. L., 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. 5ta. Revision. *J Dairy Sci.* Vol. 67: 1599-1631.

European Food Safety Authority. 2009. Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides. *EFSA Scientific Report.* Vol. 231: 1-107.

Farías, M., Martínez, M., Pílosof, A. 2010. Casein glycomacropeptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *Int Dairy J.* Vol. 20: 79-88.

Food Agriculture Organization (FAO). 2014. Pequeños rumiant. Disponible en los apartados de publicaciones de producción y productos lácteos: Consultado en octubre 2014

Fernando, S. F., Woonton, B. W. 2010. Quantitation of N-acetylneuraminic (sialic) acid in bovine glycomacropeptide (GMP). *J Food Compos Anal.* Vol. 23: 359-366.

Froehlich, J. W., Dodds, E. D., Barboza, M., McJimpsey, E. L., Seipert, R. R., Francis, J., An, H. J., Freeman, S., German, J. B., Lebrilla, C. B. 2010. *J Agr Food Chem.* Vol. 58: 6440-6448.

Greppi, G. F., Roncada, P., Fortin, R. 2008. Protein Components of Goat's milk. *Dairy Goats Feeding and Nutrition.*

Gobbetti, M., Stepaniak, L., De Angelis, M., Corsetti, A., Di Cagno, R. 2002. Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* Vol. 42: 223-239.

Guilloteau, P., Romé, V., Delaby, L., Mendy, F., Roger, L., Chayvialle, J. A. 2009. A new role of phosphopeptides as bioactive peptides released during milk casein digestion bioactive peptides released during milk casein digestion in the young mammal: regulation of gastric secretion. *Pept.* Vol. 30: 2221-2227.

Haenlein, G. F. W. 1992. Role of goat meat and milk in human nutrition. In: *Proceedings of the Fifth International Conference on Goats*. Indian Council of Agriculture Research Publishers. Vol. II: 575-580.

Haenlein, G. F. W. 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Rum Res.* Vol. 51: 155-163.

Hernández-Hernández, O., Moreno, F. J., Kolida, S., Rastall, R. A., Sanz, M. L. 2011. Effect of glycation of bovine β -lactoglobulin with galactooligosaccharides on the growth of human faecal bacteria. *Int Dairy J.* Vol. 21: 949-952.

Hernández-Ledesma, B., Recio, I., Amigo, L. 2008. Beta-lactoglobulina as source of bioactive peptides. *Amino Acids.* Vol. 35: 257-265.

Hernández, R. M., Vélez, R. J. F. 2014. Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos.* Vol. 8: 13-22.

Hiss, S., Meyer, T., Sauerwein, H. 2008. *Small Ruminant Reserch.* Vol. 80: 87-90.

Ikonen, T., Morri, S., Tyrisevä, A. M., Ruottinen, O., Ojala, M. 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and pH of milk. *J Dairy Sci.* Vol 87: 458-467.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2008. *Guía para el manejo de rebaños Caprinos*. Baja California Sur.

Jenness, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. *J Dairy Sci.* Vol. 63: 1605-1630.

Jensen, R. G. 1995. *Handbook of milk composition*. Academic Press.

Jiménez, B., Martínez, A., Bouza, J. 2001. Bioactive milk peptides and proteins. *Asr Pharm.* Vol. 42: 135-145.

Jovanovic, S., Macéj, O., Barac, M. 2005. The characteristics of coaggregates and coprecipitates based cheeses. *Biotech*. Vol. 21: 147-173.

Juarez, M., Ramos, M., Martín, H. C. 1991. Quesos Españoles de leche de cabra. FESLAC. Madrid.

Kreuz, M., Krause, I., Kulozik, U. 2008. Separation of a glycosylated and non-glycosylated fraction of caseinomacropptide using different anion-exchange stationary phases. *J Chromatogr A*. Vol. 1208: 126-132.

Kreuz, M., Strixner, T., Kulozik, U. 2009b. The effect of glycosylation on the interfacial properties of bovine caseinmacropptide. *Food Hydrocoll*. Vol. 23: 1818-1826.

Kitts, D. D. y Weiler, K. 2003. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr Pharm Des*. Vol. 9: 1309-1323.

Koletzko, B., Baker, S., Cleghorn, G., Fagundes N. U., Gopalan, S., Hernell O., Seng, H. Q., Jirapinyo, P., Lonnerdal, B., Pencharz, P., Pzyrembel, H., Ramirez-Mayans, J., Shamir, R., Turck, D., Yamashiro, Y., Zong-Yi, D. 2005. Global Standard for the Composition of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Vol. 41: 584-599.

Korhonen, H. y Pihlanto, A. 2006. Bioactive peptides: production and functionality. *Int Dairy J*. Vol. 16: 945-960.

Lamothe, S., Robitaille, G., St-Gelais, D., Britten, M., 2007. Short communication: extraction of beta-casein from goat milk. *J Dairy Sci*. Vol. 90: 5380-5382.

Li, E. W. Y., Mine, Y. 2004. Comparison of chromatographic profile of glycomacropptide from cheese whey isolated using different methods. *J. Dairy Sci*. Vol. 87: 174-177.

Linzell, J. L. 1960. Valvular incompetence in the venous drainage of the udder. *J Physiol*. Vol 153: 492.

Lönnerdal, B. 2003. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr*. Vol. 77: 1537S-1543S.

Lønnerdal, B. 2011. Biological effects of novel bovine milk fractions. Nestle Nutrition Workshop Series. Pediatric Programme. Vol. 67: 41-54.

López-Expósito, I., Quiros, A., Amigo, L., Recio, I. 2007. Casein hydrolysates as a source of antimicrobial, antioxidant and antihypertensive peptides. Lait. Vol. 87: 241-249.

López-Fandino, R., Otte, J., Van Camp, J. 2006. Physiological, chemical y technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity. Int Dairy J. Vol. 16: 1277-1293.

Manual Qubit® 2.0 Fluorometer. 2010. Invitrogen

Marnila, P., Korhonen, H. J. 2009. Lactoferrin for human health. In: Dairy-derived Ingredients. Food Nutr Uses. 290-307.

Martin, P. 1993. Polymorphisms genetique des lactoproteines caprines. Lait. Vol. 73: 511-532.

Martín, P. 1997. La composition protéique du lait de chèvre: ses particularités. In: Actes du colloque: Le lait de chèvre, un atout pour la santé Institut National de la Recherche Agronomic Editions. France. N. 81. 199p.

Martínez-Férez, A., 2004. Obtención de oligosacáridos de leche de diferentes especies por tecnología de membranas. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

Martínez-Férez, A., Rudloff, S., Guadix, A., Henkel, G. A., Pohlentz, G., Boza, J. J., Guadix, E. M., Kunz, C. 2006. Goat's milk is a natural source of lactose-derived oligosaccharides: isolation by membrane technology. Int Dairy J. Vol. 16: 173-181.

McLachlan, C. N. S. 2001. β -Casein A1, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. Med Hypotheses. Vol. 56: 262-272.

Mendes da Silva, L. 2011. Potential applications of whey proteins in the medical field. En J. S. Reis. J. A. Teixeira, Engineering Aspects of milk and Dairy Products. 221-252.

Monaci, L., Tregoat, V., Van Hengel, A. J., Anklam, E. 2006. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: a review. European Food Res Tech. Vol. 223: 149-179.

Murray, B. A. y **Fitz-Gerald**, R. J. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: biochemistry, bioactivity and production. *Curr Pharm Des.* Vol. 13: 773-791.

Nagpal, R., **Behare**, P., **Rana**, R., **Kumar**, A., **Kumar**, M., **Arora**, S., **Morotta**, F., **Jain**, S., **Yaday**, H. 2011. Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update. *Food and Fuction.* Vol. 2: 18-27.

Nakano, T., **Ozimek**, L. 2000. Purification of glycomacropetide from caseinate hydrosylate by gel chromatography and treatment with acidic solution. *J Food Sci.* Vol. 65: 588-590.

Neelima, S. R., **Rajput**, Y. S. 2012. Direct estimation of sialic acid in milk and milk products by fluorimetry and its application in detection of sweet whey adulteration in milk. *J Dairy Res.* Vol. 79: 495-501.

Nielsen, P., **Trombolt**, N. 1994. Method for production of a kappa-casein glycomacropetide and use of a kappa-casein glycomacropetide.

Orman, A., **Günay**, A., **Balci**, F., and **Koyuncu**, M. 2011. Monitoring of somatic cell count variations during lactation in primiparous and multiparous Turkish Saanen goats (*Capra hircus*). *Turk. J Vet Anim Sci.* Vol. 35: 167–175.

Ortiz-Chao, P., **Gómez-Ruíz**, J. A., **Rastall**, R. A., **Mills**, D., **Cramer**, R., **Pihlanto**, A., **Korhonen**, H., **Jauregi**, P. 2009. Production of novel ACE inhibitory peptides from β -lactoglobulin using protease N Amano. *Int Dairy J.* Vol. 19: 69-76.

Otte, J., **Shalaby**, S. M., **Zakora**, M., **Pripp**, A. H. y **El-Shabrawy**, S. A. 2007. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of milk protein hydrolysates: effect of substrate enzyme and time of hydrolysis. *Int Dairy J.* Vol. 17: 488-503.

Park, Y. W. 1994. Hypo-allergic and therapeutic significance of goat milk. *Small Rum Res.* Vol. 14: 151-159.

Park, Y. W. 2006. Goat milk chemistry and nutrition.

Park, Y. W., **Juarez**, M., **Ramos**, M. y **Haenlein**, G. F. W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rum Res.* Vol. 83: 88-113.

Park, Y. W. 2009. Overview of bioactive components in milk and dairy products. In: *Bioactive Components in milk and Dairy Products.* 3-12.

Pencharz, P., Ball, R. 2004. Amino acid needs for early growth and development. *J Nutr.* Vol. 134. 1566S-1568S.

Phelan, M., Aherne, A., Fitzgerald, R. J., Brien, N. M. 2009. Casein-derived bioactive peptides: biological effects, industrial uses, safety aspect and regulatory status. *Int Dairy J.* Vol. 19: 643-654.

Pihlanto-Leppälä, A., Koskinen, P., Piilola, K., Tupasela, T. y Korhonen, H. 2000. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of whey protein digests: concentration and characterization of active peptides. *J Dairy Res.* Vol. 67: 53-64.

Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T. y Korhonen, H. 1998. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *Int Dairy J.* Vol. 8: 325-331.

Pihlanto, A. 2001b. Bioactive peptides. In: *Encyclopedia of Dairy Science.* Vol. 3: 879-886.

Potocnik, K., Gantner, V., Kuterovac, K., Cividini, A. 2011. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo.* Vol. 61 (2). 107-113.

Raynal-Ljutovac, K., Lagriffou, G., Paccard, P., Guillet, I. y Chilliard, Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rum Res.* Vol. 79: 57-72.

Recio, I., De la Fuente, M. A., Juárez, M., Ramos, M. 2009a. Bioactive components in sheep milk In: *Bioactive Components in milk and dairy products* (ed. Y. Park). 83-104.

Recio, I., Moreno, E. J. López- Fandino, R. 2009b. Glycosylated dairy components: their roles in nature and ways to make use of their functionality in dairy products. In: *Dairy-derived Ingredients: Food Nutr Uses.* 170-211.

Redmond, H. P., Stapleton, P. P., Neary, P. y Bouchier-Hayes, D. 1998. Immunonutrition: the role of taurine. *Nutrition.* Vol. 14: 599-604.

Reinert, P., Fabre, A. 1997. Utilisation du lait de chevrechez l' enfant. Experience de Creteil. In: *Proceedings of the*

Colloque Interets Nutritionnel et Dietetique du Lait de Chevre. Inst. Nat. Rech. Agron. Publ., Paris, France. Vol. 81: 119-121.

Remeuf, F., 1993. Influence du polymorphisme genetique de la caseine α -s-1 caprine sur les caracteristiques physico-chimiques et technologies du lait. Vol. 73: 549-557.

Ricci, I., Artacho, R., Olalla, M. 2010. Milk protein-peptides with angiotension I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. Crit Rev Food Sci Nutr. Vol. 50: 390-402.

Rodden, D., 2004. Dairy goat composition. California, Estados Unidos. Salcedo J., Lacomba R., Alegria A., Barbera R., Matencio E., Lagarda M. J., 2011. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determining sialic acid in infant formulas. Food Chem. Vol. 127: 1905-1910.

Roncada, P., Gaviraghi, A., Liberatori, S., Canas, B., Bini, L., Greppi, G. F. 2002. Identification of caseins in goat milk. Proteomics. Vol. 2: 723-726.

Sacchi, P., Chessa, S., Budelli, E., Bolla, P., Ceriotti, G., Soglia, D., Rasero, R., Cauvin, E., Caroli, A. 2005. Casein haplotype structure in five Italian goat breeds. J Dairy Sci. Vol. 88: 1561-1568.

Salcedo, J., Lacomba, R., Alegria, A., Barbera, R., Matencio, E., Lagarda, M. J. 2011. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods of determining sialic acid in infant formulas. Food Chem. Vol. 127: 1905-1910.

Salinas, H., Echevarria, F., Flores, M., Gutierrez, R., and Rumayor, A. 2010. Tecnología en sistemas de producción caprinos en el semi desierto de zacatecas.

Salvador, A., Martínez, G. 2007. Factores que afectan la producción y composición de la leche de cabra. Vol. 48, número 2: 61-76.

Samoré, A. B., Romani, C., Rossoni, A., Frigo, E., Pedron, O., Bagnato, A. 2007. Genetic parameters for casein and urea content in the Italian Brown Swiss dairy cattle. Ital J Ani Sci. Vol. 6: 201-203.

Santillo, A., Albenzio, M., Quinto, M., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A. 2009. Probiotic in lamb rennet paste enhances rennet lipolytic activity, and CLA and linoleic acid content in Pecorino cheese. J Dairy Sci. Vol. 92: 1330-1337.

Sanz Sampelayo, M. R., Chilliard, V., Schmidely, Ph., Boza, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constitutes of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. Vol. 68: 42-63.

Sharma, S. K., Hill, A. R., Mitral, G. S. 1993. An improved method to measure glycomacropeptides (GMP) in renneted milk. *Milch wissenschaft*. Vol. 48; 71-73.

Shoveller, A., Brunton, J., Pencharz, P., Ball, R. 2003. The methionine requirement is lower in the parenterally fed neonatal piglet than in the enterally fed. *J Nutr*. Vol. 133: 1390-1397.

Silanikove, N., Leitner, G., Merin, V., Prosser, G. G. 2010. Recent advances in exploiting goats milk: quality, safety and production aspects. *Small Rum Res*. Vol. 89: 110-124.

Silva, H. E. R., Nakano, T., Ozimek, L. 2002. Isolation and analysis of κ -casein glycomacropeptide from goat sweet whey. *J Agric Chem*. Vol. 50: 2034-2038.

Slacanac, V., Bozanic, R., Hardi, J., Szabo, J. R., Lucan, M., Krstanovic, V. 2010. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *J Dairy Technol*. Vol. 63: 171-189.

Strömquist, M., Falk, P., Bergström, S. 1995. Human milk K-casein and inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucosa. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. Vol. 21: 288-96

Thomä, C., Krause, I., Kulozik, U. 2006. Precipitation behavior of caseinomacropeptides and their simultaneous determination with whey proteins by RP-HPLC. *Int Dairy J*. Vol. 16: 285-293.

Thomä-Worringer, C., Sorensen, J., López-Fandiño, R. 2006. Health effects and technological features of caseinomacropeptide. *Int Dairy J*. Vol. 16: 1324-1333.

Ullah, I. 2011. Bovine milk in early lactation stages is richest source of protein contents.

Wal, J. M. 2004. Bovine milk allergenicity. *Ann Allergy Asthma Immunol*. Vol. 93: 2-11.

Wang, B., Brand-Miller, J., McVeagh, P., Petocz, P. 2001. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. *Am J Clin Nutr.* Vol. 74: 510-515.

Wang, B., Yu, B., Karim, M., Hu, H. H., Sun, Y., McGreevy, P., Petocz, P., Held, S., Brandmiller, J., 2007. Dietary sialic acid supplementation improves learning and memory in piglets. *Am J Clin Nutr.* Vol.85: 561-569.

Walkden-Brown, S. W., Bocquier, F. 2000. Nutritional regulation of reproduction in goats. *Proceedings of the 7 th International Conference on Goats.* Francia. Vol. 1. 389-395.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA EL MÉTODO DE WESTERN BLOT

a) Buffer Tris (TBS): 20 mM, Tris HCl, 500 mM NaCl (pH final=7.5)

Se disolvieron 4.84 g de Tris base, 58.48 g de NaCl en 1.5 L de agua, se agitó para una disolución completa, se ajustó el pH= 7.5 con HCl y se procedió a aforar a 2 L.

b) Buffer TTBS: 20 mM, Tris HCl, 500 mM NaCl, 0.05% Tween 20 (pH final=7.5)

Se tomó 1 L de la solución de TBS y se agregaron 0.5 mL de Tween 20 y se mezcló.

c) Solución bloqueadora al 5%

Disolver 5 g de leche descremada en polvo en 100 mL de TBS.

Anexo 2: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

a) Solución de hidróxido de sodio, *Concentración* = 7.5 mol/L

Se disolvieron 300 g de NaOH en agua y se aforaron a 1L.

b) Solución de ácido fórmico y fenol

Se mezclaron 889 g de ácido fórmico con 111 g de agua y se añadieron 4.73 g de fenol.

c) Mezcla de hidrólisis, *Concentración*=6 mol/L de HCl con 1 g de fenol/L

Se agregó 1 g de fenol a 492 ml de HCl, se llevó a 1 L con agua.

d) Mezcla de oxidación (ácido per fórmico-fenol)

Se mezclaron 0.5 ml de peróxido de hidrógeno con 4.5 ml de la solución de ácido fórmico-fenol en un vaso de precipitado. La mezcla se incubó por 1 h a 30°C para formar ácido per fórmico. Se enfrió en un baño de agua frío por 15 min antes de adicionarlo a la muestra.

e) Amortiguador de citrato, *Concentración*=0.2 mol de Na, pH 2.20

Se disolvieron 19.61 g de citrato de sodio dihidratado, 5 ml de tiodiglicol, 1 g de fenol y 16.5 ml de HCl en 800 ml de agua. Se ajustó el pH a 2.2. Se llevaron a 1 L con agua.

f) Solución stock de ácido cisteico y metionina sulfona, *Concentración*=1.25 $\mu\text{mol/ml}$

Se disolvieron 0.2115 g de ácido cisteico y 0.2265 g de metionina de sulfona en amortiguador de citrato en un frasco graduado de 1L. Se almacenó a 5°C.

g) Solución stock del estándar interno, norleucina, *Concentración*= 20 $\mu\text{mol/ml}$

Se disolvieron 0.656 g de norleucina en búfer de citrato en un frasco graduado y se llevó a 2500 ml con amortiguador de citrato. Se almacenó a 5°C.

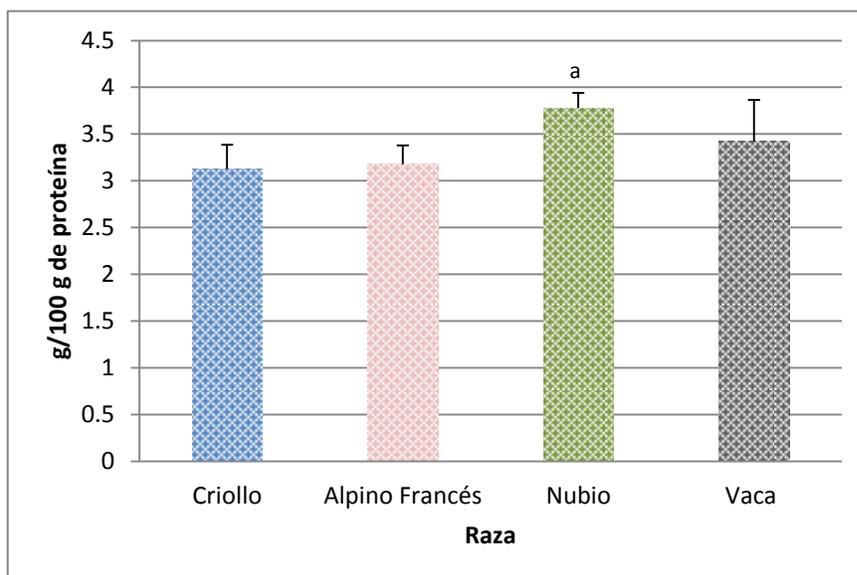
Anexo 3: CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA POR ENSAYO QUBIT™ 2.0 FLUOROMETRO PARA EVALUACIÓN DEL PERFIL PROTEÍNICO TOTAL

Análisis de la Proteína total de leche de cabra (*Criollo, Alpino Francés, Nubio*) y leche de vaca *Holstein*.

Parámetro	<i>Criollo</i>	<i>Alpino Francés</i>	<i>Nubio</i>	<i>Holstein</i>
Proteína (g/100 g leche) Media \pm D.E	3.13 \pm 0.26	3.18 \pm 0.20	3.78 \pm 0.16 ^a	3.42 \pm 0.44
E. E.	0.09			

Se realizó el análisis estadístico n=10 muestras por raza

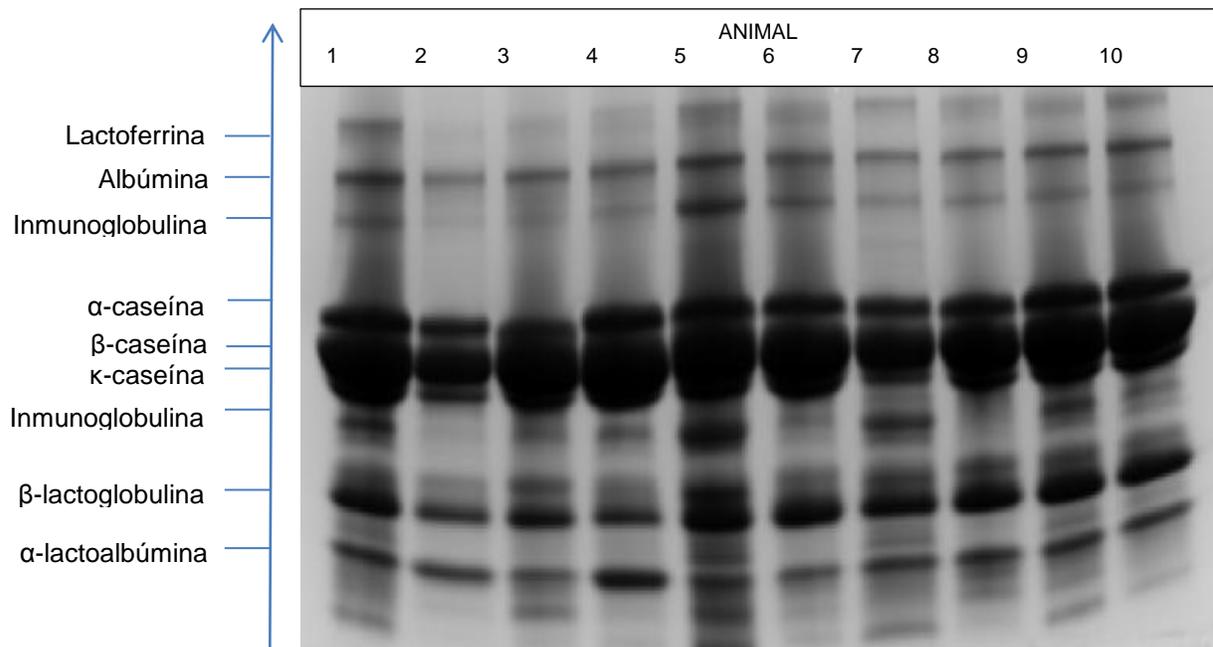
^a Diferencia significativa comparado con razas Criollo, Alpino Francés y Vaca (p<0.05)



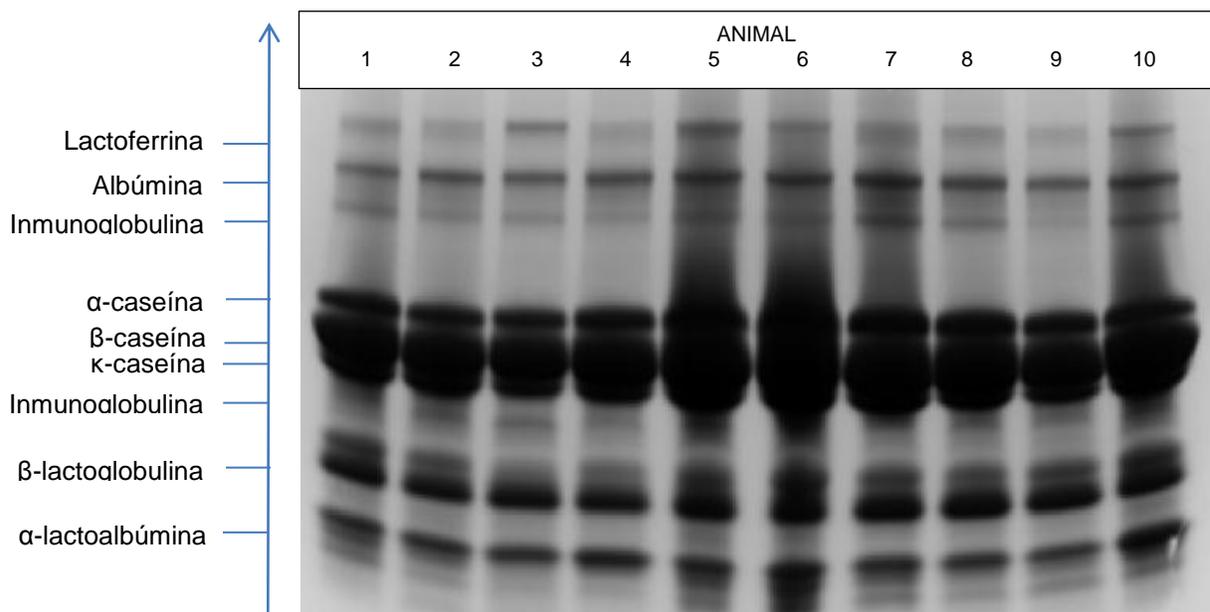
Anexo 4: GELES SDS-PAGE OBTENIDOS PARA EL PERFIL PROTEÍNICO TOTAL

LECHE DE CABRA

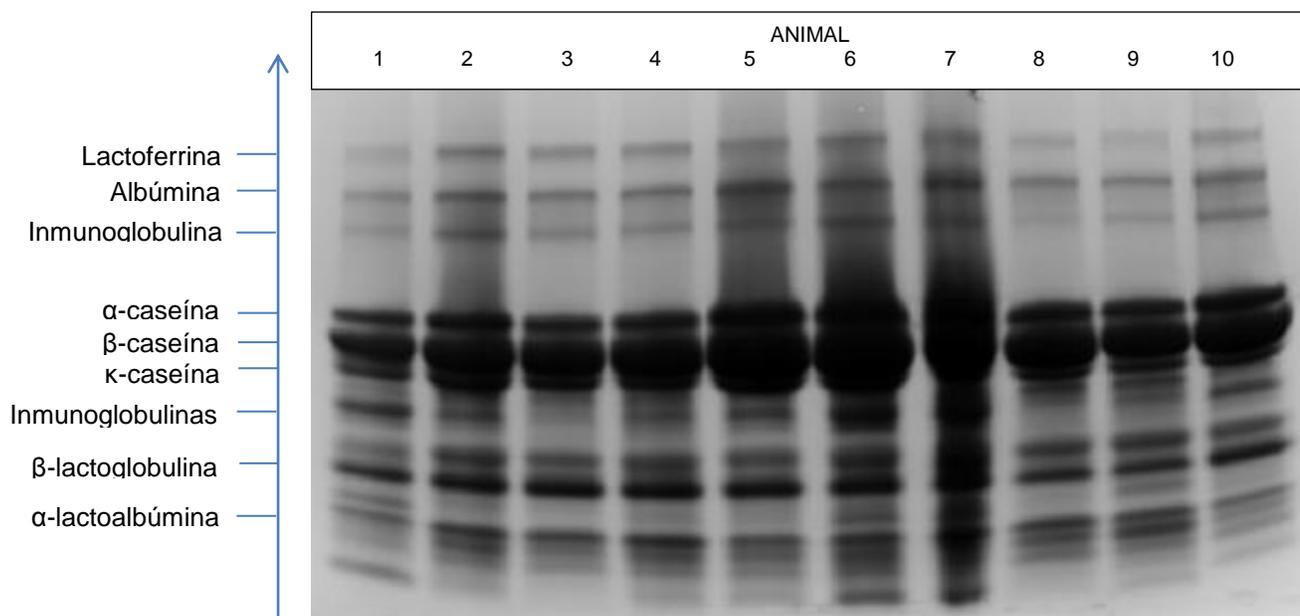
1. Raza *Criollo*



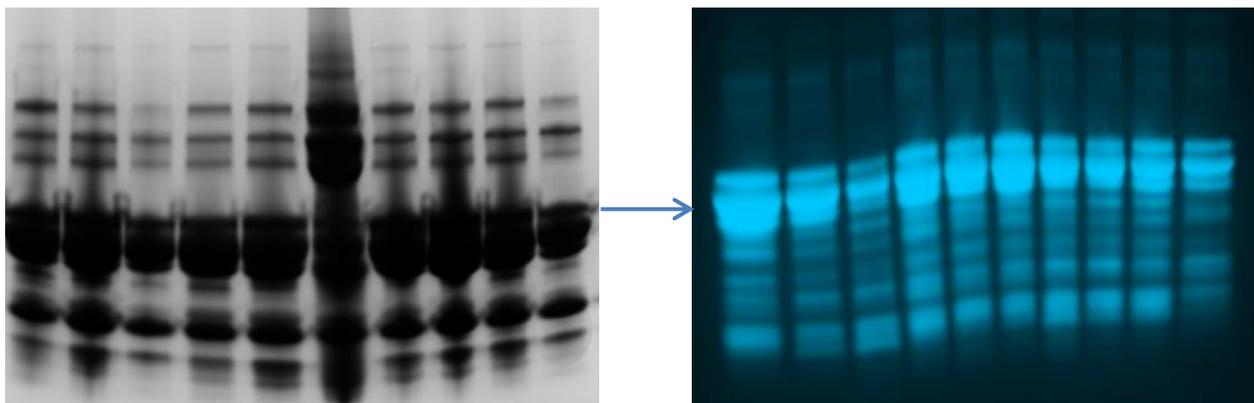
2. Raza *Nubio*



3. Raza *Alpino Francés*



Repetición del Perfil de proteína total y separación de caseínas (α , β y κ) para su cuantificación debido a la abundancia de las mismas.



Anexo 5: ANÁLISIS DENSITOMÉTRICO DE GELES SDS-PAGE PARA OBTENER EL PERFIL PROTEÍNICO

a) Leche de raza *Criollo*. Los resultados se expresan en porcentaje de abundancia de acuerdo a la intensidad de la banda expresada en megapíxeles.

ANIMAL	PORCIENTO DE ABUNDANCIA							
	LACTOFERRINA	ALBÚMINA	IgG	α-CSN	β-CSN	κ-CSN	β-LG	α-LA
1	3.3	4.5	1.1	18.3	32.8	12.3	9.4	5.3
2	0.8	5.4	1.3	16.5	35.4	11.0	13.2	11.2
3	0.7	4.6	1.2	17.7	33.9	13.9	12.1	6.9
4	1.0	4.4	1.7	18.7	38.2	9.0	8.2	11.0
5	3.2	5.5	6.0	14.7	27.5	6.5	13.1	6.8
6	1.2	3.7	2.4	13.6	38.2	10.7	17.2	5.4
7	2.6	3.8	1.9	14.2	33.4	5.9	14.6	7.4
8	1.9	4.5	1.6	13.5	33.9	12.1	16.8	10.0
9	1.6	3.7	1.2	17.8	31.9	11.8	14.8	6.5
10	2.5	4.7	1.7	17.8	37.3	6.6	15.0	6.7
Media±D.E	1.88±0.97	4.48±0.64	2.01±1.46	16.28±2.06	34.25±3.27	9.98±2.81	13.44±2.92	7.72±2.20
Proteínas del suero							38.55%	
Caseínas							61.42%	

b) Leche de raza *Alpino Francés*. Los resultados se expresan en porcentaje de abundancia de acuerdo a la intensidad de la banda expresada en megapíxeles.

ANIMAL	PORCIENTO DE ABUNDANCIA							
	LACTOFERRINA	ALBÚMINA	IgG	α-CSN	β-CSN	κ-CSN	β-LG	α-LA
1	1.9	2.8	1.5	16.9	33.3	10.8	11.9	7.1
2	2.9	4.5	3.7	15.4	28.1	12.8	12.0	9.8
3	3.0	2.9	1.7	16.1	35.0	10.2	13.8	11.3
4	2.2	3.7	2.6	15.5	28.1	14.5	11.5	10.3
5	1.6	5.8	1.8	17.8	33.6	11.8	10.1	8.3
6	2.1	2.5	1.8	17.2	28.6	14.9	8.3	9.2
7	3.6	5.8	1.8	19.2	26.7	7.1	5.8	18.3
8	1.6	3.7	1.4	19.1	29.9	13.3	7.6	12.4
9	1.2	3.6	1.9	19.1	30.4	11.8	7.8	11.1
10	2.0	5.4	3.8	20.8	31.7	10.1	9.1	5.5
Media±D.E	2.21±0.74	4.07±1.24	2.20±0.88	17.71±1.81	30.54±2.77	11.73±2.32	9.79±2.49	10.33±3.48
Proteínas del suero							40.02%	
Caseínas							59.98%	

- c) Leche de raza *Nubio*. Los resultados se expresan en porcentaje de abundancia de acuerdo a la intensidad de la banda expresada en megapíxeles.

ANIMAL	PORCIENTO DE ABUNDANCIA							
	LACTOFERRINA	ALBÚMINA	IgG	α-CSN	β-CSN	κ-CSN	β-LG	α-LA
1	2.1	3.9	2.3	17.0	27.7	19.3	12.3	9.9
2	1.8	6.0	2.1	14.9	27.6	19.7	10.9	9.1
3	3.2	5.3	2.0	14.4	35.4	10.6	14.0	8.5
4	1.8	6.1	1.6	14.3	34.5	13.4	14.6	10.4
5	3.4	5.3	1.2	19.2	32.6	12.2	12.9	8.8
6	1.2	4.1	0.9	18.9	24.8	17.3	12.7	13.7
7	2.1	6.8	3.1	16.3	26.3	15.9	15.0	9.7
8	1.7	5.7	2.2	14.8	34.1	13.8	16.1	7.9
9	1.2	4.8	1.3	15.4	35.2	10.5	17.4	8.3
10	1.9	4.8	2.0	15.7	30.5	11.9	10.7	14.7
Media±D.E	2.04±0.74	5.28±0.91	1.87±0.64	16.09±1.77	30.87±4.01	14.46±3.41	13.66±2.17	10.10±2.30
Proteínas del suero							39.47%	
Caseínas							60.51%	

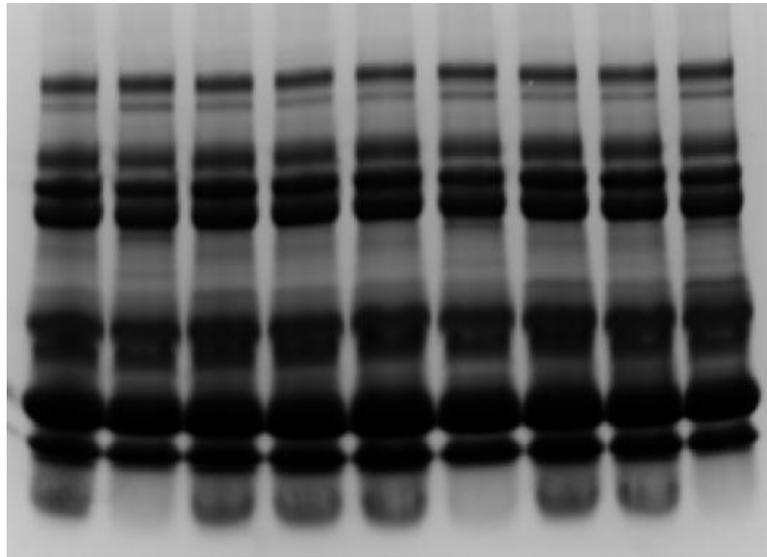
- d) Leche de vaca *Holstein*. Los resultados se expresan en porcentaje de abundancia de acuerdo a la intensidad de la banda expresada en megapíxeles.

ANIMAL	PORCIENTO DE ABUNDANCIA							
	LACTOFERRINA	ALBÚMINA	IgG	α-CSN	β-CSN	κ-CSN	β-LG	α-LA
1	5.2	8.0	7.1	33.9	14.6	5.6	14.4	11.2
2	5.5	9.0	6.7	33.9	16.2	3.7	14.6	10.5
3	5.7	8.5	7.2	31.5	16.6	6.1	14.9	9.6
4	5.3	7.4	6.7	33.3	16.0	4.1	16.7	10.5
5	5.6	7.5	6.4	32.0	15.6	3.9	17.9	11.1
6	5.9	5.9	6.0	30.5	16.4	3.1	18.8	13.5
7	5.4	6.0	6.3	30.7	19.5	2.2	17.2	12.8
8	6.5	7.4	7.3	34.5	14.2	3.8	15.4	11.0
9	6.5	6.6	6.4	34.3	13.2	3.3	18.5	11.2
10	5.6	6.8	6.4	36.8	14.3	3.0	15.8	11.3
Media±D.E	5.72±0.46	7.31±1.01	6.65±0.43	33.14±1.96	15.65±1.76	3.88±1.18	16.42±1.63	11.27±1.13
Proteínas del suero							47.37%	
Caseínas							52.67%	

Anexo 6: GELES PARA EVALUACIÓN DE GLICOMACROPÉPTIDO DE CASEÍNA

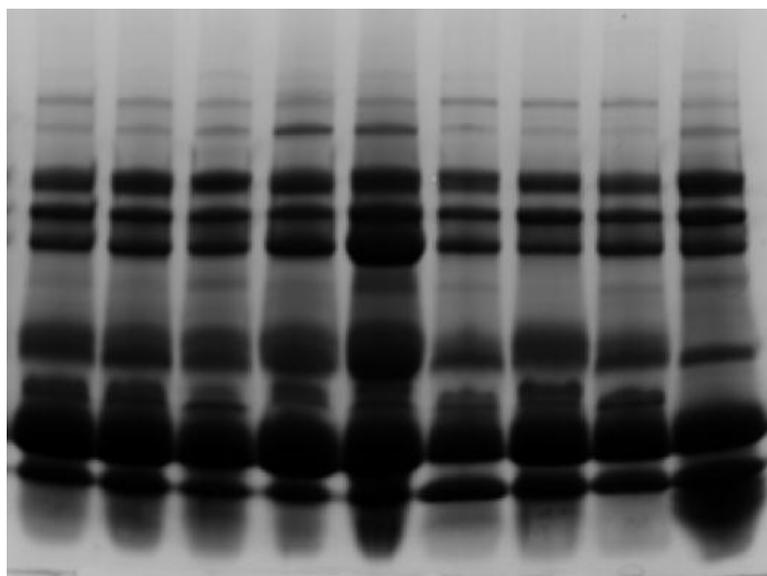
Separación de proteínas de suero extracción enzimática por medio de electroforesis SDS-PAGE

1. Leche de vaca (*Holstein*)



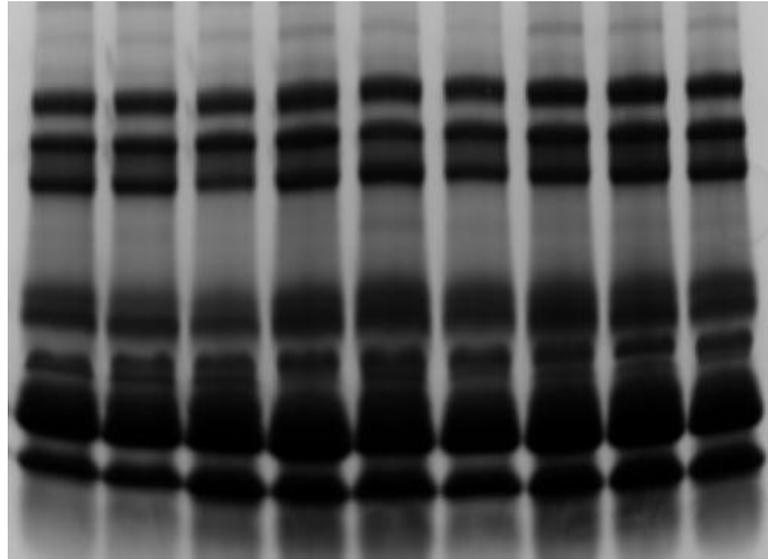
Cada carril del gel representa a un animal diferente

2. Leche de cabra (*Criollo*)



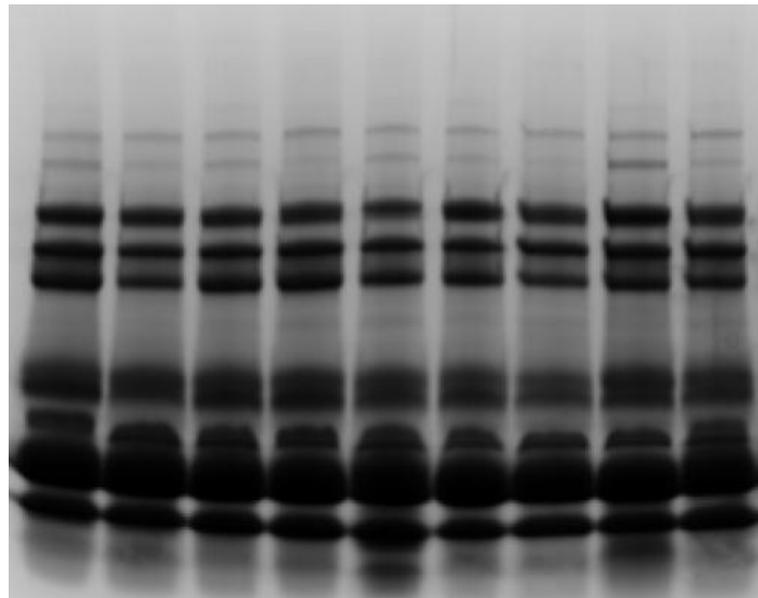
Cada carril del gel representa a un animal diferente

3. Leche de cabra (*Alpino Francés*)



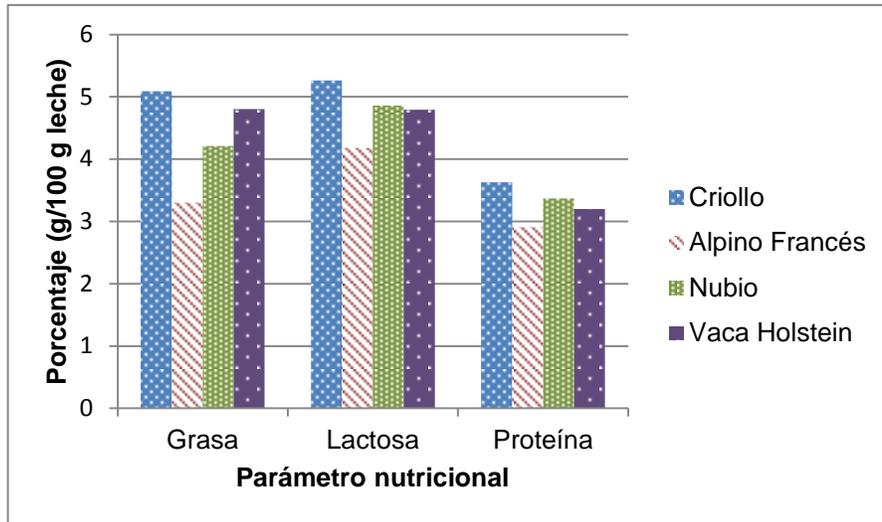
Cada carril del gel representa a un animal diferente

4. Leche de cabra (*Nubio*)



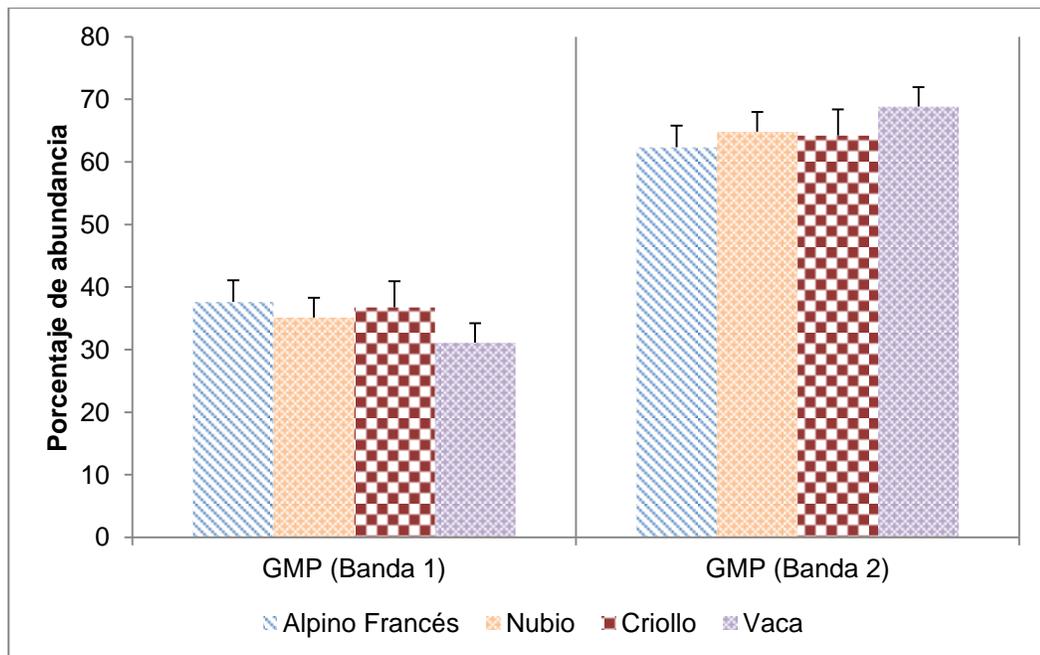
Cada carril del gel representa a un animal diferente

Anexo 7: GRÁFICO DE ANÁLISIS GENERAL DE LA LECHE DE CABRA Y VACA



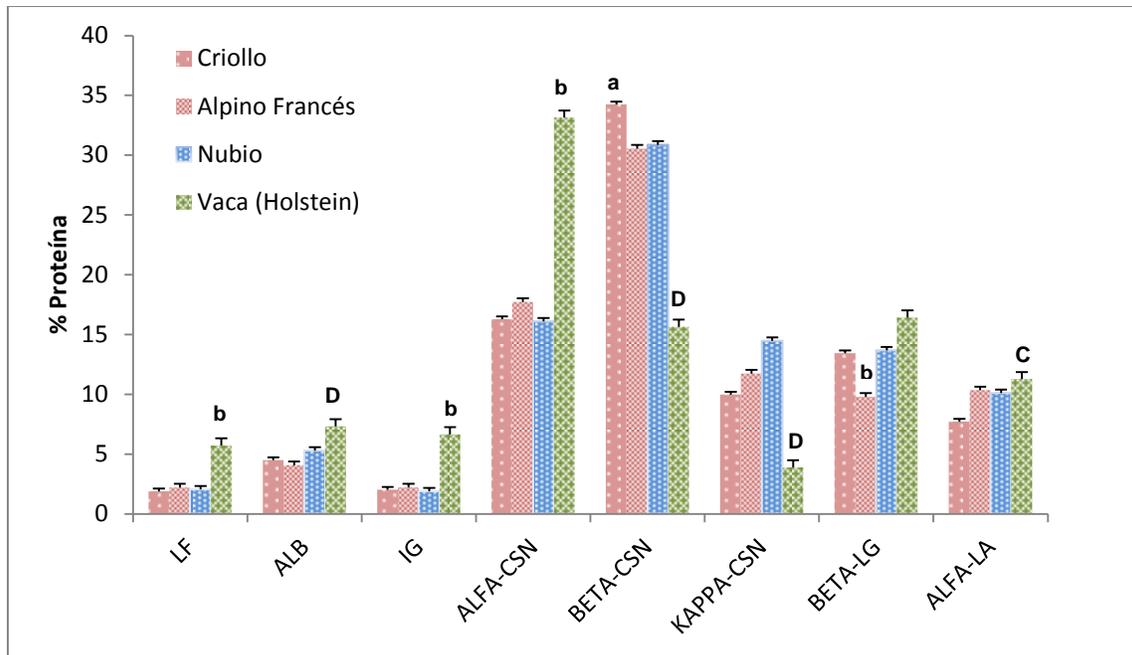
Representación del porcentaje de los parámetros nutricionales (Grasa, lactosa y proteína) para las especies en estudio.

Anexo 8: GRÁFICO COMPARTIVO DE GLICOMACROPÉPTIDO DE CASEÍNA



Porcentaje de abundancia glicomacropéptido de caseína en leche de cabra (*Alpino Francés, Nubio y Criollo*) y leche de vaca.

Anexo 9: GRÁFICO COMPARATIVO DEL PERFIL PROTEÍNICO DE LECHE DE CABRA Y VACA



Porcentaje de abundancia de las diferentes proteínas que conforman el perfil proteínico de la leche de cabra y vaca

LF, Lactoferrina; ALB, Albúmina; IG, Inmunoglobulina; ALFA-CSN, Alfa-caseína; BETA-CSN, Beta-caseína; KAPA-CSN, Kapa-caseína; BETA-LG, Beta-lactoglobulina; ALFA-LA, Alfa-lactoalbúmina. Se representa la media \pm D.E.

Donde a, b, C, D indica que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).