

**ASOCIACIÓN ENTRE GENOTIPOS DE KAPPA-CASEÍNA, CALIDAD
COMPOSICIONAL DE LA LECHE Y RENDIMIENTO EN CUAJADA DE LA
RAZA NORMANDO EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO**

**YURI MARIBELL AUX MORENO
ANA LUCÍA VÁSQUEZ MARTÍNEZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO-COLOMBIA
2009**

**ASOCIACIÓN ENTRE GENOTIPOS DE KAPPA-CASEÍNA, CALIDAD
COMPOSICIONAL DE LA LECHE Y RENDIMIENTO EN CUAJADA DE LA
RAZA NORMANDO EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO**

**YURI MARIBELL AUX MORENO
ANA LUCÍA VÁSQUEZ MARTÍNEZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
ZOOTECNISTA**

**Presidente
CARLOS EUGENIO SOLARTE PORTILLA
Zootecnista, M.Sc., Dr.Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO-COLOMBIA
2009**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de los autores”.

Artículo 1° del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

CARLOS E. SOLARTE PORTILLA. Zoot., M.Sc. Dr.Sc.
Presidente

LUIS ERNESTO VITERI SARASTI. Zoot., Esp.
Jurado Delegado

EFREN INSUASTY SANTACRUZ. Zoot., Esp.
Jurado

San Juan de Pasto, Octubre de 2009

DEDICATORIA

Durante este tiempo de trabajo, esfuerzo, de gratas vivencias, y en algunas ocasiones de momentos difíciles, los deseos de superarme y de lograr mi meta eran tan grandes que logre vencer todos los obstáculos y es por ello que debo dedicar este triunfo a quienes en todo momento me llenaron de amor, apoyo y por sobre todo me brindaron su amistad.

A Dios, porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

A mis padres Lucía y Jesús, por su tenacidad y lucha insaciable que han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir, gracias por enseñarme a creer que los sueños se pueden hacer realidad.

A mis hermanos Lorena y Jerson, por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional.

A mi Tía Tránsito, a quien quiero y admiro tanto.

A los que ya no están, pero que siempre tendrán un espacio en mi corazón, donde se mantendrán vivos en mis recuerdos.

YURI MARIBELL AUX MORENO

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar este trabajo.

A mis padres, Ana Lucía y Jesús Hernando, gracias por todo su esfuerzo y amor incondicional. Por todas sus enseñanzas, por su lucha diaria, por enseñarme que el esfuerzo y la tenacidad son indispensables para alcanzar grandes logros, que al final nos llenan de tanta satisfacción y felicidad... Mi triunfo es de Ustedes, ¡Los Amo!

A mi querido hermano Juan Sebastián, por ser mi amigo y confidente, por ser el responsable de tantas locuras y alegrías...Gracias por tus cuidados, tu apoyo e infinita generosidad...

A mi Abuelita Lola, por ser ejemplo de fortaleza y dulzura, por motivarme a seguir adelante en busca de la felicidad...

A mis Abuelitos Manuel, Rosa, y Noé, quienes desde el cielo estoy segura continúan guiándome y apoyándome... y ahora al verme culminar este gran logro sonríen de orgullo y felicidad.

A los que nunca dudaron que lograría este triunfo: mis familiares y amigos, por su afecto y apoyo constante...

A ti Javier, por llegar a mi vida y hacerme tan feliz, por estar conmigo apoyándome y sobre todo amándome. Por escucharme sin juzgarme, por aguantar mis locuras y momentos de estrés, en fin... por entregarme lo mejor de ti. ¡Gracias Mi Amor!

ANA LUCÍA VÁSQUEZ MARTÍNEZ

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

CARLOS E. SOLARTE PORTILLA	Zoot., M.Sc., Dr.Sc.
JULIO C. RIVERA BARRERO	Zoot., M.Sc.
LUIS E. VITERI SARASTI	Zoot., Esp.
EFREN INSUASTY SANTACRUZ	Zoot., Esp.
ALVARO MARTÍNEZ	Zoot., Esp.
LUIS A. SOLARTE PORTILLA	Zoot.
IVAN CAVIEDES	Gerente Colácteos
ARACELLY ROMO	Subgerente Técnico Colácteos
LUIS CARLOS MUÑOZ	Director Planta Aranda
LILIANA ROSAS	Jefe de Plataforma Pasto
LILIANA GUERRERO	Jefe Aseguramiento de Calidad
CLAUDIA BENAVIDES	Jefe de Producción
GUISELA AZZA	Auxiliar de Laboratorio
ANDRÉS CAICEDO	Director Planta Guachucal
FRANCISCO ERASO CHECA	Ex Director Planta Guachucal
MONICA BENAVIDES	Jefe de Producción Guachucal
ADRIANA ARTEAGA	Jefe de Producción Guachucal
LILIAN ARTEAGA	Jefe de Plataforma Guachucal
ESMITH BASANTE	Encargada de Investigación y Desarrollo

IVAN CAVIEDES	Ganadero Finca Los Arrayanes
OSCAR QUINTERO	Ganadero Finca Zarzal
EDGAR LEONEL RUANO	Ganadero Finca Las Acacias
JAVIER VELA	Ganadero Finca Las Collas

Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia de la Universidad de Nariño.

Grupo de Investigación Producción y Sanidad Animal "Meg@Iac".

A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron al logro de este trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	22
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	24
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	26
3. OBJETIVOS	27
3.1. OBJETIVO GENERAL	27
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. MARCO TEÓRICO	28
4.1 RAZA NORMANDO	28
4.1.1 Aptitudes de la raza normando	29
4.1.1.1 Adaptación	29
4.1.1.2 Rusticidad	29
4.1.1.3 Producción de leche	29
4.1.1.4 Longevidad	30
4.1.1.5 Fertilidad	30
4.1.1.6 Nodrizas	30
4.1.1.7 Cruzamientos con otras razas	30
4.2. COMPOSICIÓN DE LA LECHE	31
4.2.1 Características de la leche en la raza normando	33
4.2.2 Factores que influyen en la composición de la leche	34

4.2.2.1 Factores genéticos	34
4.2.2.2 Factores no genéticos o ambientales	35
4.3 SÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE	40
4.3.1 Proteínas de la leche	43
4.3.1.1 Caseína	44
4.3.1.2 Complejo caseínico	45
4.3.1.3 Fracción caseínica	46
4.3.1.4 K-caseína	48
4.3.1.5 Polimorfismo genético en K-Cn e importancia en producción de quesos	50
4.3.1.6 Frecuencias alélicas de la K-Cn en diferentes razas	52
4.3.1.7 Frecuencias genotípicas de la K-Cn en diferentes razas	54
4.4 MARCADORES MOLECULARES	55
4.4.1 Protocolo K-caseína	56
4.4.1.1 Toma de muestras de sangre	56
4.4.1.2 Extracción de ADN	57
4.4.1.3 Determinación de las variantes alélicas	57
4.5 INDUSTRIALIZACIÓN DE LA CUAJADA	59
4.5.1 Sistemas de aseguramiento de calidad para plantas lecheras	61
4.5.1.1 Prácticas de manufactura (BPM ó GMP)	58
4.5.1.2 Sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP)	60
4.5.2 Procesamiento de la cuajada	63

4.5.2.1	Calidad de la leche cruda	63
4.5.2.2	Recepción de leche	65
4.5.2.3	Pasteurización	66
4.5.2.4	Adición de Cloruro de Calcio.	67
4.5.2.5	Coagulación	67
4.5.2.6	Corte de la cuajada y desuerado	68
4.5.2.7	Moldeo	69
4.5.2.8	Prensado y empaçado	69
4.5.2.9	Flujograma	69
4.5.3	Rendimiento en cuajada	70
4.5.3.1	Factores que afectan el rendimiento	71
5.	DISEÑO METODOLÓGICO	73
5.1	LOCALIZACIÓN	73
5.2	SELECCIÓN DE ANIMALES	74
5.3	MATERIALES Y MÉTODOS	75
5.4	PROCESAMIENTO DE LA CUAJADA	75
5.4.1	Toma de muestras	75
5.4.2	Recepción de leche	76
5.4.3	Procesamiento	76
5.4.4	Rendimiento en Cuajada	80
5.5	MODELO ESTADÍSTICO	80
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	83
6.1	CALIDAD COMPOSICIONAL DE LA LECHE	83

6.1.1	Análisis de varianza para las variables grasa y proteína.	84
6.2	RENDIMIENTO EN CUAJADA	88
6.2.1	Análisis de Varianza	88
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	93
	BIBLIOGRAFÍA	95

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Análisis químico proximal de la leche de diversos mamíferos	32
Tabla 2. Composición de la leche de varias razas	32
Tabla 3. Calidad composicional leche normando en Nariño	33
Tabla 4. Características de las caseínas	47
Tabla 5. Condiciones de PCR-SSCP para la amplificación	58
Tabla 6. Rango mínimo para UFC/ml	65
Tabla 7. Rango mínimo composicional	65

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Contenido de Grasa y de Proteína en la leche por lactancia de 305 días	31
Cuadro 2. Concentraciones minerales y vitamínicas en la leche	33
Cuadro 3. Concentración de proteínas en la leche	44
Cuadro 4. Mejores genotipos encontrados según diversos trabajos	50
Cuadro 5. Frecuencias alélicas en diferentes razas	53
Cuadro 6. Frecuencias alélicas en diferentes razas en el Trópico Alto de Nariño	54
Cuadro 7. Frecuencias genotípicas en diferentes razas en el Trópico Alto de Nariño	54
Cuadro 8. Regiones lecheras del país	64
Cuadro 9. Calidad de la materia prima	66
Cuadro 10. Animales muestreados	74
Cuadro 11. Base de datos del modelo estadístico	81
Cuadro 12. Media del porcentaje de grasa y proteína por genotipo	83
Cuadro 13. Media del porcentaje de grasa y proteína por tercio de lactancia	84
Cuadro 14. Análisis de varianza del modelo completo para la variable grasa	84
Cuadro 15. Análisis de varianza para la variable grasa con los factores del modelo	85
Cuadro 16. Análisis de varianza del modelo completo para la variable proteína	86
Cuadro 17. Análisis de varianza para la variable proteína con los factores del modelo	87

Cuadro 18. Análisis de varianza del modelo completo para la variable rendimiento en cuajada	88
Cuadro 19. Análisis de varianza para la variable rendimiento en cuajada con los factores del modelo	89
Cuadro 20. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por genotipos	89
Cuadro 21. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por tercio de lactancia	90
Cuadro 22. Comparación múltiple Tukey-Kramer para los efectos de interacción genotipo por tercio	91

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Vaca normando	28
Figura 2. Toro normando	28
Figura 3. Hato normando	28
Figura 4. Efecto de la alimentación en la producción láctea	36
Figura 5. Evolución de la producción de leche	38
Figura 6. Evolución del porcentaje graso y proteico durante la lactación	39
Figura 7. Esquema general del flujo de información en eucariotas	41
Figura 8. Modelo de la micela de la caseína	46
Figura 9. Estructura de la K-Cn	48
Figura 10. Estructura de la K-Cn variante A y B	50
Figura 11. Variantes alélicas de la K-Cn	51
Figura 12. Extracción de sangre de la vena coccígea	56
Figura 13. Extracción de ADN	57
Figura 14. Programa de amplificación para PCR-SSCP del gen de la K-Cn en un termociclador	58
Figura 15. Bandas generadas por la técnica PCR-SSCP del gen de la K-Cn	59
Figura 16. Esquematización de los diferentes estados de coagulación de la leche por acción de cuajos y coagulantes	68
Figura 17. Flujograma elaboración de la cuajada	70
Figura 18. Mapa municipios de Pasto y Guachucal	73

Figura 19. Muestras de leche	76
Figura 20. Análisis físico-químico	76
Figura 21. Pasteurización lenta	77
Figura 22. Proceso de retención	77
Figura 23. Enfriamiento y adición de insumos	78
Figura 24. Tiempo de coagulación	78
Figura 25. Corte de la cuajada	78
Figura 26. Desuere de la cuajada	79
Figura 27. Recolección y moldeo de la cuajada	79
Figura 28. Pesaje de la cuajada	79
Figura 29. Almacenamiento en cuarto frío	80
Figura 30. Media del porcentaje de grasa y proteína por genotipo	83
Figura 31. Media del porcentaje de grasa y proteína por tercio de lactancia	84
Figura 32. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por genotipos	90
Figura 33. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por tercio de lactancia	90
Figura 34. Comparación múltiple Tukey-Kramer para los efectos de interacción genotipo por tercio	91

GLOSARIO

ALELO: cada una de las formas posibles de un gen. Los alelos se representan por una letra mayúscula para indicar su carácter dominante y por una minúscula si son recesivos.

CASEÍNA: principal proteína de la leche, que coagulada forma parte importante del queso.

COAGULACIÓN: precipitación de la caseína bajo la acción ácida del cuajo.

CUAJADA: es la parte caseosa y crasa de la leche, que por la acción del calor o de un cuajo se separa, formando una masa propia para hacer queso o requesón, y deja el suero en su estado líquido.

CUAJO: es una sustancia presente en el abomaso de los mamíferos rumiantes, contiene principalmente la enzima llamada renina, se le conoce también como quimosina, utilizada en la fabricación de quesos cuya función es separar la caseína (el 80% aproximadamente del total de proteínas) de su fase líquida (agua, proteínas del lactosuero y carbohidratos), llamado suero.

ELECTROFORESIS: consiste en mover partículas cargadas (iones) dentro de un campo eléctrico. El desplazamiento ocurre en un medio líquido sostenido por una sustancia sólida inerte (papel o gel).

FRECUENCIA ALÉLICAS: proporción de un determinado alelo en una población.

FRECUENCIA GENOTÍPICA: proporción de un genotipo en una población.

GEN: unidad básica hereditaria, que se localiza en los cromosomas de las células y se duplica durante cada división celular; este mecanismo permite la transmisión de los caracteres hereditarios del organismo progenitor a sus descendientes.

GENOTIPO: (del griego *génos*, origen; *typos*, modelo). Conjunto de genes que se transmite por herencia. Constitución genética de un organismo.

HETEROCIGOTO: individuo con alelos no idénticos para un determinado gen o genes. La condición se denomina "heterocigosis".

HOMOCIGOTO: individuos con dos copias del mismo alelo para un determinado gen en sus dos cromosomas homólogos. Esta propiedad se denomina "homocigosis".

KAPPA CASEÍNA: es una de las fracciones que constituye la caseína y está formada por 169 aminoácidos.

LECHE: es el producto normal de secreción de la glándula mamaria de las hembras mamíferas. Es un producto nutritivo complejo con más de cien sustancias en solución, suspensión o emulsión.

MARCADORES MOLECULARES: se refiere a cualquier molécula (proteína, ARN o ADN) de tamaño o peso molecular conocido.

MICELAS: pequeñas gotas que se forman cuando una sustancia anfipática que tiene un grupo de cabeza polar y un grupo de cola no polar (como un ácido graso) se añade a un medio acuoso y se agita. Cada gota está formada por una acumulación esférica de moléculas anfipáticas dispuestas con los grupos de cabeza polares hacia fuera, en dirección al agua, y sus colas no polares enfrentadas hacia el centro.

PASTEURIZACIÓN: combinación de tiempos y temperaturas que dan un tratamiento térmico adecuado para destruir las bacterias patógenas sin causar mayores modificaciones en la composición, valor nutritivo y sabor de la leche.

POLIMORFISMO: existencia dentro de una población de dos o más genotipos para una característica. Existencia de variación fenotípica dentro de una población.

PROTEÍNA: macromoléculas formadas por cientos o miles de aminoácidos, encargadas de diversas funciones en los seres vivos, como transportadores, catalizadores (enzimas), estructuras, entre otros.

RENDIMIENTO DE CUAJADA: cantidad de cuajada en kilogramos, que se obtiene a partir de una cierta cantidad de leche (litros).

SINÉRESIS: proceso mediante el cual se expulsa el suero de la cuajada.

RESUMEN

Dada la importancia de las caseínas en los procesos industriales, especialmente de la fracción Kappa por su papel en la coagulación, se propuso evaluar la asociación entre las variantes alélicas del gen de la k-caseína, con las variables contenido total de proteína, grasa y rendimiento en cuajada de la leche de vacas de la raza normando en el Trópico Alto de Nariño.

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizó la información referente al genotipo de las vacas de la raza normando obtenida por el programa Meg@lac (Grupo de Investigación “Producción y Sanidad Animal” de la Universidad de Nariño). Se tomaron 24 muestras de leche, con el fin de determinar su composición, en cuanto contenidos de proteína total y grasa, en cada tercio de lactancia y para cada genotipo, lo que indica que se utilizaron tres replicas por cada tratamiento. Los procesos para determinar el rendimiento en cuajada se llevaron a cabo en las plantas de Colácteos, situadas en los municipios de Pasto y Guachucal.

Para el análisis de varianza, se utilizó un modelo lineal desbalanceado en el que se incluyeron los efectos fijos de tercio de lactancia, genotipo, la interacción entre estos dos factores, el número de lactancias y como covariables la producción de leche ajustada a 305 días y la edad del animal.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los mejores rendimientos en cuajada se presentaron en las interacciones del genotipo BB en el segundo y tercer tercio de lactancia, seguido del genotipo AB en el tercer tercio de lactancia.

ABSTRACT

Caseins are very important in milk industry, specially the kappa fraction because of its role in the coagulation process. In this research, the association between genotypes of the kappa casein and the contents of protein, fat and curd cheese performance was studied in Normande breed in Nariño-Colombia.

The genotypes were molecularly determined by Meg@alac, research group at Nariño University, by using the PCR-SSCP technique. The relationships were analyzed with a total of 24 milk samples. The analysis of variance was carried out through a linear unbalanced model, including the fixed effects of stage of lactation, genotype, the interaction between these factors and the numbers of lactations. The adjusted milk production and the age of animal were also included as covariables.

According to the results, the best curd cheese performance was found in the BB genotype in the second and third lactation stage, followed the AB genotype in the third lactation stage.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural¹, la agricultura y la ganadería han sido la base económica del Departamento de Nariño. En efecto, los nariñenses se han caracterizado por ser un pueblo esencialmente rural, en donde predomina la producción minifundista.

Sin embargo, desde la década de 1980 se ha observado una disminución en la participación de la agricultura dentro del PIB agropecuario departamental, mientras la ganadería de leche incrementó su participación del 25% al 45% entre 1980 y 1990. Esto consolidó la actividad como la de mayor dinamismo en la economía regional. Una de las causas de esta tendencia se atribuye al desplazamiento de las áreas cultivadas en trigo, cebada y papa a la actividad ganadera².

En Nariño, la producción de leche es una actividad económica importante que requiere del análisis permanente de los factores que influyen en el proceso productivo eficiente, desde el ordeño hasta la industrialización. En la manufactura del queso, la calidad higiénica y composicional desempeñan un papel relevante ya que a mayor contenido de grasa y caseína en la leche, mayor será la cantidad de queso obtenido³. No obstante, la grasa láctea ha sido últimamente cuestionada por su contenido de ácidos grasos saturados y colesterol, ya que se consideran factores de riesgo en la salud humana, generando una disminución de su consumo⁴.

Varias investigaciones han probado que algunas variantes genéticas de las proteínas, especialmente las caseínas, tienen efectos cruciales sobre la fabricación quesera⁵. Las diferentes variantes genéticas de caseína son

¹ COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. En: Encuesta Nacional Agropecuaria – ENA 2004, citado por VILORIA DE LA HOZ, Joaquín. Economía del Departamento de Nariño: Ruralidad y Aislamiento Geográfico, 2007. p. 45.

² Ibid., p. 45.

³ ALVARADO, Carlos *et al.* Efecto de la Variante Genética de la k-Caseína sobre la Producción y Composición de la Leche de un Rebaño Holstein en el Trópico. En: Rev. Fac. Cienc. Vet. Maracay. Vol. 47, No.1 (jun. 2006). <URL:http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762006000100006&lng=es&nrm=iso>

⁴ MORALES S., María Sol. Revalorizando la grasa láctea: Fuente de ácido linoléico conjugado, un importante agente anticancerígeno. En: Tecno Vet. Chile. Año 6, No. 1 (mar. 2000). <URL:http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11521%2526ISID%253D462,00.html>

⁵ GROSCLAUDE, F. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. En: INRA Prod. Anim., Vol. 1, No. 1 (1988), p. 5-17.

controladas por genes autosómicos, los cuales son transmitidos de los padres a la descendencia en forma mendeliana.

Para identificar los toros con base en los genotipos de la K-caseína deseables se utilizan pruebas de progenie muy extensas que en general demandan entre 6 y 7 años⁶, tiempo que se reduce notablemente o incluso llegar a cero al utilizar marcadores moleculares, ya que se puede seleccionar los individuos antes de nacer.

Por otra parte, se sabe que la leche de la raza normando presenta propiedades benéficas para la producción de queso, puesto que presenta rendimientos entre 15% y 25% superiores con respecto a otras razas⁷. Además, cabe resaltar que los nutrientes del queso, se asimilan y aprovechan mejor que los de la leche, gracias a la fermentación producida por las bacterias acidolácticas o el cuajo⁸, convirtiéndose en un alimento fundamental en la nutrición humana.

Por lo anterior, este trabajo planteó determinar si en esta raza, bajo las condiciones ambientales específicas del Trópico Alto de Nariño, existe o no asociación entre los genotipos de la K-caseína, porcentaje de proteína, grasa y rendimiento quesero, ya que si bien esta asociación se ha establecido en diferentes países, no existen antecedentes de estudios similares en esta zona del país con respecto a esta raza. Esto con el fin de, suministrar información importante al Programa Genético, cuyo objetivo es seleccionar y difundir intensivamente los genotipos superiores bajo las condiciones propias de esta región de Colombia, en ganaderías con cierto nivel tecnológico.

⁶ REQUENA, F.D.; AGÜERA, E.I.; REQUENA, F. Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. En: REDVET. Rev. Electrónica de Vet. 1695-7504, Vol. 8, No. 1 (ene. 2007), p. 8. <URL: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html>>

⁷ Asociación Colombiana de Criadores de Ganado normando – AsoNormando. <URL:<http://www.unaga.org.co/asociados/normando.htm>>

⁸ Diario Correo – El Diario de Todos. <URL:<http://www.diariocorreo.com.ec>>

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La economía del departamento de Nariño se basa en el sector agropecuario, destacándose la producción de leche con 815 mil litros/día, según lo reportado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2004)⁹. En el año 2006, Colácteos recolectó 35.164.425 litros de leche, de los cuales el 62.84% destinó para la fabricación de quesos maduros y frescos¹⁰, lo que refleja la importancia del proceso de industrialización de la leche para esta cooperativa. No obstante, al haber mayor población de vacas de raza Holstein, la producción láctea debería destinarse para leche pasteurizada o UHT, debido a que esta leche se caracteriza por tener bajo contenido de sólidos totales.

Las cifras antes indicadas, muestran que el Trópico Alto de Nariño es una de las cuencas lecheras más importantes del país y se encuentra incluido en el acuerdo de competitividad de la Cadena Láctea Nacional. Sin embargo, se han identificado factores limitantes que afecta la eficiencia de la industria láctea, lo que impide mantener y conquistar nuevos mercados nacionales e internacionales. Uno de los factores de mayor importancia es la cantidad de leche requerida para producir 1kg de queso, ya que según cifras de Colácteos 2007, se requieren entre 10 y 12 litros de leche, a diferencia de la Costa Atlántica donde se necesitan entre 6 y 7 litros.

La baja eficiencia en el rendimiento quesero se explica por la baja cantidad de sólidos totales (S.T.), proteína y grasa, que para esta zona son de 8,29 %, 2.99% y 3.59% respectivamente (Colácteos, 2007)¹¹.

Frente a esta situación es importante estudiar las caseínas, desde el punto de vista molecular y productivo, ya que constituyen aproximadamente el 80% del total de las proteínas y son determinantes en el rendimiento quesero, especialmente la fracción kappa¹².

Por lo anterior, cabe destacar que el genotipo BB de alta frecuencia en la raza normando, se caracteriza por formar un coágulo firme y denso que retiene más sólidos e incrementa el rendimiento en la elaboración de quesos. Sin embargo, según Ramírez, (2004), las características fisicoquímicas de la leche varían por la

⁹ MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, citado por: VILORIA DE LA HOZ, J., Op. cit. p. 47.

¹⁰ COLÁCTEOS, Revista "XXXIII Asamblea General Ordinaria Ejercicio 2006". p. 31.

¹¹ Ibid., p. 88.

¹² MEDRANO, J.F. Mejoramiento de la calidad de la leche. En: Mundo Ganadero. Vol. 3, No. 12 (1992), p. 25. <URL: http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_MG/MG_1992_12_92_25_30.pdf>

influencia de una serie de factores como los asociados con el animal, entre ellos raza, nivel de producción, número de lactancia, edad y estado sanitario, y otros que dependen de las condiciones de manejo, es decir, alimentación, ordeño, y alojamiento, al igual que factores relacionados con el ambiente, época del año y clima¹³.

¹³ RAMÍREZ AYALA, Acacia *et al.* Avances en la Investigación de las Características Físicoquímicas y de Composición de la Leche Cruda. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México, D. F. 2004. p. 2. <URL:[http://www.alfaeditores.com/carnilac/ Agosto%20Sep%202004/INVESTIGACI%D3N%20Avances%20en%20la%20Investigaci%F3n.pdf](http://www.alfaeditores.com/carnilac/Agosto%20Sep%202004/INVESTIGACI%D3N%20Avances%20en%20la%20Investigaci%F3n.pdf)>

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Si se tiene en cuenta la importancia del genotipo de la K-caseína y las limitantes existentes en la región, respecto al rendimiento quesero, una estrategia para contribuir a la solución de esta problemática, es la selección asistida por marcadores moleculares (SAM), por las ventajas que ofrece en cuanto a la posibilidad de disminuir el tiempo requerido para obtener la respuesta genética deseada, al reducir el intervalo generacional.

En la búsqueda de ese objetivo, se debe partir de la identificación de los genotipos para k-caseína en la raza normando, mediante la técnica de PCR-SSCP (reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo en la conformación de ADN de cadena única), labor ya desarrollada en el programa "Meg@lac" de la Universidad de Nariño. Sin embargo, la determinación de los genotipos no tendría importancia si no se evalúa el grado de asociación de éstos con la calidad y el rendimiento industrial, medido en kilogramos de cuajada producidos por litro de leche, con el fin de formular recomendaciones precisas a corto, mediano y largo plazo con respecto a la selección de hembras y machos, los sistemas de cruzamientos y las posibilidades y necesidades de sustituir las razas de mayor predominio en el Trópico Alto de Nariño.

Lo anterior conduce a plantear la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe asociación entre los genotipos de la K-caseína, el contenido proteico total de la leche, la grasa y el rendimiento en cuajada en vacas de la raza normando, bajo las condiciones del Trópico Alto de Nariño?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el grado de asociación entre los genotipos de la k-caseína con las variables calidad composicional y rendimiento en cuajada de la leche en vacas de la raza normando, incluidas en el programa de Mejoramiento Genético para el Trópico Alto de Nariño.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los contenidos de proteína y grasa con el fin de establecer la relación existente entre dichos valores y el genotipo de K-caseína.
- Evaluar el rendimiento en cuajada y determinar la asociación estadística con los genotipos AA, AB y BB en la raza normando.
- Recomendar el genotipo de K-caseína de la raza normando más apropiado para mejorar los contenidos de grasa, proteína y rendimiento en cuajada en el trópico Alto de Nariño.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 RAZA NORMANDO

Figura 1. Vaca normando



Fuente: ASONORMANDO, 2007.

Figura 2. Toro normando



Fuente: ASONORMANDO, 2007.

Figura 3. Hato normando



Fuente: ASONORMANDO, 2007.

Según Asonormando¹⁴, ésta raza (véase Figuras 1, 2 y 3) es originaria de la península de Normandía en el norte de Francia, proviene del cruce de razas Contentine, Augeronne y Cauchoise. En Colombia, se importó el primer toro en el año de 1.877. A partir de 1.906, se hacen exportaciones masivas desde Europa a Sur América, dando inicio a las ganaderías puras y criollas de alto rendimiento en Colombia. En 1.946 se desarrolla la técnica de inseminación artificial, destacándose que la primera vaca inseminada en el mundo fue de raza normando.

Por su fácil adaptación, la raza pura se ha desarrollado en una gran variedad de climas y altitudes de la geografía Colombiana. Los principales nichos de normando se encuentran en Cundinamarca, Boyacá, Caldas, Quindío, Risaralda, Tolima, Huila, Cauca, Valle del Cauca y los Santanderes. Así mismo, en ganaderías de clima cálido que han cruzado los ganados cebuinos con la raza normando, obteniendo excelentes resultados en lo referente a la precocidad en el desarrollo, la producción lechera y la aptitud maternal.

4.1.1 Aptitudes de la raza normando. De acuerdo con Asonormando:

Esta raza doble propósito se caracteriza por producir leche y carne de alta calidad. De acuerdo con la asociación de criadores de la raza normando, estos animales poseen buenos parámetros reproductivos y productivos, siendo fundamentales para una explotación ganadera, entre los cuales se encuentran los siguientes:

4.1.1.1 Adaptación. Presenta buena adaptación frente a distintas formas de manejo y diversos climas (cálidos, fríos, secos y húmedos); también se le encuentra en tierras buenas y fértiles, donde explotándose con técnicas modernas, ofrece altos rendimientos en producción.

4.1.1.2 Rusticidad. La fortaleza de sus aplomos le permite recorrer diversos terrenos para buscar alimentos, especialmente en explotaciones extensivas de montaña, en tierras pobres y escarpadas, con alturas de hasta 4.300 m.s.n.m¹⁵.

4.1.1.3 Producción de leche. También Asonormando menciona que:

En Colombia, el promedio es de 4.750 litros con 4.3% de grasa y 3.4% de proteína. No obstante, ya es posible encontrar en algunos hatos seleccionados, novillas que llegan a su primer parto con producciones diarias que superan los 28 y 30 litros. El carácter mixto de doble propósito le ha dado a esta raza una gran capacidad de ingestión y de conversión de los

¹⁴ ASONORMANDO, Op. cit.

¹⁵ Ibid.

alimentos bastos, con una mayor eficiencia en su transformación. Además, necesita menos cantidad de alimentos concentrados que las razas especializadas en producción de leche.

4.1.1.4 Longevidad. La resistencia de las vacas les permite una producción lechera alta desde el primer parto. Su máxima producción se sitúa hacia la quinta o sexta lactancia y solo viene a decrecer en la séptima lactancia. Es frecuente encontrar vacas que sobrepasan los doce años de edad y se tienen ejemplos de animales hasta con 15 lactancias.

4.1.1.5 Fertilidad. La vaca normando generalmente da una cría por año (Tiene un promedio de 379 días de intervalo entre partos y una duración de gestación de 286 días) y su restablecimiento post-parto es muy rápido, lo que le permite una mejor disposición para la producción y la inseminación siguiente.

Con la primera inseminación (55 días después del último parto) el 70% de las vacas quedan preñadas y el 95% con la segunda o máximo la tercera inseminación, dependiendo del estado nutricional, de salud y manejo de los animales¹⁶.

4.1.1.6 Nodriza. Ortega, afirma:

Son excelentes madres y pueden criar 2 terneros a un mismo tiempo teniendo ellos excelente peso y sin perder la vaca condición corporal o producción, esta característica es interesante en el cruzamiento con otras razas como el Cebú o vacas criollas, con un aumento de la producción lechera de los animales media sangre, lo que a su vez va a permitir un mejor desarrollo de sus crías¹⁷.

4.1.1.7 Cruzamientos con otras razas. Según lo reportado por Hansen, Heins y Seykora¹⁸, el cruce Normando-Holstein es más persistente en la producción durante la lactancia que el holstein puro. Además, presenta ventajas respecto a salud y fertilidad.

¹⁶ ASONORMANDO. La raza normando: la mejor quesera del mundo. Colombia. 2009. p. 1. <URL: http://www.produccionbovina.com/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/84-normando.pdf>

¹⁷ ORTEGA PUERTO, Julio. Material de Apoyo, Sistemas de Producción Animal Parte I. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá D.C. Colombia. 2005.

¹⁸ HANSEN, L.B.; HEINS B.J. y SEYKORA A.J. Comparación de los cruces normando-holstein con holstein puro y cruces de normando-jersey con jersey puro durante la primera lactancia. University of Minnesota, St Paul. 2009. <URL: <http://www.perulactea.com/2009/06/30/comparacion-de-los-cruces-normando-holstein-con-holstein-puro-y-cruces-de-normando-jersey-con-jersey-puro-durante-la-primer-lactancia/>>

Por otra parte, afirman que el cruce normando-jersey presenta mayores promedios de producción diaria que el jersey puro en leche (25.4 kg vs 22.2 kg), grasa (1.14 kg vs 1.11 kg) y proteína (0.85 kg vs 0.75 kg).

Los resultados publicados por Vikinggenetics¹⁹, indican las pruebas comparativas de cruzamientos entre razas lecheras en California, destacándose la superioridad del cruce normando-holstein frente a la raza holstein pura y otros cruzamientos, en cuanto a los contenidos de grasa y proteína de la leche (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenido de Grasa y de Proteína en la leche por lactancia de 305 días

Raza	Holstein		Normando - Holstein		Montbeliarde - Holstein		Escandinavo Rojo - Holstein	
	Grasa %	Prot. %	Grasa %	Prot. %	Grasa %	Prot. %	Grasa %	Prot. %
1ra Lact.	3.56	3.11	3.76	3.23	3.66	3.18	3.69	3.20
2da Lact.	3.59	3.12	3.78	3.27	3.76	3.19	3.77	3.22
3ra Lact.	3.67	3.09	3.77	3.24	3.72	3.18	3.71	3.19

Fuente: VIKINGGENTICS, 2006.

4.2 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Santiago y Vargas citados por Méndez, definen:

La leche es un compuesto líquido, opaco, de color blanco marfil y de sabor dulce, que se obtiene del ordeño higiénico, proveniente de un animal en buen estado de salud y alimentación. Es un producto apto para el consumo humano por su alta calidad nutritiva, siempre y cuando se encuentre libre de sustancias tóxicas, microorganismos y calostros que alteran su composición²⁰.

¹⁹ VIKINGGENTICS. Comparación de los cruzamientos. Pruebas de California (Segunda Parte). 2006. <URL: <http://www.vikinggenetics.com/po/cross/articles/california2.pdf>>

²⁰ SANTIAGO y VARGAS, citados por MÉNDEZ MANCERA, Viviana y OSUNA AVILA, Luis. Caracterización de la Calidad Higiénica y Sanitaria de la Leche Cruda en Algunos Sistemas Productivos de la Región del Alto del Chicamocha. Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia. (2007), p. 4. <URL:<http://tegra.lasalle.edu.co/dspace/bitstream/10185/423/1/T14.07%20M523c.pdf>>

Según lo reportado por Wikipedia²¹, la leche es una secreción nutritiva de color blanquecino opaco producida por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos. La principal función de la leche, es la de nutrir a los hijos hasta que son capaces de digerir otros alimentos. Además, cumple las funciones de proteger el tracto gastrointestinal de las crías contra patógenos, toxinas e inflamación y contribuye a la salud metabólica regulando los procesos de obtención de energía, en especial el metabolismo de la glucosa y la insulina.

El componente principal de la leche es agua, pero dependiendo de la especie (Tabla 1), la leche contiene cantidades que varían de lípidos, proteínas y carbohidratos (Tabla 2) que se sintetizan dentro de la glándula mamaria. También se encuentran presentes en cantidades más pequeñas, minerales, vitaminas (Cuadro 2) y otros componentes solubles en la grasa y en el agua derivados directamente del plasma de la sangre, de proteínas específicas de la sangre y de intermedios de la síntesis mamaria²².

Tabla 1. Análisis químico proximal de la leche de diversos mamíferos

Nutriente	Vaca	Búfala	Mujer
Agua (g.)	88.0	84.0	87.5
Energía (Kcal)	61.0	97.0	70.0
Proteína (g.)	3.2	3.7	1.0
Grasa (g.)	3.4	6.9	4.4
Lactosa (g.)	4.7	5.2	6.9
Minerales (g.)	0.72	0.79	0.20

Fuente: WATTIAUX, Michel. Instituto Babcock, 2005.

Tabla 2. Composición de la leche de varias razas

Raza	%Grasa	%Proteína	% Lactosa
Holstein	3.5	3.1	4.9
Pardo Suizo	4.2	3.6	5
Ayrshire	4.1	3.6	4.7
Normando	4.0	3.5	4.8
Jersey	5.5	3.9	4.9
Cebú	4.9	3.9	5.1

Fuente: Adaptado de CERÓN *et al.*, 2005.

²¹ WIKIPEDIA. <URL: http://es.wikipedia.org/wiki/Leche#Composici.C3.B3n_de_la_leche>

²² DELAVAL. Leche. 2006. <URL:http://www.delaval.com.co/Dairy_Knowledge/EfficientCooling/Leche.htm>

Cuadro 2. Concentraciones minerales y vitamínicas en la leche

Minerales	mg/100 mL	Vitaminas	µg/100 mL
Potasio	138	Vitamina A	30.0
Calcio	125	Vitamina D	0.06
Cloro	103	Vitamina E	88.0
Fósforo	96	Vitamina K	17.0
Sodio	58	Vitamina B1	37.0
Azufre	30	Vitamina B2	180.0
Magnesio	12	Vitamina B6	46.0
Minerales trazas	≤ 0.1	Vitamina B12	0.42
		Vitamina C	1.7

Fuente: WATTIAUX, Michel. Instituto Babcock, 2005.

4.2.1 Características de la leche en la raza normando. Asonormando plantea que:

La leche de la raza normando se caracteriza por tener abundantes glóbulos grasos y el equilibrio calcio-fósforo la coloca en Europa en el primer lugar para la producción de queso y mantequilla, pues sus proteínas se presentan frecuentemente bajo formas más aptas para la transformación quesera, como es el caso de la variante B de la K-caseína, ya que las micelas de grasa son más pequeñas, permitiendo rendimientos en queso entre un 15% y 25% superiores, con respecto a otras razas²³ como la holstein²⁴.

Según el muestreo realizado por Colácteos a 31 vacas normando en el Trópico Alto de Nariño, se obtuvo la siguiente información:

Tabla 3. Calidad composicional leche normando en Nariño²⁵

	Grasa (%)	Proteína (%)	Densidad g/L
Promedio	4,44	3,20	1,03173
Mínimo	2,52	3,03	1,0272
Máximo	6	3,6	1,0361
Promedio de la leche de Colácteos*	3,59	2,99	1,0302

Fuente: COLÁCTEOS, Revista "XXXIII Asamblea General Ordinaria". 2006.

²³ ASONORMANDO, Op. cit.

²⁴ URL:http://www.lanormande.com/es/la_race_normande/une_fromagere.php

²⁵ COLÁCTEOS, Op. cit., p. 88.

4.2.2 Factores que influyen en la composición de la leche. De acuerdo con Ramos *et al.* y Grant, citados por Carulla y Pabón:

La composición de la leche está influenciada por un amplio grupo de factores que determinan el volumen y la participación porcentual de cada componente. El 55% de la variación en la composición de la leche se debe a factores genéticos, mientras que el 45% restante se debe a la variación en la nutrición y a cambios de tipo fisiológico en las vacas. Estas diferencias ofrecen una oportunidad para mejorar la composición de la leche a través del mejoramiento genético²⁶.

Sin embargo, en la práctica se presentan grandes dificultades para el estudio por separado de cada uno de estos factores, a causa de las interacciones que existen entre ellos, ya que no actúan de forma individual, sino en conjunto sobre la vaca.

4.2.2.1 Factores genéticos. Según Tornadijo: “La leche de las distintas especies domésticas varía en su composición. Por ejemplo, en cuanto a proteína, la leche de cabra es algo más rica que la de vaca y la de oveja es más rica que la de las dos. Además, dentro de una misma especie hay diferencias raciales que afectan fundamentalmente la grasa y en menor medida la proteína, lactosa y cenizas”²⁷.

Para Hernández²⁸, la raza holstein presenta niveles de sólidos totales más bajos en comparación con otras razas como la jersey y normando, que registran una mejor composición. Asimismo Jenness y Patton citados por Tornadijo afirman que: “Dentro de una misma raza hay diferencias individuales que resultan en parte de diferencias genéticas y en parte de factores ambientales”²⁹.

De acuerdo con Coulon, gran parte de dicho efecto puede deberse a la variabilidad en el índice de caseína entre una raza y otra y además al polimorfismo genético de la caseína, particularmente en la frecuencia de la variante B de la K-Cn.

²⁶ RAMOS R; PABÓN M; CARULLA J. y GRANT, R. J., citado por CARULLA, Juan; PABON, Martha. Cómo Aumentar la Proteína y Grasa Láctea desde las Fincas. Grupo de Investigación en Nutrición Animal. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 2008.

²⁷ TORNADIJO, M. E. *et al.* La Calidad de la Leche destinada a la Fabricación de Queso: Calidad Química. España. *En: Cienc. Tecnol. Aliment.* Vol. 2, No. 2 (1998), p. 86.

²⁸ HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, Robier. Lactación, Síntesis y Secreción de la Leche y Aspectos Asociados a su Variación. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas. La Habana. Cuba. 1997.

²⁹ TORNADIJO M. E., *Op. cit.*, p. 86.

Asimismo Grosclaude³⁰, ha encontrado que la frecuencia de tales variantes, cambia considerablemente entre razas. También, Machebouef *et al.* y Verdier-Metz *et al.* citados por Coulon dicen que, “influyen en las propiedades coagulantes de la leche”³¹.

4.2.2.2 Factores no genéticos o ambientales. Coulon³² argumenta, entre los factores no genéticos o ambientales que influyen en la composición química de la leche se encuentran la alimentación del animal, la época del año, etapa de lactación, edad y estado sanitario del animal.

❖ **Alimentación.** Kenelly citado por Hernández³³ dice; la síntesis de la leche exige energía para activar las reacciones, así como una fuente de nitrógeno y depende sobre todo de la concentración energética de la ración. Si faltan aminoácidos, la síntesis de proteínas se detiene y con ella la de lactosa, con lo que la producción de leche disminuye. Inversamente, si existe mucha energía disponible la síntesis de las proteínas estará estimulada, mucho más que la de la lactosa.

Palmquist citado por Hernández afirma: “del conjunto de alteraciones en las características físico-químicas de la leche, la concentración de grasa es la que resulta más sensible a cambios nutricionales y puede variar casi 3%. Los efectos que tiene la alimentación sobre la concentración de la proteína láctea puede producir cambios hasta de 0.6%”³⁴.

Oldaham citado por Hernández menciona que: “durante la lactación los efectos del nivel de alimentación sobre el porcentaje de grasa y proteína son variables”³⁵. Igualmente Coulon y Pérochon citados por Hernández dicen que:

³⁰ GROSCLAUDE, F., Op. cit., p. 5-17.

³¹ MACHEBOEUF, D; COULON, J. B; D' HOUR, P. y VERDIER-METZ, I. *et al.*, citados por COULON, Jean. Calidad de la Leche y Producción Quesera: El Efecto de la Genética y de la Alimentación en las Propiedades Coagulantes de la Leche y en las Características Sensoriales del Queso. Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, INRA, Francia. (2004), p. 59. <URL:http://www.anarb.it/Bruna2004 /Spagnolo/Relazioni_SP/Relazioni/COULON%20SPA.pdf>

³² Ibid., p. 59.

³³ KENELLY, J., citado por HERNÁNDEZ R., Op. cit.

³⁴ PALMQUIST, D.L; BEAULIEU, A.D. y BARBANO, D.M., citado por HERNÁNDEZ R., Ibid.

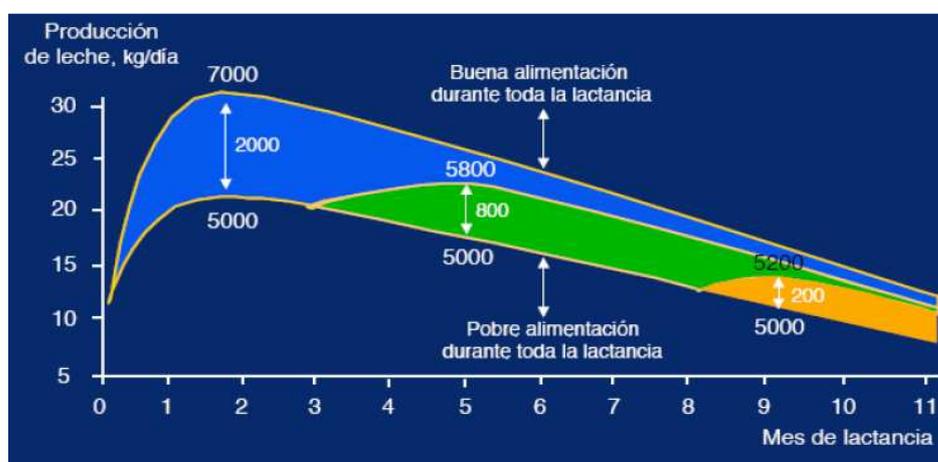
³⁵ OLDAHAM, J.D., citado por HERNÁNDEZ R., Ibid.

Si se incrementa el consumo de alimentos, también se incrementa la producción de leche y los rendimientos en grasa y proteína. Con el incremento del consumo, el porcentaje de grasa en la leche tiende a disminuir, sin embargo el porcentaje de proteína manifiesta un ligero incremento. Esta última, en animales adecuadamente alimentados se encuentra raramente por debajo de 3.2%, sin embargo en rebaños con malas condiciones alimentarias puede decaer hasta 2.8%³⁶.

García citado por Hernández plantea: “en el caso del trópico los pastos constituyen la base alimentaria de la vaca lechera. En este caso se presenta un bajo nivel de energía y proteína, lo cual condiciona que esto sea la principal causa que afecta la producción de leche y la composición, lo cual hace necesario suplementar con granos o cereales para lograr balancear adecuadamente la ración”³⁷.

En la Figura 4 se puede observar el grado de influencia que tiene la alimentación sobre la producción láctea, notándose que al suministrar una dieta adecuada a los animales se logra una mayor producción a diferencia de una dieta desbalanceada.

Figura 4. Efecto de la alimentación en la producción láctea



Fuente: THE BABCOCK INSTITUTE, 1994.

Wohlt y De Peters citados por Ramírez demostraron que: “el aumento en el contenido de proteína en las raciones de la alimentación del ganado lechero,

³⁶ COULON, J.B. y PÉROCHON, L., citado por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

³⁷ GARCÍA *et al.*, citado por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

incrementa la caseína total, particularmente la α y β -caseínas, pero decrece la γ -caseína y el contenido de nitrógeno no proteico”³⁸.

De igual manera Hermansen *et al.* citados por Ramírez³⁹, observaron que el tipo de pasto y un suplemento mayor de proteína en la ración de las vacas, dieron como resultado un incremento en las concentraciones de proteína y caseína en la relación k-caseína:caseína total. Asimismo, el contenido bajo de nitrógeno en el pasto al inicio de la época seca redujo la proteína y caseína de la leche durante este periodo.

❖ **Época del año y temperatura.** Dahl *et al.* citados por Hernández⁴⁰ aseguran que, durante la época de lluvia los forrajes poseen bajos niveles de fibra, por lo tanto disminuye el contenido de grasa en la leche; mientras que, en época seca debido a las altas temperaturas disminuye la calidad y disponibilidad del alimento al igual que el consumo animal, trayendo consigo una disminución en la producción y aumento de los niveles de grasa en leche.

Además De Lima *et al.* citados por Ramírez explica:

Los factores ambientales en la mayoría de los casos influyen directamente en el nivel de consumo de los animales dando como resultados variaciones significativas en la producción de leche y en la composición. Cuando la temperatura se encuentra por encima de los 30 °C se reduce la producción de leche, además de los niveles de grasa y proteína, debido a la reducción del ingreso de energía a través de la dieta⁴¹.

Bartaburu citado por Méndez⁴² afirma, en época seca el ganado bovino enfrenta grandes cambios de confort causados por el ambiente que ocasiona pérdidas significativas entre el 5 y 10% en la producción de leche, también genera pérdidas de peso en los terneros (17% en las razas holando y hereford) por las altas temperaturas, la insolación, el alimento de baja calidad, la humedad relativa y la velocidad del viento. Además, otros efectos negativos de la época seca son el aumento en los requerimientos de mantenimiento de los animales y fundamentalmente la disminución del consumo de alimento ocasionado por el estrés térmico; por esta razón una medida sencilla para disminuir este impacto es

³⁸ WOHLT, J. *et al.*; DE PETERS E.J y CANT J.P., citados por RAMÍREZ A., Op. cit., p. 2.

³⁹ HERMANSEN, J.E. *et al.*, citado por RAMÍREZ A., Ibid., p. 2.

⁴⁰ DAHL, G.E; CHASTAIN, J.P. y PETERS, R.R., citados por HERNÁNDEZ., Op. cit.

⁴¹ DE LIMA, H. *et al.*, citado por: HERNÁNDEZ, Ibid., p. 2.

⁴² BARTABURU, citado por MENDEZ, Op. cit., p. 40.

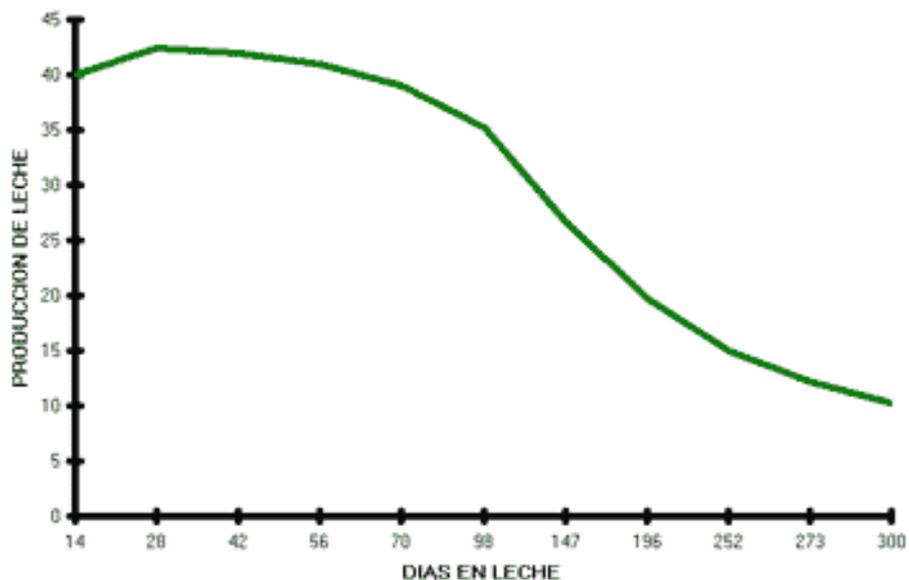
colocar una malla sombra a los animales a una altura que permita una buena circulación de aire.

❖ **Periodo, número de lactación y edad del animal.** Según Valencia: “Normalmente, la producción de leche aumenta durante las primeras semanas post-parto para descender después hasta el secado. A mayor producción de leche (2 ó 3 mes posparto) menores contenidos de grasa y proteína”⁴³.

De acuerdo con Akers citado por Hernández⁴⁴, generalmente en el primer tercio de lactación y concomitante con el pico de lactancia, se registran las menores concentraciones de grasa, proteína y sólidos de la leche, situación que se invierte al final de la lactancia, a excepción del calostro.

Martínez⁴⁵ manifiesta, los porcentajes de grasa y proteína sólo son útiles como medida de la calidad genética y del estado nutricional del hato si son referidos a la producción de leche y al momento de lactación del mismo (véase Figuras 5 y 6).

Figura 5. Evolución de la producción de leche



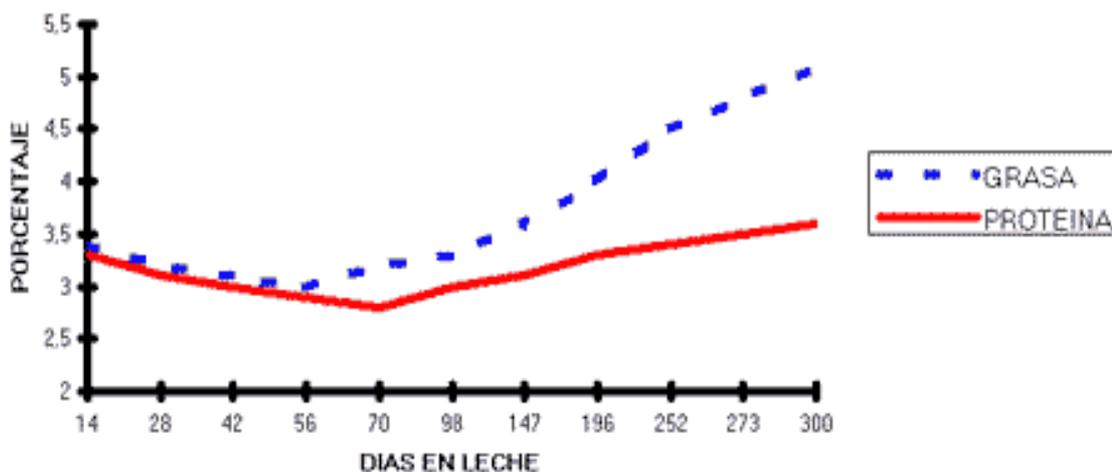
Fuente: MARTÍNEZ MARÍN, Andrés y SÁNCHEZ CÁRDENAS, Juan.

⁴³ VALENCIA TRUJILLO, Francis Liliana. Modulo Sistemas de Producción Bovino de Leche. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. 2005.

⁴⁴ AKERS, R.M., citado por HERNÁNDEZ R., Op. cit.

⁴⁵ MARTÍNEZ MARÍN, Andrés y SÁNCHEZ CÁRDENAS, Juan. Factores Nutricionales que afectan a la Composición de la Leche. 2007.

Figura 6. Evolución del porcentaje graso y proteico durante la lactación



Fuente: MARTÍNEZ MARÍN, Andrés y SÁNCHEZ CÁRDENAS, Juan.

Ramírez⁴⁶ afirma que, el periodo de lactancia influye significativamente sobre las proteínas de la leche. Además, Ostensen *et al.* citados por Ramírez dicen: “La caseína alcanza su máximo contenido a la mitad de la lactación. Las proporciones de α y κ -caseína en relación a la caseína total decrecen y la β -caseína se incrementa sistemáticamente durante la lactación, mientras que la proporción de γ -caseína es más baja en este período. El contenido de α -lactoalbúmina y su proporción con la proteína cruda de la leche disminuye”⁴⁷.

Maya plantea que: “Vacas con más de cinco lactancias disminuyen en 0.2% el contenido graso y en 0.4% el de S.N.G., mientras que estos valores son estables en las tres primeras lactancias. En cuanto a la grasa y proteína disminuyen en la primera fase de lactación para incrementarse posteriormente”⁴⁸.

Wilde y Hurley, citados por Hernández afirman que, “mientras el contenido de grasa en la leche permanece relativamente constante, el contenido de proteína en leche gradualmente disminuye con avance de la edad”⁴⁹.

⁴⁶ RAMÍREZ A., Op. cit., p. 2.

⁴⁷ OSTERSEN, S; FOLDAGER, J. y HERMANSEN, J.E., citados por RAMÍREZ, A., Ibid., p. 2.

⁴⁸ MAYA PANTOJA, Jorge Anibal. Manejo y Procesamiento de Lácteos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia. 2005

⁴⁹ WILDE, C.J. y HURLEY, W.L., citados por HERNÁNDEZ, R., Op. cit.

❖ **Sanidad.** Para Rajala-Schultz *et al.* citados por Hernández: “La mastitis es la enfermedad que más afecta la producción y la composición de la leche y por ello ha sido ampliamente estudiada”⁵⁰.

Hernández⁵¹ asegura, la composición de la leche con niveles altos de células somáticas, presenta una reducción del 10% en el contenido de grasa y 15% en lactosa y caseína, además un aumento en el contenido de suero.

Según Armenteros citado por Hernández: “Estos cambios en las proteínas de la leche, junto con modificaciones en la lactosa, el contenido mineral y pH, tienen como resultado bajo rendimiento en la producción de queso, además de alteraciones en las propiedades y aptitud industrial de esa leche”⁵². De igual forma Hernández dice: “Bajo dichas condiciones se aprecia un tiempo de coagulación más largo y una cuajada más débil que la leche no afectada”⁵³.

Para Kitchen citado por Tornadijo⁵⁴, la composición mineral de la leche mastítica es muy diferente de la leche normal; las variaciones más importantes son las de cloro y sodio que aumentan, y las de calcio y fósforo inorgánico que descienden.

4.3 SÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE

La síntesis de proteínas ocurre en los ribosomas que consisten en dos subunidades, una grande y una pequeña, cada una formada por ARNr y proteínas específicas. Para la síntesis de proteínas, también se requiere de moléculas de ARNt, que están plegadas en una estructura secundaria con forma de hoja de trébol. Estas moléculas pequeñas pueden llevar un aminoácido en un extremo y tienen un triplete de bases, el anticodón, en un asa central, en el extremo opuesto de la molécula. La molécula de ARNt es el adaptador que aparea el aminoácido correcto con cada codón de ARNm durante la síntesis de proteínas. Hay al menos un tipo de molécula de ARNt para cada tipo de aminoácido presente en las células. Las enzimas conocidas como aminoacil-ARNt sintetetas catalizan la unión de cada aminoácido a su molécula de ARNt específica.

⁵⁰ RAJALA-SCHULTZ, P.J. *et al.*, citados por HERNÁNDEZ, R., *Ibid.*

⁵¹ HERNÁNDEZ R., *Ibid.*

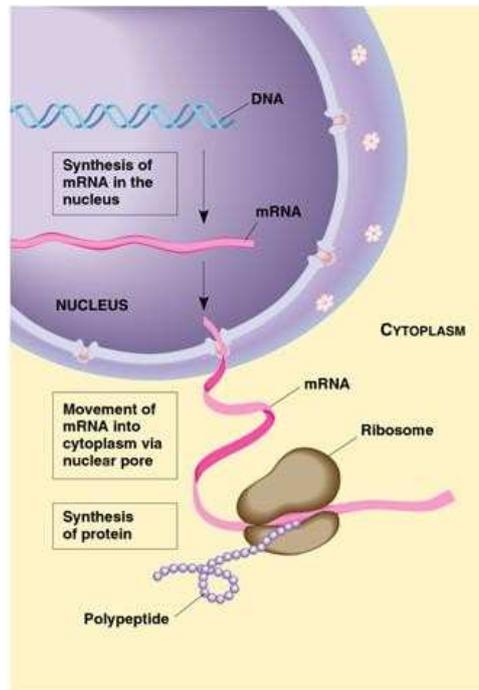
⁵² ARMENTEROS, M., citada por HERNÁNDEZ, R., *Ibid.*

⁵³ HERNÁNDEZ R., *Ibid.*

⁵⁴ KITCHEN, B.J., citado por TORNADIJO., *Op. cit.*, p. 89.

En eucariotas, la transcripción ocurre en el núcleo y el ARN, luego de sufrir un procesamiento, se dirige al citoplasma donde se produce la síntesis de proteínas (Figura 7). Algunas proteínas son sintetizadas en los ribosomas libres y otras en los que están adheridos al retículo endoplásmico⁵⁵.

Figura 7. Esquema general del flujo de información en eucariotas



Fuente: <http://permian.wordpress.com/2007/06/13/la-sintesis-de-proteinas/#more-71>

Además, para Hernández: “Las proteínas de la leche se originan por síntesis a nivel del retículo endoplasmático rugoso de la célula epitelial mamaria y también por el paso de algunas proteínas de la sangre mediante un proceso de difusión. Las proteínas específicas son sintetizadas a partir de la captación de aminoácidos sanguíneos en un proceso de ensamblaje, similar a otros tejidos”⁵⁶.

Asimismo, Clark citado por Hernández⁵⁷ manifiesta que, dichos aminoácidos provienen esencialmente de la digestión de la proteína bacteriana y sobrepasante

⁵⁵ Síntesis de proteínas. <URL:http://www.angelfire.com/magic2/bioquimica/sintesis_de_proteinas.htm>

⁵⁶ HERNÁNDEZ R., Op. cit.

⁵⁷ CLARK, A.J., citado por HERNÁNDEZ R., Ibid.

en el intestino, por lo que en última instancia el papel de síntesis de proteína bacteriana en el rumen es un aspecto de mayor importancia en los rumiantes. De acuerdo con Ikonen y Ojala:

La cantidad de aminoácidos extraídos por la mama no justifica siempre la cantidad de proteínas que son excretadas, observándose una captación excesiva de aminoácidos no esenciales (arginina y valina), mientras que otra parte es sintetizada en la glándula mamaria a partir de otros aminoácidos, de ácidos grasos o de glucosa⁵⁸.

Según Kaneko citado por Hernández: “La síntesis que ocurre en el Retículo Endoplasmático Rugoso (RER), supone que involucra un flujo de vesículas desde este, hacia el Aparato de Golgi donde se conforma la micela de caseína. La manera como ocurre el tránsito del RER al Aparato de Golgi no está bien definida aún”⁵⁹.

Otros estudios como los de Kanno y Jensen citados por Hernández consideran que: “Las cadenas peptídicas pasan a través del lumen, en el RER directamente hacia el interior del aparato de Golgi o que el RER se convierte directamente en el Aparato de Golgi. El proceso de secreción de la micela de caseína ocurre a través de una pinocitosis reversa donde la proteína es vertida dentro del lumen del alvéolo”⁶⁰.

De acuerdo con Van Eenennam y Medrano citados por Hernández⁶¹, la síntesis de las proteínas de la leche está regulada sobre todo por mecanismos hormonales y genéticos en especial de las caseínas, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina.

Jonker *et al.* citados por Hernández afirman que: “El contenido de nitrógeno en la leche se distribuye entre las caseínas (76%), las proteínas del suero (18%) y el nitrógeno no proteico NNP (6 %)”⁶².

Para Hernández: “El grupo mayoritario de las proteínas de la leche son las caseínas, las cuales existen en la leche como partículas coloidales conocidas como micelas de caseína. Su función biológica está en portar grandes cantidades

⁵⁸ IKONEN, T. y OJALA, M., citados por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

⁵⁹ KANEKO, J.J; HARVEY, J.W. y BRUSS, M.L., citados por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

⁶⁰ KANNO, C. y JENSEN, citados por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

⁶¹ VAN EENENNAM y MEDRANO, citados por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

⁶² JONKER, J.S; KOHN, R.A. y ERDMAN, R.A., citados por HERNÁNDEZ, R., Ibid.

de Ca y P insolubles para el mamífero lactante en forma líquida, para formar después un coágulo estomacal logrando así mejor eficiencia en la nutrición⁶³. También el mismo autor manifiesta: “El calcio y el fósforo de la micela, la misma contiene también citrato y otros iones, interactuando con su forma soluble. La estabilidad de la micela de caseína depende de la presencia de la Kappa-caseína (K-Cn) en la superficie de la misma, la cual tiene como función ser una interfase entre las caseínas hidrofóbicas del interior de la micela y el medio acuoso”⁶⁴.

En resumen, según Mao *et al.*: “Cada micela está constituida por un núcleo o centro hidrofóbico, recubierto por una capa hidrofílica que no es otra cosa que la estructura de la K-Cn”⁶⁵.

4.3.1 Proteínas de la Leche. Formaggioni asegura:

La calidad de la leche tiene un gran impacto económico en los procesos de industrialización. La función principal de este fluido biológico complejo es asegurar el desarrollo de los mamíferos en sus primeras etapas de vida, pero para que ésta sea asimilada correctamente tiene que coagularse en el estómago gracias a la acción de enzimas proteolíticas (pepsina y quimosina). Este fenómeno es la base de la producción del queso y es posible gracias a una organización especial de las proteínas lácteas, las cuales están divididas en dos grupos, dependiendo de su comportamiento a pH 4.6. En la fracción soluble (proteínas del suero) se encuentran la Alfa-lactoalbúmina (α -La) y la Beta-lactoglobulina (β -Lg), la fracción insoluble (caseínas totales) está compuesta de cuatro caseínas: Alfa s1 (α_{s1} -Cn), Alfa s2 (α_{s2} -Cn), Beta (β - Cn) y Kappa (K -Cn), estas últimas codificadas por un grupo de genes autosómicos⁶⁶.

Rivera e Insuasty reportan: “La concentración de proteína en la leche varía de 3.0 a 4.0% (30 - 40 gramos por litro). El porcentaje varía con la raza de la vaca y con la cantidad de grasa en la leche”⁶⁷.

⁶³ HERNÁNDEZ, R., *Ibid.*

⁶⁴ *Ibid.*

⁶⁵ MAO, I.L.; BUTTAZZONI, L.G. y ALEANDRI, R., citados por HERNÁNDEZ, R., *Ibid.*

⁶⁶ FORMAGGIONI, P. *et al.* Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in bos genus. Univ degli Studi di Parma. An della Facoltà di Med. Vet. 1999; <URL:<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/index2.htm>>

⁶⁷ RIVERA BARRERO, Julio César e INSUASTY SANTACRUZ, Efrén Guillermo. Tecnología de leche. Pasto-Colombia: Universitaria-Universidad de Nariño, 2008, p.12.

Stewart, Willis, Mackinlay y Jenness⁶⁸ citados por Felmer dicen, el 95% de las proteínas de la leche bovina han sido caracterizadas y clasificadas de acuerdo con sus propiedades bioquímicas. La caseína ha sido la más estudiada y es la proteína de mayor importancia para la industria lechera, dado que comprende el 80% del total de las proteínas de la leche. El 20% restante corresponde a las proteínas del suero (Cuadro 3).

Cuadro 3. Concentración de proteínas en la leche

Proteínas	Concentración (g/L)	Proteína total (%)
Caseínas		
α_{s1} – Caseína	10,0	30,6
α_{s2} – Caseína	2,6	8,0
β – Caseína	10,1	30,8
κ – Caseína	3,3	10,1
Total Caseínas	26,0	79,5
Seroproteínas		
α - Lactoalbúmina	1,2	3,7
β - Lactoglobulina	3,2	9,8
Albumina del suero sanguíneo	0,4	1,2
Inmunoglobulinas	0,7	2,1
Miscelánea (Incluye proteosa y peptona)	0,8	2,4
Total Seroproteínas	6,3	19,3
Proteínas membrana del glóbulo graso	0,4	1,2
TOTAL PROTEÍNAS	32,7	100

Fuente: LÓPEZ GÓMEZ, Antonio. 2003.

4.3.1.1 Caseína. Para Fernández⁶⁹, las caseínas son proteínas fosforadas que entran en la definición de globulinas, son solubles y poseen una gran capacidad de retención de agua.

Zavala⁷⁰ menciona, al pH de la leche, alrededor de 6.6, la caseína está presente como caseinato de calcio. Cuando la acidez de la leche se incrementa, por acción

⁶⁸ STEWART, A.F; WILLIS Y.M; MACKINLAY A.G. y JENNESS, R., citados por FELMER, R. y BUTENDIECK, N. Frecuencia alélica del gen de la k-caseína bovina en un rebaño Frisón Negro Chileno. En: Arch. Med. Vet. Chile. Vol. 30, No. 2 (1998).

⁶⁹ FERNÁNDEZ SEVILLA, José María. Estructura y función de proteínas y péptidos: mioglobina, hemoglobina, miosina, caseína, colágeno, gluten, lactoalbúmina y ovoalbúmina. 2005, p. 14 - 15. <URL:http://www.ual.es/~jfernand/TA/Tema3/Tema3-QuimicaAlimentos.pdf>

de la adición de ácido o por acidificación natural, el ácido remueve el calcio y el fosfato del caseinato de calcio se transforma en caseína, la cual se coagula cuando el pH desciende a 5.2 y es menos soluble en su punto isoeléctrico (pH 4.6). La coagulación se reconoce por la formación de la cuajada, que además de caseína, arrastra grasa, agua y algunas sales. Esta masa coagulada es la que después de adicionarle cultivos y aditivos, prensada, salada y madurada se convierte en queso.

4.3.1.2 Complejo Caseínico. El mismo autor afirma que:

En leche normal, a la temperatura de secreción (38 °C), todos los componentes de la caseína se hallan prácticamente en forma de micelas dispersas coloidalmente, su tamaño oscila desde unos 80 a 300 μm y están formados por subunidades distintas de 10-20 μm , asociadas entre sí a través de puentes salinos de calcio o complejos de fosfato de calcio.

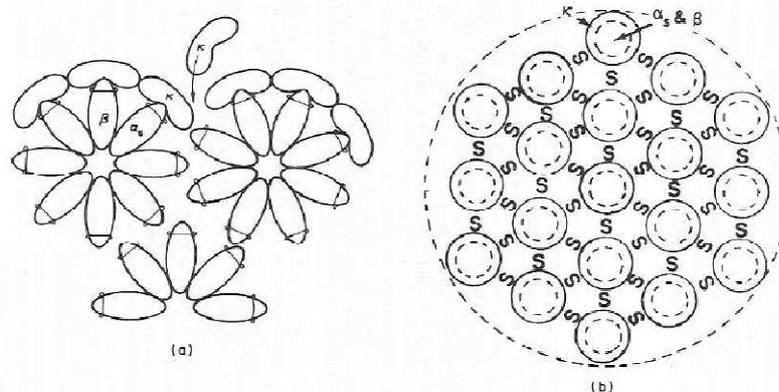
Si se eliminan los iones calcio con componentes quelantes o por diálisis exhaustiva, las micelas se disocian en subunidades. Una nueva adición de iones calcio reúne las subunidades en micelas. A temperaturas inferiores a 8.5 °C, la β -Cn, α -Cn y parte de las K-Cn se disocian del complejo, dejando α -Cn como matriz estructural. Al calentarla se agrupan de nuevo los componentes disociados. Destruída la estructura micelar, es poco probable que se llegue a recuperar el estado original.

En la Figura 8 se puede apreciar dos modelos conceptuales de la distribución de los componentes de la caseína micelar. El modelo A, las α s y β caseínas se asocian esquiométricamente en forma de rosetas, que a su vez se unen entre sí para formar un núcleo micelar que tiene K-Cn orientada hacia la capa periférica. El modelo B describe a la micela como una asociación de subunidades de composición uniforme, complejos de caseína α s y β , recubiertos por una capa del complejo caseína k- α s. En ambos modelos es posible la asociación de subunidades mediante enlaces de calcio y fosfato de calcio coloidal, que se designan como S en el modelo B⁷¹.

⁷⁰ ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y Tecnológicos de la leche. Perú. 2005. p. 12. <URL:http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Biologia%20y%20fisiologia%20de%20la%20lactacion/agroin_doc2.pdf>

⁷¹ Ibid., p. 19-20.

Figura 8. Modelo de la micela de la caseína



MODELO A

MODELO B

Fuente: ZAVALA POPE, José Mauricio. 2005

Según el artículo FISCOQUÍMICA DE la Leche, hay varios factores que pueden afectar la estabilidad del complejo caseínico:

- ❖ **Contenido de sal:** afecta la actividad del calcio en el suero y cantidad de fosfato de calcio de las micelas.
- ❖ **pH:** bajando el pH se llega a la disolución del fosfato de calcio hasta el punto isoeléctrico (pH 4.6), todo el fosfato se disuelve y las caseínas precipitan.
- ❖ **Temperatura:** a 4°C, la β -Cn empieza a disociarse de la micela, a 0°C no hay ninguna agregación micelar; la congelación produce una precipitación llamada cryo-caseína.
- ❖ **Tratamiento térmico:** proteínas del suero son adsorbidas, alterando, el comportamiento de la micela.
- ❖ **Deshidratación:** por etanol, por ejemplo, lleva a la desestabilización de las micelas. Cuando dos o más de estos factores se aplican juntos, el efecto también puede ser aditivo⁷².

4.3.1.3 Fracción caseínica. Para Fernández: “La caseína está compuesta por las fracciones Alfa (α), Beta (β) y Kappa (κ), que se diferencian por el peso molecular

⁷² Físicoquímica de la Leche. 2000. <URL:<http://www.fortunecity.com/littleitaly/siena/600/fisiclec.htm>>

y por la cantidad de grupos fosfatos que llevan unidos⁷³, como se indica a continuación:

Tabla 4. Características de las caseínas

Característica	Caseína	Caseína	Caseína	Caseína
	α_{s1}	α_{s2}	β	k
Peso Molecular	27300*	-	24100*	8000*
Número de Aminoácidos	199	207	209	169
Número de Grupos Fosfatos	8-9	10 -13	5	1-2
Presencia de Grupos Glucídicos	-	-	-	+
Presencia de Cisteína	-	-	-	+
Concentración en la Leche (g/l)	10.3	2.7	10.5	3.5
Proporción relativa de las Caseínas	38	10	39	13

Fuente: Modificado de GROSCLAUDE, F. 1988

*FERNÁNDEZ, J. M. 2005

Otaviano *et al.* y Aschaffenburg plantean: “Las caseínas están codificadas por genes autosómicos, que se transmiten por simple herencia mendeliana”. Además Requena asegura: “Los genes que codifican estas 4 variedades o tipos de caseínas se encuentran en el cromosoma 6”⁷⁴.

De acuerdo con Potti:

Estas moléculas están distribuidas de la siguiente manera: 50% aproximadamente es de α -Cn, 30% de β -Cn, 15% de K-Cn y 5% de Gama-caseína. Estos compuestos pueden separarse por ultracentrifugación y en la leche la fracción caseínica total se precipita por descenso del pH a 4,6 aproximadamente.

En forma aislada, la Alfa-caseína a pH 7 está bajo la forma de pequeños polímeros, la β -Cn en estado de monómero y la K-Cn en estado de polímeros mayores. A ese mismo pH y 37°C, el agregado de iones Ca^{++} no afecta a la K-Cn; en cambio, la β -Cn precipita y la Alfa-caseína coagula. Los complejos de Alfa y Kappa se asocian con la caseína para formar micelas.

Durante la coagulación de la leche, el cuajo ataca a la K-Cn, escindiendo el enlace peptídico fenilalanina-metionina. La paracaseína K así formada ya no estabiliza más el complejo con la caseína Alfa, y en presencia de calcio, los conjuntos micelares coagulan, formando la cuajada, que expulsa el

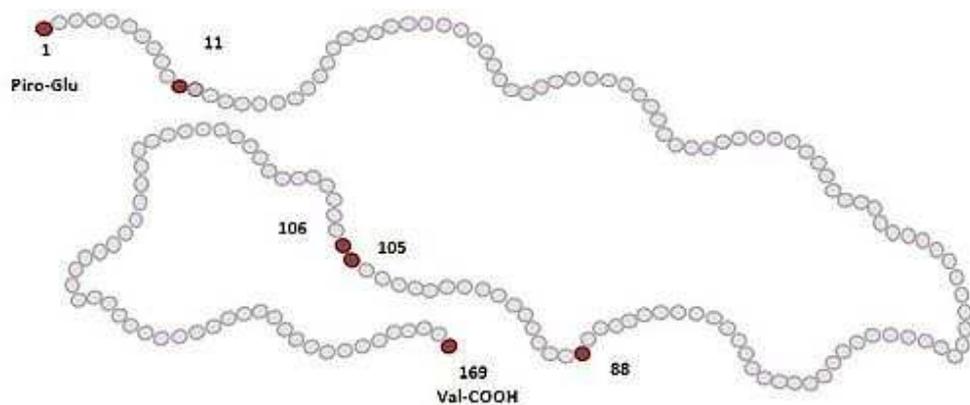
⁷³ FERNÁNDEZ, J.M., Op. cit., p.14.

⁷⁴ REQUENA, F.D., Op. cit.

lactosuero por sinéresis. La velocidad de coagulación y sinéresis aumentan cuanto mayor sean los contenidos de caseínas, calcio y acidez de la leche⁷⁵, entre otros factores como tiempo, temperatura y adición de cultivos.

4.3.1.4 K-caseína. Calvo⁷⁶ explica, la K-cn es una de las fracciones que constituye la caseína y tiene una estructura claramente distinta de las otras (Figura 9). En primer lugar, es más pequeña puesto que en los bovinos está formada por 169 aminoácidos. Además está muy poco fosforilada, teniendo solamente un grupo de fosfato. Esto hace que interaccione con el ión calcio mucho menos que las otras caseínas. Sin embargo, comparte con la β -Cn la propiedad de tener zonas predominantemente hidrofílicas e hidrofóbicas bien marcadas y separadas.

Figura 9. Estructura de la K-Cn



Fuente: WIKIPEDIA, 2009.

- Los aminoácidos 11 y 88 son cisteínas muy reactivas
- La zona de aminoácidos 1 – 105 son hidrofobas
- El macropéptido que se encuentra de los 106-169 es una fosfofoserina, es decir 10 carboxilos ionizados y 1 trisacárido (galactosa, galactosamina, ácido siálico)
- El enlace de fenilalanina y metionina (105-106) es hidrolizada por la renina y produce paracaseinato y el macropéptido hidrófilo⁷⁷.

⁷⁵ POTTÍ, Daniel. Materias Primas: Leche: El sistema proteínico de la leche. 2007. <URL:<http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/laleche-proteinas.html>>

⁷⁶ CALVO, Miguel. Caseínas. Bioquímica de los Alimentos. <URL: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/caseina.html>>

⁷⁷ WIKIPEDIA, Op. cit.

De igual manera Calvo asegura:

Una particularidad de esta caseína es la presencia de una zona con carga neta positiva entre los aminoácidos 20 y 115, permitiendo la interacción de la caseína con polisacáridos que tienen carga negativa. También tiene en la cadena dos grupos de cisteína. La K-Cn se rompe fácilmente por proteólisis en el enlace situado entre la fenilalanina 105 y la metionina 106⁷⁸, dando lugar a dos segmentos:

❖ **Paracaseína κ (PKC):** Según Albillos⁷⁹, corresponde del aminoácido 1 al 105, posee carga positiva a pH 6,6, es muy hidrófoba y poco soluble, y también contiene los dos residuos cisteinil (Cys¹¹ y Cys⁸⁸).

❖ **Caseína macropéptido (CMP):** El mismo autor⁸⁰ afirma, comprende desde el aminoácido 106 al 169, contiene residuos fosforilados (149) y glicosilados (131, 133, 135 ó 136), así como las sustituciones de aminoácidos de variantes A y B (136 y 148); tiene carga negativa por la presencia de ácido N-acetil neuramínico y además es soluble, como se indica en la Figura 10.

Asimismo, Gutiérrez *et al.* y Dev *et al.* aseguran: “En bovinos la K-Cn es fundamental en el proceso de estabilización de micelas que incrementan la solubilidad de minerales facilitando la transferencia de nutrientes en la leche”.

De acuerdo con Green *et al.* y Dalgleish citados por Albillos⁸¹, en la elaboración del queso, la formación de la cuajada resulta de dos procesos: el primero supone el ataque sobre la K-Cn de las micelas de caseína por enzimas proteolíticas presentes en el cuajo, y el segundo, la coagulación de las micelas, las cuales han sido desnaturalizadas por el ataque enzimático. Además, cuando se haya degradado más del 85% de κ-caseína la leche puede empezar a cuajarse.

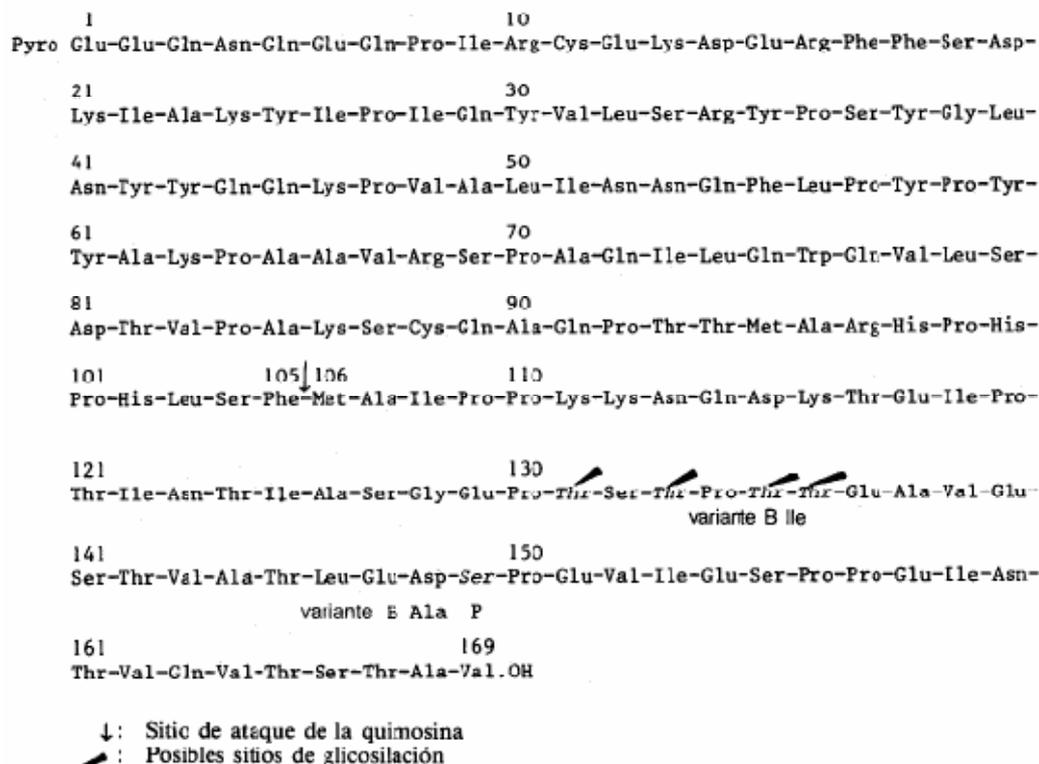
⁷⁸ CALVO, Op. cit.

⁷⁹ ALBILLOS GARCÍA, Silvia. Aplicación de la electroforesis capilar para el análisis y seguimiento del grado de maduración de quesos de oveja y mezcla de la provincia de Burgos. España. 2003, p. 34.

⁸⁰ Ibid., p. 34.

⁸¹ GREEN, M.L. *et al.*, citados por ALBILLOS, S. Ibid., p. 37.

Figura 10. Estructura de la K-Cn variante A y B



Fuente: JOLLÈS *et al.*, 1972; MERCIER *et al.*, 1973.

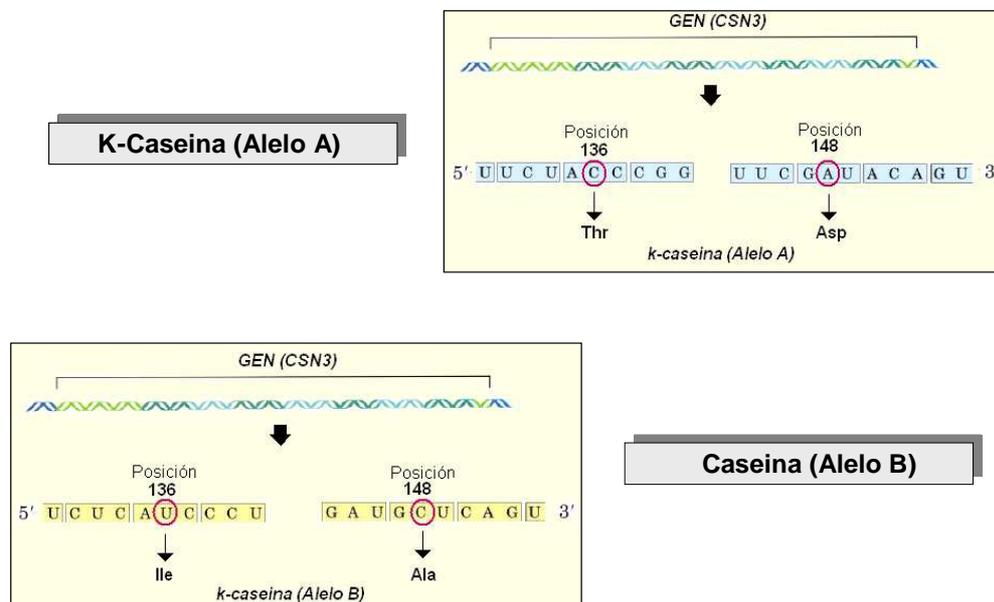
4.3.1.5 Polimorfismo genético en K-Cn e Importancia en producción de quesos. Ng-Kwai-Hang citado por Ramírez afirma: “La mutación dentro de los genes de las proteínas de la leche produce las variantes genéticas lo cual, puede ser detectado por electroforesis”⁸².

Según Alais citado por Gutiérrez⁸³, las variantes genéticas están designadas por letras y la existencia de este polimorfismo se debe en la mayoría de los casos a la sustitución de uno o más de los aminoácidos en el interior de las cadenas peptídicas de la proteína como se indica en la Figura 11.

⁸² NG-KWAI-HANG, citado por RAMÍREZ DELGADO, Patricio Javier. Efecto de las Variantes Genéticas A y B de *k*-caseína y β -lactoglobulina, sobre la Composición Protéica y Mineral de la Leche. Época de Otoño. Valdivia, 2005. 13 p. Trabajo de grado (Licenciado en Ingeniería de Alimentos). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.

⁸³ ALAIS, citado por GUTIÉRREZ CARRERA, Susana. Polimorfismos de las proteínas de la leche en ganado vacuno Holstein-Frison de Cantabria. Relación con los principales rasgos productivos y aplicación a la tecnología de fabricación de queso de Cantabria. Cantabria, 2004. Trabajo de grado (Doctorado) CIFA.

Figura 11. Variantes alélicas de la K-Cn



Fuente: LIN *et al.*, 1992; McLEAN, 1987

Además Gutiérrez asegura: “La diferencia de carga, masa molecular y punto isoeléctrico permite la separación de estas variantes”⁸⁴. De acuerdo con Kaminski; Prinzenberg y Sulimova citados por Alinaghizadeh, del gen de la K-Cn se han descrito 12 variantes alélicas: A, A1, B, B2, C, E, F, F1, G, H, I, J⁸⁵.

López señala:

Debido a que las variantes alélicas pueden afectar la cantidad de proteínas de la leche, por ejemplo los genotipos BB de la K-Cn y AA de la β -Lg están asociados con una mayor cantidad de proteína total y mayor rendimiento quesero, los animales portadores del alelo A de la β -Lg producen más caseínas y menos β -Lg en la leche, lo que es muy importante para la industria quesera puesto que las caseínas se retienen en el coágulo que forma el queso.

⁸⁴ Ibid.

⁸⁵ KAMINSKI; PRINZENBERG y SULIMOVA, citados por ALINAGHIZADEH ROHALLAH; MOHAMMAD ABADI, Mohammadreza y MORADNASAB BADRABADI, Shahin. Kappa-casein gene study in Iranian Sistani cattle breed (*Bos indicus*) using PCR-RFLP. *En*: Pakistan Journal of Biological Sciences. Vol. 10, No. 23 (2007), p. 4291. <URL:<http://scialert.net/qredirect.php?doi=pubs.2007.4291.4294&linkid=pdf>>

La leche de las vacas que presentan el alelo B de la K-Cn producen micelas de menor tamaño, en las cuales se retienen más sólidos al momento de la coagulación para la producción de quesos, dando lugar a coágulos que contienen más grasa y menos agua, por lo tanto son más firmes y presentan un rendimiento quesero superior (3.5-8%)⁸⁶.

Gonyon *et al.* y Bovenhuis *et al.* citados por Alvarado⁸⁷, afirman que el alelo A está asociado a una mayor producción de leche; reportando que la k-caseína AA estaba relacionada con una mayor producción de leche que la tipo BB, mientras que el heterocigoto AB mostró una producción intermedia.

Además, Gutiérrez⁸⁸ en su trabajo sintetizó diferentes investigaciones que reportan la relación existente entre los genotipos de las proteínas de la leche con la producción y composición de la misma, como se puede apreciar en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Mejores genotipos encontrados según diversos trabajos

Característica	Mejor Genotipo			
	α_{s1} -Cn	β -Cn	K-Cn	β -Lg
Producción de Leche	BB	A2A3	AB	AA
% de Grasa	BC	A1A1	BB	BB
% de Proteína	BC	A2B	BB	AA
Kg. de Grasa	-	A1A1	-	BB
Kg. de Proteína	-	A2A2	BB	AA
Menor Tiempo de Coagulación	BC	BB	BB	-
Consistencia de la Cuajada	BC	BB	BB	-
Rendimiento Quesero	-		BB	BB

Fuente: GUTIÉRREZ, Susana. 2004.

4.3.1.6 Frecuencias alélicas de la K-Cn en diferentes razas. Para Murphy y Downey; Russo y Mariani citados por López, el alelo A es el más frecuente en las razas holstein friesian, ayrshire, rojo danés y cebú índico. La variante B, en cambio es más frecuente en las razas jersey, normando y cebú africano (véase Cuadro 5).

Lo anterior plantea una debilidad en la ganadería Colombiana, debido a que la base de la producción lechera es 70% la raza holstein, 20% holstein x cebú, 8 % jersey y 2% con razas criollas⁸⁹.

⁸⁶ LÓPEZ, Ernesto y VÁSQUEZ, Neil. Determinación del sexo y genotipificación del gen de la k-caseína en embriones bovinos. En: Rev Col Cienc Pec. Colombia. Vol. 17, No. 3 (2004), p. 232.

⁸⁷ ALVARADO, C. *et al.*, Op cit.

⁸⁸ GUTIÉRREZ, S. Op. cit.

Valenzuela afirma: “En general, las razas productoras de carne presentan una marcada prevalencia de la variante B. La variante C de la K-Cn es menos común, pero ha sido encontrada en las razas simmental, fleckvieh y holstein rojo, lo cual tiene repercusiones negativas sobre el tiempo de coagulación enzimática que resulta más largo, afectando la firmeza del coágulo”⁹⁰.

Cuadro 5. Frecuencias alélicas en diferentes razas

Raza	Frecuencias Alélicas		Referencia
	K-Cn A	K-Cn B	
Holstein	0,9	0,1	Viana <i>et al.</i> , 2001
Normando	0,44	0,56	McLean <i>et al.</i> , 1984; Van Eenennaan y Medrano, 1991; Grosclaude, 1998
Jersey	0,23	0,77	McLean <i>et al.</i> , 1984; Van Eenennaan y Medrano, 1991; Grosclaude, 1998
Gyr	0,93	0,07	Kemenes <i>et al.</i> , 1999

Fuente: Modificado de VELI, Eudosiso *et al.*

Según Solarte *et al.*⁹¹ en el departamento de Nariño, la raza holstein tuvo una mayor frecuencia para el alelo A con 80.25%, a diferencia de la raza normando que presentó una frecuencia de 29.22% para este alelo. Con respecto al alelo B, la raza normando tuvo una frecuencia de 70.78%, siendo superior a la presentada en la raza holstein de 19.75% (véase Cuadro 6).

⁸⁹ MURPHY, R.F. y DOWNEY, W.K; RUSSO, V. y MARIANI, P., citados por LÓPEZ E., Op. cit., p. 233.

⁹⁰ VALENZUELA ALVAREZ-SALAMANCA, L. Factores que influyen los parámetros técnicos y económicos en los sistemas intensivos de producción de leche en Chile. Chile, Octubre de 2004, 4 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Departamento de Ciencias Animales.

⁹¹ SOLARTE PORTILLA, C. E. *et al.* En: Resultados: Proyecto “Determinación de las frecuencias alélicas del gen de la Kappa caseína (K-Cs) en la población bovina lechera del Trópico Alto de Nariño”. Grupo de Investigación “Producción y Sanidad Animal”. Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. 2008. p. 36.

Cuadro 6. Frecuencias alélicas en diferentes razas en el Trópico Alto de Nariño

Alelo	Frecuencia Alélica	
	A	B
Holstein	0.8025 ± 0.014	0.1975 ± 0.014
Normando	0.2922 ± 0.051	0.7078 ± 0.051
Jersey	0.2500 ± 0.096	0.7500 ± 0.096
Pardo Suizo	0.3400 ± 0.094	0.6600 ± 0.094
Cruces	0.6818 ± 0.042	0.3182 ± 0.042

Fuente: SOLARTE, *et al.* 2009.

4.3.1.7 Frecuencias genotípicas de la K-Cn en diferentes razas. De acuerdo con López-Benavidez; Strzalkowska *et al.*; Van Eenennaam y Medrano:

Las poblaciones de ganado holstein en Colombia (Antioquia y Sabana de Bogotá) y Polonia presentan frecuencias genotípicas de K-Cn similares (AA>AB>BB), mientras que las frecuencias genotípicas de las condiciones homocigóticas son mayores (BB>AA>AB) en la población estadounidense, esto último logrado mediante cruces dirigidos mediante la selección asistida por marcadores moleculares (SAM)⁹².

En el caso de Nariño Solarte⁹³ dice, el genotipo más frecuente en la raza holstein fue el homocigoto AA, seguido por los genotipos AB y BB. Mientras que, en la raza normando el orden de frecuencias genotípicas fue AB>BB>AA (véase Cuadro 7).

Cuadro 7. Frecuencias genotípicas en diferentes razas en el Trópico Alto de Nariño

Razas	Frecuencia Genotípica		
	AA	AB	BB
Holstein	0.6631	0.2787	0.0581
Normando	0.0519	0.4805	0.4675
Jersey	0.2000	0.1000	0.7000
Pardo Suizo	0.0400	0.6000	0.3600
Cruces	0.3750	0.5125	0.1125

Fuente: SOLARTE, *et al.* 2009.

⁹² LÓPEZ-BENAVIDEZ; STRZALKOWSKA N. *et al.* y VAN EENENNAAM A.L; MEDRANO J.E., citados por LÓPEZ E., Op. cit., p. 233.

⁹³ SOLARTE, Op cit., p. 42.

En conclusión, según Sherbon, Ledford y Regenstein citado por Giovambattista:

El genotipo de la K-Cn es el factor más importante, debido a que la leche procedente de animales con genotipo BB para este locus presenta mayores porcentajes proteicos, mejores propiedades de coagulación, mejores efectos sobre la fabricación del queso y, en consecuencia, todo se traduce en un mayor rendimiento en la producción quesera⁹⁴.

4.4 MARCADORES MOLECULARES

Barboza afirma: “Un marcador se refiere a cualquier molécula (proteína, ARN o ADN) de tamaño o peso molecular conocido”⁹⁵.

De acuerdo con Uffo y Martínez:

En los últimos años la investigación genética ha identificado numerosas secuencias de genes, así como novedosas técnicas para el estudio de la variabilidad de las secuencias de ADN entre individuos y poblaciones, de este modo se abre paso a la nueva ciencia de los marcadores moleculares.

La posibilidad de detectar esas diferencias a nivel de secuencia de ADN, y que estos polimorfismos se utilicen como marcadores para desarrollar estudios en el genoma, ha cambiado significativamente la aplicación de la genética y ha permitido el desarrollo de técnicas para el diagnóstico molecular, utilizadas en animales domésticos y de importancia económica. Diversos marcadores genéticos pueden identificarse en el ADN de un animal obtenido a partir de una muestra de sangre. El estudio de los marcadores, específicamente las proteínas lácteas, que se relacionan con características de producción, mejorará la eficiencia de selección y calidad de la leche en bovinos.

La base molecular del polimorfismo genético de las proteínas de la leche es la sustitución o supresión amino acídica en la estructura primaria de la proteína, generada por cambios nucleotídicos en la secuencia de los genes que codifican para las mismas. Es por esto que para realizar estudios de polimorfismo genético en bovinos, relacionados con características productivas, se utilizan técnicas moleculares muy sensibles, capaces de

⁹⁴ SHERBON, R.A; LEDFORD R.A. y REGENSTEIN J., citados por GIOVAMBATTISTA, G. *et al.* Estado Actual del Mapeo de QTL'S para Producción Lechera. *En:* Agro sur. Valdivia. Vol.26, No.2 (jul. 1998)

⁹⁵ BARBOZA VARGAS, Natalia. Marcadores Moleculares y Aplicaciones. <URL:<http://biologia.ucr.ac.cr/profesores/Pilar%20Ramirez/Clase%20genetica.ppt>>

detectar pequeñas variaciones en los genes, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), entre otras. La combinación de estas dos técnicas permite identificar exactamente los alelos que portan los marcadores en estudio. Estas técnicas, especialmente la PCR, han abierto el camino en la industria lechera para utilizar, de forma práctica los marcadores a nivel genético, como asistencia en los programas de selección⁹⁶.

4.4.1 Protocolo K-caseína. Para la identificación de las variantes alélicas de la K-Cn, el grupo de Investigación Producción y Sanidad Animal “Meg@lac” liderado por Solarte, utilizó el siguiente protocolo:

4.4.1.1 Toma de muestras de sangre. Para obtener la muestra se extrajeron 2cc de sangre de la vena coccígea media (Figura 12). Tres a cuatro gotas de sangre se conservaron en tarjetas FTA[®] (Whatman Bioscience), las que fueron transportadas al laboratorio de Mejoramiento Genético Animal de la Universidad de Nariño.

Las tarjetas FTA[®] simplificaron la colección, almacenamiento y transporte de ácidos nucleicos. Las tarjetas están impregnadas con una fórmula química patentada que rompe las membranas celulares y desnaturaliza las proteínas; de esta forma, el ADN es atrapado físicamente, siendo inmovilizado y estabilizado. Una vez inmóvil, el ADN queda protegido de nucleasas, oxidación, daño bacteriano y hongos, lo que permite el almacenamiento a temperatura ambiente por más de 10 años.

Figura 12. Extracción de sangre de la vena coccígea



Fuente: Grupo de Mejoramiento Genético Animal Meg@lac, 2009.

⁹⁶ UFFO, Odalys y MARTÍNEZ, Siomara. Amplificación por PCR de los genes que codifican para la α -lactoalbúmina, la β -lactoglobulina y la k-caseína de una vaca alta productora de leche y dos de sus descendientes e identificación de las variantes alélicas por RFLP. En: Rev. Salud Anim. La Habana, Cuba. Vol. 24, No. 1 (2002); p. 22-23. <URL:<http://www.censa.edu.cu/Revistas/rsa/v24n1/p22-26.pdf>>

4.4.1.2 Extracción de ADN. Para la extracción de ADN (Figura 13) se utilizó el kit FTA[®] de Whatman Bioscience, siguiendo las recomendaciones de la casa fabricante. En el laboratorio, con un sacabocados (Micro puncher) se extrajo un disco de 1.2mm de diámetro, el cual se transfirió a tubos eppendorf. El disco se lavo tres veces con 200µL de buffer de extracción (FTA[®] purification reagent) y luego dos veces con 200 µL de buffer TE (Tris HCl 1M – pH = 9.0, EDTA 0.5M – pH= 8.0). Cada lavado se realizo durante 5 minutos mediante inversión de los tubos esppendorf. Una vez terminado el proceso de aislamiento del ADN, los discos se pasaron a tubos de PCR de 0.2 µL y se secaron por 10 minutos a 56°C en el termociclador.

Figura 13. Extracción de ADN



Fuente: Grupo de Mejoramiento Genético Animal Meg@lac, 2009.

4.4.1.3 Determinación de las variantes alélicas. La genotipificación de cada ejemplar incluido en el muestreo se llevo a cabo mediante la técnica PCR-SSCP, descrita por Barroso *et al.* (1998), con modificaciones y ajustes realizados en el Laboratorio de Mejoramiento Animal de la Universidad de Nariño. Esta técnica reúne la acción en cadena de la polimerasa (PCR), con la identificación de polimorfismos de cadena simple de ADN (SSCP). En el proceso, los productos PCR son desnaturizados en cadena simple de ADN, luego se renaturalizan para favorecer los apareamientos intracatenarios que finalmente podrán ser identificados en geles de poliacrilamida no denadurantes. De esta manera, la estructura de cada hebra de ADN adoptará una conformación dependiente de la secuencia nucleotídica, lo que afectará su migración en el gel. Así, dos productos PCR con diferencias puntuales en su secuencias presentaran distintos patrones electroforéticos de ADN monocatenarios.

❖ **PCR-SSCP.** La técnica PCR-SSCP se desarrolló con el siguiente proceso:

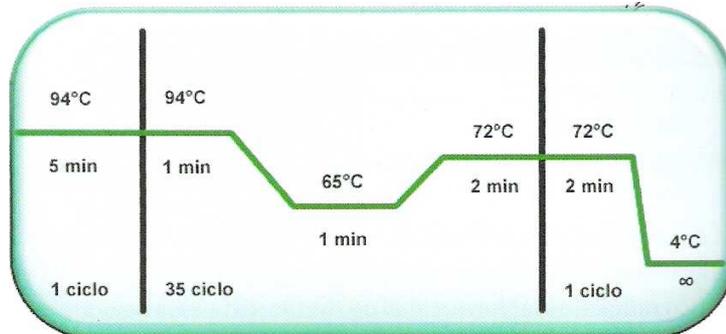
- Amplificación del fragmento de 453 pares de bases (pb), usando un disco FTA[®] de 1.2mm, el cual contenía aproximadamente 25ng de ADN. Las condiciones de amplificación en la Tabla 5 y Figura 14. En esta parte del proceso se utilizó un termociclador.

Tabla 5. Condiciones de PCR-SSCP para la amplificación

Componentes	Solución STOCK	Concentración Trabajo	Volumen (µL)
ADN	25 ng	1 disco FTA	
Buffer PCR	5 X	1 X	4.0
d’NTPs	5 Mm	0.2 mM	0.8
Cebador Forward	100 µL	0.75 µM	0.2
Cebador Reverse	100 µL	0.75 µM	0.2
MgCl ₂	25 mM	2.0 mM	1.6
Taq polimerasa	500 U/ µL	2 U/ µL	0.08
Agua mili-Q			13.32
Volumen total de la reacción de PCR = 20 µL			

Fuente: Grupo de Mejoramiento Genético Animal Meg@lac, 2009.

Figura 14. Programa de amplificación para PCR-SSCP del gen de la K-Cn en un termociclador



Fuente: Grupo de Mejoramiento Genético Animal Meg@lac, 2009.

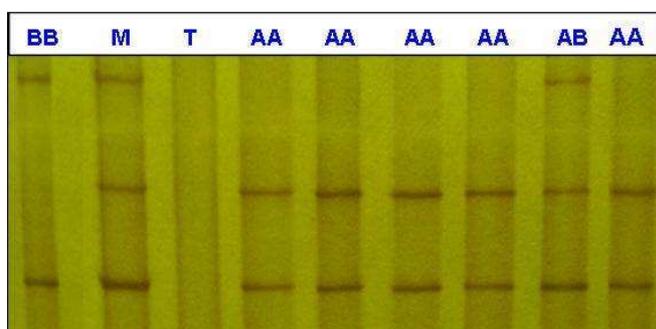
La secuencia de los cebadores (indicadores, oligonucleótidos de iniciación o *primers*) para la cadena adelantada o *Forward* fue 5'- TGT GCT GAG TAG GTA TCC TAG TTA TGG-3' y para la cadena atrasada o *Reverse* fue 5'-GCG TTG TCT TCT TTG ATG TCT CCT TAG-3'.

- Electroforésis y tinción con plata. Las muestras fueron corridas en presencia de un control negativo para asegurar la limpieza de la reacción PCR-SSCP. Se prepararon geles de poliácridamida al 12% en proporción 100 Acrilamida: 1N’N-bis acrilamida. Los geles se corrieron durante 16h y 160

voltios y a temperatura ambiente, lográndose en ese lapso una observación correcta de los fragmentos amplificados del gen de la K-Cn. Para la visualización de los patrones electroforéticos de los alelos A y B. Para la tinción de los geles se utilizaron los siguientes reactivos: solución nitrato de plata, solución fijadora (ácido acético glacial al 0.5%/etanol al 10%) y solución relevadora (NaOH/aldehído fórmico al 37%).

Posteriormente al proceso de tinción se realizó la lectura de los geles de modo visual, acorde con el patrón obtenido en el laboratorio (Figura 14) y se confirmaron con el lector de geles referencia GL-4151B Epidigicam⁹⁷.

Figura 15. Bandas generadas por la técnica PCR-SSCP del gen de la K-Cn



Fuente: Grupo de Mejoramiento Genético Animal Meg@lac, 2009.

4.4 INDUSTRIALIZACIÓN DE LA CUAJADA

Betancourt⁹⁸ asegura, la cuajada puede ser definida como el producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche (Materia grasa y proteína), por medio de una coagulación. Con el propósito de reducir selectivamente los sólidos de la leche a una forma concentrada o gel llamada cuajada, ya sea por el desarrollo de bacterias productoras de ácido, o por adición de cuajo. Parte del agua es separada de la cuajada por medio de la división mecánica, agitación, elevación de temperatura, prensado y maduración.

Para la elaboración de productos lácteos se debe cumplir con las siguientes normas:

⁹⁷ SOLARTE, Op cit., p. 26.

⁹⁸ BETANCOURT WALTER, Antonio José. Alimentos 2: Guía para la Elaboración de Productos Lácteos, Vegetales y Carnes. Ministerio de Educación Nacional. Colombia. ISBN Vol. 958-9488-60-9. <URL: http://www.colombiaaprende.edu.co/html/mediateca/1607/articles-83403_archivo.pdf>

4.5.1 Sistemas de aseguramiento de calidad para plantas lecheras. De acuerdo con Ruedas y Molina:

Un sistema de calidad, es aquel que ayuda a mejorar los procedimientos en la elaboración de productos lácteos. Entre los más aplicados tenemos:

4.5.1.1 Prácticas de manufactura (BPM ó GMP). Es una política o filosofía de la forma correcta de realizar un proceso de manufactura la cual incluye todo, desde el diseño del edificio de la planta hasta la forma correcta de realizar el proceso, incluyendo condiciones de trabajo, vestimenta necesaria y tal vez lo más importante, la actitud de todo el personal que labora en la planta.

Las BPM sirven para asegurar la producción de alimentos íntegros libres de alteraciones por microorganismos, infestaciones o contaminaciones.

Todo esto para ofrecer al consumidor productos de alta calidad, lograr una actitud positiva de todo el personal que labora en la planta, bajo condiciones de trabajo ordenadas, limpias y atractivas y mantener una buena imagen de la empresa.

Entre los puntos que se deben considerar para la implementación de las buenas practicas de manufactura, tenemos:

Con respecto a Mantenimiento:

- Limpieza y desinfección
- Control de plagas
- Programas de inspección e higiene
- Almacenamiento y eliminación de desechos
- Prohibición de animales domésticos
- Almacenamiento de sustancias peligrosas
- Calendario y procedimientos de mantenimiento de equipos

En cuanto al Personal:

- **Vestuario.** Dejar ropa y zapatos de calle en el vestidor y no usarla en el trabajo, tampoco se debe llegar con la ropa de trabajo desde la calle.
- **Vestimenta de trabajo.** Ropa y botas limpias. El uso de gorro y tapabocas es obligatorio y los guantes en caso de ser necesario. Utilizar ropa específica para el área trabajo exigida por la normatividad vigente.

- **Higiene personal.** El baño diario es indispensable, se debe mantener uñas cortas, pelo recogido bajo la cofia. Se prohíbe el uso de reloj, anillos, aros o cualquier otro elemento que pueda tener contacto con algún producto y/o equipo.
- **Lavado de manos.** El lavado de manos se realiza al ingresar al sector de trabajo, después de utilizar los servicios sanitarios, de tocar elementos ajenos al trabajo que esta realizando. El lavado de manos se realiza con agua y jabón, usando un cepillo para las uñas y secándose con toallas desechables y finalmente se recomienda el uso de sustancias sanitizantes.
- **Estado de salud.** Evitar el contacto con alimentos si padece afecciones de piel, resfríos, diarrea, intoxicaciones o cualquier enfermedad que implique un riesgo para el producto a elaborar. Acudir al médico mínimo cada 6 meses para verificar su estado de salud.
- **Cuidar las heridas.** En caso de tener heridas, cubrir las mismas con vendajes y envoltura impermeable o retirarlo de la línea de proceso.
- **Responsabilidad.** Realizar cada tarea de acuerdo a las instrucciones recibidas. Leer con cuidado y atención las señales y carteles indicadores con el fin de evitar accidentes.
- **Cuidado del sector de trabajo.** Mantener los utensilios de trabajo limpios y arrojar los residuos en el cesto correspondiente.
- **Limpieza fácil.** Para facilitar las tareas de limpieza se recomienda tener pisos impermeables lavables, antideslizantes y con buen declive, paredes claras, lisas lavables sin grietas y las uniones de piso pared o techo redondeadas para evitar la acumulación de polvo y residuos para facilitar su limpieza.
- **Evitar la contaminación cruzada.** Almacenar en lugares separados el producto terminado y la materia prima. Evitar circular desde un sector sucio a uno limpio.

4.5.1.2 Sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP).

Tiene como objetivo identificar los peligros de contaminación del producto y estimar los riesgos que pueden afectar la inocuidad de los alimentos. Es necesario tener presente que un manual genérico entrega información valiosa, pero básica y general, por lo tanto es necesario que en cada establecimiento el Equipo de HACCP, adecue el manual a las condiciones de la planta y a los productos que en ella se elaboran.

El concepto básico de HACCP es de prevención más que de inspección. HACCP se relaciona con el control de los factores que afectan a los ingredientes, al producto y al proceso. El objetivo es elaborar un producto seguro para su consumo y que se pueda comprobar, por tanto HACCP es una aplicación metodológica y sistemática de la ciencia y la tecnología con el fin de planificar, controlar y documentar la producción de alimentos seguros.

El concepto de HACCP involucra todos los peligros potenciales de seguridad de los alimentos (biológicos, químicos y físicos), ya sea que ocurran en forma natural en los alimentos o por la contribución del ambiente o generados por un error en el proceso de elaboración. Aunque los peligros químicos son temidos por los consumidores y los físicos los que el consumidor identifica comúnmente, son los peligros microbiológicos los más serios desde el punto de vista de la salud pública.

❖ Principios del sistema HACCP

- **Realizar un análisis de peligros.** En este punto se establece como comenzar a implantar el sistema HACCP. Se prepara analista de etapas del proceso, se elabora un diagrama de flujo del proceso donde se detallan todas las etapas del mismo, desde las materias primas hasta el producto final.
- **Identificar los puntos críticos de control (PCC) del proceso.** Una vez descritos todos los peligros y medidas de control, el equipo HACCP decide en que puntos es crítico el control para asegurar la seguridad del producto. Son los Puntos Críticos de Control.
- **Establecer los límites críticos para las medidas preventivas asociadas a cada PCC.** El rango confinado entre los Límites Críticos para un PCC establece la seguridad del producto en esta etapa. Los límites críticos deben basarse en parámetros cuantificables (puede existir un solo valor o establecer un límite inferior y otro superior) y así asegurarnos su eficacia en la decisión de seguridad o peligrosidad en un PCC.
- **Establecer los criterios para la vigilancia de los PCC.** El equipo de trabajo debe especificar los criterios de vigilancia para mantener los PCC dentro de los límites críticos. Para ello se deben establecer acciones específicas de vigilancia que incluyan la frecuencia y los responsables de llevarlas a cabo. A partir de los resultados de la vigilancia se establece el procedimiento para ajustar el proceso y mantener su control.
- **Establecer las acciones correctivas.** Si la vigilancia detecta una desviación fuera de un límite crítico, deben existir acciones correctoras que restablezcan la

seguridad en ese PCC. Las medidas o acciones correctoras deben incluir todos los pasos necesarios para poner el proceso bajo control y las acciones a realizar con los productos fabricados mientras el proceso estaba fuera de control. Siempre se ha de verificar que el personal esta encargado de los procesos.

- **Implantar un sistema de registro de datos que documente el HACCP.** Deben guardarse los registros para demostrar que el sistema está funcionando bajo control y que se han realizado las acciones correctoras adecuadas cuando existe una desviación de los límites críticos. Esta documentación demostrará la fabricación de productos seguros.
- **Establecer un sistema de verificación.** El sistema de verificación debe desarrollarse para mantener el HACCP y asegurar su eficacia⁹⁹.

4.5.2 Procesamiento de la cuajada

4.5.2.1 Calidad de la leche cruda. El Plan Nacional de Aseguramiento de la Calidad (PNAQL 2006) citado por Méndez define: “La calidad como un conjunto de propiedades y características de un producto, proceso o servicio que le confiere su aptitud para satisfacer necesidades establecidas o implícitas del cliente”¹⁰⁰.

Además, Ferraro citado por Méndez explica:

Se entiende por leche de calidad a la proveniente del ordeño de vacas sanas bien alimentadas, libre de olores, sedimentos, sustancias extrañas y con características como: cantidad y calidad apropiada de componentes sólidos (grasa, proteína, lactosa y minerales); con un mínimo de carga microbiana; libre de bacterias causantes de enfermedad (brucelosis, tuberculosis, patógenos de mastitis y toxinas); libre de residuos químicos e inhibidores y con un mínimo de células somáticas¹⁰¹.

Comeron citado por Méndez asegura que: “La necesidad de una mayor eficiencia en el proceso industrial de la leche y la creciente demanda del mercado por productos de mayor calidad, traen como consecuencia un incremento en las

⁹⁹ RUEDAS ALBA, Cynthia Dinora y MOLINA MACÍAS, Adrián. Industrialización de Lácteos de Bovinos., p.11-16. <URL:http://www.sra.gob.mx/internet/informacion_general/programas/fondo_tierras/manuales/Indust_Lacteos_Bovinos.pdf>

¹⁰⁰ PLAN NACIONAL DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD, citado por MENDEZ., Op. cit., p. 15.

¹⁰¹ FERRARO, citado por MÉNDEZ, Ibid., p. 15.

exigencias de los estándares de la materia prima, lo que afecta económicamente al productor”¹⁰².

Bennett citado por Méndez afirma: “En el primer eslabón de la cadena, la calidad de la leche cruda es recompensada a través del mercado donde el énfasis es producir leche de alta inocuidad para el consumidor”¹⁰³.

Por lo tanto, Bennett, Taverna, Street y Gasque citados por Méndez dicen que: “Se establece a partir de tablas de costos por litro de leche cruda, de acuerdo a un análisis previo microbiológico, que permite determinar si es apta para su comercialización y consumo humano”¹⁰⁴.

De acuerdo con lo anterior, en Colombia para la formación y liquidación del precio de un litro de leche cruda, las procesadoras de lácteos se basan en la Resolución 000012 de 2007 del Ministerio de Agricultura, la cual tiene en cuenta las siguientes regiones lecheras y sus respectivos estándares de calidad (Cuadro 8).

Cuadro 8. Regiones lecheras del país

Región	Departamentos
1	Cundinamarca y Boyacá
2	Antioquia, Quindío, Risaralda, Caldas y Chocó
3	Cesar, Guajira, Atlántico, Bolívar, Sucre, Córdoba, Magdalena, Norte de Santander, Santander y Caquetá
4	Nariño, Cauca, Valle del Cauca, Tolima, Huila, Meta, Orinoquia y Amazonia.

Fuente: MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2007.

La calidad estándar corresponde a los parámetros mínimos para la calidad higiénica, composicional y sanitaria, relacionados directamente con el precio competitivo, que debe cumplir la leche cruda entregada por el productor a un agente económico comprador de la misma de acuerdo con una región.

❖ **Calidad higiénica.** Los estándares de recuento total de bacterias (UFC/ml) para cada una de las regiones son los siguientes:

¹⁰² COMERON, citado por MÉNDEZ, Ibid., p. 17.

¹⁰³ BENNETT citado por MÉNDEZ, Ibid., p. 17.

¹⁰⁴ BENNETT; TAVERNA; STREET y GASQUE, citados por MÉNDEZ, Ibid., p. 17.

Tabla 6. Rango mínimo para UFC/ml

Región	Recuento Total de Bacterias
1	200.001 - 300.000
2	200.001 - 300.000
3	600.001 - 700.000
4	600.001 - 700.000

Fuente: MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2007.

❖ **Calidad composicional.** Los estándares de proteína, grasa y sólidos totales, expresados como porcentaje, en fracciones de décimas, para cada una de las regiones son los siguientes:

Tabla 7. Rango mínimo composicional

Región	Proteína%	Grasa%	Sólidos%
1	3.00	3.45	11.95
2	3.10	3.50	12.10
3	3.30	3.80	12.60
4	3.00	3.45	11.95

Fuente: MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2007.

❖ **Calidad sanitaria.** El estándar de calidad sanitaria exige la presentación del registro único de vacunación contra fiebre aftosa y brucella¹⁰⁵.

4.5.2.2 Recepción de leche. Según Ruedas y Molina: “El proceso de elaboración de la cuajada se inicia con la recepción de la leche la cual pasará por un control para garantizar la calidad de la misma, estas pruebas son”¹⁰⁶:

¹⁰⁵ COLOMBIA. RESOLUCIÓN 000012 DE 2007 DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. p. 2-5.

¹⁰⁶ RUEDAS, A., Op. cit., p. 19.

Cuadro 9. Calidad de la materia prima

Análisis	Método	Frecuencia por productor	Especificación
Apariencia y olor	Sensorial	Diario por cantina o tanque	Fresco y agradable (a)
Acidez	68% alcohol	Diario por cantina o tanque (b)	Negativo
Acidez	Norblad N 913, Holanda	1 -2 veces a la semana	16 – 21 ^o Th (*) 16 – 20. ^o D
Materia grasa	Gerber B.S. 696:1969 FIL- IDF 105:1981 Milko Tester A.O.A.C. 1970	Juntar muestras diarias durante 15 días (c)	No menos de 2.5% (*) Colombia 3%
Proteína	Pro milk A.O.A.C. 1970 Formol. F.M. Luquet Chaire Industric Laitiere Dova, 1971 Kjendal FIL- IDF20: 1962	1-2 veces cada 15 días	Depende del tipo de leche Actualmente (2007) mínimo 3%
Recuento Total	En placas de petri. A.P.H.AA 13 ^a Ed. 1972 FIL-IDF 100: 1981	1 -2 veces a la semana	Según la Región
Densidad	Densidad NEN 958 Holanda	1 -2 veces a la semana	De acuerdo con la clasificación
Punto de congelación	Crioscopía A.O.A.C., 1970	1-2 veces cada 15 días	- 0.530 a -0.570 ^o C(*)
pH	Potenciométrico	1 -2 veces a la semana	6.60- 6.80
Impurezas	Filtración B.S. 4938.1973	1 Vez cada 15 días	Lo menos posible

Fuente: MAYA PANTOJA, Jorge Anibal y RIVERA, Julio César.

(*) Según el Reglamento sanitario de los alimentos. Santiago de Chile., 5 de Junio 1982.

(a) La leche debe tener olor y aspectos normales. No debe presentar coagulaciones o alteraciones de la consistencia. No debe tener signos de sangre, leches calostrales o materia extraña.

(b) Si la prueba de alcohol es positiva se debe titular la leche para conocer la acidez real.

(c) Se recomienda tomar muestras cada día en forma acumulativa, pues se obtiene un resultado más realista y justo. Estas muestras deben estar constituidas por volúmenes proporcionales al volumen de la leche entregada cada vez y deben ser preservadas con Cloruro Mercurio (HgCl₂), Dicromato de Potasio (K₂CR₂O₇) o una mezcla de estos.

Estos análisis se hacen hoy electrónicamente y en laboratorio para ajustes.

4.5.2.3 Pasteurización. De acuerdo con Maya:

Es un proceso de higienización de la leche que busca la destrucción casi completa de los microorganismos presentes, así como la inactivación de la mayoría de las enzimas, pero el propósito final es la destrucción completa de los gérmenes patógenos para el hombre.

Las Normas Sanitarias exigen la destrucción del 100% de la flora patógena para el hombre y del 90 al 95% de la flora basal, con el fin de garantizar la sanidad del alimento y el período de vida.

En los procesos de pasteurización se somete la leche a una combinación de temperatura-tiempo moderados para alterar en lo mínimo la composición nutricional del producto.

Un buen proceso de pasteurización debe garantizar que todas las partículas de leche sufran igual temperatura durante el mismo tiempo¹⁰⁷.

Además, Rivera e Insuasty¹⁰⁸ afirman, los procesos más utilizados en Colombia son el de pasteurización baja, 62-65 °C por 30 minutos en tanques para derivados lácteos, pasteurización intermedia, 71-74°C, por 15-20 segundos en nuestro medio llamada H.T.S.T, y UHT, 135-150°C, por 2-5 segundos.

4.5.2.4 Adición de Cloruro de Calcio. El Ministerio de Agricultura de Chile¹⁰⁹ afirma que, debido al tratamiento térmico de pasteurización, la leche pierde calcio, y es por ello que se agrega cloruro de calcio, cuando la leche alcanza una temperatura alrededor de 32°C, a razón de 2 gramos por cada 10 Litros de leche (0.2 gramos por Litro de leche). Con la agregación del cloruro de calcio se facilita la coagulación, mejorando el rendimiento y en definitiva la calidad final del queso.

4.5.2.5 Coagulación. Según lo reportado por Poncelet¹¹⁰:

En la tina de elaboración, la leche se eleva a una temperatura alrededor de 35°C y se le añaden, coagulantes de tipo vegetal o animal (renina). Después del tratamiento y coagulación, la leche se transforma pasando de un estado líquido a un estado sólido o semisólido, debido a la aglutinación de las micelas de la proteína “caseína”, formándose un gel (cuajada) que retiene además los glóbulos de grasa, agua y sales (Figura 16).

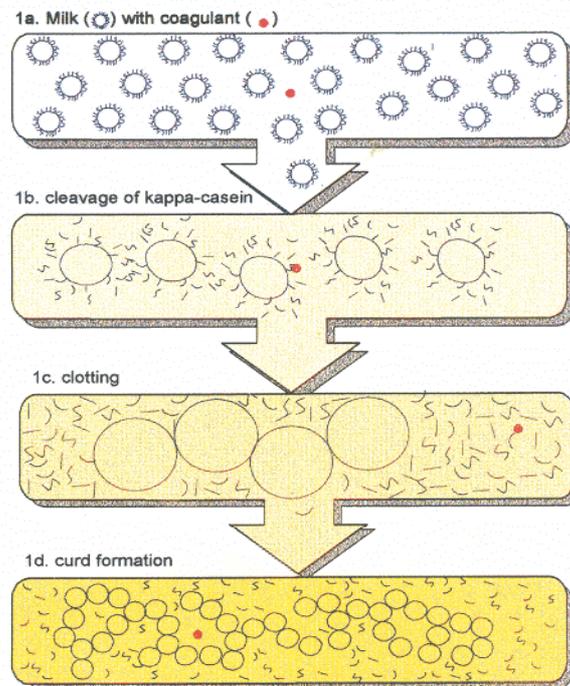
¹⁰⁷ MAYA J., Op. cit.

¹⁰⁸ RIVERA BARRERO, J.C. e INSUASTY SANTACRUZ, E.G. Op. cit., p. 53-54.

¹⁰⁹ CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA. Elaboración de productos con leche de cabra. Fundación para la Innovación Agraria. Santiago: 2000. p.111. <URL:<http://www.promer.org/getdoc.php?docid=110>>

¹¹⁰ PONCELET. <URL: <http://www.poncelet.es/pagina-34/enciclopedia-del-queso/elaboracion>>

Figura 16. Esquematzación de los diferentes estados de coagulación de la leche por acción de cuajos y coagulantes



Fuente: HARBOE, Marianne y BUDTZ, Peter

Primera fase, (A) y (B). Segunda fase, (C) y (D). Las prominencias vellosas de las micelas de caseínas representan los enlaces de las moléculas de k-caseína (A), que al ser removidos por la acción del coagulante (B), permiten que las micelas se agreguen y floculen (C). Seguido a la formación del coágulo por agregación de las micelas, da comienzo la fase no enzimática (D), en la que en mayor o menor medida el cuajo es retenido dentro de la matriz de la cuajada, consecuentemente tiene un rol importante en la maduración del queso: desarrollo de textura y sabor.

4.5.2.6 Corte de la cuajada y desuerado. Poncelet¹¹¹ reporta que, una vez transcurrido el tiempo de coagulación y comprobando que la cuajada tenga la consistencia y textura adecuada, se corta mediante unos instrumentos denominados liras que presentan una serie de hilos tensos y paralelos entre sí. Como consecuencia de dicho corte se produce un drenaje inicial del suero. Después se agita y eleva la temperatura para favorecer la expulsión del suero, con el fin de obtener un mejor desuerado.

¹¹¹ PONCELET, Op. cit.

Es así como, Dezi¹¹² afirma que para obtener un producto tierno, se deben dejar los granos de tamaños mediano a grande, alrededor de los 1,5 a 2 cm. de arista. En este sentido, el Ministerio de Agricultura de Chile¹¹³ plantea, mientras menor sea el tamaño de los granos de cuajada mayor será la eliminación de suero, por lo tanto se obtendrá un queso más seco.

4.5.2.7 Moldeo. Poncelet¹¹⁴ indica que, el moldeo consiste en el llenado de los granos de la cuajada en moldes. Estos moldes son actualmente de acero inoxidable o de plástico alimenticio, aunque antiguamente podían ser de madera.

4.5.2.8 Prensado y empacado. Una vez llenados los moldes se pasa al prensado, que tiene como finalidad dar la forma definitiva a la cuajada, evacuar el suero y el aire atrapado entre los granos y favorecer la unión de los granos de la cuajada. Una vez obtenido el producto final se empaca.

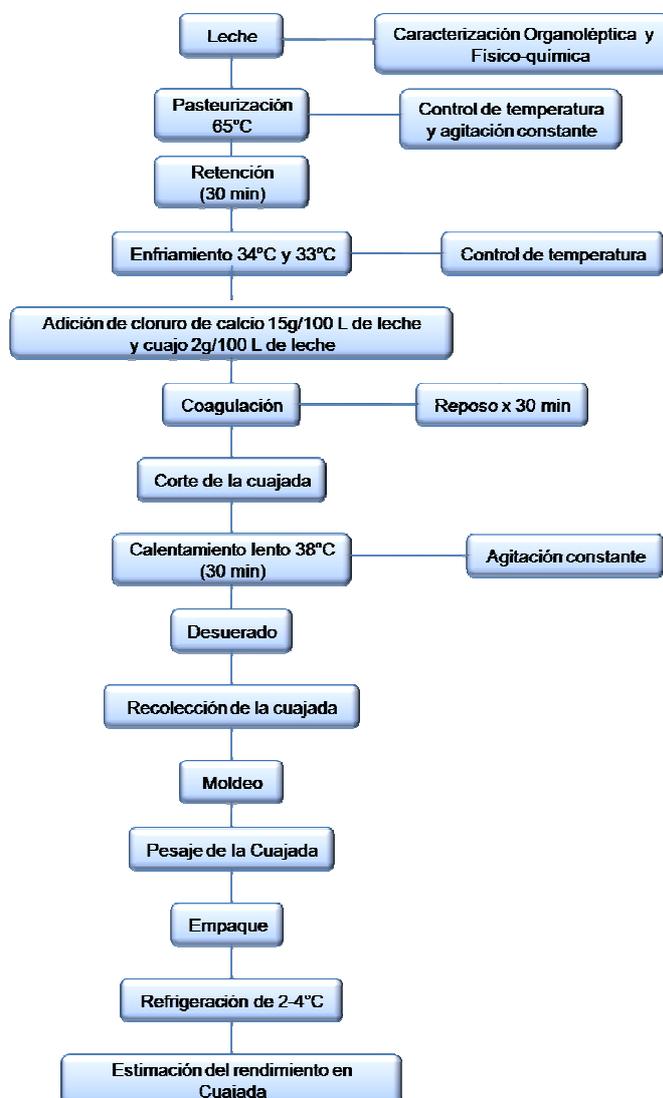
4.5.2.9 Flujograma. Debido a que el trabajo de campo de esta investigación se realizó en las plantas de Colácteos, se acogió el flujograma para el procesamiento de cuajada que se desarrolla en esta cooperativa, el cual es el siguiente:

¹¹² DEZI, Federico. Elaboración de queso Mozzarella con leche de búfala. En: FORO BOVINOS LECHEROS. (2004). <URL:<http://www.zoetecnocampo.com/cgi-bin/ubbcgi/postings.cgi?action=editpost&forum=%C2%ABBovinos+Leche%C2%BB&number=5&topic=000120.cgi&ReplyNum=00005&TopicSubject=Elaboraci%C3%B3n+de+queso+Mozzarella+con+leche+de+b%C3%BAfala>>

¹¹³ CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA. Op. cit.

¹¹⁴ PONCELET, Op. cit.

Figura 17. Flujograma elaboración de la cuajada



Fuente: COLÁCTEOS, 2008.

4.5.3 Rendimiento en cuajada. Según Inda¹¹⁵, tradicionalmente, en la mayoría de las empresas pequeñas y medianas, el rendimiento se expresa como la cantidad de cuajada, en kilogramos, que se obtiene a partir de una cierta cantidad de leche, en litros, y en algunos países el rendimiento se expresa a la inversa; es decir, como la cantidad de litros de leche que se requiere para producir un kilogramo de cuajada.

¹¹⁵ INDA CUNNINGHAM, Arturo Enrique. Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de la Quesería. Mexico. 2000. <URL: http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/QUESO/queso.htm>

4.5.3.1 Factores que afectan el rendimiento. De acuerdo con Berra:

Numerosos factores pueden afectar el rendimiento del queso, a continuación se exponen algunos de ellos:

❖ **Composición de las proteínas.** Ya que sólo la caseína es transferida al queso, es importante la relación entre caseína y proteínas totales, ya que puede variar en forma significativa. Además, la relación entre κ -caseína y caseína total, que también es variable, es de mucha importancia debido a que la CMP se divide. Cabe recordar que el contenido de nitrógeno de las proteínas varía, y que la leche también contiene NNP. En consecuencia, el análisis de proteínas representa una información muy valiosa al momento de analizar el rendimiento.

❖ **Almacenamiento en frío.** El almacenamiento refrigerado de la leche puede disminuir los rendimientos. Parte de la caseína, particularmente de la β , y parte del fosfato coloidal se solubilizan y pueden llegar a eliminarse con el suero. Al someter a la leche a tratamiento térmico, estos componentes regresan a las micelas, en un grado que depende de la temperatura y tiempo de calentamiento. El almacenamiento prolongado puede inducir la proteólisis.

❖ **Proteólisis.** El desdoblamiento de la caseína reduce naturalmente el rendimiento. Esto podría deberse a varias enzimas:

- **Plasmina:** Presente en forma natural en la leche, la cual desdobla especialmente a la β -caseína, dando como resultado γ -caseína y proteasapectona; ésta última se pierde básicamente en el suero. La actividad de la plasmina en la leche se puede incrementar con recuentos altos de células somáticas.

- Las enzimas producidas por microorganismos contaminantes, especialmente psicrótrofos, puede ocasionar proteólisis considerables.

- Los microorganismos iniciadores desdoblan una parte de la caseína. Esto es particularmente importante cuando la leche está pre-acidificada antes de la coagulación, pero también sucede durante la elaboración de la cuajada cuando este proceso se prolonga demasiado.

- El cuajo utilizado puede contener una o más enzimas que producen una proteólisis adicional, además de dividir al CMP.

❖ **Lipólisis.** Si es excesiva, hace que algunos ácidos grasos libres se pierdan en el suero.

❖ **Minerales.** El contenido de fosfato de calcio coloidal (FCC) en las micelas puede variar, por ejemplo, de 7 a 9 g. por cada g. de para-caseína. El contenido de FCC se incrementa levemente si se agrega cloruro de calcio a la leche. La cantidad de FCC que se transfiere al queso depende en mayor medida del pH de la mezcla cuajada-suero en el momento de separar el suero, debido a que el FCC se solubiliza a pH bajo¹¹⁶.

¹¹⁶ BERRA, Carlos L. Proteína láctea: Requisito indispensable para la competitividad. IV Seminario Internacional: competitividad de carne y leche.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en las plantas de Coláceos ubicadas en los municipios de Pasto y Guachucal (Figura 17).

Figura 18. Mapa municipios de Pasto y Guachucal



Fuente: Modificado de sitio oficial de Guachucal

El Municipio de Pasto, se localiza en la región centrooriental de los Andes en el departamento de Nariño, limitando al norte con los Municipios de Taminango y San Lorenzo, al oriente con el Municipio de Buesaco y el Valle de Sibundoy en el Departamento de Putumayo, al sur con el Municipio de Córdoba y al Occidente con los Municipios de el Tambo, la Florida y Tangua. La ciudad de Pasto, cabecera municipal y capital de Nariño, está situada a 1° 13' y 16" de latitud norte y 77° 17' y 2" de longitud al oeste de Greenwich (IGAC 1978). Con una altitud de 2400 m.s.n.m., una precipitación pluvial promedio de 960mm anuales y una temperatura promedio de 13 °C¹¹⁷.

El municipio de Guachucal, está ubicado al suroccidente del departamento de Nariño y al norte de la provincia del Carchi (República del Ecuador), a 87 km de San Juan de Pasto. Limitando al norte con el municipio de Sapuyes, al oeste y sur

¹¹⁷ <URL:<http://www.pasto.gov.co/nuestromunicipio.shtml?apc=m-l1--&m=f#geografia>>

con el municipio de Piedrancha, al este y sureste con el municipio de Cumbal y al este con los municipios de Cuaspud, Aldana y Pupiales¹¹⁸. Presenta una altura de 3180 m.s.n.m. Geográficamente se encuentra localizado entre 0° 53' 55" y 1° 05' 25" latitud norte y una longitud de 77°32'24" al occidente del meridiano de Greenwich. Con una precipitación pluvial promedio de 1200mm anuales y una temperatura que oscila entre 8 – 12°C, lo cual ubica a este municipio en la zona de vida Bosque Húmedo Montano (bh-M). (UMATA – Guachucal, 2008).

5.2 SELECCIÓN DE ANIMALES

Para realizar este proyecto se contó con la base de datos suministrada por Meg@lac, la cual registró 68 animales de la raza normando genotipificados para k-caseína (AA, AB, BB) en los municipios de Pasto y Guachucal. A partir de este grupo de animales, se escogieron 15 vacas (Cuadro 8) que cumplieran con las condiciones establecidas para el muestreo (genotipo y tercio de lactancia); además se tuvo en cuenta su edad, número de lactancias y lactancia ajustada a 305 días. Cabe aclarar que, una de las mayores limitantes que se tuvo en este proceso fue encontrar animales con genotipo AA, ya que en esta raza la frecuencia genotípica fue del 5.19%¹¹⁹ y además los pocos ejemplares con este genotipo encontrados en la región, no cumplieron con las condiciones productivas antes mencionadas.

Cuadro 10. Animales muestreados

Municipio	Finca	Propietario	Identificación del animal	Genotipo	Edad (meses)	Tercio Lact.	No. Lact.
Guachucal	Las Acacias	Edgar Ruano	Tartamuda	AA	101,3	1	5
Guachucal	Las Collas	Javier Vela	Córcega	AA	53,9	2	2
Guachucal	Las Collas	Javier Vela	Parisina	AB	52,8	1	2
Guachucal	Las Collas	Javier Vela	Cerdeña	AB	52,1	2	2
Guachucal	Las Collas	Javier Vela	Atila	AB	42,2	2	2
Pasto	Zarsal	Oscar Quintero	Edecana	AB	101,5	3	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Ingenua	AB	55,9	3	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Paisa	BB	76,8	1	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Nubiola	BB	125,3	1	2
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Cotorra	BB	124,9	1	3

¹¹⁸ <URL:<http://www.guachucal-narino.gov.co/nuestromunicipio.shtml?apc=m111--&m=f&s=m#geografia>>

¹¹⁹ SOLARTE, Op cit., p. 42.

Municipio	Finca	Propietario	Identificación del animal	Genotipo	Edad (meses)	Tercio Lact.	No. Lact.
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Canela	BB	101	2	4
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Tizana	BB	109,8	2	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Camelia	BB	113,8	3	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Manizalita	BB	77	3	3
Pasto	Los Arrayanes	Iván Caviedes	Violetera	BB	115,5	3	4

Fuente: Esta investigación

5.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el trabajo de campo se utilizó los siguientes materiales y equipos:

- ✓ Agitadores
- ✓ Atomizador
- ✓ Balanza
- ✓ Baldes
- ✓ Bandejas
- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Coladores
- ✓ Desinfectante (hipoclorito de sodio)
- ✓ Dotación personal (gorro, tapabocas, overol blanco, botas, petos)
- ✓ Empaques
- ✓ Equipo de Ekomilk
- ✓ Estufas
- ✓ Galones
- ✓ Insumos (cuajo y cloruro de calcio)
- ✓ Laboratorios
- ✓ Libreta de apuntes
- ✓ Lira metálica
- ✓ Litro
- ✓ Marcador permanente
- ✓ Moldes
- ✓ Ollas de acero inoxidable
- ✓ Papel Aluminio
- ✓ Programas Informáticos
- ✓ Reloj
- ✓ Selladora
- ✓ Termómetro de punción

5.4 PROCESAMIENTO DE LA CUAJADA

Este proceso se realizó, a partir de una muestra de 4 L de leche, de los cuales 1 L se utilizó para el análisis físico-químico y los 3 L restantes para obtener una cuajada. Proceso que se explica a continuación:

5.4.1 Toma de muestras. Para este paso se contó con el apoyo de Colácteos, quienes se encargaron de transportar leche a procesar, previamente identificada y separada en galones desde de la finca hasta la planta, bajo la supervisión de los técnicos de esta cooperativa (Figura 19).

Figura 19. Muestras de leche



Fuente: Esta investigación

5.4.2 Recepción de leche. Una vez recepcionada la leche en plataforma, se realizó el análisis físico-químico, determinándose los porcentajes de grasa, proteína total, densidad y sólidos no grasos, a través del equipo EkoMilk Analyzer (Figura 20). Además, el porcentaje de grasa se corroboró manualmente a través del método Gerber, densidad mediante lactodensímetro y acidez por el Método Dornic ($^{\circ}$ D). El análisis microbiológico se estableció mediante cultivos con el fin de realizar un conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC/mL), los cuales se encontraron dentro de los valores permitidos.

Figura 20. Análisis físico-químico



Fuente: Esta Investigación

5.4.3 Procesamiento. La leche se calentó hasta llegar a una temperatura de 65 $^{\circ}$ C (pasteurización lenta) con agitación constante, luego se llevó a cabo el proceso de retención por 30', controlando la temperatura alcanzada, sin agitación.

Posteriormente, se realizó el proceso de enfriamiento, disminuyendo la temperatura a 34°C y 33°C, momento en el cual se adicionó 0.45 g de cloruro de calcio y 0.06 g de cuajo, respectivamente; esto con el fin de dar inicio a la fase de coagulación, la cual duró 30'.

Concluido este tiempo se procedió a revisar la consistencia de la cuajada, para determinar si era el momento preciso para realizar el corte o había necesidad de prolongar el tiempo. Cumplida esta condición, se realizó el corte de la cuajada con una lira metálica, para obtener granos más finos y un mejor desuere. Una vez cortada la cuajada, se sometió a calentamiento para alcanzar y mantener una temperatura de 38 °C, a partir de la cual se agitó suavemente para extraer el suero. Después, los granos sedimentados se colaron para depositarse en moldes. Finalmente, se pesó el producto obtenido y se llevó a cuarto frío a una temperatura de 4°C (véase Figuras 21 - 26).

Figura 21. Pasteurización lenta



Fuente: Esta investigación

Figura 22. Proceso de retención



Fuente: Esta investigación

Figura 23. Enfriamiento y adición de insumos



Fuente: Esta investigación

Figura 24. Tiempo de coagulación



Fuente: Esta investigación

Figura 25. Corte de la cuajada



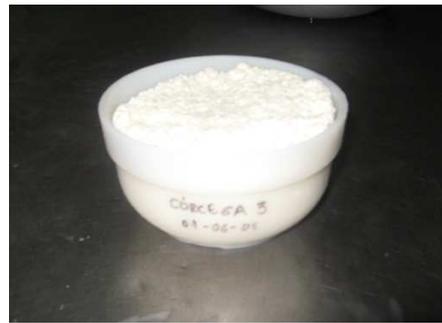
Fuente: Esta investigación

Figura 26. Desuere de la cuajada



Fuente: Esta investigación

Figura 27. Recolección y moldeo de la cuajada



Fuente: Esta investigación

Figura 28. Pesaje de la cuajada



Fuente: Esta investigación

Figura 29. Almacenamiento en cuarto frío



Fuente: Esta investigación

5.4.4 Rendimiento en Cuajada. Para el cálculo de esta variable, se aplicó la siguiente ecuación:

$$RC = VL/WC$$

Donde:

RC = Rendimiento en cuajada

VL = Volumen de leche (L)

WC = Peso de la cuajada

5.5 MODELO ESTADÍSTICO

Los resultados de calidad composicional de la leche y rendimiento en cuajada se obtuvieron a partir de 24 ensayos, correspondientes a la posible relación de los tres tercios de lactancia y el genotipo para K-Cn, es decir se utilizaron tres replicas para cada tratamiento. Sin embargo, para el caso del genotipo AA en el tercer tercio, no se pudo completar el muestreo debido a que antes de llevar a cabo los últimos ensayos, se presentaron situaciones imprevistas (descartes, muertes y comportamiento animal atípico), lo que obstaculizó la realización de los análisis. En consecuencia, la base de datos que se utilizó para desarrollar el modelo estadístico fue la siguiente:

Cuadro 11. Base de datos del modelo estadístico

Animal	Edad (meses)	Genotipo	Tercio	Grasa %	Proteína %	Rend (L/Kg)	No. Lact.	Lact. ajustada
Tartamuda 1	101,3	AA	1	4,7	3,4	4,36	5	3739
Tartamuda 2	101,3	AA	1	4,62	3,42	4,746	5	3739
Tartamuda 3	101,3	AA	1	4,86	3,39	5,464	5	3739
Córcega 1	53,9	AA	2	4.61	3.24	5,226	2	4621
Córcega 2	53,9	AA	2	4.61	3.24	5,535	2	4621
Córcega 3	53,9	AA	2	4.61	3.24	6,289	2	4621
Parisina 1	52,8	AB	1	2.78	3.09	6,722	2	5396
Parisina 2	52,8	AB	1	2.76	3.08	6,849	2	5396
Parisina 3	52,8	AB	1	2.77	3.07	7,228	2	5396
Cerdeña	52,1	AB	2	3.71	3.35	5,825	2	8303
Atila 1	42,2	AB	2	3.30	3.43	6,479	2	3808
Atila 2	42,2	AB	2	4.08	3.31	5,474	2	3808
Edecana 1	101,5	AB	3	4.78	3.36	5,328	3	3923
Edecana 2	101,5	AB	3	4.78	3.36	5,008	3	3923
Ingenua	55,9	AB	3	5.03	3.44	4,83	3	4521
Paisa	76,8	BB	1	3.59	3.10	6,622	3	4494
Nubiola	125,3	BB	1	2.23	2.05	5,836	2	4582
Cotorra	124,9	BB	1	3.64	3.15	6	3	5103
Canela 1	101	BB	2	4.56	3.20	5,671	4	4503
Canela 2	101	BB	2	3.81	3.28	5,172	4	4503
Tizana	109,8	BB	2	3.99	3.25	5,952	3	5140
Camelia	113,8	BB	3	4.65	3.44	4,792	3	4496
Manizalita	77	BB	3	4.96	2.63	5,415	3	6287
Violetera	115,5	BB	3	4.31	3.16	5,964	4	5310

Fuente: Esta investigación

Para llevar a cabo el análisis de varianza, se utilizó un modelo lineal desbalanceado en el que se incluyeron los efectos fijos como número de lactancia, tercio de lactancia, genotipos y su interacción, de acuerdo a la siguiente expresión algebraica:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_j + \alpha_k + (\tau, \alpha)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = Rendimiento en cuajada. Variable respuesta

- μ = Media común a todas las observaciones.
 τ_j = Efecto del j -ésimo genotipo; $i = 1, 2, 3; r = 3$
 α_k = Efecto del k -ésimo tercio de lactancia. $i = 1, 2, 3; r = 3$
 τ, α = Efecto de la interacción del j -ésimo genotipo con el k -ésimo tercio de lactancia.
 ε_{ijk} = Error experimental.

Después de haber corrido el modelo inicialmente planteado para grasa, proteína y rendimiento en cuajada, se encontró que:

Las variables número de lactancia, la interacción genotipo por tercio y las covariables edad, lactancia ajustada a 305 días, no fueron estadísticamente significativas en el modelo para grasa.

En el modelo para proteína las variables genotipo, la interacción genotipo por tercio y las covariables edad, lactancia ajustada a 305 días, tampoco resultaron estadísticamente significativas.

De igual manera, en el modelo para rendimiento en cuajada., la variable número de lactancia y las covariables edad, lactancia ajustada a 305 días, no fueron estadísticamente significativas.

Finalmente, estos factores fueron excluidos del modelo final de evaluación y los efectos que resultaron significativos se compararon con la medias mínimo cuadráticas y la prueba de Tukey-Kramer.

Para llevar a cabo todos los análisis se utilizaron los paquetes estadísticos SAS versión 9.2 y Enterprise SAS versión 4.2, debidamente licenciados para el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño¹²⁰.

¹²⁰ SOLARTE C. E., Op cit.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

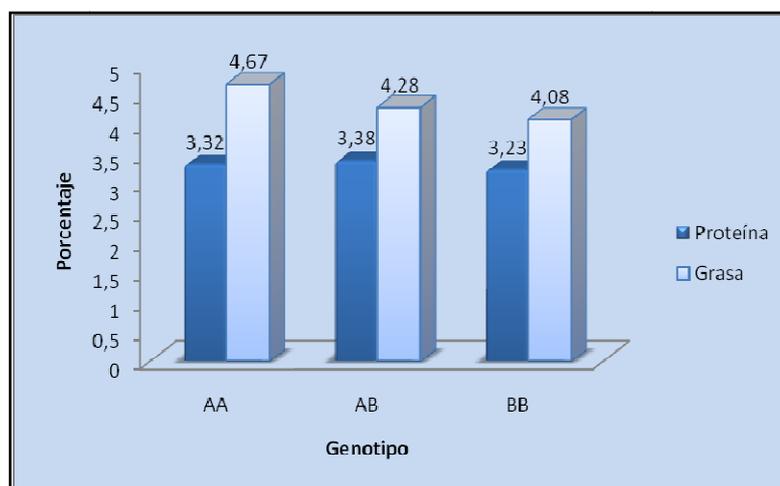
6.1 CALIDAD COMPOSICIONAL DE LA LECHE

En el Cuadro 12 y en la Figura 30 se presentan los resultados de los estadígrafos descriptivos de las variables grasa y proteína según el genotipo. En el Cuadro 13 y Figura 31 se indican los mismos resultados agrupados por tercio de lactancia, sin discriminar el genotipo.

Cuadro 12. Media del porcentaje de grasa y proteína por genotipo

Genotipo	Variable	Media	Error estándar
AA	Proteína	3.32	0.04
	Grasa	4.67	0.04
AB	Proteína	3.38	0.02
	Grasa	4.28	0.28
BB	Proteína	3.23	0.04
	Grasa	4.08	0.16

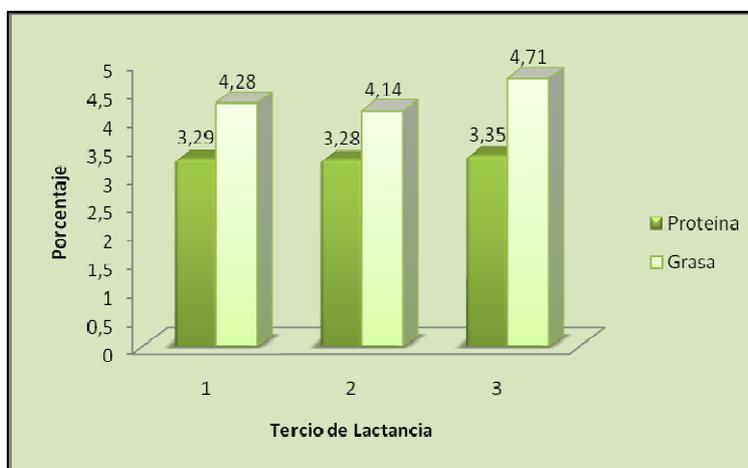
Figura 30. Media del porcentaje de grasa y proteína por genotipo



Cuadro 13. Media del porcentaje de grasa y proteína por tercio de lactancia

Tercio Lact.	Variable	Media	Error estándar
1	Proteína	3.29	0.07
	Grasa	4.28	0.28
2	Proteína	3.28	0.02
	Grasa	4.14	0.16
3	Proteína	3.35	0.05
	Grasa	4.71	0.12

Figura 31. Media del porcentaje de grasa y proteína por tercio de lactancia



6.1.1 Análisis de varianza para las variables grasa y proteína. En los Cuadros 14 y 16, se aprecian los resultados del análisis de varianza general para la variable grasa y proteína, respectivamente. En los Cuadros 15 y 17 se muestran las pruebas de significancia para cada factor incluido en dichos modelos.

Cuadro 14. Análisis de varianza del modelo completo para la variable grasa

Variable Dependiente: GRASA

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Modelo	4	3.72595196	0.93148799	10.29	0.0003**
Error	15	1.35824804	0.09054987		
Total	19	5.08420000			

**($p < 0.01$) = Altamente significativo; *($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

R-cuadrado	Coefficiente de variación	Media de la grasa
0.732849	6.901721	4.360000

Como se puede observar en el Cuadro 14, el coeficiente de determinación (r^2) indica que el 73.28% de la variación en el contenido de grasa se debe a los factores contemplados en el modelo, y el 26.72% se explica por factores no considerados en el mismo.

El coeficiente de variación, en todos los casos, debe entenderse como una medida estadística que tiene validez cuando se trata de comparar experimentos similares y dada la ausencia de los mismos sirve como cifra orientadora para futuras investigaciones, por lo tanto no es posible afirmar si es alto o bajo.

Cuadro 15. Análisis de varianza para la variable grasa con los factores del modelo

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Genotipo	2	2.34827085	1.17413542	12.97	0.0005**
Tercio	2	2.88252279	1.44126140	15.92	0.0002**

**($p < 0.01$) = Altamente significativo; *($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

Según los resultados obtenidos del análisis de varianza con los factores del modelo (Cuadro 15), se puede deducir que el contenido de grasa, bajo las condiciones de este estudio, está influenciado por el genotipo ($p < 0.01$) y el tercio de lactancia ($p < 0.01$). Sin embargo, no fue posible determinar cuál fue el mejor genotipo y tercio de lactancia, debido a que las medias mínimo cuadráticas no fueron estimables, por efecto del desbalance.

Estudios respecto al contenido de grasa asociado con los genotipos de K-Cn y tercio de lactancia, no fue posible encontrar referencias bibliográficas para la raza normando; sin embargo, autores como Ng-Kwai-Hang *et al.*¹²¹ en su estudio con raza holstein friesian reportaron que entre otros factores, el genotipo para K-Cn y tercio de lactancia, tienen un efecto altamente significativo sobre esta variable. De

¹²¹ NG-KWAI-HANG, K.F. *et al.* Relationships Between Milk Protein Polymorphisms and Major Milk Constituents in Holstein-Friesian Cows. *En:* Journal Dairy Science Vol. 69 No.1 (1986), p. 22-26. <URL: <http://jds.fass.org/cgi/reprint/69/1/22>>

igual manera, los mismos autores¹²² en otra investigación indican la influencia que tiene el tercio de lactancia en el contenido de grasa.

En general, el contenido de grasa obtenido fue de 4.36%, el cual se encuentra dentro de los valores reportados para esta raza; por ejemplo Boichard y Bonaïti¹²³, hallaron un porcentaje de 4.08%. En Colombia, Asonormando¹²⁴ ha estimado un valor de 4.25% y a nivel regional, Colácteos¹²⁵ obtuvo una grasa de 4.44%.

Cuadro 16. Análisis de varianza del modelo completo para la variable proteína

Variable Dependiente: PROTEÍNA

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Model	8	0.29555779	0.03694472	12.75	<.0001**
Error	13	0.03767857	0.00289835		
Total	21	0.33323636			

**($p < 0.01$) = Altamente significativo; *($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

R-cuadrado	Coefficiente de variación	Media de la proteína
0.886931	1.644999	3.272727

En el Cuadro 16, se puede apreciar que el modelo tuvo un coeficiente de determinación del 88.69%, el cual explica que la variación en el contenido de proteína se debe a los factores contemplados en el modelo y el 11.31% se da por factores no considerados en el mismo.

¹²² NG-KWAI-HANG, K.F. *et al.* Variability of Test-Day Milk Production and Composition and Relation of Somatic Cell Counts with Yield and Compositional Changes of Bovine Milk. En: Journal of Dairy Science Vol. 67, No. 2 (1984), p. 22-26. <URL: <http://jds.fass.org/cgi/reprint/67/2/361.pdf>>

¹²³ BOICHARD D. y BONAÏTI B. Genetic parameters for first lactation dairy traits in Friesian, Montbéliarde and Normande breeds. En: Génét. Sél. Evol., Vol. 19, No. 3 (1987), p. 339. <URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2713289>>

¹²⁴ ASONORMANDO, Op. cit.

¹²⁵ COLÁTEOS, Op. cit., p. 88.

Cuadro 17. Análisis de varianza para la variable proteína con los factores del modelo

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Tercio	2	0.13680358	0.06840179	23.60	<.0001**
No. Lactancia	1	0.01843810	0.01843810	6.36	0.0255*

**($p < 0.01$) = Altamente significativo; *($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

En el Cuadro 17, se indican que el tercio de lactancia ($p < 0.05$) y el número de lactancia ($p < 0.01$), resultaron estadísticamente significativos. Al igual que lo sucedido en los análisis de grasa, las medias mínimo cuadráticas tampoco fueron estimables.

No se pudo encontrar referencias bibliográficas para la raza normando respecto a los análisis, que relacionen el porcentaje de proteína, con el tercio de lactancia y el número de lactancia. No obstante, los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Ng-Kwai-Hang *et al.*¹²⁶, quienes encontraron que el tercio de lactancia y el número de lactancia, tienen efectos altamente significativos sobre el contenido de proteína en la raza holstein-friesian.

Por su parte, Macheboeuf *et al.*¹²⁷; Ramírez¹²⁸; Mclean *et al.*¹²⁹, reportan ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de variante de la k-caseína y el porcentaje de proteína de la leche, en las razas pie-noir, montbéliard, tarentais; frisón negro y jersey respectivamente. En contraste Eraso y Zambrano¹³⁰ encontraron diferencias estadísticamente significativas en el genotipo y el tercio de lactancia sobre los contenidos de proteína para la raza Holstein en el Trópico Alto de Nariño.

¹²⁶ NG-KWAI-HANG *et al.* Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows.

¹²⁷ MACHEBOEUF, D; COULON, J-B. y D'HOURL, P. Aptitude à la coagulation du lait de vache. Influence de la race, des variants génétiques des lactoprotéines du lait, de l'alimentation et du numéro de lactation. *En*: INRA Prod. Anim. Vol. 6, No. 5 (1993), p.335. <URL: http://granit.jouy.inra.fr/productions-animales/1993/Prod_Anim_1993_6_5_03.pdf>

¹²⁸ RAMÍREZ D, Patricio, Op. cit., p. 39.

¹²⁹ McLEAN, D.M. *et al.* Effects of milk protein genetic variants milk yield and composition. *En*: Journal of Dairy Science. Vol. 51, No. 4 (1984), p. 531- 546. <URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6512068>>

¹³⁰ ERASO M. y ZAMBRANO G. Relación entre los genotipos de la kappa caseína, el contenido proteínico total de la leche y el rendimiento en cuajada de los bovinos Holstein en el Trópico Alto de Nariño. San Juan de Pasto, 2009. 49 p. Trabajo de grado (Zootecnista). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.

En general, el contenido de proteína obtenido en esta investigación fue de 3.27%, valor que está dentro del rango reportado para esta raza. Es así como, Boichard y Bonaïti¹³¹, hallaron un porcentaje de 3.27%, en un total de 291 vacas normando francesas. En Colombia, Asonormando¹³² ha estimado un valor 3.43% y a nivel regional, Colácteos¹³³ obtuvo una proteína de 3.20%, en un total de 31 vacas.

Finalmente, se puede concluir que para determinar cuál es el mejor tratamiento en los modelos de grasa y proteína, es necesario por una parte ampliar el tamaño de muestra para futuros análisis, descartando la inclusión del homocigoto AA por su baja frecuencia genotípica, condición que obedece a una particularidad genética de la raza en todo el mundo¹³⁴.

6.2 RENDIMIENTO EN CUAJADA

6.2.1 Análisis de Varianza. En el Cuadro 18, se aprecian los resultados del análisis de varianza general y en el Cuadro 19 la prueba de significancia para cada factor incluido en el modelo.

Cuadro 18. Análisis de varianza del modelo completo para la variable rendimiento en cuajada

Variable Dependiente: Rendimiento

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Modelo	7	9.02874996	1.28982142	6.15	0.0013**
Error	16	3.35573000	0.20973313		
Total	23	12.38447996			

**($p < 0.01$) = Altamente significativo; *($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

R-cuadrado	Coefficiente de variación	Media del Rendimiento
0.729037	8.035260	5.699458

¹³¹ BOICHARD D. y BONAÏTI B. Op. cit., p. 339

¹³² ASONORMANDO, Op. cit.

¹³³ COLÁTEOS, Op. cit., p. 88.

¹³⁴ SOLARTE, Op. cit., p. 42.

Cuadro 19. Análisis de varianza para la variable rendimiento en cuajada con los factores del modelo

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Valor P. para F
Genotipo	2	1.77424018	0.88712009	4.23	0.0335 *
Tercio	2	3.72698800	1.86349400	8.89	0.0025 **
Genotipo*Tercio	3	3.52752178	1.17584059	5.61	0.0080 **

**($P < 0.01$) = Altamente significativo; *($P < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

De las cifras consignadas en el Cuadro 18, se destaca en primer lugar, que el modelo tuvo un coeficiente de determinación del 72.9%, que indica que en este porcentaje influyen los factores considerados en la evaluación para medir el rendimiento en cuajada; mientras que el 27.1% se explica por otros factores no considerados en el modelo.

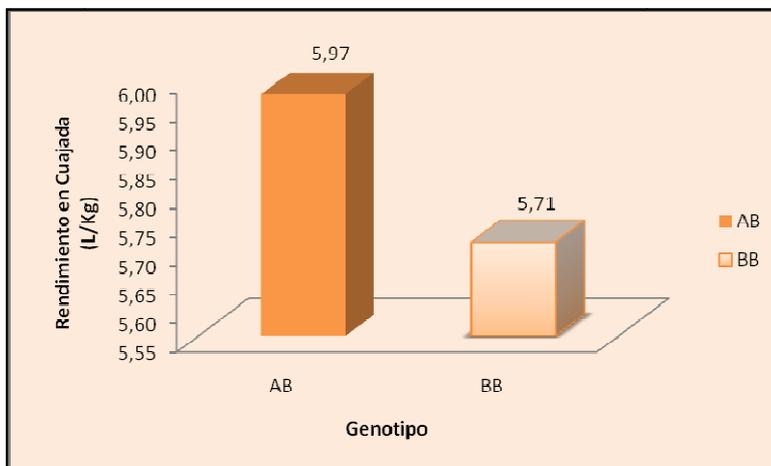
En cuanto al análisis desglosado, cuyos resultados se indican en el Cuadro 19, se concluye que el rendimiento en cuajada, bajo las condiciones de este estudio, está influenciado por el genotipo ($P < 0.05$), el tercio de lactancia ($P < 0.01$) y por la interacción entre dichos factores ($P < 0.01$). Estos resultados conducen a la necesidad de establecer estadísticamente cuál es el mejor tratamiento, en este caso en cuál de las interacciones entre el tercio de lactancia y el genotipo de K-Cn se produjo el mejor rendimiento en cuajada.

Tal como se indica en los Cuadros 20 y 21, al no ser estimable el efecto del homocigoto AA y el tercer tercio de lactancia, no fue posible determinar las diferencias estadísticas entre dichos factores. Sin embargo, con carácter informativo en las Figuras 32 y 33 se presentan los valores medios para los factores que fueron estimables. En consecuencia, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de la medias en cada interacción, mediante la prueba de Tukey-Kramer, cuyos resultados se indican en el Cuadro 22 y Figura 34.

Cuadro 20. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por genotipos

Genotipo	Rendimiento en Cuajada
AA	No estimable
AB	5.97144444
BB	5.71377778

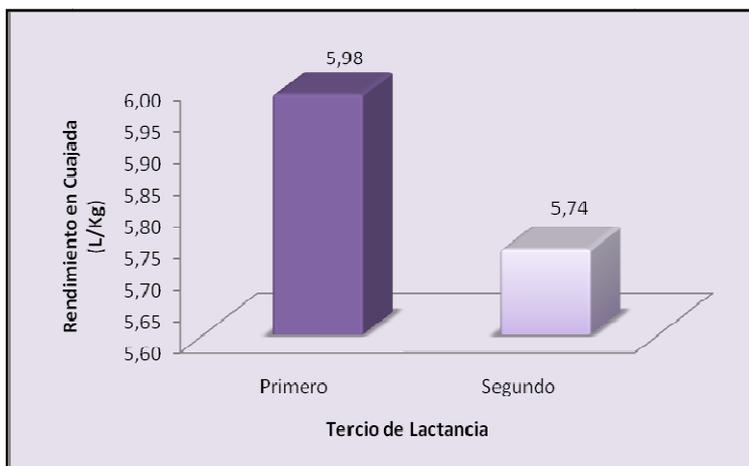
Figura 32. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por genotipos



Cuadro 21. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por tercio de lactancia

Tercio	Rendimiento en Cuajada
1	5.98077778
2	5.73588889
3	No estimable

Figura 33. Medias mínimas cuadráticas para el rendimiento en cuajada por tercio de lactancia

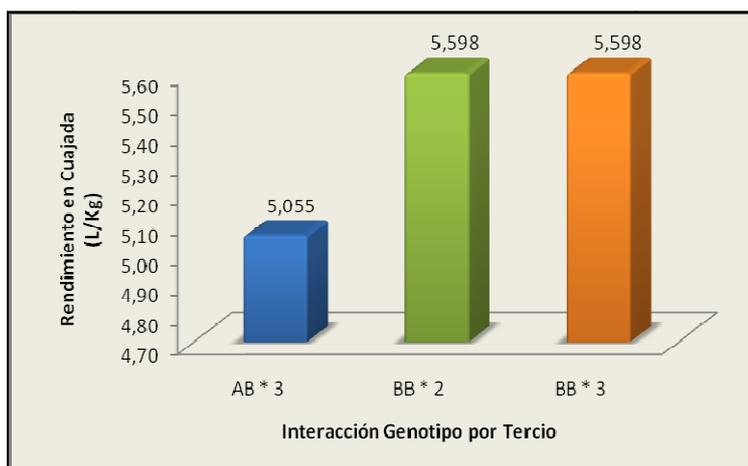


Cuadro 22. Comparación múltiple Tukey-Kramer para los efectos de interacción genotipo por tercio

Genotipo	Tercio	Rendimiento en Cuajada	Significancia
AB	1	6.93300000	NS
AB	2	5.92600000	NS
AB	3	5.05533333	0.0025**
BB	1	6.15266667	NS
BB	2	5.59833333	0.0409*
BB	3	5.59833333	0.0140*

** ($p < 0.01$) = Altamente significativo; * ($p < 0.05$) = Significativo; NS = No significativo

Figura 34. Comparación múltiple Tukey-Kramer para los efectos de interacción genotipo por tercio



De acuerdo con los resultados de la prueba de Tukey-Kramer se puede concluir que existen diferencias estadísticas significativas en las interacciones del genotipo BB en el segundo y tercer tercio de lactancia ($P < 0.05$). Mientras que la interacción del genotipo AB solo se presenta en el tercer tercio de lactancia ($P < 0.01$).

En diversos estudios relacionados sobre esta temática, autores como Eraso y Zambrano¹³⁵, reportaron un mejor rendimiento en cuajada en el genotipo BB con diferencias estadísticas significativas frente a los genotipos AA y AB. Sin embargo, no encontraron diferencias estadísticas significativas en la interacción genotipo por tercio de lactancia. De igual manera, Alipanah y Kalashnikova¹³⁶, establecieron

¹³⁵ ERASO y ZAMBRANO, Op. cit., p.49.

¹³⁶ ALIPANAH y KALASHNIKOVA, Op. cit., p. 856.

que la producción de queso con leche k-Cn BB fue más alta frente a la leche de genotipos AB y AA ($P < 0.05$).

Además, López y Vásquez citados por Ramírez¹³⁷ aseguran que la leche de las vacas que portan el alelo B del gen de la K-caseína presenta un rendimiento cualitativo y cuantitativo superior en la producción de quesos, comparado con el obtenido con la leche de las vacas que tienen el alelo A, sin embargo este último se encuentra con mayor frecuencia en la raza Holstein.

Es así como en dichas investigaciones, se destaca el genotipo BB por tener un mayor rendimiento quesero; aunque cabe resaltar que estos autores no incluyeron el efecto tercio de lactancia y su interacción con el genotipo. Por lo tanto, esta investigación no encontró referentes para hacer las respectivas comparaciones.

¹³⁷ RAMÍREZ D, Patricio, Op. cit., p. 39.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- ♣ En el Trópico Alto de Nariño, el número de ejemplares de raza normando es reducido y la frecuencia del genotipo AA K-Cn es baja.
- ♣ El genotipo y tercio de lactancia, tienen influencia en el contenido de grasa en la raza normando, bajo las condiciones de este estudio.
- ♣ El número y tercio de lactancia, tienen influencia en el contenido de proteína en la raza normando, bajo las condiciones de este estudio.
- ♣ Las covariables edad y lactancia ajustada a 305 días, no fueron estadísticamente significativas sobre la calidad composicional de la leche.
- ♣ El número de lactancia, las covariables edad y lactancia ajustada a 305 días, no fueron estadísticamente significativas sobre el rendimiento en cuajada.
- ♣ El rendimiento en cuajada estuvo influenciado por el genotipo, el tercio de lactancia y por la interacción entre ambos factores.
- ♣ En la raza normando, bajo las condiciones del Trópico Alto de Nariño, los mejores rendimientos en cuajada se presentaron en las interacciones del genotipo AB en el tercer tercio de lactancia y en el genotipo BB en el segundo y tercer tercio de lactancia.

7.2 RECOMENDACIONES

- ♣ Ampliar los estudios de esta investigación, incluyendo un mayor tamaño de muestra con los genotipos AB y BB que son los de mayor frecuencia en el Trópico Alto de Nariño.
- ♣ Difundir la información obtenida en esta investigación, para adoptar estrategias encaminadas al mejoramiento genético del ganado de la raza normando existente en el Trópico Alto de Nariño, con la posibilidad de mejorar la rentabilidad de los productores al incrementarse el precio de venta del litro de leche, por efecto de una mejor calidad composicional que a la vez se reflejará en un beneficio para el eslabón industrial.

- ♣ Mejorar la eficiencia de selección y calidad de la leche, a través de la implementación de técnicas biotecnológicas (inseminación artificial, transferencia de embriones, entre otras), con el fin de difundir material genético de la raza normando, que permita incrementar el rendimiento en los derivados lácteos.

- ♣ Evaluar el desempeño de los animales cruzados hosltein por normando, incluyendo el cambio en las frecuencia génica de los alelos para K-Cn.

- ♣ Evaluar el efecto de las variantes de la K-Cn, tanto en el rendimiento del queso doble crema como en la calidad composicional de la leche y del producto final, en la raza normando.

BIBLIOGRAFÍA

<URL:http://www.angelfire.com/magic2/bioquimica/sintesis_de_prote_nas.htm>

<URL:<http://www.pasto.gov.co/nuestromunicipio.shtml?apc=m-l1-&m=f#geografia>>

<URL:<http://permian.wordpress.com/2007/06/13/la-sintesis-de-proteinas/#more-71>>

<URL:<http://www.poncelet.es/pagina-34/enciclopedia-del-queso/elaboracion>>

<URL:<http://www.guachucal-narino.gov.co/nuestromunicipio.shtml?apc=m111--&m=f&s=m#geografia>>

<URL:http://www.lanormande.com/es/la_race_normande/une_fromagere.php>

ALBILLOS GARCÍA, Silvia. Aplicación de la electroforesis capilar para el análisis y seguimiento del grado de maduración de quesos de oveja y mezcla de la provincia de Burgos. España. 2003, p. 34-37.

ALINAGHIZADEH ROHALLAH; MOHAMMAD ABADI, Mohammadreza y MORADNASAB BADRABADI, Shahin. Kappa-casein gene study in Iranian Sistani cattle breed (*Bos indicus*) using PCR-RFLP. En: Pakistan Journal of Biological Sciences. Vol. 10, No. 23 (2007), p. 4291. <URL:<http://scialert.net/qredirect.php?doi=pubs.2007.4291.4294&linkid=pdf>>

ALIPANAH M. y KALASHNIKOVA L. A. Influence of K-casein genetic variant on cheese making ability. En: J. Anim. Vet. Adv. Moscú, Rusia. Vol. 6, No. 7 (2007), p. 856. <URL: <http://medwelljournals.com/fulltext/java/2007/855-857.pdf>>

ALVARADO, Carlos *et al.* Efecto de la Variante Genética de la k-Caseína sobre la Producción y Composición de la Leche de un Rebaño Holstein en el Trópico. En: Rev. Fac. Cienc. Vet. Maracay. Vol. 47, No.1 (jun. 2006). <URL:http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762006000100006&lng=es&nrm=iso>

ASONORMANDO. Asociación Colombiana de Criadores de Ganado normando <URL:<http://www.unaga.org.co/asociados/normando.htm>>

_____. La raza normando: la mejor quesera del mundo. Colombia. 2009. p. 1. <URL:http://www.produccionbovina.com/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/84-normando.pdf>

BARBOZA VARGAS, Natalia. Marcadores Moleculares y Aplicaciones. <URL:<http://biologia.ucr.ac.cr/profesores/Pilar%20Ramirez/Clase%20genetica.ppt>>

BERRA, CARLOS L. Proteína láctea: Requisito indispensable para la competitividad. IV Seminario Internacional: competitividad de carne y leche. <URL:http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/QUESO/queso.htm>

BETANCOURT WALTER, Antonio José. Alimentos 2: Guía para la Elaboración de Productos Lácteos, Vegetales y Carnes. Ministerio de Educación Nacional. Colombia. ISBN Vol. 958-9488-60-9.

BOICHARD D. y BONAÏTI B. Genetic parameters for first lactation dairy traits in Friesian, Montbéliarde and Normande breeds. En: Génét. Sél. Evol., Vol. 19, No. 3 (1987), p. 339. <URL:<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2713289>>

CALVO, Miguel. Caseínas. Bioquímica de los Alimentos. <URL:<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/caseina.html>>

CARULLA, Juan y PABON, Martha. Cómo Aumentar la Proteína y Grasa Láctea desde las Fincas. Grupo de Investigación en Nutrición Animal. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 2008.

CERÓN, J.M. y H.J. Correa. 2005. Factores nutricionales que afectan la composición de la leche En: Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca. M. Pabón y J. Ossa editores. Biogénesis p. 229-261, citado por CARULLA, Juan y PABON, Martha.

COLÁCTEOS, Revista “XXXIII Asamblea General Ordinaria Ejercicio 2006”. p. 28-31.

COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Resolución 000012 DE 2007. p. 2-3.

COULON, Jean. Calidad de la Leche y Producción Quesera: El Efecto de la Genética y de la Alimentación en las Propiedades Coagulantes de la Leche y en las Características Sensoriales del Queso. Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, INRA, Francia. (2004), p. 59. <URL:http://www.anarb.it/Bruna2004/Spagnolo/Relazioni_SP/Relazioni/COULON%20SPA.pdf>

CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA. Elaboración de productos con leche de cabra. Fundación para la Innovación Agraria. Santiago: 2000. p.111. <URL:<http://www.promer.org/getdoc.php?docid=110>>

DELAVAL. Leche. 2006. <URL:http://www.delaval.com.co/Dairy_Knowledge/EfficientCooling/Leche.htm>

DEZI, Federico. Elaboración de queso Mozzarella con leche de búfala. En: FORO BOVINOS LECHEROS. (2004). <URL:<http://www.zoetecnocampo.com/cgi-bin/ubbcgi/postings.cgi?action=editpost&forum=%C2%ABBovinos+Leche%C2%BB&number=5&topic=000120.cgi&ReplyNum=000005&TopicSubject=Elaboraci%C3%B3n+de+queso+Mozzarella+con+leche+de+b%C3%BAfala>>

ERASO M. y ZAMBRANO G. Relación entre los genotipos de la kappa caseína, el contenido proteínico total de la leche y el rendimiento en cuajada de los bovinos Holstein en el Trópico Alto de Nariño. San Juan de Pasto, 2009. 49 p. Trabajo de grado (Zootecnista). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia.

FELMER, R. y BUTENDIECK, N. Frecuencia alélica del gen de la k-caseína bovina en un rebaño Frisón Negro Chileno. En: Arch. Med. Vet. Chile. Vol. 30, No. 2 (1998).

FERNÁNDEZ SEVILLA, José María. Estructura y función de proteínas y péptidos: mioglobina, hemoglobina, miosina, caseína, colágeno, gluten, lactoalbúmina y ovoalbúmina. 2005, p. 14 - 15. <URL:<http://www.ual.es/~jfernand/TA/Tema3/Tema3-QuimicaAlimentos.pdf>>

Fisicoquímica de la Leche. 2000. <URL:<http://www.fortunecity.com/littleitaly/siena/600/fisiclec.htm>>

FORMAGGIONI P. *et al.* Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in bos genus. Univ degli Studi di Parma. An della Facoltà di Med. Vet. 1999; <URL:<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/index2.htm>>

GARCÍA, Silvia. Aplicación de la electroforesis capilar para el análisis y seguimiento del grado de maduración de quesos de oveja y mezcla de la provincia de Burgos. España. 2003, p. 34-37.

GIOVAMBATTISTA, G. *et al.* Estado Actual del Mapeo de QTL'S para Producción Lechera. En: Agro sur. Valdivia. Vol.26, No.2 (jul. 1998).

GROSCLAUDE, F. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. En: INRA Prod. Anim., Vol. 1, No. 1 (1988), p. 5-17.

GUTIÉRREZ CARRERA, Susana. Polimorfismos de las Proteínas de la Leche en Ganado Vacuno Holstein-Frison de Cantabria. Relación con los Principales Rasgos Productivos y Aplicación a la Tecnología de Fabricación de Queso de Cantabria. Cantabria, 2004. Trabajo de grado (Doctorado) CIFA.

HANSEN, L.B.; HEINS B.J. y SEYKORA A.J. Comparación de los cruces normando-holstein con holstein puro y cruces de normando-jersey con jersey puro durante la primera lactancia. University of Minnesota, St Paul. 2009. <URL:<http://www.perulactea.com/2009/06/30/comparacion-de-los-crucesnormando-holstein-con-holstein-puro-y-cruces-de-normando-jersey-con-jersey-puro-durante-laprimera-lactancia/>>

HARBOE, Marianne y BUDTZ, Peter. Producción, acción y aplicación de cuajo y coagulantes. Copan Test PI. Buenos Aires. 2003. p. 12. <URL:http://www.asoleche.org/fileadmin/documentos/biblioteca_virtual/informacion_seccion_interna/memorias_reuniones_temas/Criterios_para_seleccion_de_coagulantes.pdf>

HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, Robier. Lactación, Síntesis y Secreción de la Leche y Aspectos Asociados a su Variación. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas. La Habana. Cuba. 1997

INDA CUNNINGHAM, Arturo Enrique. Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de la Quesería. Mexico. 2000.

JENNESS, R. Biochemical and nutritional aspects of milk and colostrum. En: Larson, B.L. (ed.), Lactation. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 1986.

JOLLÈS, J.F., SCHOENTGEN, F., ALAIS, C. y JOLLÈS, P. Studies on the primary structure of cow κ -casein: the primary sequence of cow para κ -casein. En: Chimia, Vol. 26 (1972), p. 645-646.

LÓPEZ, Ernesto y VÁSQUEZ, Neil. Determinación del sexo y genotipificación del gen de la κ -caseína en embriones bovinos. En: Rev Col Cienc Pec. Colombia. Vol. 17, No. 3 (2004), p. 232-233.

LÓPEZ GÓMEZ, Antonio. Manual de industrias lácteas. Capítulo 2. 2003, p. 23. <URL:http://books.google.com.co/books?id=xcaN14spLCcC&pg=PA287&source=gb_s_selected_pages&cad=4#v=onepage&q=cujada&f=false>

LÓPEZ, M.; HERNÁNDEZ, V. y ESTRADA, L. Correlación entre haplotipos para la κ -caseína y características de producción láctea en bovinos Holstein. URL:http://www.rcb.unal.edu.co/revista/vol2_num2/correlacion_haplotipos.pdf

MACHEBOEUF, D; COULON, J-B. y D'HOUE, P. Aptitude à la coagulation du lait de vache. Influence de la race, des variants génétiques des lactoprotéines du lait, de l'alimentation et du numéro de lactation. En: INRA Prod. Anim. Vol. 6, No. 5 (1993), p.335. <URL:http://granit.jouy.inra.fr/productions-animales/1993/Prod_Anim_1993_6_5_03.pdf>

MARTÍNEZ MARÍN, Andrés y SÁNCHEZ CÁRDENAS, Juan. Factores Nutricionales que afectan a la Composición de la Leche. 2007.

MAYA PANTOJA, Jorge Anibal. Manejo y Procesamiento de Lácteos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia. 2005

McLEAN, D.M. *et al.* Effects of milk protein genetic variants milk yield and composition. En: Journal of Dairy Science. Vol. 51, No. 4 (1984), p. 531- 546. <URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6512068>>

MEDRANO, J.F. Mejoramiento de la calidad de la leche. En: Mundo Ganadero. Vol. 3, No. 12 (1992), p. 25. <URL:http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_MG/MG_1992_12_92_25_30.pdf>

MENDEZ MANCERA, Viviana; OSUNA AVILA, Luis. Caracterización de la Calidad Higiénica y Sanitaria de la Leche Cruda en Algunos Sistemas Productivos de la Región del Alto del Chicamocha. Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia. (2007), p. 15-40. <URL:<http://tegra.lasalle.edu.co/dspace/bitstream/10185/423/1/T14.07%20M523c.pdf>>

MERCIER, J.C., BRIGNON, G. y RIBADEAU-DUMAS, B. Structure primaire de la caséine κ B bovine. Séquence complète. En: European Journal of Biochemistry. Vol. 35 (1973), p. 222-235.

MORALES S., María Sol. Revalorizando la grasa láctea: Fuente de ácido linoléico conjugado, un importante agente anticancerígeno. En: Tecno Vet. Chile. Año 6, No. 1 (mar. 2000). <URL:http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11521%2526ISID%253D462,00.html>

_____. Factores que afectan la composición de la leche. En: TecnoVet, Año 5, No. 1, (1999). <URL:http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html>

NG-KWAI-HANG, K.F. *et al.* Relationships Between Milk Protein Polymorphisms and Major Milk Constituents in Holstein-Friesian Cows. En: Journal Dairy Science Vol. 69 No.1 (1986), p. 22-26. <URL: <http://jds.fass.org/cgi/reprint/69/1/22>>

_____. Variability of Test-Day Milk Production and Composition and Relation of Somatic Cell Counts with Yield and Compositional Changes of Bovine Milk. En: Journal of Dairy Science Vol. 67, No. 2 (1984), p. 22-26. <URL: <http://jds.fass.org/cgi/reprint/67/2/361.pdf>>

ORTEGA PUERTO, Julio. Material de Apoyo, Sistemas de Producción Animal Parte I. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá D.C. Colombia. 2005.

POTTÍ, Daniel. Materias Primas: Leche: El sistema proteínico de la leche. 2007. <URL:<http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/laleche-proteinas.htm>>

RAMÍREZ AYALA, Acacia *et al.* Avances en la Investigación de las Características Fisicoquímicas y de Composición de la Leche Cruda. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México, D. F. 2004. p. 2. <URL:<http://www.alfaeditores.com/carnilac/Agosto%20Sep%202004/INVESTIGACI%D3N%20Avances%20en%20Ia%20Investigaci%F3n.pdf>>

RAMÍREZ DELGADO, Patricio Javier. Efecto de las Variantes Genéticas A y B de *k*-caseína y β -lactoglobulina, sobre la Composición Protéica y Mineral de la Leche. Época de Otoño. Valdivia, 2005. 13 p. Trabajo de grado (Licenciado en Ingeniería de Alimentos). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.

REQUENA, F.D.; AGÜERA, E.I.; REQUENA, F. Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. En: REDVET. Rev. Electrónica de Vet. 1695-7504, Vol. 8, No. 1(ene. 2007), p. 8. <URL: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html>>

RIVERA BARRERO, Julio César e INSUASTY SANTACRUZ, Efrén Guillermo. Tecnología de leche. Pasto-Colombia: Universitaria-Universidad de Nariño, 2008, p.12.

RUEDAS ALBA, Cynthia Dinora y MOLINA MACÍAS, Adrián. Industrialización de Lácteos de Bovinos., p.11-16. <URL:http://www.sra.gob.mx/internet/informacion_general/programas/fondo_tierras/manuales/Indust_Lacteos_Bovinos.pdf>

Sitio oficial de Guachucal en Nariño, Colombia. <URL: <http://www.guachucal-narino.gov.co/sitio.shtml?apc=m1m1--&x=1803072>>

SOLARTE, Carlos. E. *et al.* Grupo de Investigación “Producción y Sanidad Animal”. Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. 2008.

_____. Determinación de las Frecuencias Alélicas del Gen de la Kappa caseína (K-Cs) en la Población Bovina Lechera del Trópico Alto de Nariño. 2009. p. 26-29.

TORNADIJO, M. E. *et al.* La Calidad de la Leche destinada a la Fabricación de Queso: Calidad Química. España. En: Cienc. Tecnol. Aliment. Vol. 2, No. 2 (1998), p. 86-89.

UFFO, Odalys y MARTÍNEZ, Siomara. Amplificación por PCR de los genes que codifican para la α -lactoalbúmina, la β -lactoglobulina y la *k*-caseína de una vaca alta productora de leche y dos de sus descendientes e identificación de las variantes alélicas por RFLP. En: Rev. Salud Anim. La Habana, Cuba. Vol. 24, No. 1 (2002); p. 22-23. <URL:<http://www.censa.edu.cu/Revistas/rsa/v24n1/p22-26.pdf>>

VALENCIA TRUJILLO, Francis Liliana. Modulo Sistemas de Producción Bovino de Leche. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. 2005.

VALENZUELA ALVAREZ-SALAMANCA, L. Factores que influncian los parámetros técnicos y económicos en los sistemas intensivos de producción de leche en Chile. Chile, Octubre de 2004, 4 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Departamento de Ciencias Animales.

VELI, Eudocio *et al.* Evaluación de la variabilidad de genes de kappa-caseína en poblaciones de bovinos criollos de Ticllos y Huaschao, región Ancash. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). <URL: <http://www.inia.gob.pe/genetica/ZOOGENETICOS/Articulo%20V%20Congreso.pdf>>

VIKINGGENETICS. Comparación de los cruzamientos. Pruebas de California (Segunda Parte). 2006. <URL: <http://www.vikinggenetics.com/po/cross/articles/california2.pdf>>

VILORIA DE LA HOZ, Joaquín. Economía del Departamento de Nariño: Ruralidad y Aislamiento Geográfico, 2007. p. 45.

WATTIAUX, Michel. Composición de la leche y valor nutricional. En: Esenciales lecheras. Instituto Babcock para la investigación y desarrollo internacional de la industria lechera. Universidad de Wisconsin. 2005. Citado por Rivera e Isuasty, 2008, p. 14.

WIKIPEDIA.<URL:http://es.wikipedia.org/wiki/Leche#Composici.C3.B3n_de_la_leche>

ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y Tecnológicos de la leche. Perú. 2005. p. 12-20. <URL:http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Biologia%20y%20fisiologia%20de%20la%20lactacion/agroin_doc2.pdf>