Desarrollo de un Sellador Post-Ordeño con Goma Espina Corona

Rosa S. Ríos, Nelsi A. Ramos, María L. Vranic y María E. Farías

Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avda. Constitución, Luján, Buenos Aires-Argentina (e-mail: srios@unlu.edu.ar)

Recibido Sep. 03, 2012; Aceptado Oct. 17, 2012; Versión final recibida Dic. 16, 2012

Resumen

Con la finalidad de evitar infecciones por mastitis en el ganado vacuno, es recomendable utilizar sellador de pezones post ordeño. El objetivo del trabajo fue desarrollar un sellador post ordeño antiséptico y con estabilidad fisicoquímica, para evitar pérdidas del producto por escurrimiento. El sellador se formuló con la goma espina corona, que cumple la función de incrementar la viscosidad del producto. Se aplicó el diseño central compuesto rotatable para obtener la formulación óptima. Se evaluó la viscosidad aparente, como variable de respuesta con un viscosímetro Brookfield DVII+LV2. Se determinó la fórmula óptima: espina corona (1,7%), agua desmineralizada (88.60%), glicerina (4,70%), solución de yodo y tensioactivo (3,00%) y solución buffer pH=5±0.3 (2,00%). El sellador mostró un comportamiento reológico del tipo pseudoplástico. Se concluye que la goma espina corona es apta para formular un sellador post ordeño, tiene estabilidad fisicoquímica adecuada y mantiene su principio activo como bactericida.

Palabras clave: sellador post-ordeño, mastitis, goma espina corona, diseño central compuesto rotatable

Development of a Post-Milking Sealant with Espina Corona Gum

Abstract

To prevent infection by mastitis in cattle, it is advisable to use post milking teat dip. The objective of this study was to develop a post milking antiseptic sealant with physicochemical stability, to avoid product losses by leakage. The sealant was formulated with the espina corona gum, which increases the viscosity of the product. A central composite rotatable design was applied to obtain the optimal formulation. The apparent viscosity was evaluated as the response variable with a Brookfield DVII + LV2. The optimal formula was determined as: espina corona gum (1.7%), dematerialized water (88.60%), glycerin (4.70%), iodine solution and surfactant (3.00%) and buffer solution pH = 5±0.3 (2.00%). The sealant showed a rheological behavior of the pseudoplastic type. It is concluded that the espina corona gum is suitable to formulate a post milking sealant with acceptable physicochemical stability and that also keeps its active principle as a bactericide.

Keywords: sealant after milking, mastitis, espina corona gum, rotatable central composite design

INTRODUCCIÓN

La mastitis es uno de los problemas más costosos y serios de la industria lechera en todo el mundo, los rangos de prevalencia van del 5 al 50 % (Kutchynskaya Valero-Leal et al, 2010; Zaror et al., 2011). Las pérdidas están asociadas a la reducción del rendimiento, el aumento de los costos de tratamiento, eliminación y sustitución de las vacas lecheras y descartes de la leche (Bhutto et al., 2012). La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria; generalmente se presenta como una respuesta a la invasión por microorganismos y se caracteriza por daños en el epitelio glandular, seguido por una inflamación clínica o subclínica (Biesenkamp - Uhe et al., 2007; Pinzón et al., 2009). El músculo del esfínter actúa como válvula, cuya función es mantener el canal del pezón herméticamente cerrado entre ordeños, evitando así el flujo de leche hacia el exterior y la entrada de bacterias al interior de la ubre. En el 80% de los casos, la mastitis es ocasionada por la entrada de microorganismos patógenos específicos, por el esfínter de los pezones y los tejidos de la ubre. Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón cuando está dañado puede permanecer abierto (<http://www.infocarne.com/bovino/mastitis.asp>).

La mastitis es una enfermedad multifactorial que requiere de la implementación de programa de control y prevención (Olde Riekerink, et. al 2010). Las estrategias de control tiene como objetivo reducir, la incidencia de nuevas infecciones intermamarias y eliminar las infecciones existentes, las medidas de prevención deben incluir la higiene del animal y del medio ambiente, uso de antisépticos, la aplicación de selladores internos, tratamiento post ordeño de los pezones con selladores externos (McDougall et. al 2009).

El sellador post ordeño se aplica con una copa profunda anti retorno, que cubre homogéneamente las dos terceras partes del pezón. Los selladores no curan una infección ya establecida como la mastitis, pero logran reducir de un 50% a un 90% las nuevas infecciones. Los selladores del mercado son formulados con diversos antisépticos y con goma xántica, estas última tienen la función de incrementar la viscosidad del producto evitando la pérdida por escurrimiento.

En estudios anteriores se comparó el comportamiento reológico de la goma espina corona frente a diferentes hidrocoloides: garrofín, xántica, guar, tara, lota-, Kappa-, λ - carragenina, pectina, agar- agar y alginato; y se concluyó que la espina corona es un galactomanano con propiedades espesantes, gelificantes y estabilizantes (Ramos et al., 2005).

La goma espina corona es extraída de las semillas de Espina Corona (*Gleditsia amorphoides*), un árbol leguminoso, nativo de América Latina, que crece en los bosques del norte de Argentina abarcando las provincias de Chaco, Formosa, Corrientes, Misiones, Entre Ríos, Norte de Santa Fe, Salta y Jujuy. La estructura química de este galactomanano es una cadena lineal de (1→4) α -D-trimannosa (71,4%) unidas a (1→6) α -D-galactosa (28,6%) estructura similar a otros galactomananos. Hoy en día, debido al aumento del costo de productos extranjeros semejante, la producción está siendo revitalizada a través de diversas empresas (Spotti M. J. et al. 2012; Perduca M. J., 2012). Con la finalidad de abaratar costos se decidió estudiar la sustitución de la goma xántica, por la goma espina corona un producto argentino, más económico.

OBJETIVO

Formular un sellador de pezones post ordeño, con propiedades antisépticas, empleando goma espina corona con la finalidad de incrementar la viscosidad, para evitar las pérdidas por escurrimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de las muestras

Se dispersó glicerina y goma espina corona (Nature Gum, Argentina), en aproximadamente 200 ml de agua desmineralizada a 85°C. A la dispersión anterior se le incorporó la solución de yodo - tensoactivo con 80,00 % de tensoactivo no iónico, Tensapol® y 20,00% de yodo sublimado y finalmente se le añadió el buffer de pH: 5,0 $\pm$ 0,3. Se utilizó un agitador eléctrico de paleta, a velocidad 200 rpm. El tiempo de agitación fue de 12 minutos y la temperatura final fue de 27 $\pm$ 1°C. Las muestras se envasaron, rotularon y se almacenaron a temperaturas ambiente 25 $\pm$ 1 °C. Se formularon nueve muestras o "tratamientos" variando las proporciones de los componentes como se muestran en Tabla 1. Todos los ingredientes fueron gentileza de PROINDAR S.R.L. Argentina. Para la caracterización del sellador post ordeño se determinó el pH con un pH-metro digital VEGA V*N (Parsec Instrumental Científico, Argentina) y la concentración del principio activo, expresada como ppm de yodo disponible, se realizó por medio de una titulación con tiosulfato de sodio y almidón como indicador (Cabrea N., 2007).

Tabla 1: Composición de las nueve fórmulas de muestras o "tratamientos"

Tratamientos	Espina corona (%)	Agua desmineralizada (%)	Glicerina (%)	Yodo-tensoactivo (%)	Buffer (%)
1	1,50	89,00	4,50	3,00	2,00
2	1,50	84,93	8,57	3,00	2,00
3	1,00	87,00	7,00	3,00	2,00
4	0,79	89,00	5,21	3,00	2,00
5	1,00	91,00	3,00	3,00	2,00
6	1,50	93,07	0,43	3,00	2,00
7	2,00	91,00	2,00	3,00	2,00
8	2,20	89,00	3,80	3,00	2,00
9	2,00	87,00	6,00	3,00	2,00

Diseño Experimental

Se aplicó la metodología superficie de respuesta para determinar proporciones óptimas de dos factores: proporción de goma espina corona (x_1) y proporción de agua desmineralizada (x_2). Se realizó un diseño central compuesto rotatable (DCCR) (Motgomery, 2008), cada variable que se optimizó fue evaluada a cinco niveles (ver codificación en la Tabla 2) y con un total de 11 corridas (ocho tratamientos y triplicado del tratamiento uno, punto central del diseño). Como variable respuesta se midió la viscosidad aparente a 0,7 rpm y temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, debido a que es considerada una medida indirecta del escurrimiento del producto.

Tabla 2: Niveles para cada uno de los factores o variables según el DCCR

Formulación	Notación	Niveles de cada uno de los factores				
		-1,41	-1	0	1	1,41
Espina Corona (%)	X_1	0,79	1,00	1,50	2,00	2,20
Agua desmineralizada (%)	X_2	84,93	87,00	89,00	91,00	93,07

Viscosidad aparente

Se le determinó viscosidad aparente, mediante un viscosímetro Brookfield DV-II+ LV2 a 600 ml de muestra de cada uno de los tratamientos del DCCR, a 0,7 rpm y temperatura de 25°C . Se realizó el perfil reológico a la fórmula óptima en el rango de velocidad de 0,4 a 10 rpm, a la temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Análisis estadístico

Se ajustaron las variables independientes mediante una regresión lineal múltiple (Programa SPSS 15.0 Statistical Package for the Social Sciences). Con el propósito de obtener las proporciones óptimas de los dos factores: espina corona y agua desmineralizada se realizaron las derivadas parciales de la ecuación (1) con respecto a cada una de las variables independientes y se igualaron a cero.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_1^2 + \beta_4 x_2^2 + \beta_5 x_1 x_2 + e \quad (1)$$

Donde Y: variable respuesta a medir (Viscosidad en cP) y β_{ij} : Coeficiente de cada término.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos experimentalmente se ajustaron con el modelo lineal mixto propuesto en la ecuación 2. Todos los coeficientes resultaron distinto de cero en un nivel de significación de 0,05 ($p < 0,05$, ver tabla N°3), se obtuvo un Coeficiente de Regresión Múltiple alto ($R^2 = 0,9592$) indicando que la correlación entre las variables independientes y la variable respuesta es muy buena; el estadístico del modelo ($F = 23,5$ con 5 grados de libertad para el numerador y 5 grados de libertad para el denominador) está asociado a un p valor menor a 0,05 (0,001749) indicando que el modelo estimado tiene un buen ajuste. El error estándar residual es 816,6 con 5 grados de libertad.

Tabla 3: Valores de los coeficientes β de la ecuación del modelo

Coeficientes	Valores	Error Std.	T valores	Pr (> t)
Constantes	7244,7888	471,4627	15,3666	0,0000
X_1	885,0355	289,1446	3,0609	0,0281
X_2	-763,8650	289,1446	-2,6418	0,0459
X_1^2	-3320,9335	345,0248	-9,6252	0,0002
X_2^2	-1212,3877	345,0248	-3,5139	0,0170
X_1X_2	-1152,0000	408,3035	-2,8214	0,0370

El modelo estimado es el siguiente:

(2)

$$Y_{(X_1 \text{ y } X_2)} = 7244,788 + 885,035X_1 - 763,865X_2 - 3320,933X_1^2 - 1212,387X_2^2 - 1152 X_1 \cdot X_2 + 816,6$$

Se puede observar en el modelo estimado que: como ambos términos cuadráticos son negativos existe un máximo dentro del área experimental seleccionada; el efecto cuadrático de la espina corona (x_1^2) β_3 es mayor que el efecto cuadrático del agua desmineralizada (x_2^2) β_4 ; siendo de 3320,933 frente a 1212,387. Los efectos lineales tienen el mismo orden de magnitud 885,035 frente a 763,865 para X_1 y X_2 respectivamente, pero con los signos cambiados el aumento de espina corona aumenta la viscosidad aparente y como es lógico, el agregado de mayor cantidad de agua desmineralizada la disminuye. Existió un efecto negativo de interacción entre los dos componentes. Se determinó a partir de las derivadas parciales e igualando, un punto de máximo en el área experimental para $Y = 7492,84$, con las coordenadas $X_1 = 0,204$ y $X_2 = -0,408$ (Fig. 1).

Fig. 1: Superficie de respuesta del diseño central compuesto rotatable.

Estos valores se corresponden con 1,70% para la espina corona y 88,59% para el agua desmineralizada. La fórmula óptima para el sellador post ordeño se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Composición porcentual de fórmula óptima

Ingredientes	(%)
Espina Corona	1,70
Agua	88,60
Yodo + Tensoactivo	3,00
Glicerina	4,70
Buffer pH: 5,03 $\pm$ 0,3	2,00

Verificación del punto óptimo: Viscosidad aparente

El promedio de viscosidad aparente y su intervalo de confianza de 5 muestras elaboradas de composición porcentual de la fórmula óptimas dio 7625 cP $\pm$ 145,56. Puede observarse que los resultados son reproducibles porque este intervalo de confianza, se encuentra dentro del intervalo de confianza estimado a partir de la ecuación 1 mas/menos el error experimental 7492,84 cP $\pm$ 816,6. La viscosidad aparente, mide la facilidad que tiene una determinada sustancia para fluir ante la aplicación de un esfuerzo cortante, en determinadas condiciones. Los valores de viscosidad aparente estimados aseguran que el escurrimiento será mínimo. Lográndose así un mayor tiempo de protección de los pezones de las ubres de las vacas.

Comportamiento reológico

Las propiedades reológicas se definen a partir de la relación existente entre fuerza o sistema de fuerzas externas (τ_{xy}) y la respuesta dinámica del fluido que se cuantifica mediante la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$). Los fluidos pueden clasificarse en Newtonianos (hay proporcionalidad directa entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación, $\tau_{xy}=\eta/\dot{\gamma}$), No newtonianos (no hay proporcionalidad entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación) y Viscoelásticos (se comportan como líquidos y sólidos, presentando propiedades de ambos). Los fluidos no newtonianos pueden subdividirse en dos grupos: dependientes e Independientes del tiempo; en este último grupo se encuentran los fluidos pseudoplástico y dilatantes, que son aquellos que siguen la ley de la potencia: $\sigma = K \dot{\gamma}^n$ (donde K es el índice de consistencia y n es el índice de comportamiento del flujo). Si n es menor que uno el fluido es pseudoplástico, y la viscosidad aparente del mismo disminuye con el aumento del esfuerzo, si n es mayor que uno el fluido es dilatante, y su viscosidad aparente aumenta al aumentar el esfuerzo (Vardhanabhuti et al., 2006). En los fluidos pseudoplásticos, la viscosidad aparente decrece con el aumento de la velocidad de deformación; como se observa en la fig. 3, el sellador muestra este tipo de comportamiento. Estudios recientes con soluciones de espina corona revelaron igual comportamiento pseudoplástico (Perduca et al., 2012)

Fig. 2: Viscosidad aparente en función de la velocidad de deformación a 25°C $\pm$ 1°C

Determinación de yodo disponible y pH

El nivel promedio de yodo disponible obtenido de la fórmula óptima (n=4) es de 5327 $\pm$ 5,7 ppm, se encuentra por encima del nivel mínimo exigido por el mercado (2500 – 5000) ppm para productos similares. Osteras et al, 2008, no pudieron encontrar una asociación entre el uso de un sellador por inmersión con 1500 ppm de yodo y la disminución de la presencia de las bacterias más comunes productoras de Mastitis (*S. aureus* o *S. dysgalactiae*); mientras que, Lopez-Benavidez et al, 2009 demostraron que aplicando una solución con 5750 ppm de yodo activo, antes y después de la extracción de leche, durante tres semanas pre-parto se logra reducir el número de *S. uberis* y el número de infecciones intramamarias por los mismos patógenos. Se buscó que el nivel de yodo disponible en la fórmula se aproximara a 5000 ppm. El pH obtenido de la fórmula óptima (n=4) es de 5,2 se encuentra dentro del rango aceptable de pH 4 – 6, donde es menor la probabilidad de producirse irritación en la piel de los pezones de las vacas. Este estudio demostró que la goma espina corona puede ser utilizada para la formulación de un sellador post ordeño; que cumpla con las características fisicoquímicas necesarias para garantizar el mínimo escurrimiento y la formación de una barrera física en los pezones que impida la entrada de microorganismos responsables de la infección intramamarias.

Con respecto al nivel de yodo esta formulación permite incorporar el nivel de yodo disponible necesario para asegurar una reducción de los microorganismos responsables de la mastitis.

Sería recomendable la realización de un estudio a nivel de campo, con el objetivo de verificar el comportamiento del sellador post ordeño en su habita natural.

CONCLUSIONES

Se concluye que es posible formular un sellador con la goma espina corona y que el mismo mantiene su principio activo como bactericida y su estabilidad fisicoquímica. Además actuó como un perfecto emoliente, sin causar problemas irritación en la piel de los pezones de las vacas manteniéndolos protegiendo hasta el próximo ordeño.

REFERENCIAS

- Bhutto A. L., Murray R. D., Woldehiwet Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows *Research in Veterinary Science* 92 13-17 (2012).
- Biesenkamp-Uhe, C. Li. y Hehnen, H. R., Sachse, K. y Kaltenboeck, B., Therapeutic *Chlamydia abortus* and *C. pecorum* Vaccination Transiently Reduces Bovine Mastitis Associated with *Chlamydia* Infection. *Infection and Immunity*: 75 (2), 870-877 (2007).
- Cabrera, N.R., Fundamentos de Química analítica básica. Análisis cuantitativo, 2º Edición, 262-263. Editorial Universidad de caldas (2007).
- Infocarne.com "Mastitis. La enfermedad y su transmisión".<http://www.infocarne.com/bovino/mastitis.asp> Acceso: 5 de Diciembre (2012).
- Kutchinskaya Valero-Leal, Valbuena E., Chacón F., Yamelys O., Castro G. y W. briñez,. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del Estado Zulia. *Rev. Científica, FCV-LUZ/Vol. XX, N° 5*, 498 - 505, (2010).
- Lopez-Benavides M.G.,Williamson J H., Lacy-Hulbert S.J, Cursons T Heifer teats sprayed in the dry period with an iodine teat sanitizer have reduced *Streptococcus uberis* teat-end contamination and less *Streptococcus uberis* intra-mammary infections at calving. *Veterinary Microbiology* 134 186–191 (2009).
- McDougall S., Parker K I., Heuer C., Compton W. R.. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies *Veterinary Microbiology* 134 177 – 185 (2009).
- Motgomery, D.C., Design Analysis of Experiments. Ed. Willey. 436- 440 (2008).
- Olde Riekerinka R. G. M, Barkemab H. W., Scholte, D. T. Poolea D. E., Keltond D. F., Management practices associated with the bulk-milk prevalence of *Staphylococcus aureus* in Canadian dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine* 97 20 – 28 (2010).
- Østerås O., Whist A. C, Sølverød L. The influence of iodine teat dipping and an external teat sealant in heifers on bacterial isolation from quarter milk culture obtained post-calving. *Livestock Science* 119 129–136 (2008).
- Perduca M. J., Spotti M., Santiago L.G., Judis M.J., Rubiolo A. C., Carrara C.R. Rheological characterization of the hydrocolloid from *Gleditsia amorphoides* seeds. *LWT - Food Science and Technology* xxx 1 - 5 (2012).
- Pinzón, A., Moreno, F. C., Rodríguez, G., Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del alto Chicamocha (Departamento de Boyacá) *Rev. Med. Vet. N°17 Bogotá Jan./June* 1 – 35 (2009).
- Ramos, N. A.; Fariás, M. E.; Patrone Firma Paz, M., Horvat, V. y Vidales, S. *Comportamiento reológico de galactomananos de "Gleditsia Amorphoides"* XIV Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CD. 88-93. La Habana, Cuba. (2005).
- Spotti M J., Santiago I. G., Rubiolo A. C., Carrara C. R. Mechanical and microstructural properties of milk whey protein/espina corona gum mixed gels. *LWT - Food Science and Technology* 48 69 - 74 (2012)
- Vardhanabhuti, B., y Ikeda, S. Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (*Cissampelos pareira*) leaves. *Food Hydrocolloids*, 20, 885 - 891. (2006)
- Zaror, L, Valenzuela K, Kruze J. Mastitis bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile *Arch. Med. Vet.* 43, 173 - 176 (2011).