



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

**Clave:** 453102

**PERFIL PROTEICO DE LAS CASEINAS EN QUESOS ELABORADOS EN LA  
CIUDAD DE TULANCINGO, HIDALGO**

**Pérez Aldana M.<sup>1</sup>, Soto-Simental S.<sup>1</sup>, Güemes Vera N.<sup>1</sup>, Meza Nieto M.<sup>1</sup>, Caro-Canales**

**I.<sup>1</sup> y Hernández-Chávez J.F.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias  
Agropecuarias. Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los  
Alimentos. Ave. Universidad s/n km 1. ExHacienda de Aquetzalpa. Tulancingo,  
Hgo. Tel. 017717172000 ext. 4641. Fax 0177575552125.

[jfchavez@uaeh.edu.mx](mailto:jfchavez@uaeh.edu.mx)



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

## INTRODUCCIÓN

La caracterización de los productos alimentarios es la base para determinar, definir, proteger y proporcionar sus atributos de calidad, dentro los productos alimentarios más frecuentes están los quesos.

En la republica Mexicana se elaboran diversos tipos de quesos entre los que cabe destacar por su volumen de producción los quesos: Frescos o Frescal, Amarillo, Doble crema, Oaxaca, Manchego, Chihuahua y Panela. Sin embargo existen escasas referencias de los tipos de quesos mexicanos y en ocasión confusa. En el valle de Tulancingo se elaboran quesos de diversos tipos que no han sido estudiados hasta el momento (o sólo algunos de ellos).

La mayoría de los quesos que se elaboran en México son frescos o de corta maduración con la amplitud para el fundido. En los países como Alemania y Francia los quesos frescos son muy comunes y representan el 30 y 39% de la producción total de quesos. En México el porcentaje de estos quesos es aun mayor alrededor de un 90% (Patro; 1993).

La región del valle de Tulancingo es una de las más importantes en el estado de Hidalgo en cuanto a la producción de leche y queso. La traducción quesera en esta región comenzó hace mas de 50 años con el establecimiento de una empresa que elaboraba queso tipo manchego. A partir de entonces se crearon progresivamente numerosas empresas familiares, lo que a originado que actualmente existan una amplia gama de productos lácteos principalmente quesos, entre los que cabe destacar los quesos: Oaxaca, Tenate, Botanero, Panela, Manchego, Morral y otros.

La calidad de los quesos aun no se define de acuerdo a su calidad de las proteínas que estos contienen, ya que estas influyen en la proteólisis de los quesos llevando con esto a la rancidez y deterioro de estos, es por este problema que se desea analizar la calidad de los quesos desde un perfil proteico para determinar como se puede evitar este problema que afecta a los productores de pequeñas industrias principalmente.



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

En este trabajo se pretende determinar el perfil proteico de las caseínas de diversos tipos de quesos elaborados en esta región para contribuir a establecer estándares que permita por un lado conocer y definir los quesos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Muestreo**

La fase experimental de este trabajo se llevo a cabo en el Laboratorio de físico-química Centro de Investigación en ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTA) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Se utilizaron 3 tipos de quesos típicos mexicanos, siendo los mas frecuentemente elaborados en el Estado de Hidalgo: Oaxaca, Tenate y Manchego Botadero. Para los quesos Oaxaca y Manchego botanero se tomaron 3 marcas comerciales y para el tenate, dos.

### **Extracción de las caseínas**

Para el aislamiento de caseínas, se molerá una cantidad de 7,5 g de la muestra de cada tipo de queso, y posteriormente se le agregó 45 mL de agua, la mezcla se homogenizó utilizando un licuadora UltraTurrax. La caseína que se obtuvo, se precipito con HCl 2M con pH isoelectrico 4,6, seguido por una centrifugación de 4500 g por 15 min. a 20 °C. La caseína precipitada fue lavada una vez con búfer de acetato 1M (pH 4,6) y tres veces con el búfer de acetato diclorometano (1:1, V/V) para quitar completamente la fracción de lípido que queda. Toda esta metodología se llevo a cabo siguiendo las indicaciones de lo reportado por Nogales (2006).

### **Electroforesis Capilar en Gel (CGE).**

El análisis de las muestras de proteína mediante electroforesis capilar se llevó a cabo en un equipo PACE-MDQ Beckman Coulter Inc., (Fullerton, CA) provisto de detector UV y con arreglo de diodos. La detección fue a una longitud de onda de 254 nm (Nogales, 2006).



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

Las muestras fueron inyectadas en el extremo catódico del capilar por presión a 0.5-1 psi (1 psi = 6894.76 Pa).

Columnas capilares.

Para los estudios de optimización de las condiciones de separación de fragmentos de proteína por CGE, se utilizaron capilares recubiertos con diámetro interno de 100  $\mu\text{m}$ . Las longitudes de los capilares serán tomadas según lo descrito en el kit electroforetico eCAP SDS 14-200<sup>TM</sup> (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA), para productos PCR no mayores de 2000 pb. Antes de utilizar el capilar con las primeras muestras, se procedió a un preacondicionamiento del capilar de con HCl 0.1 M por 30 min.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para el establecimiento de las condiciones del estándar de fracciones proteicas, se utilizó el Text Mix del kit electroforetico eCAP SDS 14-200<sup>TM</sup> (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA). Este kit está diseñado para el análisis de fragmentos proteicos con un rango de 14.2 a 205 kilodalton (kDa). Siguiendo las condiciones establecidas en el kit por el fabricante, se utilizó esta metodología para determinar la viabilidad de la misma en la determinación de las diferentes muestras de quesos. Como se observa en la **Figura 1**, la separación por esta metodología fue rápida y con buena resolución en un tiempo no mayor a 20 min.



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

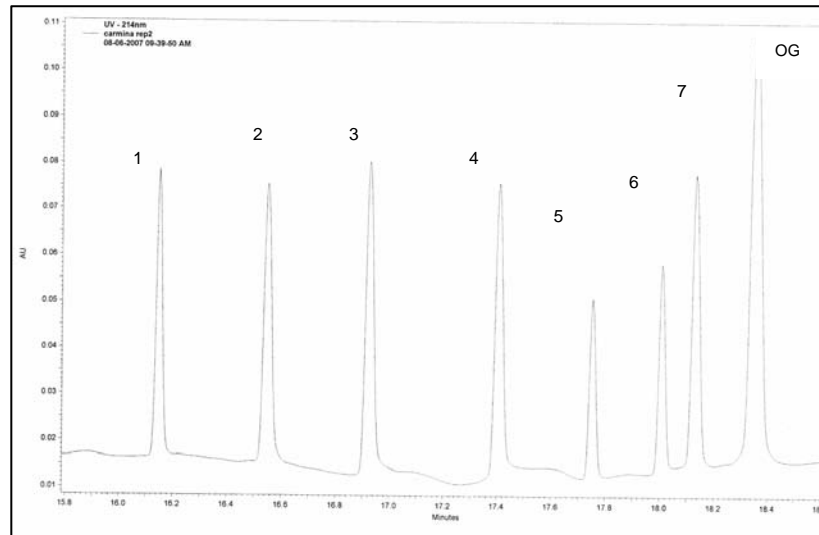


Figura 1. Separación de las fracciones proteicas del TEXT MIX, empleando un capilar recubierto de 65 cm de longitud total, 50 cm de longitud efectiva y 100  $\mu$ m de D.I. Voltaje de separación 12 kV. Inyección de muestra por presión 15 s (0.5 psi ). Detección a 214 nm. OG) estándar interno orange G, 1) 14.2 kDa, 2) 29 kDa, 3) 45 kDa, 4) 65 kDa, 5) 97.4 kDa, 6) 116 kDa y 7) 205 kDa.

Como se muestra en la **Figura 1**, se obtiene una separación rápida y alta resolución de los fragmentos proteicos de 14.2 a 205 kDa, a pesar de la alta resolución y eficacia de los capilares recubiertos, diversos autores coinciden que con el paso del tiempo estos parámetros disminuyen (García-Cañas, 2004). Además de que los capilares recubiertos por su diámetro interno mayor (100  $\mu$ m D.I.), necesitan mayor cantidad de buffer y muestra (Cota-Rivas y Vallejo-Cordoba, 1998).



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

Considerando que un método debe ser reproducible y robusto, se procedió a determinar la reproducibilidad del mismo. Las condiciones que marca el fabricante fueron probadas y puesta a punto en este trabajo con modificaciones menores, siendo la temperatura (30°C) y el voltaje (12 kV) utilizados las que sufrieron cambios. Además se optimizaron los tiempos de lavado para cada tratamiento con el objetivo de obtener la mayor velocidad de acondicionamiento del capilar entre análisis y una separación de fragmentos proteicos reproducible.

Las condiciones de acondicionamiento antes de cada inyección de muestra fueron NaOH 0.1 M durante 1.5 min, NaOH 1 por 3 min y buffer de separación durante 5 min sumando 9.5 min como tiempo total de acondicionamiento entre cada inyección de muestra. La inyección de la muestra fue a 1.0 psi por 15 seg.

Los valores correspondientes a los coeficientes de variación del tiempo de migración y del área de los picos obtenidos para el mismo día y el mismo capilar para los fragmentos de pépticos, presentaron coeficientes de variación de hasta 0.55% para los tiempos de migración y para el área corregida de los picos fue de 0.005 a 6.25 en los siete picos. Siendo esta técnica reproducible.

#### **Análisis Mediante CGE-UV de diferentes Muestras de quesos**

Los resultados anteriores demostraron que el método de separación utilizado es reproducible y eficaz, y en consecuencia, puede ser utilizado con confianza para el análisis de los distintos quesos que se estudiaron en este trabajo.



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

Para demostrar esto, se llevó a cabo la detección del perfil proteico de los quesos.

En la Figura 2, se observa los perfiles electroforéticos de las caseínas los quesos manchego botadero I, II y III, que representan a tres marcas comerciales diferentes. En los electroferogramas A y B, conciden en cuanto al perfil de fragmentos proteicos, con un tiempo de migración de 14 a 17 min, comprendiendo ese tiempo los pesos moleculares entre 29 a 116 kDa. Diferente perfil presentó el electroferograma C, correspondiente al queso manchego botadero III. Con un tiempo de migración comprendido entre 17.2 a 17.8 y un peso molecular de 97 a 116 kDa. Estos resultados pueden deberse a que los queso Manchego botadero III, fueron elaborados con ingredientes adulterantes (análogos)



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

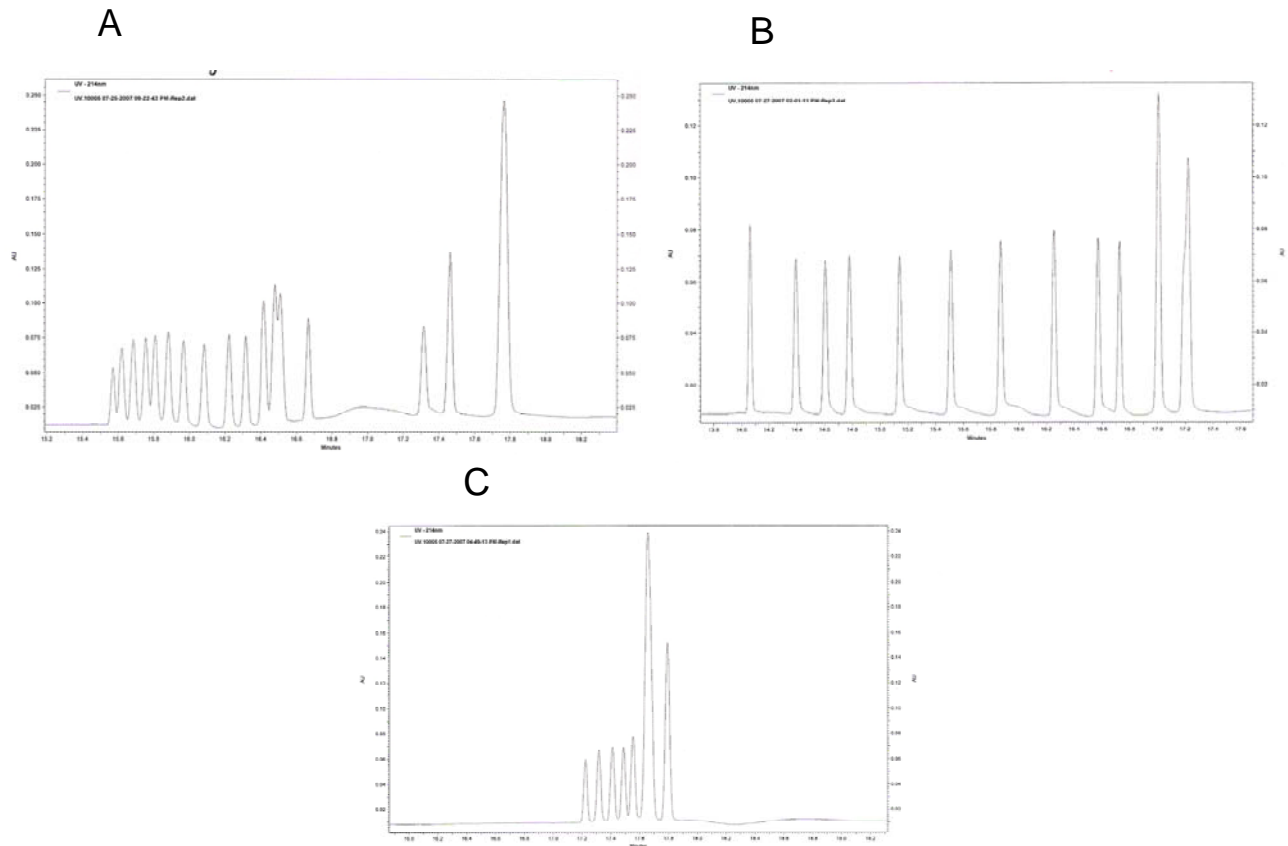


Figura 2. Separación de los fragmentos proteicos de los quesos manchegos, empleando un capilar recubierto de 65 cm de longitud total, 50 cm de longitud efectiva y 100  $\mu$ m de D.I. Voltaje de separación 12 kV. Inyección de muestra por presión 15 s (0.5 psi ). Detección a 214 nm. A) Manchego botanero I, B) Manchego botanero II, C) Manchego Botanero III.

En cuanto a los quesos Oaxaca se observaron electroferogramas correspondientes en los que se apreciaba un perfil proteico muy diferente en cada marca de queso. Los Quesos Oaxacas presentaban picos que iban desde de 18 a 20.4 min; los Oaxacas II, de 14 a 20.5 min y los Oaxacas III, de 17 a 22 min. Considerando los tiempos de migración finales de los quesos Oaxaca, coinciden en un tiempo aproximado de 20 min, lo que lleva a pensar que entre marcas de quesos Oaxaca elaborados en el Valle de Tulancingo, presentan en su elaboración, marcadas diferencias en cuanto a sus procesos e ingredientes (Abonce, 1996;





V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

García, 2006). En estas muestras de queso Oaxaca, no se pudo determinar un peso molecular aproximado, debido a que los picos que resultaron de este muestreo, difieren de los pesos presentes en los fragmentos proteicos del Text Mix. Se hace necesario, tener un marcador molecular que presente pesos específicos cercanos a los picos resultantes en este trabajo.

En cuanto a los quesos Tenate, solo se muestrearon dos marcas comerciales. Los resultados obtenidos fueron muy similares en cuanto al tiempo de migración de los picos resultantes, tanto para los quesos Tenate I y II. Los tiempos de migración fueron de 18 a 20 min. Considerando que los pesos moleculares de estos picos estarán comprendidos entre 116 y 205 kDa. Estos resultados pueden ser debido a que en este tipo de quesos típicos de la región de Tulancingo, se elaboran de la misma manera y utilizan los mismos ingredientes y procedimientos, no importando si es a nivel comercial o en forma artesanal (García, 2006).

## **CONCLUSIONES**

Se concluye que este método de separación es reproducible y eficaz para los fragmentos de 14.2 a 205 kDa, y en consecuencia, puede ser utilizado con confiabilidad en los distintos análisis de perfiles proteicos de caseínas en quesos típicos elaborados en el Valle de Tulancingo. Sin embargo, se hace necesario, tener un marcador molecular más específicos y con un mayor rango, para la determinación y cuantificación de los pesos moleculares de las fracciones que resultaron de este trabajo. Seguiremos trabajando en este último punto.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica  
XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica  
VI Jornadas Científicas de Biomedicina y  
Biotecnología Molecular

---

- Abonce, G.R.A. 1996. Efecto de los factores de elaboración y almacenamiento sobre algunas características físico-químicas y sensoriales del queso Oaxaca”. Tesis de maestría, facultad de química, Universidad Autónoma de Querétaro, México.
- Cota-Rivas, M., Vallejo-Cordoba, B. 1998. Meat species identification by linear discriminant analysis of capillary electrophoresis protein profiles. *J. Capillary Electrophoresis* 5:171-175.
- Franco, F.M.J. 1998. Estandarización del proceso de fabricación del queso tipo Oaxaca, Utilizando mezclas de cultivos iniciadores mesófilos y termófilos. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- García-Cañas, V. 2004. Análisis de organismos modificados genéticamente en alimentos mediante el uso combinado de reacción en cadena de la polimerasa y electroforesis capilar. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- García, B. 2006. Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo Hgo. con el fin de proponer normas de calidad. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Nogales, J.M. (2006) “Application of electrophoretic and chemometric analysis to predict the bovine, ovine and caprine milk percentages in Panela cheese, an unripened cheese” *International dairy Journal*.
- Palacios, S. 2006. Caracterización microbiológica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo Hidalgo. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.