

**Ponce P., Alfonso H.A., Díaz B., Capdevila J., Yáñez J. (1998). Rev. Salud Anim. 76: 96-99.**

## **FACTORES ASOCIADOS AL CONTENIDO DE TIOCIANATO EN LECHE CRUDA.**

P. Ponce, H.A. Alfonso, Bárbara Díaz, J. Capdevila, J. Yáñez. Grupo de Lactación/CENLAC, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA. Apdo 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba

### **Resumen**

El ion tiocianato es un importante sustrato para la activación del sistema lactoperoxidasa (sLP) en la leche. Se estudio el efecto del sistema de alimentación, época del año, número y tiempo de lactancia, periodo calostrual y salud de la ubre sobre su contenido en mezclas de leche cruda de vaca. Para los tres primeros factores, las concentraciones del ion se encuentran en un rango relativamente estrecho que oscila entre 0,12-0,16 mmoles/litro, pero con valores individuales ampliamente variables. De ello se asume que la activación exógena del sistema LP en mezclas de leche, necesario para alcanzar un umbral de máxima actividad de la enzima (0,20-0,25 mmoles/L), no implica ningún riesgo toxicológico, ya que se mantiene muy por debajo de los valores máximos de vacas individuales. Las concentraciones de tiocianato en leche de vacas con mastitis y durante la fase calostrual triplican las concentraciones en estado de normalidad fisiológica, lo que puede estar asociado con algún mecanismo de transporte vinculado al incremento de la permeabilidad tisular y a la propia capacidad natural de defensa de la glándula mamaria

Palabras claves: leche, tiocianato sistema lactoperoxidasa

## **Factores asociados al contenido de tiocianato en leche cruda.**

P. Ponce Ceballo, H.A., Alfonso, Bárbara Díaz, J. Capdevila, J. Yanez. Grupo Lactación/CENLAC, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA. Apdo 10, San Jose de las Lajas, La Habana, Cuba

### **Introducción**

El anión tiocianato ( $\text{SCN}^-$ ) se deriva, fundamentalmente del metabolismo de los aminoácidos azufrados y de la detoxificación de los glucósidos cianogénicos y cianuros, en cuya hidrólisis la enzima tiosulfatotransferasa tiene un importante papel (7). Es común encontrar concentraciones diferentes de dicho ion en los tejidos y fluidos biológicos como es la linfa, sangre, orina, saliva, secreciones del sistema digestivo y en la leche de todos los mamíferos (2, 5,9).

En los últimos años se ha incrementado el interés sobre los tiocianatos por dos razones fundamentales: la posible capacidad toxica de estos compuestos que potencialmente pueden interferir en el metabolismo tiroideo (2,4) y el importante papel en la función del sistema lactoperoxidasa, mecanismo de protección natural de la glándula mamaria y de las mucosas contra diferentes organismos (2, 5,7).

En Cuba se han realizado en los últimos doce años, diversos estudios sobre la activación exógena del sistema lactoperoxidasa (sLP), como una vía para la conservación de la leche cruda sin refrigeración (10, 11) y se iniciaron los ensayos con vistas a lograr potenciar *in vitro* dicho sistema, como un medio para incrementar la resistencia de la glándula mamaria a la invasión de patógenos productores de mastitis. De ahí la importancia de determinar la posible influencia de algunos factores ambientales, nutricionales y fisiológicos que afectan las concentraciones del anión en la leche cruda.

### **Materiales y métodos**

Los factores evaluados fueron el tipo de alimentación, época del año, número y tiempo de lactancia y el periodo calostrual.

Para evaluar la influencia del sistema de alimentación, se utilizaron 30 vacas lecheras entre la segunda y cuarta lactancia. Estas se dividieron en dos grupos según tratamiento: T1, bajo un sistema de alimentación a base de pasto Guinea (*Panicum maximun*) y Glicinea (*Neotonia wighitii*) y T2 con pasto Estrella (*Cynodon nlemfluencis*), fertilizado con nitrógeno a razón de 75-150 kg/Ha, especie que se considera con alto nivel de glucósidos cianogénicos (1). Ambos grupos iniciaron el experimento con un tiempo similar de lactancia 856 y 45 días, respectivamente).

La concentración de tiocianato en mezclas de leche y el posible efecto de la época se evaluó durante un año en 273 muestras del tanque colector de 23 lecherías con mas de 50 animales en ordeño cada una, compuesto por vacas de diferentes razas, tipos de alimentación, manejo, tiempo y numero de lactancia, asi como en 106 muestras de leche de los tanques de carros de acopio de diferentes zonas de la provincia La Habana.

Los estudios sobre la influencia del numero y tiempo de lactancia se realizo de forma individual en un rebaño de 45 vacas de la raza Holstein, donde existía una distribución aleatoria de dichos factores. En cuanto al efecto de la mastitis, se seleccionaron 10 vacas completamente sanas que tuvieran recuentos de células somáticas menor de 500 000 cel/ml, en cada uno de sus cuartos y un numero similar de animales con al menos uno de los cuartos con signos subclínicos, asi como 2 animales enfermos con signos clínicos. Las muestras se separaron en: ordeño completo de los cuartos individuales afectados clínicamente, subclínica y muestras de los cuartos de animales sanos.

Para el estudio de la fase calostrál se utilizaron cuatro vacas Holstein Friesian, los cuales se les tomó muestras seriadas de calostro a los tiempos 0,1,2,3,4,5,6,7,9 y 11 días de paridas.

La determinación de tiocianato se realizo según la técnica colorimétrica descrita por el Codex Alimentarius (3).

Los resultados se procesaron mediante análisis de varianza simple y comparación de medias según el caso, utilizando el paquete estadístico SAS ( ).

## **Resultados y Discusión**

En la tabla 1 se muestran las concentraciones del ion tiocianato (SCN), en los dos sistemas de alimentación estudiados. Resultó evidente el incremento de tiocianato en la leche ( $p < 0,05$ ) de las vacas que consumían pasto Estrella, lo que se ajusta al reconocido papel del tipo de alimentación con relación al aporte de este ion a través del mayor contenido de glucósidos cianogénicos del mismo (1). Según Aguilera (1), se había establecido el potencial cianogénico de este pasto, básicamente cuando se consumo a edad temprana y con un alto nivel de fertilización nitrogenada. Resultados semejantes se han reportado en plantas crucíferas y otras especies (8). Llama la atención que los valores individuales tiene una amplia variabilidad, pues las concentraciones mínimas y máximas son prácticamente similares para ambos sistemas, lo cual indica una fuerte influencia de factores individuales.

La época del año no tuvo efecto sobre las concentraciones de tiocianato en leche proveniente de mezclas (Tabla 2), con valores medios que oscilan entre 0,12 y 0,14 mmoles/L y menor variación entre las concentraciones individuales de la mezcla. Estos resultados coinciden con un reporte

anterior de Ponce et al. (9), al estudiar muestras de leche de mezclas, representativas de 20 millones de litros de leche y mas de 10 mil vacas en ordeño, lo que sirvió de base para establecer los ajustes en la activación exógena del sistema lactoperoxidasa, hasta un valor final entre 0,20-0,25 mmoles/L de dicho ion, para conservar la leche cruda sin refrigeración. Es importante destacar, que parte de las muestras (25 %) provenían de rebaños que consumían pasto Estrella durante la época de verano (Mayo-Octubre), pero con ausencia total o limitada de fertilización nitrogenada.

Con relación al efecto del numero de lactancia (Fig. 1), se observó las menores concentraciones (0,06 mmoles/L), en la primera y se triplico en las sucesivas ( $p < 0,05$ ), mientras que el tiempo de lactancia no mostró un comportamiento característico, difiriendo al inicio y final con la lactancia media (fig. 2), pero con poca variación absoluta en sus concentraciones.

El estado de salud de la ubre mostró una marcada influencia sobre las concentraciones de tiocianato (fig. 3), toda vez que las vacas enfermas de mastitis (cuartos clínicos), presentaron concentraciones elevados (0,38 mmoles/L), intermedias en los cuartos subclínicos y normales en los cuartos de vacas sanas con diferencias significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ). Con relación a la etapa calostrale, las concentraciones de tiocianato fueron elevadas en las primeras horas y descienden prácticamente de forma lineal hasta la normalidad, después de la primera semana post-parto (fig. 4). Una característica similar que existe en la ubre de animales enfermos con mastitis y en las vacas de lactancias avanzadas, así como durante la primera fase del periodo calostrale, es un marcado incremento de la permeabilidad del tejido epitelial mamario y generalmente, un incremento en el contenido de leucocitos (PMN), lo que parece tener alguna relación con las mayores concentraciones de tiocianato en los periodos de alteraciones fisiológicas de la ubre.

Para todos los factores evaluados, la concentración media del ion tiocianato en aquellas condiciones consideradas como normales, se encuentran en un intervalo relativamente estrecho, que oscila entre 0,10-0,16 mmoles/L y media de 0,14 mmoles/L. Esta concentración es mucho menor que las encontradas en en animales enfermos con mastitis, periodo calostrale y que los s valores máximo individuales en el estudio con dos sistemas de alimentación. Este hecho tiene un importante significado biológico y toxicológico, si consideramos que los estudios precedentes realizados en el país para establecer las concentraciones de tiocianato, necesario para adicionar a la leche y lograr un umbral de máxima actividad del sistema lactoperoxidasa, indican una concentración inicial similar (0,14 mmoles/L). En condiciones normales de manejo y alimentación de los rebaños, dichos factores no deben producir incrementos sustanciales en la concentración total del ion, que pueda sobrepasar e incluso llegar a los valores límites observados en la leche de vacas individuales o alcanzados durante la ocurrencia de mastitis y fase calostrale. La concentración media de tiocianato en mezclas de leche

provenientes de rebaños alimentados pasto Estrella pero sin fertilización nitrogenada , se comportó de forma similar al resto de los sistemas de alimentación. El nivel del ion tiocianato en la leche de vacas que consumieron pasto Estrella fertilizado con nitrógeno es ligeramente mayor, lo cual indica que es un aspecto que debe ser considerado cuando se tienen ambos factores y el pastoreo se realiza en la gramínea muy joven.

El incremento de tiocianato en leche proveniente de cuartos enfermos, fase calostrual y vacas con avanzadas lactancias, parece estar asociado con los mecanismos de resistencia natural de la glándula mamaria, a través de la actividad de defensa inespecífica que es el sistema lactoperoxidasa. Se conoce la capacidad de la enzima LP de oxidar los iones tiocianato en presencia de peróxido y la acción bactericida/bacteriostática de estas formas oxidadas, sobre los microorganismos presentes en la leche, glándula mamaria y mucosas (2,10). El incremento de dichos iones en las condiciones descritas, pudiera ser un mecanismo compensatorio asociado a una menor disponibilidad de oxígeno reactivo, debido a un incremento de la enzima catalasa de origen leucocitario, a diferencia de animales sanos y periodos estables de lactación (excluyendo fase calostrual y secado). También es posible que exista algún mecanismo de transferencia de dicho ion contra gradiente de concentración, como sucede con la regulación osmótica de los iones sodio, potasio y cloro a nivel de la membrana apical de la célula epitelial (9). En este sentido, algunos autores reportaron un incremento en las concentraciones de tiocianato y una disminución en la actividad de la enzima LP en vacas enfermas (6,12). Estos resultados indican la necesidad de aplicar diferentes formas de manipulación del sistema lactoperoxidasa, en dependencia del estado fisiológico y la salud de los animales lecheros, como una vía para incrementar la resistencia natural de la glándula mamaria, por ejemplo incrementando la disponibilidad de oxígeno libre y/o incrementando la concentración del ion tiocianato.

## **Conclusiones**

Los resultados de este estudio revelan de forma general, concentraciones de tiocianato superiores a las reportadas para la leche en países de clima templado, lo que debe estar relacionado con las peculiaridades de los sistemas y tipos de alimentos, raza, niveles de producción de leche en estas condiciones. Estos resultados se ajustan a los cálculos preliminares utilizados como base para la activación exógena del sistema lactoperoxidasa en el país y que consiste en adicionar los principios activos en una concentración tal, que sumados al contenido medio en mezclas de leche, se alcance un umbral total entre 0,20-0,25 mmol/L. Con ello se obtiene la máxima actividad del sistema y la mayor seguridad en el uso del método.

Las altas concentraciones de tiocianato en leche de vacas enfermas con mastitis, durante el periodo calostrado, al final de la lactancia y en varias lactancias pudiera estar asociado al incremento de la permeabilidad celular y con algún mecanismo de transporte osmótico de dicho ion, como expresión de la capacidad defensiva del sistema LP en la glándula mamaria en los periodos de mayor estrés y sensibilidad a las enfermedades.

## Referencias

1. Aguilera J.M. (1983). Contribución al estudio del efecto de la fertilización nitrogenada, época y edad de rebrote en el potencial cianogénico del pasto estrella. Tesis al grado de Doctor en Ciencias, CENSA. La Habana, Cuba
2. Codex Alimentarius (1990). Comité Mixto FAO/OMS en Leche y Derivados Lacteos. Determinación de tiocianato en leche. Apéndice II, Doc Cx/MDS 90/10
3. Bjork, L. (1991). Significance of indigenous microbial agents of milk to dairy industry. Bull IDF 264:2-19
4. Dahlberg, P., Bergmark, A., Eltom, M., Björck, L., Bruce, Å., Hambræus, L. & Claesson, O. (1984). Intake of thiocyanate by way of milk and its possible effect on thyroid function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39: 416–420.
5. Grun E., Vobis V., Turkow B., Weuffen W. (1990). Thiocyanatgehalt und lactoperoxidase-aktivitat in der milch aus deuren gesunden bzw. Wiss. Z. Med. Reihe 39:11-14
6. Grun E., Furl B., Kramg A., Thurnhok B., Weuffen U., Paetzelt H. (1995). Content of thiocyanate in blood, plant, udder, lymph and milk of healthy cows and cows with udder disorders. *Ber.Mun.Tier.Wochushr.* 108:93-97
7. Hoogendoorn H., Piessen J.P., Schultes W., Stoddard L.A. (1977). Hypothiocianite ion: The inhibitor formed by the system lactoperoxidase- thiocyanate- hydrogen peroxide. *Caries Res.* 11:77-84
8. Iwarsson K., and Ekman L. (1974). Thiocyanate in milk cows in ration containing cruciferae products. *Acta Vet. Scan.* 14:570-594.
9. Ponce P. y Bell L (1986). Estudio de la lactancia en vacas de la raza Holstein, Cebú y sus cruces en Cuba. *Rev. Salud Anim.* 8(1): 73-88
10. Ponce P., Capdevila J., Alfonso H. A., López M.G. León R. y Taboada A. 1992. Conservation of raw milk through activation of the Lactoperoxidase System in Cuba. *World Anim. Review* 73:3 I-41.

11. Ponce P. (1995). Manipulación y conservación de la leche cruda en condiciones del tropico americano. Taller Regional FAO/CENSA, 27-29 Septiembre , La Habana, Cuba
12. Vobis V., Grun E., Thur K.B., Kramer A. (1995). Activity of lactepoxidase and content of thiocyanate in milk of cow with mastitis in varions stage of lactation. Berl. Mun. Tierarztl. Wochen. 108:88-92