

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELAS DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**Evaluación de la Calidad Proteica y Mineral de la Leche
de vacas Frisón Negro. Época de Otoño**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de Licenciado
en Ingeniería en Alimentos

Pedro Atalibar Gutiérrez Barría

Valdivia - Chile

2005

PROFESOR PATROCINANTE

Sra. Luz Haydeé Molina C.

Prof. Biología y Química
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sr. Bernardo Carrillo L.

Ingeniero Agrónomo
Ms. en Ciencia e Ingeniería de Alimentos
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sra. Irma Molina V.
Prof. Matemáticas y física.
Ms. en Estadística.
Instituto de Estadística

*A mis padres, hermanos y especialmente
a mi abuelita Maria que está en el cielo...*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer, a mis padres, ya que gracias a ellos estoy aquí, gracias por darme el apoyo, los valores y el amor necesario para ser la persona que ahora soy.

También quiero agradecer infinitamente a mi profesora patrocinante de tesis la Sra. Luz Haydeé Molina, por su inmenso apoyo y buena disposición, durante la realización de esta tesis.

A mis hermanos Gonzalo y Valentina, por su cariño y apoyo, aunque a veces me hacen enojar, los quiero muchísimo y este logro también es para ellos.

A Fabiola, por darme amor, fuerza y alegría durante gran parte de mi vida universitaria y espero que me lo siga dando por mucho tiempo más.

Quiero agradecer también mis amigos del Liceo Benjamín Vicuña Mackena, si existen los verdaderos amigos, ellos realmente los son, con ellos compartí un sueño que parecía imposible, que ahora para mi se ha hecho realidad y estoy seguro que a ellos también.

Hablando de verdaderos amigos, no se me pueden olvidar agradecer mis amigos y compañeros de carrera, José, Andrea, Chely y Lea, por su constante apoyo y amistades brindada a través de estos años de estudio, y que realmente espero, se mantenga en el tiempo.

También deseo agradecer a los profesores del Instituto de Ciencia y tecnología de los Alimentos, por haberme entregado las herramientas necesarias para ser profesional.

Y finalmente quiero agradecer al Proyecto Fondecyt 1030345, por el financiamiento otorgado, para la realización de esta tesis.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Composición proteica de la leche	3
2.1.1	Caseínas	4
2.1.2	β -lactoglobulina	5
2.2	Factores que afectan la composición proteica de la leche	6
2.3	Importancia tecnológica de las proteínas de la leche	11
2.4	Polimorfismo genético de las proteínas de la leche	13
2.4.1	Polimorfismo genético de κ -caseína	15
2.4.2	Polimorfismo genético de β -lactoglobulina	16
2.5	Efecto del polimorfismo genético sobre la composición de la leche y propiedades tecnológicas	17
2.6	Composición mineral de la leche y los factores que la afectan	19
2.7	Importancia tecnológica de los minerales de la leche	21
2.8	Raza Frisón Negro	23
3	MATERIAL Y MÉTODO	24
3.1	Materiales	24
3.1.1	Obtención de muestras	24
3.1.2	Lugar de ensayo	24
3.1.3	Equipos utilizados	25
3.1.4	Diseño experimental	25

3.2	Cuantificación de proteína total	26
3.2.1	Cuantificación de proteínas del suero	27
3.2.2	Determinación del contenido de caseína	27
3.3	Preparación de muestras de leche para la determinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina	27
3.4	Determinación de calcio total	28
3.5	Determinación de fósforo total	28
3.6	Análisis estadísticos	28
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
4.1	Composición proteica de la leche de vacas individuales	29
4.1.1	Contenido de proteína total en las muestras de leche de vacas Frisón negro, época otoño	29
4.1.2	Contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche de vacas Frisón Negro, época otoño	31
4.2	Composición mineral de la leche de vacas individuales	32
4.2.1	Contenido de calcio	32
4.2.2	Contenido de fósforo	35
4.3	Efecto de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre la composición proteica	37
4.3.1	Identificación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina	37
4.3.2	Efecto de las variantes A o B de κ -caseína en relación a la proteína total	39
4.3.3	Efecto de las variantes A o B de κ -caseína en relación al contenido de proteínas del suero y caseínas	40
4.3.4	Efecto de las variantes genéticas de β -lactoglobulina en relación al contenido proteína total	41
4.3.5	Efecto de las variantes de β -lactoglobulina en relación al	

	contenido de proteínas del suero y caseínas	43
4.4	Efecto de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre calcio y fósforo	44
4.4.1	Efecto de las variantes de κ -caseína sobre el contenido de calcio y fósforo	44
4.4.2	Efecto de las variantes de β -lactoglobulina sobre el contenido de calcio y fósforo	45
4.5	Efecto de la interacción de las variantes genéticas de κ -Cn y β -Lg sobre la composición proteica y mineral de la leche	46
4.6	Producción de leche	48
5	CONCLUSIONES	50
6	RESUMEN	52
	SUMMARY	53
7	BIBLIOGRAFÍA	54
	ANEXOS	66

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Fracciones proteicas de la caseína	4
2	Composición promedio aproximada (%P/P) de la leche de algunas razas de vacas	7
3	Cambios en la composición de la leche durante la lactancia	9
4	Principales propiedades funcionales de las proteínas de la leche	12
5	El efecto del fenotipo de proteína sobre la producción y composición de leche (g/kg)	14
6	Concentración de minerales de la leche	20
7	Equipos utilizados	25
8	Diseño experimental	26
9	Promedio y desviación estándar del contenido de proteína total de las muestras de leche según muestreo	31
10	Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas de las muestras de leche según número de muestreo	32
11	Promedio y desviación estándar del contenido de calcio (g/L) en las muestras de leche según muestreo	35
12	Promedio y desviación estándar del contenido de fósforo (% m/m) en las muestras de leche según muestreo	37
13	Variante genética de κ -caseína y β -lactoglobulina en las muestras de leche	38
14	Promedio y desviación estándar del contenido proteico en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína	40

15	Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína	41
16	Promedio y desviación estándar del contenido proteico en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina	42
17	Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina	43
18	Promedio y desviación estándar del contenido de calcio y fósforo (%) en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína	45
19	Promedio y desviación estándar del contenido de calcio y fósforo (%) en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina	46
20	Contenido proteico y mineral de la leche para combinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina	47
21	Promedio y desviación estándar de la producción de leche de las vacas estudiadas. Ordeño AM	48

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de las proteínas	3
2	Cambios en la concentración de lactosa, grasa y proteína en leche bovina durante la lactación	10
3	Distribución del contenido de proteína total a través de las épocas del año	30
4	Distribución del contenido de calcio a través de las épocas del año	33
5	Distribución del contenido de fósforo a través de las épocas del año	36

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Caracterización de las vacas en estudio	67
2	Resultados del contenido de caseína y número de caseína en la leche de las nueve vacas Frisón negro estudiadas	69
3	Contenido de fósforo, calcio	71
4	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de proteína total	73
5	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de proteínas del suero y caseínas	75
6	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de calcio	76
7	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de fósforo	78
8	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína total y variantes genéticas de κ -caseína	80
9	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína del suero, caseínas y variantes genéticas de κ -caseína	81
10	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína total y variantes genéticas de β -lactoglobulina	82
11	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína del suero, caseínas y variantes genéticas de β -lactoglobulina	83
12	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para calcio y fósforo según variantes genéticas de κ -caseína	85

13	Resultados obtenidos de los análisis estadístico para calcio y fósforo según variantes genéticas de β -lactoglobulina	86
14	Análisis estadísticos para combinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina	88
15	Producción de leche a través de los muestreos	91
16	Análisis estadísticos para la producción de leche AM	93

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de consumo aparente de leche, en Chile y las nuevas posibilidades de exportación que se abren con los tratados de libre comercio, que ya están en pleno funcionamiento y otros que están en vías de desarrollo, ameritan el estudio de las propiedades tecnológicas, que debe tener la leche como materia prima, para elaborar productos de gran calidad para poder llegar con éxito a los nuevos mercados.

Como ya ha sido estudiado, existen varios factores que afectan la composición de la leche cruda, los cuales le dan una cierta aptitud a la leche para la elaboración de variados productos, factores propios del animal, como genéticos, fisiológicos, sanitarios y factores ambientales tales como alimentación, ordeño y estacionalidad.

Dentro de los componentes de la leche que se ven mas afectados por estos factores se encuentran las proteínas, tanto en su fracción caseínica como su fracción albuminosa, los cuales inciden de manera significativa en las propiedades tecnológicas de la leche.

La presente investigación tiene por objetivo general, determinar la incidencia de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina, sobre la composición proteica y mineral de la leche de vacas Frisón Negro.

Los objetivos específicos de la investigación son:

- ⇒ Determinar el contenido de proteína total, caseínas, proteínas del lactosuero en las muestras de la leche de vacas individuales.
- ⇒ Analizar el contenido de fósforo y calcio en las muestras de leche.
- ⇒ Comparar la composición proteica y mineral obtenida en otoño, con la obtenida en otras estaciones del año, en el mismo grupo de vacas.
- ⇒ Evaluar la influencia de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre el contenido proteico y mineral en las muestras de leche de vacas Frisón Negro, en la época de otoño.
- ⇒ Medir la producción de leche de las vacas en estudio, ordeño AM.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Composición proteica de la leche

La mayor parte del nitrógeno de la leche se encuentra en la forma de proteína. Los bloques que construyen a todas las proteínas son los aminoácidos.

Existen 20 aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas. El orden de los aminoácidos en una proteína, se determina por el código genético, y le otorga a la proteína una conformación única. Posteriormente, la conformación espacial de la proteína le otorga su función específica. (WATTIAUX, 2003).

La FIGURA 1 muestra la estructura proteica en la que los aminoácidos están unidos por un enlace peptídico.

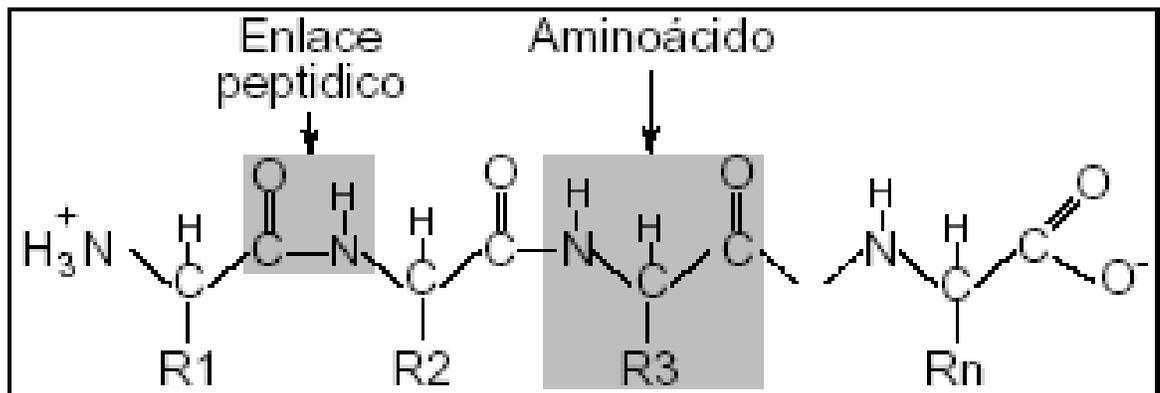


FIGURA 1 Estructura de las proteínas.

FUENTE: WATTIAUX (2003)

Según PRIMO (1997), la composición aminoácidica de las proteínas totales de la leche, destaca su riqueza en ácido glutámico y lisina, pero también muestran una deficiencia en metionina, cisteína y triptófano.

De acuerdo con FOX y McSWEENEY (1998), normalmente la leche bovina contiene alrededor de 3,5% de proteínas, que se divide en dos fracciones principales las caseínas que constituyen el 80% y las proteínas del suero que corresponden al 20% restante.

2.1.1 Caseínas. Según FARREL *et al.* (2004), las caseínas son fosfoproteínas que precipitan de la leche cruda acidificada a pH 4,6 a 20 °C, y se diferencian en distintas caseínas de acuerdo a su relativa movilidad electroforética en geles alcalinos de poliacrilamida o almidón que contienen urea y mercaptoetanol.

Con respecto a las caseínas PRIMO (1997), indica que estas se separan por electroforesis en cuatro proteínas, las que se muestran en el CUADRO 1.

CUADRO 1. Fracciones proteicas de la caseína.

Espece	% de la caseína	P.M.	P %
α_s (α_{s1} y α_{s2})	50	23.500 – 25.000	(1,2 – 1,5)
β	30	24.000	0,6
κ	15	19.000	0,2
γ	5	15.000	0,2

FUENTE: PRIMO (1997).

El CUADRO 1 muestra las fracciones proteicas que constituyen las caseínas, en las que destacan las caseínas α_s las que corresponden al 50% de las caseínas, las β que alcanzan el 30%, las κ -caseínas pese a estar en menor cantidad es de vital importancia en la elaboración de quesos, ya que los enlaces de esta proteína son hidrolizados por la renina y la quimosina, con el resultado de la pérdida de estabilidad, produciendo la coagulación de la caseína y la cuajada de la leche (PRIMO, 1997).

Según YAHYAOU *et al.* (2001), la κ -caseína es esencial para formación y estabilización de la micela, y es la principal influencia sobre las propiedades industriales de la leche.

Con respecto a lo anterior GUTIÉRREZ *et al.* (1996), señalan que la κ -caseína es la proteína de la leche que permite la formación y estabilización de micelas de leche y determina el tamaño y la función de ésta.

La proporción relativa de caseína sobre el contenido de proteína total, es un parámetro que puede ser usado para controlar la calidad de las proteínas de leches estandarizadas, lo cual es una tendencia creciente en la industria de alimentos (BELLOQUE y RAMOS, 2002).

2.1.2 β -lactoglobulina. Es una proteína pequeña, soluble en solución de sal diluida, con 162 residuos de aminoácidos con un peso molecular de 18.000 dalton (KONTOPIDIS *et al.*, 2004).

Este monómero contiene dos puentes de disulfuro (-S-S-) y un grupo tiol (-SH) por molécula. Aunque es la más hidrofóbica de las proteínas lactoséricas, la β -lactoglobulina es muy soluble en agua debido a que la mayoría de los componentes no polares están en el interior de la proteína y a que la mayoría de los componentes polares están en la superficie. En su estructura nativa, su capacidad de retención de agua es muy moderada, del orden de 0,04 g/g de proteína (CAYOT y LORIENT, 1997).

Es la principal proteína del suero de la leche. Ambas variantes genéticas A y B ocurren con alta frecuencia en la mayor parte de especies bovinas, y la presencia de una u otra de estas dos variantes afectan notablemente las propiedades de la leche (FARREL *et al.*, 2004).

Según FOX y McSWEENEY (1998), las β -lactoglobulinas representan el 50% del total de las proteínas del suero y el 12% de las proteínas totales.

La β -lactoglobulina es responsable de muchas de las propiedades funcionales de los productos de proteína de suero. En ciertos casos, estas funcionalidades pueden ser mejoradas por los tratamientos térmicos o por hidrólisis parcial o mezclas de péptidos mas grandes (CREAMER *et al.*, 2004).

2.2 Factores que afectan la composición proteica de la leche

El contenido de proteína fluctúa debido a factores tales como temporada, especie, nutrición o hábitos de ordeño. Para producir la leche con una calidad más consistente, la normalización de proteína de leche se convierte en un asunto importante para la industria lechera (MARSHALL, 1995).

Según WALSTRA *et al.* (1999), los principales factores que afectan la composición y las propiedades de la leche son factores intrínsecos (genéticos, raza, etapa de lactancia, edad de la vaca) y factores extrínsecos (alimentación, clima y factores ambientales como la estación del año).

Respecto a la raza WALSTRA *et al.* (1999), señala que este factor produce una amplia variabilidad del rendimiento y composición en leche.

El CUADRO 2 muestra algunos ejemplos de la variación de la composición de la leche entre distintas razas. En este se aprecia que todos los componentes de la leche, sufren alguna variación entre las distintas razas, destacando con mayor contenido de proteínas la raza Jersey con un 4%; además esta misma raza presenta un nivel más alto en los demás componentes.

Con respecto a este factor FOX y McSWEENEY (1998), señalan que incluso entre individuos de una misma raza, se produce variación de la composición de

la leche.

CUADRO 2 Composición promedio aproximada (%P/P) de la leche de algunas razas de vacas.

Raza	Materia seca	Grasa	Proteína cruda	Lactosa	Ceniza
Friesian	13,3	4,4	3,4	4,6	0,75
Holstein	12,1	3,4	3,3	4,5	0,75
Brown swiss	12,9	4,0	3,3	4,7	0,72
Jersey	15,1	5,3	4,0	4,9	0,72

FUENTE: WALSTRA *et al.* (1999).

La alimentación es otro conocido factor que influye sobre la composición proteica de la leche. En un estudio realizado por PETIT *et al.* (2004), determinaron que existen diferencias en el contenido proteico al alimentar vacas, con distintas dietas; estas dietas fueron semillas de girasol, semillas de lino, sales de calcio de aceite de palma (megalac) y un control, la concentración inferior de proteínas se tuvo con el megalac (3,68%) y la mas alta fue con la dieta a base de semilla de lino (3,87%) y el control (3,92%).

Según Sutton citado por COULON *et al.* (1998a), la composición química de la leche, el contenido de proteína en particular, puede variar enormemente bajo la influencia de factores dietéticos. Es conocido que el contenido de proteína crece linealmente con el aprovisionamiento de energía, este incremento en la alimentación produce un aumento del rendimiento de leche y la concentración de proteínas 2,4 kg/d y 1,5 g/kg respectivamente (COULON *et al.*, 2001).

Con respecto a la alimentación, un estudio realizado por O'BRIEN *et al.* (1997),

en Nueva Zelanda, encontró que se produce un cambio en la concentración de proteínas, al incluir diferentes niveles de hierba en alimentación de un grupo de 36 vacas Frisón.

Por su parte LATRILLE (1993), señala que alimentación sobre el contenido de proteínas de la leche es menor que el efecto de la genética.

La frecuencia de ordeño también influye sobre la composición proteica. Un estudio realizado por O'BRIEN *et al.* (2002), mostró que la reducción de la ordeña de dos veces al día a una por día, presentó un aumento 0,29% de proteínas y que aumentó el contenido de proteínas del suero.

La concentración de las proteínas cambia significativamente durante la lactancia, especialmente durante los primeros días después del parto (FOX y McSWEENEY, 1998). (FIGURA 2)

Este factor fue estudiado por OSTERSEN *et al.* (1997), sobre un grupo de 39 vacas Holstein Danés, cuyos resultados se muestran en el CUADRO 3. Allí se observa que el nivel de proteína total sufre una disminución desde la semana nº 2 de lactancia hasta la semana nº 24, luego comienza un aumento llegando al máximo contenido de proteínas, en la semana nº 47.

Además el CUADRO 3 muestra que el contenido de caseínas llega al mínimo en la primera semana luego sufre un aumento llegando a la semana 18 donde alcanza su mayor contenido, luego el contenido desciende levemente para mantenerse casi constante. En cuanto a las proteínas del suero se da de manera inversa, comienza en la primera con el contenido mas alto, luego en la semana 18 llega a su contenido mas bajo y luego aumenta a medida que avanzan las semanas.

CUADRO 3. Cambios en la composición de la leche durante la lactancia.

Semanas de lactancia	1	2	5	9	18	24	43	46	47
Proteína (g/kg leche)	38,9	33,9	30,6	30,8	32,3	32,9	38,4	39,3	40,7
Grasa (g/kg leche)	54,5	48,8	42,2	39,4	38,8	39,4	48,0	47,4	52,1
Lactosa (g/kg leche)	46,0	49,6	50,5	51,1	50,5	50,3	48,0	48,3	47,7
Caseínas g N/kg total N	753	784	792	799	803	796	788	794	787
Proteínas del suero g N/kg total N	186	159	148	143	141	149	164	160	169

FUENTE: OESTERSEN *et al.* (1997).

La FIGURA 2 muestra que el contenido de proteínas y materia grasa después de 5 semanas llega a su nivel más bajo y a medida que las semanas de lactancia avanza el contenido de proteína y materia grasa aumenta, a diferencia del contenido de lactosa que durante las primeras semanas llega a su concentración más alta y a medida que avanzan las semanas de lactación disminuye, lo que establece una relación inversamente proporcional entre el contenido de lactosa y el contenido de proteínas y materia grasa durante la lactación.

En muchos países, la producción de leche para propósito industrial es

estacional, para tomar el máximo provecho de la disponibilidad de pasto como fuente económica (ENNIS y MULLVIHILL, 2001).

Con respecto a este tema HERMASEN *et al.* (1999), han reportado que en la mitad del verano cuando las vacas son alimentadas principalmente por pasto la leche tiene un contenido de caseína inferior.

Esta disminución del contenido de proteínas fue encontrada por BERNABUCCI *et al.* (2002), en un estudio sobre la influencia de la época de verano sobre vacas Holsteins.

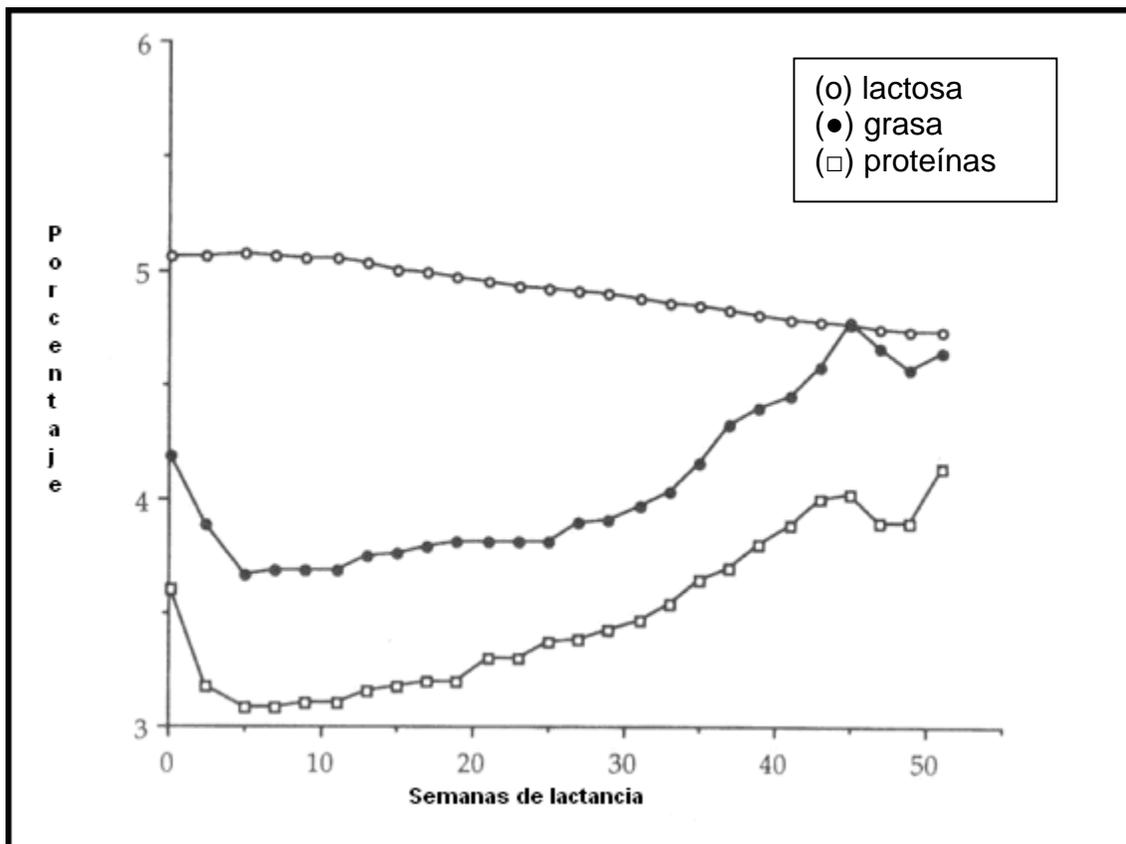


FIGURA 2 Cambios en la concentración de lactosa, grasa y proteína en leche bovina durante la lactación.

FUENTE: FOX y McSWEENEY (1998).

BARASH *et al.* (2001), explican que el efecto de la estacionalidad sobre la producción de leche y el contenido de proteína, están dados por efecto directo de la temperatura y la longitud del día. Rendimientos de leche y proteína fueron afectados por ambas variables: negativamente por la temperatura, $-0,38$ kg de la leche/ $^{\circ}\text{C}$ y $-0,01$ kg de proteína/ $^{\circ}\text{C}$ y positivamente por la longitud del día, $1,16$ kg de leche/h y $0,02$ kg de proteína /h. El contenido de proteína era más sensible a la temperatura y menos sensible a la longitud del día; estas diferencias en la sensibilidad explican el efecto en porcentaje de proteína de leche. El efecto negativo del calor en la producción de leche o en el contenido de proteína durante la lactación no fue proporcional y dependió de la cantidad de la leche.

2.3 Importancia tecnológica de las proteínas de la leche

La importancia tecnológica de las proteínas de la leche radica en el gran número de propiedades funcionales dadas por sus dos grandes fracciones, las caseínas y las proteínas del suero.

Según LINDEN y LORIENT (1996), estas propiedades funcionales están dadas por las diferencias fisicoquímicas (reparto de las zonas hidrófilas e hidrófobas, estructura terciaria, presencia de grupos sulfhidrilo libres) entre las caseínas y las proteínas del suero.

El CUADRO 4 muestra las principales propiedades funcionales de las proteínas, además muestra, las diferentes formas en que estas propiedades se manifiestan en las distintas fracciones de las proteínas de la leche. Por ejemplo en el caso viscosidad las caseínas, forman soluciones muy viscosas a pH neutro o alcalino e insoluble a pH 4,6, en cambio las proteínas del suero producen soluciones poco viscosas, excepto que estén desnaturalizadas por calor.

Con respecto a este tema De WIT (1998), señala que las propiedades funcionales de las proteínas del suero de la leche son gobernadas por la composición y estructura de la proteína e influida por las condiciones ambientales prevalecientes, tratamiento previos, condiciones de proceso, y métodos para su caracterización, que la hacen extremadamente difícil para evaluar estas propiedades y para predecir sus efectos en la funcionalidad de proteínas en productos comestibles.

CUADRO 4 Principales propiedades funcionales de las proteínas de la leche.

Propiedades	Caseínas	Proteínas del lactosuero
Solubilidad	Insolubles a pH 4,6.	Muy soluble a todos los pH.
Viscosidad	Soluciones muy viscosas a pH neutro.	Soluciones poco viscosas.
Hidratación	Retención de agua elevada con formación de cola a elevada concentración. Mínima a pH isoelectrico.	Se incrementa con la desnaturalización.
Gelificación	No hay gelificación térmica.	Termogelificación a partir de 20 °C.
Propiedades emulsificantes	Excelentes propiedades a pH neutro y alcalino.	Buenas propiedades emulsificante.
Propiedades espumantes	Buen esponjamiento.	Buen esponjamiento y solubilidad de la espuma.
Retención de aromas	Buena retención.	Retención muy variable.

FUENTE: LINDEN y LORIENT (1996).

Por su parte CREAMER *et al.* (2004), señalan que concentrados de proteína de suero de la leche son usados como ingredientes de alimentos, debido a sus propiedades funcionales así como sus propiedades alimenticias.

2.4 Polimorfismo genético de las proteínas de la leche

NG-KWAI-HANG (1997), señala que la detección del polimorfismo genético, ofrece nuevas explicaciones para las variaciones observadas en la composición y procesamiento de la leche. Es así, como la mayoría de las variantes genéticas de las proteínas en la leche han demostrado influencia en la composición de la leche.

Con respecto a este tema PEÑA *et al.* (2000), mencionan que distintas variantes alélicas de los genes de las proteínas de la leche, han sido informadas que están asociados con las diferencias en el contenido relativo de caseínas, proteínas del suero y propiedades fisicoquímicas de la leche.

MACKLE *et al.* (1999), observaron diferencias en la composición de la leche que fue asociado a los diferentes fenotipos de las proteínas de la leche y cuyos resultados se muestran en el CUADRO 5. En este se observa que la mayor producción de leche y contenido de proteínas del suero se logra con las interacción de las variantes AA de κ -caseína y β -lactoglobulina, mientras que el mayor contenido de proteína bruta y caseínas se encuentra en leches que presentan la interacción entre el fenotipo AB y BB, de β -lactoglobulina y κ -caseína respectivamente.

En cuanto a materia grasa y lactosa el CUADRO 5, muestra que el mayor contenido de grasa se encuentra en leches que presentan la variante B de κ -caseína y el fenotipo AB de β -lactoglobulina en tanto que el contenido mayor de lactosa se encuentra en leches que presentan el fenotipo AB de κ -caseína y β -lactoglobulina.

CUADRO 5. El efecto del fenotipo de proteínas sobre la producción y composición de leche (g/ kg).

Fenotipo de la proteína	β-Lg AA κ-Cn AA	β-Lg BB κ-Cn AA	β-Lg AB κ-Cn AA	β-Lg AB κ-Cn AB	β-Lg AB κ-Cn BB
Producción de leche, kg/d por vaca	19,9	18,3	17,6	17,1	15,5
Grasa	43,0	49,3	44,8	45,5	52,7
Lactosa	49,0	48,4	48,3	49,5	47,4
Proteína cruda	34,4	36,6	35,7	33,8	38,4
Proteína bruta	31,6	33,9	32,8	31,0	35,8
Caseína	25,6	28,6	27,1	26,0	29,9
α -CN	12,0	13,3	12,4	11,0	10,5
β -CN	9,8	10,8	10,7	11,2	14,0
κ -CN	2,66	3,37	2,96	2,88	4,04
γ -CN	0,22	0,41	0,23	0,17	0,35
Proteínas del suero	6,02	5,24	5,75	5,03	5,87
α -LA	0,97	1,21	1,09	0,98	1,14
B-LG	5,24	3,93	4,82	4,18	4,97
Número de caseínas	81,0	84,5	82,5	83,7	83,6
Caseína / Prot suero	4,30	5,51	4,75	5,19	5,14
NCN [†]	1,379	1,241	1,338	1,220	1,331
NPN	0,437	0,420	0,437	0,433	0,412
Urea, mM	9,07	8,45	9,34	9,51	8,11
Seroalbumina, mg/L	0,20	0,22	0,24	0,22	0,21
IgG, mg/L	0,53	0,65	0,48	0,45	0,52

FUENTE: MACKLE *et al.* (1999).

Por su parte WINKELMAN y WICKHAM (1997), señalan que la variante A de κ -Cn predomina sobre el alelo B, y este es encontrado con mayor frecuencia en

la raza Friesian. Además, encontraron que la variante B de la β -Lg predominaba sobre la variante A, presentándose con mayor frecuencia en la raza Ayrshire.

Según CHO *et al.* (2003), La interacción de la κ -caseína y β -lactoglobulina es fundamental para todas las modificaciones de la funcionalidad de los productos lácteos, inducidas por el calor, tal como la estabilidad de calor de leches concentradas.

2.4.1 Polimorfismo genético de κ -caseína. BARROSO *et al.* (1997), citan dos estudios iniciales que describieron las variantes genéticas de κ -caseína, A y B, (Neelin, 1964; Schmidt, 1964; Woychik, 1964); también mencionan que cuatro estudios describieron las variantes C, D, E, F y G de la misma proteína (Di Stasio y Merlin, 1979; Mariani, 1983; Seibert *et al.* 1987; Erhardt, 1989; Ikonen *et al.* 1996; Erhardt, 1996).

De acuerdo con el mismo autor alelos A y B determinan grandes diferencias en las características de producción (producción de leche y caseína, proteína y contenido grasa) y propiedades de elaboración de queso (tales como tiempo de coagulación, firmeza de la cuajada) de la leche.

MARIANI *et al.* (1997), determinaron contenidos más altos de caseínas en leches provenientes de 486 vacas de raza Bruna, con fenotipo B de κ -caseína.

Según TSIARAS *et al.* (2005), el genotipo AB de κ -caseína tiene un efecto positivo sobre el rendimiento y contenido de proteína, obteniendo 21kg mas de rendimiento y un 0,08% mas en el contenido de proteína que vacas con el genotipo AA de κ -caseína.

VIANA *et al.* (2001), señalan que el genotipo de la κ -caseína es el factor que más influye sobre las cualidades tecnológicas de la leche para la fabricación del queso, así los animales con genotipo κ -caseína BB producen leche con mayor porcentaje proteico, mejores propiedades de coagulación y sinéresis, lo que se traduce en un mayor rendimiento para la producción quesera.

2.4.2 Polimorfismo genético de β -lactoglobulina. Según FOX y McSWEENEY, (1998), cuatro variantes genéticas de β -lactoglobulina, designadas A, B, C y D, han sido identificadas en leche de bovino, una quinta variante ha sido identificada en un rebaño australiano.

Según CREAMER *et al.* (2004), la estructura, estabilidad e hidrólisis característica de la β -lactoglobulina A, no es la misma ya sea β -lactoglobulina B o C. Las variantes genéticas de β -lactoglobulina parecen estar más correlacionadas con el mayor rendimiento de proteínas de la leche, que con el contenido de proteínas (WALSTRA *et al.*, 1999).

De acuerdo con COULON *et al.* (1998a), el polimorfismo genético de β -lactoglobulina es el principal factor que afecta la relación caseína/proteína.

En tanto que ROBITAILLE *et al.* (2002), en un estudio sobre 30 vacas Holstein encontraron que las leches con el genotipo BB de β -lactoglobulina, presentaron mayor contenido de proteína total y número de caseínas, en tanto que las vacas con el genotipo AA, presentaron mayor producción de leche.

Con respecto a este tema, TSIARAS *et al.* (2005), encontraron que la variante B de la β -lactoglobulina está asociada a mayores rendimientos de leche, y a mayores rendimientos y contenidos de grasa.

PROSSER *et al.* (2000), señalan que leches que presentan el fenotipo A de β -lactoglobulina tienen menor contenido de caseínas, que leches que presentan la variante B.

Por su parte BONVILLANI *et al.* (1998), señalan que el polimorfismo genético de la β -lactoglobulina está asociado con variaciones en la composición y las propiedades para el procesamiento de la leche, lo cual la da a la proteína un alto valor económico.

2.5 Efecto del polimorfismo genético sobre la composición de la leche y propiedades tecnológicas

LODES *et al.* (1996), señalan que las variantes genéticas de las proteínas de la leche pueden tener un marcado efecto sobre el tiempo de coagulación y firmeza de la cuajada.

Existe interés considerable en la relación entre el polimorfismo y las propiedades de fabricación de queso de la leche. La variante de B de la κ -caseína es asociada con cuajadas de queso más firmes, tiempos de cuajada más cortos, un tamaño de micela más pequeño (HORNE *et al.*, 1996).

Un estudio realizado por IMAFIDON *et al.* (1995), sobre el efecto de las variantes genéticas (A, AB o B) de la κ -CN en la proteólisis del queso Cheddar, mostraron que las enzimas proteolíticas del queso tienen una especificidad sobre cada variante, lo cual otorga diferentes características en el queso.

Un estudio realizado por PATIL *et al.* (2003), indicó que leches que tienen, ya sea el genotipo AB o BB de κ -caseína mostraron un mayor contenido de grasa, proteínas, caseínas cenizas, calcio, fósforo y bajos contenidos de lactosa y citrato, comparado con leches que presentan el genotipo AA de κ -Cn.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por FREYER *et al.* (1999), que encontraron que las leches que contienen el homocigoto BB, de κ -caseína presentan mayor contenido de grasa y proteína, mientras las que presentan el heterocigoto AB, presentan un mayor rendimiento.

De acuerdo con WALSH *et al.* (1998), en un estudio sobre el efecto de las variantes genéticas de κ -caseína sobre las propiedades del queso Mozzarella, encontraron que existen diferencias significativas entre el contenido de grasa, proteínas total, proteínas del suero y caseína total, en los quesos elaborados con κ -caseína AB y BB teniendo mayor contenido este último fenotipo.

Además, encontraron también diferencias en la capacidad de formación de la cuajada, rendimiento quesero y la composición del queso, siendo mejor la variante BB de κ -caseína.

Según HILL *et al.* (1997), vacas que presentan la variante genética BB de β -lactoglobulina produce leche con mayor cantidad de caseínas, lo cual es más favorable para el procesamiento de la leche.

Por su parte CELIK (2004), observó diferencias entre quesos turcos blancos elaborados con leches de vacas Brown swiss que manifestaban la variante BB y AB de β -lactoglobulina, encontrando valores de 5,01% más alto en el rendimiento, 1,40% en sólidos totales, 0,88% en contenido de proteína y 5,18% en contenido de grasa, en los quesos elaborados con leches con la presencia de la variante BB de β -lactoglobulina.

BOBE *et al.* (2004), señalan que las variantes de B de κ -caseína y β -lactoglobulina están asociadas con una concentración mayor de ácidos grasos nuevamente sintetizados, a partir de los ácidos grasos C18:0 de la grasa de

leche, lo que tiene implicancia en la textura y en las propiedades sensoriales de los productos lácteos. Lo cual sugeriría que la selección genética de estas variantes se podría usar como un beneficio en la elaboración de productos lácteos con características más deseables.

La composición de leche de vacas de diferentes fenotipos de proteína de leche puede ser diferente. Según Hill citado por MACKLE *et al.* (1999), en un estudio en Nueva Zelanda con 80 vacas Fresian, la leche mezcla de las vacas que presentan el fenotipo AA de β -lactoglobulina tuvo 28% más de proteína de suero, 7% menos de caseína, 11% más de grasa, y 6% menos de sólidos totales, que las leches que presentaban el fenotipo BB de la β -lactoglobulina. Diferencias existen también entre la composición de leche de vacas que presentan los diferentes fenotipos de κ -Cn.

Estas diferencias indican que leche de vacas de fenotipos particulares pueden ser mejor para la elaboración de un producto particular, tal como leche en polvo o queso (HILL *et al.*, 1997).

Según LÚNDEN *et al.* (1997), el efecto del polimorfismo de β -lactoglobulina en el número de caseína es relativamente grande, por lo tanto, este gen parece ser un candidato obvio para ser usado en la crianza de vacas para una producción más eficiente de la leche adecuada para producción de queso.

2.6 Composición mineral de la leche y los factores que la afectan

Las sales de la leche son principalmente los fosfatos, citratos, sulfatos, carbonatos y bicarbonatos de sodio, potasio, calcio y magnesio. La mayoría de estos elementos son de importancia en la nutrición, en la preparación, procesamiento y almacenamiento de productos lácteos debido a su marcada influencia en la conformación y estabilidad de las proteínas de la leche, especialmente las caseínas (FOX y McSWEENEY, 1998).

WATTIAUX (2003), señala que la leche es una fuente excelente para la mayoría de los minerales requeridos para el crecimiento del lactante. La digestibilidad del calcio y fósforo es generalmente alta, en parte debido a que se encuentran en asociación con la caseína de la leche. Como resultado, la leche es la mejor fuente de calcio para el crecimiento del esqueleto del lactante y el mantenimiento de la integridad de los huesos en el adulto.

El CUADRO 6 muestra el promedio, el rango usual encontrado y los extremos reportados para la composición mineral de la leche.

CUADRO 6. Concentración de minerales de la leche.

Constituyente	Contenido promedio (mg/L)	Rango usual (mg/L)	Extremos reportados (mg/L)
Sodio	500	350-600	110 -1150
Potasio	1450	1350-1550	1150-2000
Calcio	1200	1000-1400	650-2650
Magnesio	130	100-150	20-230
Fósforo(Total)	950	750-1100	470-1440
Fósforo (inorgánico)	750		
	1000	800-1400	540-2420
Cloro	100		
Sulfato	200		
Carbonato citrato	1750		

FUENTE: FOX y McSWEENEY (1998).

El CUADRO 6 muestra que el citrato, potasio y calcio son los minerales que se encuentran en mayor proporción en la leche, el rango usual y los contenidos extremos reportados señalan que el calcio es el mineral que sufre una mayor

variación, existiendo diferencias entre el contenido mas bajo y más alto informado de 2000 mg/L, estos extremos reportados son los valores más altos y mas bajos del contenido de minerales que se han encontrado en distintos estudios en diversas condiciones.

La composición mineral de la leche es influenciada por factores, que incluyen la raza, individualidad de la vaca, estado de lactancia, alimentación, estación del año, al igual que el contenido de proteínas, pero en distintas formas, además la infección de la ubre (mastitis) es otro factor que afecta la composición mineral (FOX y McSWEENEY, 1998).

2.7 Importancia tecnológica de los minerales de la leche

Los minerales y caseínas en la leche están en equilibrio dinámico entre la fase micelar y el suero. El fraccionamiento de estos constituyentes es influenciada por la temperatura, sales minerales o agentes quelantes de calcio (UDABAGE *et al*, 2000).

La presencia de calcio es fundamental para producir la coagulación de la leche, mediante el cuajo (renina o quimosina), en el proceso de elaboración de quesos.

McMahon *et al*/ citado por VERA (2000), señalan que un buen nivel de calcio en la leche facilita la coagulación de las caseínas tipo α s y β . El ion calcio precipita estas caseínas cuando se han separado de la κ -caseína por acción del cuajo, el cual genera en esta última una hidrólisis enzimática a nivel de los aminoácidos 105-106 (fenilalanina-metionina), liberando la fracción soluble del glicomacropéptido. Esta precipitación de las caseínas se conoce como cuajada. Con respecto a este mismo tema, LUCEY y FOX (1993), manifiestan que la enzima renina, presenta la habilidad de cambiar levemente la caseína, entonces esta coagula con la presencia de iones divalentes como el calcio. Dichos

autores señalan que leves cambios en la concentración de estos iones pueden afectar significativamente la velocidad de coagulación y el cuerpo de la cuajada, por lo tanto indican, que la adición de calcio a la leche reduce su tiempo de coagulación.

LOPEZ-FADIÑO *et al.* (1998), encontraron que la aplicación de altas presiones sobre la leche produce la destrucción de las micelas lo cual provoca un aumento notable de la concentración de minerales y caseínas en el suero, produciendo alteraciones en el rendimiento quesero y las propiedades de coagulación de la leche.

LUCEY *et al.* (2003), señalan que la composición mineral, especialmente la concentración de calcio, es un parámetro muy conocido que influye en las propiedades texturales y funcionales del queso incluyendo dureza / firmeza y la fusión/estire.

BIENVENUE *et al.* (2003), en un estudio sobre la importancia de los minerales solubles en los cambios de viscosidad durante el almacenamiento de leches concentradas, encontraron que la reducción gradual de contenido mineral de leches concentradas dan por resultado una disminución marcada de la viscosidad aparente y la coagulación de caseína durante el almacenamiento, mientras que la adición de minerales tiene el efecto opuesto.

El equilibrio mineral en la leche es fuertemente influido por la suplementación de sales. La suplementación de calcio en un rango de 0 a 25 mmol / kg de leche es el factor más importante afecta la composición de micelar.

Por otra parte, el efecto de la suplementación de fósforo de 0 a 16 mmol / kg de leche es no significativo (GUILLAUME *et al.*, 2002).

De acuerdo a JOSHI *et al.* (2004), el calcio juega un papel importante en la elaboración así como las propiedades funcionales del queso de Mozzarella. La mayoría (63,7%) de calcio total en la leche está presente como un fosfato cálcico coloidal (CCP).

Con respecto al calcio en la elaboración del queso, PASTORINO *et al.* (2003), señalan que la adición de sal promueve la disociación del calcio de las caseínas, lo cual produce un mayor control de la funcionalidad del queso.

Los minerales de la leche, principalmente calcio, potasio y fósforo, constituyen, en forma prácticamente constante, muy cerca del 0,9% de la masa de la leche. El porcentaje que se retiene en el queso depende de la acidez o pH durante el proceso de quesería. En quesos elaborados solamente con cuajo, sin el uso de fermentos o cultivos lácticos, a partir de leche fresca, se retiene cerca del 60 % de las sales y minerales. En quesos elaborados con leche ácida, ya sea que se trate de acidez natural o de acidez inducida mediante cultivos o fermentos lácticos, se retiene entre el 40 % y el 50 % (INDA, 2000).

2.8 Raza Frisón Negro.

La raza Frisón Negro Chileno (Overo Negro), se introduce al Sur de Chile, a principios del siglo pasado con importaciones de Alemania y Holanda. En la década del 70, con apoyo del Estado a través de la Corporación de Fomento de Producción (CORFO), se realizó una importación masiva de hembras de pedigrí y un contingente importante de reproductores machos para el Centro de Inseminación Artificial de la Universidad Austral de Chile (CIA), descendiente de las mejores líneas de sangre existentes en Holanda.

La raza Frisón Negro chileno (Overo Negro) esta distribuida a lo largo de todo el país, preferentemente en la Novena y Décima regiones, siendo la más difundida de todas las razas. (CENTRO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL ,2004).

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Materiales

3.1.1 Obtención de muestras. Las muestras de leche se obtuvieron, de 9 vacas raza Frisón Negro, pertenecientes al predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, durante el periodo abril-julio del año 2004. Época de otoño. Se realizaron muestreos mensuales durante la época de estudio.

Las muestras fueron obtenidas de la ordeña matinal, cumpliendo con los procedimientos establecidos por la Norma Chilena 1011/1 (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, 1998a).

Con la finalidad de verificar el estado sanitario de las vacas en estudio, se realizó el California Mastitis Test (CMT) en todos los muestreos. (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, 1998b).

La selección de las vacas en estudio fue realizada de acuerdo a características similares tales como: número de lactancias, edad, información de la progenie, régimen alimentario y estado sanitario (libres de mastitis).

Las características del grupo 1 de vacas y su alimentación, se presentan en el ANEXO 1.

3.1.2 Lugar de ensayo. Las muestras de leche fueron transportadas al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICYTAL) de la Universidad Austral de Chile, bajo temperatura de 4 °C , dentro de 2 horas de obtenidas las muestras.

Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Química y en el Laboratorio Kjeldahl del ICYTAL

3.1.3 Equipos utilizados. Los principales equipos que se utilizaron en la investigación se presentan en el CAUDRO 7.

CUADRO 7. Equipos utilizados.

Procedimientos	Equipos y materiales
Análisis de proteínas	<ul style="list-style-type: none"> - Block digestor Selecta. - Unidad de destilación Selecta. - Tubos de digestión KJeldahl.
Preparación de muestras	<ul style="list-style-type: none"> - Centrifuga IEC Centra MP 4. - Centrífuga Beckman J2 - HS. - Espectrofotómetro Spectronic Genesys 5. - Cubetas de vidrio 1 cm, 3ml

3.1.4 Diseño experimental. El diseño experimental se presenta en el CUADRO 8, el cual muestra que durante el estudio a las muestras de leche, se les analizó el contenido de proteína total, proteína del suero y caseínas, además se analizó el contenido de fósforo y calcio total, los cuales fueron considerados como las variables de respuestas.

CUADRO 8, también indica que las muestras (vacas), el mes de muestreo y las variantes genéticas κ -Caseína y β -lactoglobulina son consideradas como los

factores, que producen el cambio en la composición de la leche.

CUADRO 8 Diseño experimental.

Factores			Respuesta estudiada
Muestras	Mes de muestreo	Variantes de proteínas	
546-579 591-596 633-636 639-642 644	26/ Abril /2004	κ -Caseína A,B	-Contenido proteína total
546-579 591-596 633-636 639-642 644	17/Mayo/2004		-Contenido de caseína.
546-579 591-596 633-636 639-642 644	14/Junio/2004		-Contenido de proteínas del suero.
546-579 591-596 633-636 639-642 644	05/Julio/2004		-Contenido de P y Ca.
546-579 591-596 633-636 639-642 644		β -lactoglobulina A,B	-Producción leche AM.

3.2 Cuantificación de proteína total

Las muestras de leche se analizaron por el método semi Micro Kjeldahl FIL/IDF 20B (1993), desarrollado por la Federación Internacional de Lechería.

3.2.1 Cuantificación de proteínas del suero. Esta se determinó según la metodología desarrollada por Rowland presentada por FOX y McSWEENEY (1998).

Una vez realizada la separación, al suero se le determinó el contenido de nitrógeno, lo que se realizó en duplicado según el método semi Micro Kjeldahl FIL/IDF 20B (1993), recomendado por la Federación Internacional de Lechería.

3.2.2 Determinación del contenido de caseína. El contenido para cada muestra de leche, se determinó sustrayendo el contenido de proteína total menos el contenido de proteína del suero, según el procedimiento utilizado por Rowland citado por FOX y McSWEENEY (1998).

3.3 Preparación de muestras de leche para la determinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina

Se separó κ -caseína de la leche de cada una de las 9 vacas individuales en estudio. Lo anterior, se realizó según el método descrito por McKENZIE y WAKE (1961). Esta técnica comprende una serie de etapas que permiten la purificación completa de la κ -caseína desde la caseína micelar. Sin embargo, la metodología se aplicó hasta el punto en que se logra la separación de κ - caseína de α_s -caseína y β -caseína.

La separación de β -lactoglobulina, se realizó de acuerdo a LOWE et al. (1995). El cual consiste en un precipitación ácida, con una posterior centrifugación y filtrado, para finalmente centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos.

A las muestras una vez preparadas, se les determinó contenido de proteína, mediante la metodología sugerida por LOWRY et al. (1951), utilizando una curva estándar en seroalbúmina de bovino.

3.4 Determinación de calcio total

La determinación de calcio total, se realizó por medio del método complexométrico, descrito por NTAILIANAS y WHITNEY (1964).

3.5 Determinación de fósforo total

Se utilizó el método colorimétrico. Según FIL/IDF 42 B (1990).

3.6 Análisis estadísticos

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico Statgraphics 5.1. Se efectuó un control de media y rango de las variables estudiadas.

Se aplicó el Test de homocedasticidad de la varianza a fin de validar la aplicación del test de varianza.

Se realizó un análisis de varianza de una vía entre el mes de muestreo y cada variable analizada.

Además se realizó el análisis de varianza de 2 vías para determinar la influencia de las variantes genéticas, sobre la composición proteica y contenido de calcio y fósforo de la leche.

También se realizó el análisis alternativo de la varianza de Kruskall-Wallis en los casos que hubo desigualdad de varianza.

Finalmente se efectuó el Test de Tuckey cuando existieron diferencias significativas en los análisis de varianza.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Composición proteica de la leche de vacas individuales

4.1.1 Contenido de proteína total en las muestras de leche de vacas Frisón Negro, época otoño. El contenido promedio de proteína total obtenido de las vacas en estudio para la época de otoño fue de $3,49 \pm 0,25\%$, valor que resulta un 11,46% y un 6,3% mayor que los resultados obtenidos por KRAMM (2003) y CID (2004) en un estudio realizado sobre el mismo grupo de vacas pero realizado en distintas épocas del año primavera invierno, respectivamente y con distintos números de lactancias. Los valores de proteína total para toda la época de estudio se presentan en el ANEXO 2.

De acuerdo al test de Kruskal-Wallis (ANEXO4), existen diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95%, en el contenido de proteína total entre las épocas de otoño, invierno, primavera y verano, en el mismo grupo de vacas, estas diferencias se aprecian claramente en la FIGURA 3.

La FIGURA 3, muestra que el contenido de proteína total en la época de otoño es mayor al obtenido en la época de invierno, primavera y verano, cabe señalar que en verano el número de muestras se vio reducido, ya varias de las vacas en estudio, se encontraban en el periodo seco.

Por su parte AULDIST *et al.* (1998), también encontraron contenidos de proteína total mayor en otoño que en primavera y verano, en un estudio realizado en Nueva Zelanda, a un grupo de 80 vacas Friesian.

Estas diferencias pueden ser causadas por las distinta alimentación, que se produce entre estaciones del año; autores como COULON *et al.* (2001),

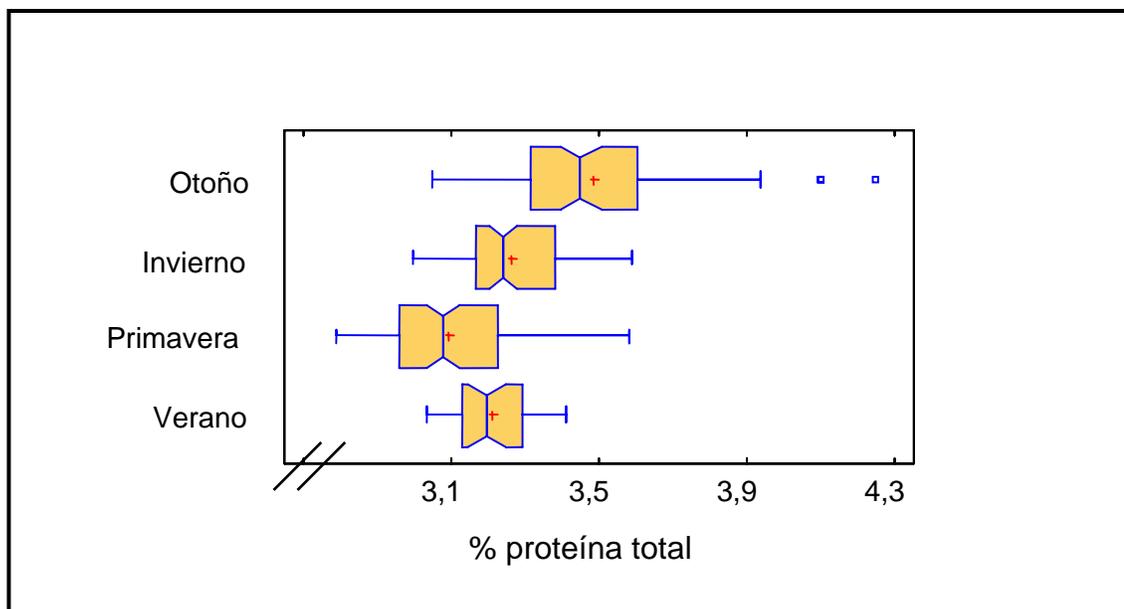


FIGURA 3: Distribución del contenido de proteína total a través de las épocas del año.

O'BRIEN *et al.* (1997), señalan que la composición proteica crece o disminuye de acuerdo al consumo de energía, además hay que considerar que la edad y el número de lactancia también influyen en la composición proteica.

Con respecto a este tema LOOPER *et al.* (2001), señalan que el contenido de proteína es mayor en otoño e invierno y mas bajo en primavera y verano, debido a que en estas épocas disminuye el forraje y la fibra en la alimentación.

El CUADRO 9 muestra un resumen estadístico realizado a partir de los datos obtenidos para el contenido de proteína total en los cuatro muestreos. Cabe señalar que se realizó el test de homocestacidad de varianza, el cual indicó que existían diferencias estadísticamente significativas entre las desviaciones típicas para un nivel de confianza del 95,0%, por lo tanto se realizó es test de Kruskall-Wallis para definir si existían diferencias estadísticamente significativas

en el contenido de proteína total entre muestreos. (ANEXO 4).

Según el CUADRO 9, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en el contenido de proteína total entre muestreos para un nivel de confianza del 95,0%.

CUADRO 9 Promedio y desviación estándar del contenido de proteína total de las muestras de leche según muestreo.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	18	3,55 \pm 0,19 ^a *
2	18	3,51 \pm 0,31 ^a
3	16	3,49 \pm 0,29 ^a
4	12	3,37 \pm 0,1 ^a
Total muestras	64	3,49 \pm 0,25

n: número de muestras

* Según Test de Kruskal-Wallis

Por su parte KRAMM (2003); PEREZ (2003) en análisis en primavera y CID (2004) en un estudio en invierno, tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteína total entre muestreos, para el mismo grupo de vacas.

4.1.2 Contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche de vacas Frisón Negro, época otoño. El CUADRO 10 muestra los valores promedio y desviación estándar para el porcentaje de proteína del suero y caseína obtenidos a través del estudio en la época de otoño.

En el CUADRO 10 se puede observar que no existen diferencias significativas un nivel de confianza del 95,0%, entre muestreos para el contenido de caseínas

y proteínas del suero. (ANEXO 5).

El promedio de proteínas del suero ($0,867 \pm 0,123$), resulta superior al $0,72 \pm 0,05$ % encontrado por KRAMM (2003), en la época de primavera, en el mismo grupo de vacas y al 0,56% informado por AULDIST *et al.* (1998), obtenido en un estudio realizado en Nueva Zelanda sobre 80 vacas de raza Friesian.

CUADRO 10 Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas de las muestras de leche según número de muestreo.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)	
		Proteínas del suero	Caseínas
1	18	$0,90 \pm 0,12^a$	$2,65 \pm 0,19^a$
2	18	$0,84 \pm 0,14^a$	$2,67 \pm 0,22^a$
3	16	$0,89 \pm 0,12^a$	$2,60 \pm 0,26^a$
4	12	$0,83 \pm 0,07^a$	$2,54 \pm 0,13^a$
Total muestras	64	$0,87 \pm 0,12$	$2,62 \pm 0,21$

n: número de muestras

En tanto que el contenido promedio de caseína obtenido en el presente estudio en la época de otoño ($2,62 \pm 0,21$), resulta superior al de primavera ($2,36 \pm 0,16$), obtenido por KRAMM (2003), y resulta inferior al 2,66 % obtenido por AULDIST *et al.* (1998), en invierno, concordando con lo reportado por este autor que encontró porcentajes de caseínas mayores en invierno, que en otoño y primavera.

4.2 Composición mineral de la leche de vacas individuales

4.2.1 Contenido de calcio. El contenido promedio de calcio obtenido de las vacas en estudio durante los cuatro muestreos fue de $1,05 \pm 0,033$ g/l, valor

que se encuentra en el rango usual reportado por FOX y McSWEENEY (1998), mientras que comparado con resultados obtenidos en el mismo grupo de vacas, pero en distintas estaciones del año y con distintas edades y números de lactancia, por PEREZ, (2003) en primavera y CID (2004) en invierno, es un 16,6 y 5,4% menor respectivamente, que en el presente estudio. Siendo estas diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%, según test de Kruskal-Wallis (ANEXO 6). Estas diferencias se pueden observar claramente en la FIGURA 4.

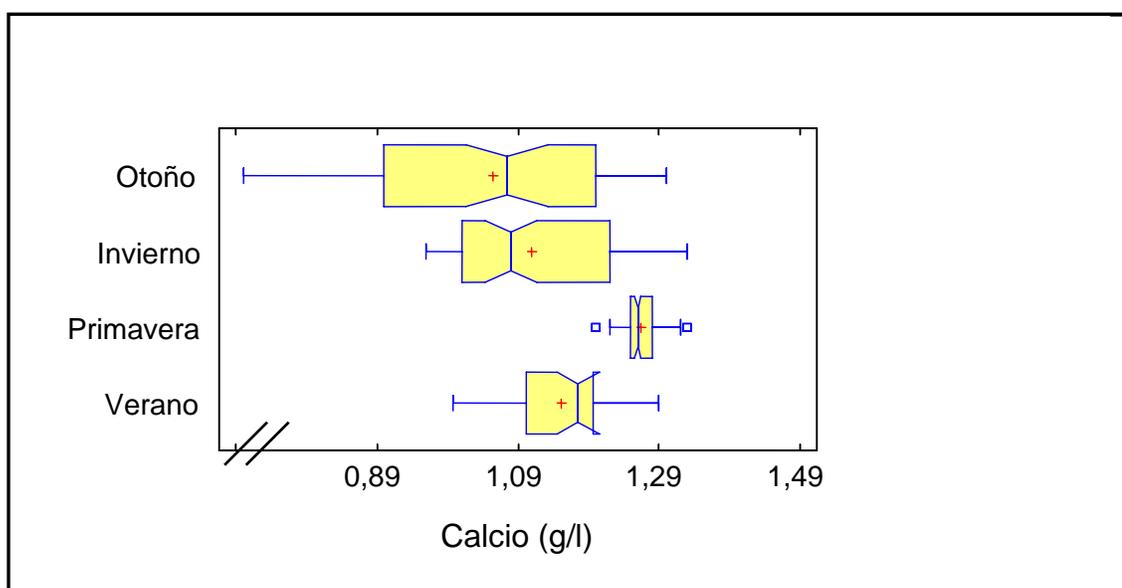


FIGURA 4: Distribución del contenido de calcio a través de las épocas del año.

La FIGURA 4, muestra que el contenido de calcio es mayor en la época de primavera, seguida de la época de verano e invierno, mientras que el menor contenido se observa en la época de otoño.

El valor obtenido en este estudio también resulta inferior a los 1,26 g/l obtenidos por AULDIST *et al.* (2004), en un estudio sobre 29 vacas Frisón Negro en Nueva Zelanda.

Por su parte BALLESTEROS (1997), en un estudio realizado con leche proveniente de 17 plantas lecheras de la zona sur de Chile de vacas de Frisón Negro, encontró un contenido de calcio de 1,28 g/L.

De acuerdo Mahieu *et al.* citados por VERA (2000), el contenido de calcio y fósforo en la leche son más elevados en primavera que en otoño.

De acuerdo con WALSTRA *et al.* (1999), la mayoría de los componentes de la leche disminuye en concentraciones pequeñas con la edad, por lo cual este factor que pudo influir en los diferentes contenidos de calcio obtenidos, entre estudios, ya que al momento del presente estudio las vacas tenían 5 años, en tanto que cuando fueron estudiadas por PEREZ (2003) y CID (2004), tenían 3 y 4 años respectivamente.

El CUADRO 11 muestra el contenido promedio calcio obtenido durante los cuatro muestreos. El ANEXO 3 muestra los contenidos de calcio a través de la época de estudio. Se puede observar, que existen diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95% de confianza entre los muestreos 1-3; 1-4:2-3 y 2-4. Los análisis estadísticos se muestran en el (ANEXO 6).

Las diferencias en el contenido de calcio entre muestreos podrían ser causadas por el aumento de los días de lactación, ya que al momento del primer muestreo las vacas en estudio tenían aproximadamente 180 días de lactación y en el último muestreo tenían aproximadamente 250 días, resultado que concuerda con lo señalado por COULON *et al.* (1998b), que a medida que aumentan los días de lactación aumenta el contenido de calcio; este autor encontró diferencias significativas en el contenido de calcio en leche de vacas entre 236 y 298 días de lactación, obteniendo mayor contenido de calcio a los 298 días.

En tanto que OSTERSEN *et al.* (1997), también encontraron diferencias entre

días de lactación obteniendo contenidos de calcio de 1,11 y 1,32 g/l en los 167 y los 323 días de lactación respectivamente.

CUADRO 11 Promedio y desviación estándar del contenido de calcio (g/L) en las muestras de leche según muestreo.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	18	1,025 \pm 0,19 ^a *
2	18	0,944 \pm 0,19 ^a
3	16	1,169 \pm 0,11 ^b
4	12	1,113 \pm 0,1 ^b
Total muestras	64	1,055 \pm 0,18

n: número de muestras

* Según Test de Kruskal-Wallis

4.2.2 Contenido de fósforo. El CUADRO 12 muestra que el contenido promedio de fósforo obtenido de las vacas en estudio durante los cuatro muestreos fue de $0,100 \pm 0,014$ (% m/m), este valor que se encuentra por sobre el reportado por FOX y McSWEENEY (1998), este valor también es superior a los resultados obtenidos en el mismo grupo de vacas, pero con distintas edades y números de lactancia, en la época de primavera por PEREZ (2003) y en invierno por CID (2004); que obtuvieron como valor promedio de fósforo de $0,093 \pm 0,0017$ y $0,089 \pm 0,005$ (% m/m), respectivamente, estas diferencias se aprecian claramente en la FIGURA 5.

La FIGURA 5, muestra que el contenido promedio de fósforo en la época otoño es mayor al contenido promedio fósforo en las épocas invierno, primavera y verano en el mismo grupo de vacas, estas diferencias son estadísticamente

significativas a un nivel de confianza del 95% según test de Kruskal-Wallis (ANEXO 7).

Por su parte COULON *et al.* (1998b), encontraron un promedio de 0,095 (% m/m) en un estudio sobre 16 vacas, 6 Holsteins y 10 Montbéliardes.

En tanto que PIRES *et al.* (2003), determinaron un contenido promedio de fósforo de 0,110 y 0,087 (%m/m) en vacas de raza Barrosa y Frísia respectivamente, dejando en claro que un factor importante en la variación del contenido de fósforo es la raza.

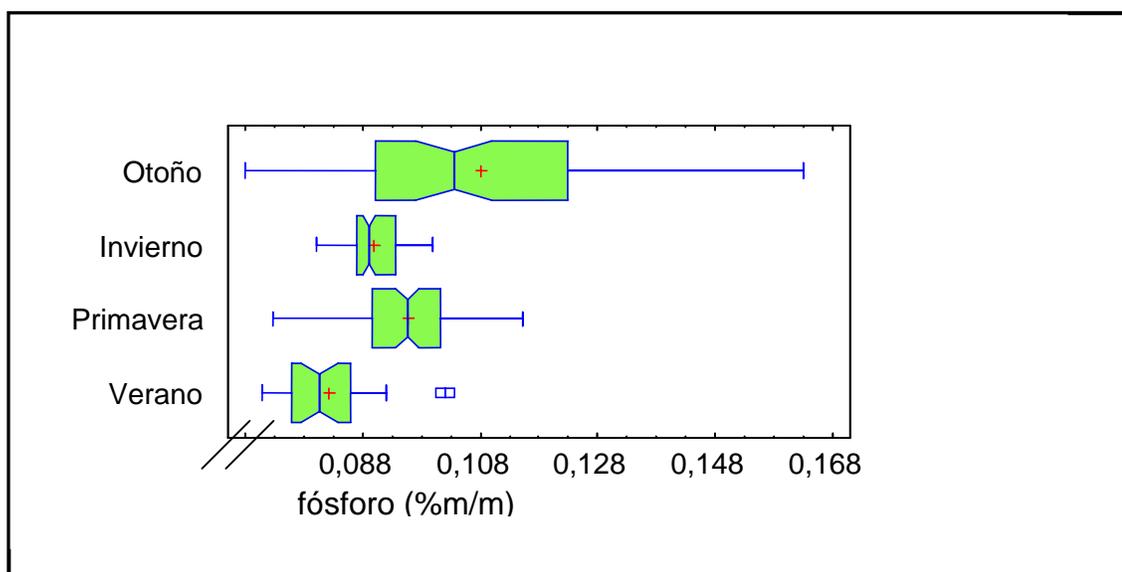


FIGURA 5: Distribución del contenido de fósforo a través de las épocas del año

El CUADRO 12 muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95% de confianza entre los meses de muestreos (ANEXO 8).

Estos resultados concuerdan con lo obtenido por CID (2004), en época de

invierno, donde tampoco encontró diferencias estadísticamente significativas en el contenido de fósforo entre muestreos.

En tanto que PEREZ (2003), si encontró diferencias significativas entre meses de muestreo, en la época de primavera, pero con las vacas en primera lactancia, y señalando que el tipo de alimentación recibido por las vacas no fue el mismo a través del estudio

CUADRO 12 Promedio y desviación estándar del contenido de fósforo (% m/m) en las muestras de leche según muestreo.

Muestreo Nº	n	Promedio ± desviación estándar (%)
1	18	0,1027 ± 0,024 ^a
2	18	0,1193 ± 0,023 ^a
3	16	0,1077 ± 0,024 ^a
4	12	0,10003 ± 0,014 ^a
Total muestreos	64	0,1081 ± 0,023

n: número de muestras.

4.3 Efecto de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre la composición proteica

4.3.1 Identificación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina. En la época de Otoño la identificación de las variantes genéticas de κ -CN y β -Lg fue entregada por el Proyecto Fondecyt número 1030345 de BRITO et al (2003), aunque en la presente etapa si se prepararon las muestras para el análisis. (CUADRO 13).

En el CUADRO 13, se puede apreciar que 8 de las 9 vacas en estudio

mostraron la presencia de la variante B de κ -caseína y solo una la presencia de la variante de A. De acuerdo a estos resultados la frecuencia de las variantes fue de 88,89 y 11,11% respectivamente, lo cual difiere de lo encontrado por BOBE *et al.* (1999), en un grupo de 233 vacas Holstein-Fresian en donde la frecuencia para la variante A fue de 68,3% para la B de 3,4% el porcentaje restante para la variante AB, lo cual se explicaría por la diferencia en el número de muestras analizadas, que en el presente estudio es mucho menor, solamente leche de 9 vacas.

CUADRO 13. Variante genética de κ -caseína y β -lactoglobulina en las muestras de leche.

Muestra de Leche	Variante Identificada	
	κ -caseína	β -lactoglobulina
546	B	A y B
579	A	A y B
591	B	A y B
596	B	A y B
633	B	A y B
636	B	A y B
639	B	A y B
642	B	A
644	B	A y B

Por su parte TSIARAS *et al.* (2005), encontraron una frecuencia de las variantes A de 88,5% y AB de 11,5%, no encontrando la variante B, esto en un grupo de 350 vacas Holstein, lo cual indica que la frecuencia de las variantes no es constante en una raza y que depende del número de muestras analizadas y que esta frecuencia se da por el azar con el que se eligen las muestras.

Con respecto a la frecuencia génica de β -Lg, en el CUADRO 13 se puede apreciar que 7 de las 9 vacas en estudio mostraron la presencia de la variante A y B de β -lactoglobulina y que solo 1 la presencia de la variante de A, de acuerdo a estos resultados la frecuencia de las variantes es de 88,89 y 11,11% respectivamente, lo cual difiere de lo encontrado por LUNDEN *et al.* (1997), quienes en un grupo de 394 vacas Suizas rojas y blancas, establecieron una frecuencia para la variante A de 83,3%, y para la B de 16,7%.

Las variantes encontradas en el presente estudio coinciden con las registradas por BENAVIDES (2003), KRAMM (2003), PEREZ (2003) y CID (2004), en el mismo grupo de vacas, pero en distintas épocas del año y con distintos números de lactancia.

4.3.2 Efecto de las variantes A o B de κ -caseína en relación a la proteína total. El CUADRO 14 muestra que no existen diferencias significativas a un nivel del 95% de confianza, en el porcentaje de proteína total en las leches de vacas que presentan las variantes A y B de κ -caseína. (ANEXO 8)

Esto difiere a lo obtenido por KRAMM (2003) y CID (2004), que si encontraron diferencias significativas estudiando el mismo grupo de vacas. La posible explicación para este hecho, es que para el presente estudio el número de muestra se vio reducido a 9, debido al sacrificio de una de las vacas, la cual manifestaba la presencia de la variante A en su leche, lo cual causaría la diferencia.

Además cabe considerar el efecto de la estación del año, el número de lactancias y la alimentación, que producen cambios en el contenido de proteínas, independientes al efecto de las variantes genéticas.

De acuerdo a MACKLE *et al.* (1999), existe una tendencia en diferentes

rebaños estudiados en los cuales los fenotipos BB de κ -Cn presentan mayor porcentaje de proteína que los fenotipos AA y AB.

Los resultados obtenidos difieren con lo reportado por TSIARAS *et al.* (2005), en su estudio sobre 278 vacas Holstein en el cual encontraron que el contenido proteico de vacas con el genotipo AB era un 0,08% más alto que las vacas con el genotipo AA. Lo cual, probablemente se debe al número de muestras en el presente estudio.

CUADRO 14 Promedio y desviación estándar del contenido proteico en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína.

Variante	n	Media \pm Desviación típica
A	8	3,48 \pm 0,29 ^a
B	56	3,49 \pm 0,25 ^a
Total	64	3,49 \pm 0,25

n: número de muestras.

Por su parte BOBE *et al.* (1999), no encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteína total en un estudio realizado en Estados Unidos sobre un grupo de 233 vacas Holstein-Friesian, sin embargo el porcentaje de proteína total de leches que presentaron el fenotipo AB de κ -CN era levemente superior al de leches que presentaban los fenotipos AA y BB.

4.3.3 Efecto de las variantes A o B de κ -caseína en relación al contenido de proteínas del suero y caseínas. El CUADRO 15 muestra que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de proteína del suero y caseína en las leches de vacas que presentan las variantes A y B de κ -caseína. (ANEXO 9).

Por su parte KRAMM (2003), no encontró diferencias estadísticamente significativas entre variantes A o B de caseínas, en el contenido de proteínas del suero, sin embargo encontró diferencias estadísticas, para el contenido de caseínas, siendo la leche que expresa la variante B, la que presenta el mayor contenido.

MARIANI et al. (1997), también determinaron contenidos más altos de caseínas en leches provenientes de vacas de raza Bruna con fenotipo BB de κ -caseína.

CUADRO 15 Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína.

Variante	n	Promedio \pm desviación estándar (%)	
		Proteínas del suero	Caseínas
A	8	0,865 \pm 0,046 ^a	2,620 \pm 0,259 ^a
B	56	0,867 \pm 0,128 ^a	2,623 \pm 0,203 ^a
Total	64	0,867 \pm 0,121	2,622 \pm 0,206

n: número de muestras.

MACKLE *et al.* (1999), señalan que leches que presentan el fenotipo AA de κ -caseína presenta mayor contenido de proteínas del suero, en tanto que el contenido de caseínas es mayor en leches que presentan el fenotipo BB. Lo cual, probablemente se debe a la diferencia en el número de muestras entre ambos estudios.

4.3.4 Efecto de las variantes genéticas de β -lactoglobulina en relación al contenido proteína total. El CUADRO 16 muestra que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de proteína total, entre las leches de vacas que presentan las variantes A y B de β -lactoglobulina y la variante A de

esta proteína. (ANEXO 10).

Este resultado concuerda con MACKLE *et al.* (1999), que encontró que leches con la presencia del fenotipo AB de β -lactoglobulina presentan mayor contenido de proteína total que el fenotipo BB.

TSIARAS *et al.* (2005), si bien no encontraron diferencias significativas entre los genotipos de β -lactoglobulina, si encontraron que el genotipo B de β -lactoglobulina mostraba una tendencia a un contenido mayor de proteína.

Por su parte KRAMM (2003), también encontró diferencias significativas estudiando el mismo grupo de vacas, pero en su estudio la variante A de β -lactoglobulina fue la que presentaba el mayor contenido de proteína total, esta diferencia se puede atribuir a la diferente época del año en que se realizó el estudio.

CUADRO 16 Promedio y desviación estándar del contenido proteico en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina.

Variante	n	Media \pm Desviación típica
A	14	3,37 \pm 0,22 ^a
AB	50	3,52 \pm 0,25 ^b
Total	64	3,49 \pm 0,25

n: número de muestras

ROBITAILLE *et al.* (2002), en una investigación realizada sobre 40 vacas Holsteins de las cuales 9 presentaban el genotipo AA, 20 el genotipo AB y 11 el genotipo BB de β -lactoglobulina, encontraron que estas últimas presentan un mayor contenido de proteína total, que las vacas que presentan el fenotipo AA y

AB de β -lactoglobulina. Por lo tanto, se puede atribuir a la diferencia de razas y número de muestras, los distintos resultados obtenidos entre investigaciones. (ANEXO 10)

En tanto que COULON *et al.* (1998b), reportaron que leches de vacas de la raza Holstein, Montbéliardes, Terantaïse, que presentaban la variante BB y AB de β -lactoglobulina, presentaba mayor contenido de caseína.

4.3.5 Efecto de las variantes de β -lactoglobulina en relación al contenido de proteínas del suero y caseínas. El CUADRO 17 muestra que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en el porcentaje de caseínas en las leches de vacas que presentan las variantes A y la variante A y B de β -lactoglobulina. (ANEXO 11).

CUADRO 17 Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero y caseínas en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina.

Variante	n	Promedio \pm desviación estándar (%)	
		Proteínas del suero	Caseínas
A	14	0,753 \pm 0,046 ^a	2,617 \pm 0,204 ^{a*}
AB	50	0,899 \pm 0,116 ^b	2,624 \pm 0,211 ^a
Total	64	0,867 \pm 0,121	2,622 \pm 0,206

n: número de muestras

* Según Test de Kruskal-Wallis

En tanto que entre el porcentaje de proteínas del suero de las leches que expresan la variante A y B de β -lactoglobulina y leches que presentan sólo la variante A, existen diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95% de confianza, según test de Kruskal-Wallis.

4.4 Efecto de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre calcio y fósforo

4.4.1 Efecto de las variantes de κ -caseína sobre el contenido de calcio y fósforo. El CUADRO 18 muestra que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de calcio en las leches de vacas que presentan las variantes A y B de κ -caseína. (ANEXO 13).

Estos resultados concuerdan con lo obtenido por CID (2004), en la época de invierno, pero difieren con lo informado con PÉREZ (2003), que si encontró diferencias estadísticamente significativas para el contenido de calcio, en la época de primavera para el mismo número de vacas, señalando que leches con la presencia del fenotipo B, presentaban mayores contenidos de calcio que aquellas que poseían la variante A.

DAVIS *et al.* (2001), señalan que la variación del contenido de calcio en la leche, está estrechamente vinculada al contenido de proteína en la leche en una relación lineal en la que a mayor contenido de caseínas existirá una mayor concentración de calcio coloidal unido a estas, argumentando que existe un factor de variación de origen genético en el contenido de caseínas en la leche.

En cuanto al efecto de las variantes genéticas de κ -Cn, sobre el contenido de fósforo el CUADRO 18, muestra que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de fósforo en las leches de vacas que presentan las variantes A y B de κ -caseína, a diferencia de PÉREZ (2003), que si encontró diferencias significativas entre el contenido de fósforo total en leche que presentan las variantes genéticas A y B de κ -caseína, en su estudio con el mismo grupo de vacas en primera lactancia, durante la primavera. Por su parte PATIL *et al.* (2003), indicó que leches que tienen, el genotipo AB o BB de κ -

caseína tienen un mayor contenido de calcio y fósforo comparado con leches que presentan el genotipo AA de κ -Cn.

Según MARIANI *et al.* (1997), altos contenidos de minerales como el calcio y fósforo, están relacionados con altos contenidos de proteínas de la leche, especialmente caseínas, esto se explicaría que leches con la presencia de la variante B de κ -caseína presenten un mayor contenido de fósforo y calcio.

CUADRO 18 Promedio y desviación estándar del contenido de calcio y fósforo (%) en las muestras de leche según variante genética de κ -caseína.

Variante	n	Media \pm Desviación típica	
		Calcio (g/L)	Fósforo (% M/M)
A	8	1,14 \pm 0,109 ^a	0,10 \pm 0,01 ^{a*}
B	56	1,04 \pm 0,186 ^a	0,11 \pm 0,02 ^a
Total	64	1,05 \pm 0,180	0,11 \pm 0,02

n: número de muestras

*Según Test de Kruskal-Wallis

4.4.2 Efecto de las variantes de β -lactoglobulina sobre el contenido de calcio y fósforo. El CUADRO 19 muestra que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de calcio en las leches de vacas que presentan las variantes A y AB de β -lactoglobulina. (ANEXO 14)

Estos resultados difieren con lo informado con PÉREZ (2003), en la época de primavera donde no encontró diferencias estadísticamente significativas para el contenido de calcio, entre leches de vaca que presentaban la variante A y AB de β -lactoglobulina.

El CUADRO 19 también muestra que existen diferencias significativas

($p < 0,05$), en el contenido de fósforo en las leches de vacas que presentan las variantes A y AB de β -lactoglobulina.

Por su parte ALICATA et al. (1997), no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre contenido de fósforo total y los fenotipos AA, BB y AB encontrados en β -lactoglobulina ovina.

CUADRO 19 Promedio y desviación estándar del contenido de calcio y fósforo (%) en las muestras de leche según variante genética de β -lactoglobulina.

Variante	n	Media \pm Desviación típica	
		Calcio (g/L)	Fósforo (% M/M)
A	14	0,95 \pm 0,14 ^a	0,12 \pm 0,03 ^a
AB	50	1,08 \pm 0,18 ^b	0,10 \pm 0,02 ^b
Total	64	1,05 \pm 0,18	0,11 \pm 0,02

n: número de muestras

4.5 Efecto de la interacción de las variantes genéticas de κ -Cn y β -Lg sobre la composición proteica y mineral de la leche

En el CUADRO 20 se muestra el promedio del contenido proteico y mineral de la leche según la combinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina. (ANEXO 14)

En el CUADRO 20 se puede apreciar que el contenido de proteína total es mayor para la combinación de la variante B de κ -caseína y AB de β -lactoglobulina, seguida de la combinación de la variante A de κ -caseína y la AB de β -lactoglobulina, resultado que coincide a lo obtenido por KRAMM (2003), en la época de primavera.

Por su parte MACKLE et al. (1999), también obtuvo el mayor contenido

proteico en la combinación en leches que presentan la combinación κ -caseína B y β -lactoglobulina AB.

En relación al contenido de proteínas del suero, KRAMM (2003) y MACKLE *et al.* (1999), coinciden en que la combinación de variantes de κ -caseína y β -lactoglobulina A/AA presenta un contenido de proteína del suero significativamente mayor, seguida de la combinación B/AB, en tanto que para el presente estudio se obtuvo que la combinación de variantes de κ -caseína y β -lactoglobulina B/AB presentaba mayor contenido de proteínas del suero lo cual coincidiría con lo anteriormente señalado, considerando que para el presente estudio no se pudo establecer la combinación A/AA.

CUADRO 20 Contenido proteico y mineral de la leche para combinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina.

Características	κ -caseína A	κ -caseína B	
	β -lg AB n: 8	β -lg AA n: 8	β -lg AB n: 48
% Proteína total	3,48±0,27 ^{ab}	3,29±0,19 ^b	3,52±0,24 ^a
% Proteínas del suero	0,87±0,05 ^a	0,73±0,02 ^b	0,89±0,12 ^a
% Caseína	2,62±0,26 ^a	2,57±0,18 ^a	2,63±0,21 ^a
Calcio (g/l)	1,14±0,11 ^a	0,97±0,13 ^a	1,06±0,19 ^a
Fósforo (%)	0,10±0,01 ^a	0,11±0,03 ^a	0,11±0,02 ^a

*n indica diferencias significativas al 95%

n: número de muestras

Con respecto al contenido de caseínas no se encontraron diferencias significativas entre las distintas combinaciones de variantes, pero se encontraron contenidos de caseínas levemente mayores en las muestras que

presentaban la combinación A/AB y B/AB de κ -caseína y β -lactoglobulina respectivamente.

Para el contenido de calcio y fósforo no se observaron diferencias significativas entre combinación de variantes genéticas, siendo la combinación A/AB la que presento un contenido de calcio levemente superior a las otras combinaciones, en tanto que para el contenido de fósforo fue prácticamente igual para todas las combinaciones.

4.6 Producción de leche

La producción de leche de las vacas en estudio, medición realizada al comienzo de cada muestreo, se presenta en el ANEXO 15.

En el CUADRO 21 se presentan los promedios y desviación estándar para cada muestreo de la producción de leche AM por vaca.

CUADRO 21. Promedio y desviación estándar de la producción de leche de las vacas estudiadas. Ordeño AM.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	9	13,62 \pm 2,61 ^a
2	9	11,37 \pm 2,87 ^a
3	8	13,1 \pm 2,60 ^a
4	6	12,47 \pm 3,20 ^a
Total muestras	42	12,64 \pm 2,81

n: número de muestras

El valor promedio de la producción de leche fue de 12,64 \pm 2,81 L, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los muestreos. (ANEXO16).

Este valor promedio general resulta menor comparado con el valor promedio de $14,60 \pm 2,72$ L encontrado CID (2004) en la época de invierno, y mayor a los $10,52 \pm 2,17$ L encontrados por KRAMM (2003) en la época de primavera, ambos en el mismo grupo de vacas.

Por su parte AULDIST *et al.* (1998), en un estudio sobre 80 vacas Friesian, realizado en Nueva Zelanda, encontraron valores de producción de leche de 17,9 L en invierno, 15,5 L en primavera y 13,6 L en otoño, lo cual indica que la producción de leche es mayor en la época de invierno.

5. CONCLUSIONES

- ⇒ El contenido promedio de proteína total, caseína, proteínas del suero y fósforo de las vacas Frisón Negro no varió significativamente según mes de muestreo en la época de otoño.
- ⇒ El contenido promedio de calcio presentó diferencias significativas según mes de muestreo
- ⇒ El contenido promedio de proteína total y fósforo de las vacas Frisón Negro en la época otoño, fue significativamente mayor al obtenido en las demás épocas del año, en el mismo grupo de vacas.
- ⇒ El contenido promedio de calcio en la época de otoño, fue significativamente menor al obtenido en las demás épocas del año, en el mismo grupo de vacas.
- ⇒ No se determinó efecto de las variantes genéticas de κ -caseínas sobre la composición proteica y mineral de la leche analizada.
- ⇒ Leches que expresaron el fenotipo AB de β -lactoglobulina presentaron mayor contenido de proteína total, proteínas del suero y calcio.
- ⇒ Las leches que presentan la combinación de las variantes B/AB de κ -caseína y β -lactoglobulina son las que presentan el mayor contenido de proteína total y proteínas del suero.

- ⇒ No se determinaron diferencias significativas en el valor promedio de la producción de leche de la ordeña matinal según mes de muestreo, en la época de otoño.

6. RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo evaluar la calidad proteica y mineral de la leche de vaca Frisón Negro durante la época de otoño, relacionándola con la expresión de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina.

Las muestras de leches de vacas Frisón Negro fueron obtenidas del Fundo Santa Rosa perteneciente a la Universidad Austral de Chile. Se realizaron un total de cuatro muestreos, durante el periodo Abril – Julio de 2004.

Se determinó el contenido de proteína total, proteína del suero, caseínas, calcio y fósforo de las leches en estudio. Además se realizó la separación de κ -caseína y β -lactoglobulina para la identificación de las variantes genéticas de ambas proteínas.

Los contenidos promedios de proteína total, proteínas del suero y caseínas, obtenidos durante el estudio fueron, $3,49 \pm 0,25$; $0,87 \pm 0,12$ y $2,62 \pm 0,21\%$ respectivamente, no detectándose diferencias estadísticamente significativas al 95% entre los meses de muestreo.

El contenido promedio de calcio y fósforo fue de $1,05 \pm 0,03$ g/l y $0,10 \pm 0,02$ (%m/m), detectándose para el calcio, diferencias estadísticamente significativas al 95% entre los meses de muestreo.

Se estableció que las muestras de leches que expresaron el fenotipo AB de β -lactoglobulina presentaron mayor contenido de proteína total, proteínas del suero, fósforo y calcio.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido proteico y mineral, entre las leches que presentaron el genotipo A o B de κ -caseína.

SUMMARY

The objective of the present study was to evaluate the protein and mineral quality of the milk from cow Frisón Negro, during the time of autumn, relating it to the expression of the κ -casein and β -lactoglobulina genetic variants.

The milk samples of Frisón Negro cows were obtained from the farm Santa Rosa belonging to the Universidad Austral de Chile. A total of four samplings were made, during the period April to July of 2004.

The total protein contents were determined, serum proteins, caseins, calcium and phosphorus of milk in study. In addition were made the κ -casein separation and β -lactoglobulina for the identification of the genetic variants of both proteins. Was made

The averages contents of total protein, serum proteins and caseins, obtained during the study were, $3,49 \pm 0,25$; $0,87 \pm 0,12$ and $2,62 \pm 0,21\%$ respectively, statistically significant differences at 95% between the months of sampling, was not detecting.

The average content of calcium and phosphorus was of $1,05 \pm 0,03$ g/l and $0,10 \pm 0,02$ (%m/m), detecting for calcium statistics significant differences to 95% between the months of sampling.

There was down that the milk samples expressing β -lactoglobulina phenotype AB presented greater total protein content, serum proteins, phosphorus and calcium.

There were no statistics significant differences in the protein and mineral content, between milk that presented the A or B κ -casein genotype.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ALICATA, M; Di STASIO, L; FIANDRA, P; FINOCCHIARO, R; GIACCONE, P; PORTOLANO, B. y TODARO, M. 1997. Effect of ovine β -lactoglobulin phenotype on cheese yield and composition. In: Milk protein polymorphism. International Dairy Federation. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North, New Zealand: 324-327.
- AULDIST, M., JOHNSTON, K., WHITE, N., FITZSIMONS, P., BOLAND, M. 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *Journal of Dairy Research*. 71: 51- 57.
- AULDIST, M., WALSH, B., THOMSON, N. 1998. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *Journal of Dairy Research*. 65: 401- 411.
- BALLESTEROS, C. 1997. Determinación de minerales en leche de vaca: Sodio, potasio, calcio total, calcio complexométrico, fósforo total y fósforo no proteico. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 57 p.
- BARASH, H., SILANIKOVE, N., SHAMAY, A., EZRA, E. 2001. Interrelationships Among Ambient Temperature, Day Length, and Milk Yield in Dairy Cows Under a Mediterranean Climate. *Journal of Dairy Science*. 84:2314–2320.

- BARROSO, A., DUNNER, S., CAÑÓN, J. 1997. Use of a single-strand conformation polymorphism analysis to perform a simple genotyping of bovine K-casein A and B variants. *Journal of Dairy Research*. 65: 335-340.
- BELLOQUE, J y RAMOS, M. 2002. Determination of the casein content in bovine milk by P-NMR. . *Journal of Dairy Research*. 69: 411- 418.
- BENAVIDES, T. 2003. Efecto de las variantes genéticas A y B de κ -caseína y β -lactoglobulina sobre las propiedades de coagulación de la leche. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 108 p.
- BERNABUCCI, U., LACETERA, N., RONCHI, B., NARDONE, A. 2002. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Animal Research*. 51(1):25:33.
- BIENVENUE, A., JIMENEZ-FLORES, R., SINGH, H. 2003. Rheological Properties of Concentrated Skim Milk: Importance of Soluble Minerals in the Changes in Viscosity During Storage. *Journal of Dairy Science*. 86:3813–382.
- BOBE, G., FREEMAN, A., LINDBERG, G., BEITZ, D. 2004. The influence of milk protein phenotypes on fatty acid composition of milk from Holstein cows. *Milchwissenschaft*. 59 (1-2): 3 - 6.
- BOBE, G., BEITZ, D., FREEMAN, A., LINDBERG, G. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *Journal of Dairy Science*. 82 : 2997- 2804.

- BONVILLANI, G., DI RENZO, A., MONTILLA, A., TIRANTI, I. 1998. β -lactoglobulin variability in Argentinian Holstein Cattle. *Journal of Agricultural Science*. 131, 97-101.
- BRITO, C., MOLINA, L., SCHÖBITZ, R., MOLINA, I. 2003. Innovación Tecnológica en Procesamiento y Calidad de Leche (De Variantes Genéticas y en el Desarrollo de Queso Chanco de Reducido Tenor Graso para Incrementar Calidad y Rendimiento. Fondo Nacional De Investigación y Tecnología). Proyecto Fondecyt 1030345.
- CAYOT, P., LORIENT, D. 1997. Structure-Function Relationships of Whey Proteins. Capítulo 8 en Damodaran, S. y A. Paraf (Editores): *Food Proteins And Their Applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, EUA.
- CELIK, S. 2004. The associations of beta-Lg genetic variants with the yields and composition of Turkish white cheese. *Milchwissenschaft*. 59(1-2): 32-34
- CENTRO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CIA).2004. Raza Frizón Negro Chileno. Universidad Austral de Chile. Disponible en www.uach.cl/centro/inseminacionartificial/productos/frizonnegro.htm, visitado el 14/11/2005.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (INN). 1998a. Leche productos lácteos. Muestreo, parte 1.Norma Chilena NCh 1011/1. Santiago. Chile. 9 p.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (INN). 1998b.Leche cruda. Determinación de Células Somáticas. Ensayo California Mastitis (CMT). Norma Chilena NCh 1747. Santiago. Chile. 4 p.

- CHO, Y., SINGH, H., CREAMER, L. 2003. Heat-induced interactions of β lactoglobulin A and κ -casein B in a model system. *Journal of Dairy Research*. 70: 61-71.
- CID, C. 2004. Proteína total, calcio, fósforo y estabilidad térmica de la leche y su relación con las variantes genéticas de κ -caseína. Época de invierno. Tesis Ingeniería en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 90 p.
- COULON, J., DUPONT, D., POCHET, S., PRADEL, P., DUPLOYER, H. 2001. Effect Of Genetic Potential And Level Of Feeding On Milk Protein Composition. *Journal of Dairy Research*. 68:569-577.
- COULON, J., VERDIER, I., PRADEL, P., MONTSERRAT, A. 1998a. Effect of lactation stage on the cheesemaking properties of milk and the quality of Saint-Nectaire-type cheese. *Journal of Dairy Research*. 65:295-305.
- COULON, J., HURTAUD, C., REMOND, B., VERITE, R. 1998b. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. *Journal of Dairy Research*. 65:275-287.
- CREAMER, L., NILSSON, H., PAULSSON, M., COKER, C., HILL, J., JIMENEZ-FLORES, R. 2004. Effect of Genetic Variation on the Tryptic Hydrolysis of Bovine β -Lactoglobulin A, B, and C. *Journal of Dairy Science*. 87:4023–4032.
- DAVIS, S; FARR, V; KNOWLESS, S; LEE, J; KOLVER, E. y AULDIST, M. 2001. Sources of variation in milk calcium content. *The Australian Journal of Dairy Technology*. 56 (2): 156.

- De WIT, J. 1998. Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. *Journal of Dairy Science*. 81:597–608.
- ENNIS, M. y MULLVIHILL, D. 2001. Rennet caseins manufactured from seasonal milks: composition, hydration behaviour and functional performance in pilot-scale manufacture of mozzarella cheese analogues. *International Journal of Dairy Technology*. 54(1):23-28.
- FARREL, H., JIMENEZ-FLORES, R., BLECK, G., BROWN, M., BUTLER, J., CREAMER, L., HICKS, C., HOLLAR, C., NG-KWI-HANG, K., SWAISGOOD, H. 2004. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk-Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*. 87. 1641-1674.
- FOX y McSWEENEY. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Department Food Chemistry University College. Cork. Ireland. 478 p.
- FREYER, G., LIU, Z., ERHARDT, G., PANICKE, L. 1999. Casein polymorphism and relation between milk production traits. *Journal Animal Breeding Genetic* 30(2): 85-91.
- GUILLAUME, C., MARCHESSEAU, S., LAGAUDE, A., CUQ, L. 2002. Effect of Salt Addition on the Micellar Composition of Milk Subjected to pH Reversible CO₂ Acidification. *Journal of Dairy Science*. 85:2098 –2105.
- GUTIERREZ, A., MAGA, E., MEADE, H., SHOEMAKER, C., MEDRANO, J., ANDERSON, G., MURRAY, J. 1996. Alterations of the physical characteristics of milk from transgenic mice producing bovine κ -casein. *Journal of Dairy Science*. 79:791–799.

- HERMASEN, J., OESTERSEN, S., JUSTESEN, N., AAES, O. 1999. Effects of dietary protein supply on caseins, whey proteins, proteolysis and renneting properties in milk from cows grazing clover or N fertilized grass. *Journal of Dairy Research*. 66 193-205
- HILL., THRESHER, W., BOLAND, M., CREAMER, L., ANEMA, S., MANDERSON, G., OTTER, D., PATERSON, G., LOWE, R., BURR, R., MOTION, R., WINKELMAN, A., WICKHAM, B. 1997 The polymorphism of the milk protein b-lactoglobulin. In *Milk Composition, Production and Biotechnology*, pp. 173 -202.
- HORNE, D., BANKS, J. y MUIR, D. 1996. Genetic polymorphism of milk proteins: Understanding the Technological Effects. *Annual Report Hanna Research*: 70-78.
- IMAFIDON, G., FARKYE, N., TONG, P., HARWALKAR, V. 1995. Influence of Genetic-Variants of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin in Milk on Proteolysis in Cheddar Cheese. *Milchwissenschaft* 50 (6): 221-225.
- INDA, A. 2000. Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de Quesería: Una guía para la pequeña y mediana empresa. Organización de los Estados Americanos OEA. Washington. 160 p.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. (IDF/FIL). 1993. International IDF Standard. 20B: 1993. Milk. Determination of Nitrogen Content. Part 3: Block – digestion method. Belgium. Pp. 7-9.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. (IDF/FIL). 1990. Milk determination of total phosphorus content -Spectrometric method. FIL /IDF 42B. 3 p.

- JOSHI, N., MUTHUKUMARAPPAN, K., DAVE, R. 2004. Effect of Calcium on Microstructure and Meltability of Part Skim Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*. 87:1975–1985.
- KONTOPIDIS, G., HOLT, C., SAWYER, L. 2004. Invited Review: β -Lactoglobulin: Binding Properties, structure, and Function. *Journal of Dairy Science*. 87:785-796.
- KRAMM, J. 2003. Composición proteica y su relación con las variantes genéticas A y B de κ -caseína y β -lactoglobulina en leche de vaca Frisón Negro. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 114 p.
- LATRILLE, L. 1993. El valor nutritivo de la leche bovina y factores que alteran su composición. *Producción Animal*. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Valdivia. Chile. Pp 27- 56.
- LINDEN, G., LORIENT, D. 1996. *Bioquímica Agroindustrial. Revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 428 p.
- LODES, A., KRAUSE, I., BUCHBERGER, J., AUMANN, J., KLOSTERMEYER, H. 1996. The influence of genetic variants of milk proteins on the compositional and technological properties of milk .1. Casein micelle size and the content of non-glycosylated kappa-casein. *Milchwissenschaft* 51 (7):368-373.

- LOOPER, M., STOKES, S., WALDNER, D., JORDAN, E. 2001. Managing Milk Composition: Normal Sources of Variation. Guide D-103. College of Agriculture and Home Economics New Mexico State University. 4 p.
- LOPEZ-FADIÑO, R., DE LA FUENTE, M., RAMOS, M., OLANO, A .1998. Distribution of minerals and proteins between the soluble and colloidal phases of pressurized milks from different species. Journal of Dairy Research. 65 69 -78.
- LOWE, R., ANEMA, S., PATERSON, G. y HILL, J. 1995. Simultaneous separation of the lactoglobulin A, B y C variants using polyacrylamide gel electrophoresis. Milchwissenschaft. 50 (2): 663-666.
- LOWRY, O., ROSEBROUGH, N., FARR, A. y RANDALL, R. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193: 265-275.
- LUCEY, J. y FOX, P. 1993. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review Journal of Dairy Science. 76 (6): 1714-1724.
- LUCEY, J., JOHNSON, M., HORNE, D. 2003. Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. Journal of Dairy Science. 86:2725–2743.
- LUNDEN, A., NILSSON, M., JANSON, L.1997. Marked Effect of β -Lactoglobulin Polymorphism on the Ratio of Casein to Total Protein in Milk. Journal of Dairy Science. 80:2996–3005.
- MACKLE, T., BRYANT, A., PETCH, S., HILL, J., AULDIST, M., 1999. Nutritional Influences on the Composition of Milk from Cows of Different Protein

Phenotypes in New Zealand. *Journal of Dairy Science* .82:172–180.

MARIANI, P; SERVETI, P. y FOSSA, E. 1997. Contenuto di caseina, varianti genetiche ed attitudine tecnologico-casearia del latte delle vacche di razza Bruna nella produzione del formaggio grana. Allegato alla rivista “la razza brunna italiana”. 2: 8-14.

MARSHALL, K.1995. Protein standardization of milk products. In *Milk protein. Definition and standardization*, International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Pp. 49-54.

McKENZIE,H. y WAKE, R. 1961. An improved method for the isolation of κ -casein. *Biochimic Biophys Acta*. 47: 240-242.

NTAILIANAS, H. y WHITNEY, R. 1964. Calcein as an indicator for the determination of total calcium and magnesium and calcium alone in the same aliquot of milk. *Journal of Dairy Science*. 47 (1): 19-27.

NG-KWAI-HANG, K. 1997. A review of the relationship between milk protein polymorphism and milk composition/milk production. En *Milk protein polymorphism*. International Dairy Federation. Proceedings of the Seminar held in Palmerston North, New Zealand. Pp. 22-37.

O'BRIEN, B., RYAN, G., MEANEY, W., McDONAGH, D., KELLY, A .2002. Effect of Frequency of Milking on Yield, Composition and Processing Quality of Milk. *Journal of Dairy Research*. 69: 367-374.

O'BRIEN, B., MURPHY, J., CONNOLLY, J., MEHRA, R., GUINEE, T., STAKELUM, G. 1997. Effect of altering the daily herbage allowance in

mid lactation on the composition and processing characteristics of bovine milk. *Journal of Dairy Research*. 64: 621-626.

OSTERSEN, S., FOLDAGER, J., HERMANSEN, J. 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research*. 64: 207-219.

PASTORINO, A., RICKS, N., HANSEN, C., McHAON, D. 2003. Effect of Calcium and Water Injection on Structure – Function Relationships of Cheese. *Journal of Dairy Science*. 86:105–113.

PATIL, M., BORKHATRIYA, V., BOGHRA, V., SHARMA, R. 2003. Effect of Bovine Milk Kappa-Casein Genetic Polymorphs on Curd Characteristics During Cheddar Cheese Manufacture. *Journal of Food Science And Technology*. 40(6)582-586.

PEÑA, R., SANCHEZ, A., FOLCH, J. 2000. Characterization of genetic polymorphism in the goat *b*-lactoglobulin gene. *Journal of Dairy Research*. 67: 217- 224.

PÉREZ, E. 2003. Relación entre el polimorfismo de κ -CN y β -Lg con el contenido de calcio, fósforo, citrato y termoestabilidad de la leche. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 103 p.

PETIT, H., GERMIQUET, C., LEBEL, D. 2004. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 87(11): 3889- 3898.

- PIRES, P., FERNANDES, E., VILARINHO, M., BARROS, M., FERREIRA, R., CARNEIRO, L., ALMEIDA, G., VAZ, M. 2003. Comparison of milk from two different cow breeds Barrosa and Frísia. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chememistry*. 2(4) 1-5.
- PRIMO, E. 1997. *Química de los Alimentos*. Editorial Síntesis. Madrid, España. 461 p.
- PROSSER, C., TURNER, S., McLAREN, R., LANGLEY, B., L'HUILLIER, P., MOLAN, P., AULDIST, M. 2000. Milk whey protein concentration and mRNA associated with β -lactoglobulin phenotype. *Journal of Dairy Research*, 67 287-293.
- ROBITAILLE, G., BRITTEN, M., MORISSET. J., PETITCLERC, D. 2002. Quantitative analysis of β -lactoglobulin A and B genetic variants in milk of cows β -lactoglobulin AB throughout lactation. *Journal of Dairy Research*. 69: 651-654.
- TSIARAS, A., BARGOULI, G., BANOS, G., AND BOSCOS, C. 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin Loci on Milk Production Traits and Reproductive Performance of Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 88:327–334.
- UDABAGE, P., McKINNON, I., AUGUSTIN, M. 2000. Mineral and casein equilibria in milk: effects of added salts and calcium-chelating agents. *Journal of Dairy Research* (2000) 67 361-370.
- VERA, C. 2000. Contenidos de sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo no proteico y fósforo total en leche de la VIII, IX y X regiones. Tesis Lic. en

Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias. Agrarias. Valdivia. 73 p.

- VIANA, J., FERNANDEZ, A., IGLESIAS, A., SANCHEZ, L., BECERRA, J. 2001. Análisis de los genotipos más frecuentes de la κ -caseína en la raza vacuna rubia galega mediante pcr/rflps. Archivos de Zootecnia. 50: 91-96.
- WALSH, C., GUINEE, T., HARRINGTON, D., MEHRA, R., MURPHY, J., FITZGERALD, R. 1998. Cheesemaking, Compositional and Functional Characteristics of Low-moisture part-skim Mozzarella cheese from Bovine Milks containing K-casein AA, AB or BB genetic variants. Journal of Dairy Research. 65: 307-315.
- WALSTRA, P., GEURTS, T., NOOMEN, A., JELLEMA, A. y VAN BOEKEL, M. 1999. Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker AG. USA. 727 p.
- WATIAUX, M. 2003. Composición de la leche y valor nutricional. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Universidad de Wisconsin-Madison. 4 p
- WINKELMAN, A. y WICKHAM, B. 1997. Associations between milk protein genetic variants and production traits in New Zealand Dairy cattle. En: Milk Protein Polymorphism. International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Pp. 38-45.
- YAHYAOU, H., COLL, A., SANCHEZ, A., FOLCH, J. 2001. Genetic polymorphism of the caprine kappa casein gene. Journal of Dairy Research. 68: 209-219.

ANEXOS

ANEXO 1
Caracterización de las vacas en estudio

Vacas	Fecha de nacimiento	Nº de lactancia
546	11/05/97	5
579	04/06/97	5
591	11/08/97	5
596	20/08/97	5
633	05/03/98	5
636	08/03/98	5
639	10/03/98	5
642	11/03/98	5
644	12/03/98	5

→ Antecedentes de nacimiento y estado de lactancias.

→ Información progenie

R.P.	% HF	Padre	Abuelo materno	Bisabuelo	
				Materno	Paterno
546	46,75	Loyal 120	Mandarin	Gay	
579	25	Moro	Ripken	Astroide	Astro King
591	43,5	Loyal 120	Trade	Diagrat	
596	34,38	Continental	Jim Ben	Canon	Famous Prefect
633	56,25	Loyal 120	Kentucky	Canon	Famous Prefect
636	12,5	Gavilan	Astroide	Duice	Alfons
639	7,5	Tomy	Gbenovolent	Camote	Country Astro King
642	0	Gavilan	Galpac	Domingo	Puyter-Adema 261
644	100	Stevens	Kay	1641(madre)	

(Continuación ANEXO 1)

→ **Alimentación**

Concentrado Especial Zona Sur 15 -33, Marca Bioleche.

Composición proximal

Humedad 13,55

Proteína total 15%

Fibra cruda 14%

Energía MATAB. (Mcal x kg) 3,3

Calcio 2,9 gr/kg

Fósforo 1,0 gr/kg.

Ingredientes

Granos de cereales, subproductos de molinería de cereales, Afrecho de Oleaginosas, Melazas de remolacha.

Sales minerales.

Ensilaje.

ANEXO 2

Resultados del contenido de caseína y número de caseína en le leche de las nueve vacas Frisón negro estudiadas

Muestreo	Vaca	Proteína total (%)	Proteína del suero (%)	Contenido de caseína (%)	Número de caseína
1	546	3,59	0,98	2,62	72,80
1*	546	3,69	0,99	2,70	73,23
1	579	3,42	0,91	2,51	73,39
1*	579	3,33	0,89	2,45	73,42
1	591	3,61	1,02	2,59	71,72
1*	591	3,56	1,00	2,56	71,92
1	596	3,70	0,96	2,74	73,95
1*	596	3,73	1,02	2,71	72,69
1	633	3,90	0,97	2,94	75,26
1*	633	3,59	0,85	2,74	76,26
1	636	3,40	1,02	2,38	70,01
1*	636	3,42	1,08	2,34	68,47
1	639	3,64	0,76	2,88	79,13
1*	639	3,74	0,74	3,00	80,30
1	642	3,19	0,75	2,45	76,59
1*	642	3,23	0,75	2,49	76,95
1	644	3,52	0,79	2,74	77,70
1*	644	3,57	0,76	2,81	78,77
2	546	3,45	0,69	2,76	80,00
2*	546	3,30	0,66	2,64	80,00
2	579	3,93	0,88	3,05	77,61
2*	579	3,83	0,90	2,93	76,50
2	591	3,2	0,77	2,43	75,85
2*	591	3,50	0,84	2,66	75,98
2	596	3,46	0,93	2,53	73,12
2*	596	3,50	0,93	2,57	73,43
2	633	4,1	1,07	3,03	73,89
2*	633	4,10	1,03	3,07	74,86
2	636	3,65	1,04	2,61	71,51
2*	636	3,55	1,05	2,50	70,36

*Corresponde al duplicado

(Continuación ANEXO 2)

2	639	3,35	0,76	2,59	77,24
2*	639	3,60	0,84	2,76	76,75
2	642	3,1	0,70	2,40	77,40
2*	642	3,05	0,71	2,34	76,64
2	644	3,25	0,71	2,54	78,07
2*	644	3,30	0,67	2,63	79,70
3	546	3,72	1,02	2,70	72,58
3*	546	3,72	1,03	2,69	72,31
3	579	3,49	0,90	2,59	74,21
3*	579	3,45	0,84	2,61	75,61
3	596	3,32	0,97	2,35	70,78
3*	596	3,43	0,95	2,48	72,30
3	633	3,94	0,96	2,98	75,70
3*	633	4,25	0,98	3,27	76,91
3	636	3,21	1,04	2,17	67,60
3*	636	3,25	0,97	2,28	70,15
3	639	3,33	0,81	2,52	75,69
3*	639	3,16	0,83	2,33	73,64
3	642	3,21	0,75	2,47	76,73
3*	642	3,56	0,69	2,87	80,54
3	644	3,35	0,71	2,64	78,78
3*	644	3,38	0,70	2,68	79,16
4	546	3,39	0,81	2,58	75,98
4*	546	3,38	0,83	2,56	75,51
4	579	3,15	0,81	2,34	74,39
4*	579	3,27	0,79	2,48	75,79
4	633	3,40	0,83	2,57	75,56
4*	633	3,31	0,95	2,36	71,29
4	636	3,31	0,79	2,52	76,13
4*	636	3,49	0,80	2,68	76,93
4	642	3,50	0,73	2,77	79,18
4*	642	3,46	0,72	2,74	79,15
4	644	3,34	0,94	2,40	71,85
4*	644	3,42	0,91	2,51	73,44

*Corresponde al duplicado

ANEXO 3

Contenido de fósforo, calcio

Muestreo	Vaca	Calcio	fósforo
1	546	1,3	0,076
1*	546	1,3	0,078
1	579	1,25	0,090
1*	579	1,20	0,092
1	591	1	0,104
1*	591	1	0,109
1	596	1,3	0,099
1*	596	1,3	0,096
1	633	0,9	0,123
1*	633	0,8	0,122
1	636	0,8	0,088
1*	636	0,8	0,095
1	639	1	0,147
1*	639	0,8	0,145
1	642	0,9	0,069
1*	642	0,9	0,068
1	644	1	0,124
1*	644	0,9	0,123
2	546	0,7	0,147
2*	546	0,9	0,138
2	579	1,20	0,090
2*	579	1,20	0,086
2	591	0,9	0,115
2*	591	1	0,140
2	596	1,3	0,102
2*	596	1,3	0,098
2	633	0,7	0,089
2*	633	1	0,095
2	636	0,8	0,113
2*	636	1	0,109
2	639	0,8	0,137
2*	639	0,8	0,132
2	642	0,8	0,132

(Continuación ANEXO 3)

2*	642	0,8	0,112
2	644	1	0,152
2*	644	0,8	0,161
3	546	1,3	0,076
3*	546	1,25	0,079
3	579	1,2	0,122
3*	579	0,95	0,104
3	596	1,3	0,099
3*	596	1,3	0,103
3	633	1,2	0,109
3*	633	1	0,155
3	636	1,2	0,099
3*	636	1,2	0,098
3	639	1,1	0,106
3*	639	1,1	0,106
3	642	1,1	0,163
3*	642	1,1	0,127
3	644	1,3	0,094
3*	644	1,1	0,084
4	546	1,2	0,088
4*	546	1,15	0,088
4	579	1	0,116
4*	579	1,1	0,109
4	633	1,25	0,085
4*	633	1,15	0,100
4	636	1,2	0,103
4*	636	1,2	0,100
4	642	1,05	0,113
4*	642	1,1	0,128
4	644	0,95	0,086
4*	644	1	0,085

*Corresponde al duplicado

ANEXO 4

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de proteína total

❖ Según muestreo

✓ Contraste de Varianza

Contraste C de Cochran: 0,427355	P-valor = 0,0758224
Contraste de Bartlett: 1,3134	P-valor = 0,00118869
Contraste de Hartley: 9,83092	
Test de Levene: 2,80153	P-valor = 0,0474783

- Dado que el menor de los p-valores es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones típicas para un nivel de confianza del 95,0%.

✓ Test Kruskal-Wallis

	Tamaño Muestral	Rango Medio
Muestreo 1	18	39,75
Muestreo 2	18	33,1667
Muestreo 3	16	30,4688
Muestreo 4	12	23,3333

 Estadístico = 5,85445 P-valor = 0,118908

- Puesto que el p-valor es superior o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0%.

(Continuación ANEXO 4)

❖ **Según época**

✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,475494 P-valor = 5,37912E-7

Contraste de Bartlett: 1,12033 P-valor = 0,00000467253

Contraste de Hartley: 4,81818

Test de Levene: 5,40677 P-valor = 0,00128449

▪ Dado que el menor de los p-valores es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones típicas para un nivel de confianza del 95,0%.

✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
Otoño	64	188,219
Invierno	80	130,256
Primavera	80	72,2062
Verano	24	109,708

Estadístico = 94,5751 P-valor = 0,0

▪ Puesto que el p-valor es inferior a 0,05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0%.

✓ **Resumen Estadístico**

	Frecuencia	Media	Varianza	Desviación típica
Otoño	64	3,48813	0,0620917	0,249182
Invierno	80	3,26512	0,0226607	0,150535
Primavera	80	3,09525	0,0329442	0,181505
Verano	24	3,21	0,012887	0,113521
Total	248	3,26254	0,0573421	0,239462

ANEXO 5

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de proteínas del suero y caseínas.

- **Caseínas**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,405835 P-valor = 0,384679

Contraste de Bartlett: 1,10585 P-valor = 0,448289

Contraste de Hartley: 4,21464

Test de Levene: 0,403079 P-valor = 0,751897

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0636483	3	0,0212161	0,47	0,7026
Intra grupos	1,2523	28	0,044725		
Total (Corr.)	1,31595	31			

- **Proteínas del suero**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,369701 P-valor = 0,290878

Contraste de Bartlett: 1,08702 P-valor = 0,181811

Contraste de Hartley: 3,71596

Test de Levene: 2,73479 P-valor = 0,0514064

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0575785	3	0,0191928	1,33	0,2723
Intra grupos	0,864197	60	0,0144033		
Total (Corr.)	0,921775	63			

ANEXO 6

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de calcio.

❖ Según muestreo

✓ Contraste de Varianza

Contraste C de Cochran: 0,393624 P-valor = 0,172667

Contraste de Bartlett: 1,19606 P-valor = 0,0151597

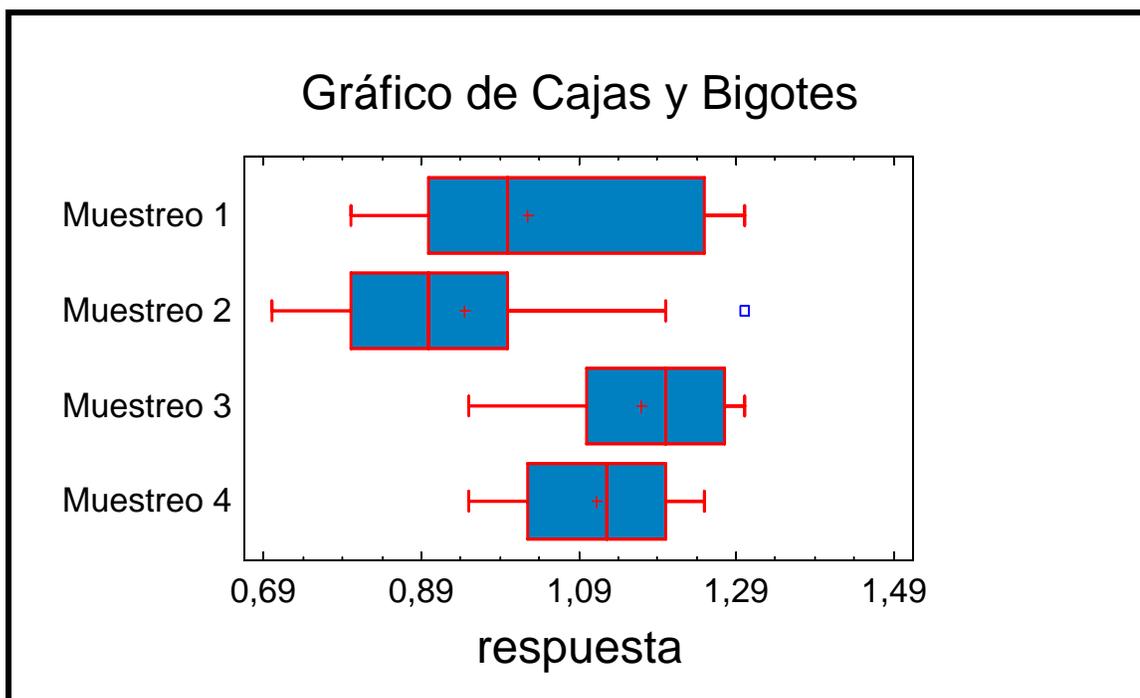
Contraste de Hartley: 4,1878

Test de Levene: 3,04288 P-valor = 0,0356384

✓ Test Kruskal-Wallis

	Tamaño Muestral	Rango Medio
Muestreo 1	18	29,6389
Muestreo 2	18	21,9444
Muestreo 3	16	43,9063
Muestreo 4	12	37,4167

Estadístico = 13,2993 P-valor = 0,00403182



(Continuación ANEXO 6)

El gráfico de caja y bigotes indica que las medianas de los muestreos 3 y 4 son mayores a la de los muestreos 1 y 2.

❖ **Según época**

✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,63816 P-valor = 0,0

Contraste de Bartlett: 2,18114 P-valor = 0,0

Contraste de Hartley: 41,7713

Test de Levene: 61,3594 P-valor = 0,0

✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
Otoño	64	87,125
Invierno	80	93,8688
Primavera	80	189,356
Verano	24	110,083

Estadístico = 98,5403 P-valor = 0,0

✓ **Resumen Estadístico**

	Frecuencia	Media	Varianza	Desviación típica
Otoño	64	1,05469	0,0326761	0,180765
Invierno	80	1,10875	0,0112212	0,10593
Primavera	80	1,26513	0,000782263	0,027969
Verano	24	1,15196	0,00652404	0,0807715
Total	248	1,14942	0,0199788	0,141346

ANEXO 7

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para el contenido de fósforo.

❖ **Según muestreo**

✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,307241 P-valor = 0,898232

Contraste de Bartlett: 1,06758 P-valor = 0,282234

Contraste de Hartley: 2,93411

Test de Levene: 1,05062 P-valor = 0,376884

✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,00356129	3	0,0011871	2,38	0,0789
Intra grupos	0,0299788	60	0,000499646		
Total (Corr.)	0,0335401	63			

❖ **Según época**

✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,75038 P-valor = 0,0

Contraste de Bartlett: 1,93896 P-valor = 0,0

Contraste de Hartley: 18,5386

Test de Levene: 35,2197 P-valor = 0,0

(Continuación ANEXO 7)

✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
Otoño	64	167,773
Invierno	80	96,9688
Primavera	80	140,175
Verano	24	48,625

Estadístico = 65,771 P-valor = 0,0

✓ **Resumen Estadístico**

	Frecuencia	Media	Varianza	Desviación típica
Otoño	64	0,108141	0,000534916	0,0231283
Invierno	80	0,0897375	0,0000288543	0,00537162
Primavera	80	0,0955638	0,000081058	0,00900322
Verano	24	0,082275	0,0000680324	0,00824818
Total	248	0,095644	0,000247057	0,0157181

ANEXO 8

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína total y variantes genéticas de κ -caseína.

✓ Contraste de Varianza

Contraste C de Cochran: 0,538047 P-valor = 0,67384

Contraste de Bartlett: 1,00121 P-valor = 0,788983

Contraste de Hartley: 1,16472

Test de Levene: 0,00320116 P-valor = 0,955063

✓ Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,000175	1	0,000175	0,00	0,9582
Intra grupos	3,9116	62	0,0630903		
Total (Corr.)	3,91177	63			

ANEXO 9

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína del suero, caseínas y variantes genéticas de k-caseína.

- **Proteínas del suero**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,887739 P-valor = 1,15803E-7

Contraste de Bartlett: 1,13841 P-valor = 0,00562285

Contraste de Hartley: 7,90785

Test de Levene: 12,8712 P-valor = 0,000658493

- ✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
K_CN A	8	32,1875
K_CN B	56	32,5446

Estadístico = 0,00257862 P-valor = 0,959501

- **Caseínas**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,618689 P-valor = 0,358937

Contraste de Bartlett: 1,01207 P-valor = 0,569533

Contraste de Hartley: 1,62253

Test de Levene: 0,0796704 P-valor = 0,779683

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,000021875	1	0,000021875	0,00	0,9823
Intra grupos	1,31593	30	0,0438642		
Total (Corr.)	1,31595	31			

ANEXO 10

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína total y variantes genéticas de B-lactoglobulina.

✓ Contraste de Varianza

Contraste C de Cochran: 0,562808 P-valor = 0,486086

Contraste de Bartlett: 1,00504 P-valor = 0,581688

Contraste de Hartley: 1,28732

Test de Levene: 0,000335569 P-valor = 0,985444

✓ Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,26852	1	0,26852	4,57	0,0365
Intra grupos	3,64325	62	0,0587622		
Total (Corr.)	3,91178	63			

✓ Contraste Múltiple de Rango

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	14	3,36571	X
AB	50	3,5224	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - AB	*-0,156686	0,14652

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 11

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para proteína del suero, caseínas y variantes genéticas de B-lactoglobulina.

- **Caseínas**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,516965 P-valor = 0,897135

Contraste de Bartlett: 1,00036 P-valor = 0,919124

Contraste de Hartley: 1,07025

Test de Levene: 0,00997948 P-valor = 0,92109

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,000228018	1	0,000228018	0,01	0,9430
Intra grupos	1,31572	30	0,0438573		
Total (Corr.)	1,31595	31			

- **Proteínas del suero**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,865451 P-valor = 0,00000136432

Contraste de Bartlett: 1,21577 P-valor = 0,000593744

Contraste de Hartley: 6,43221

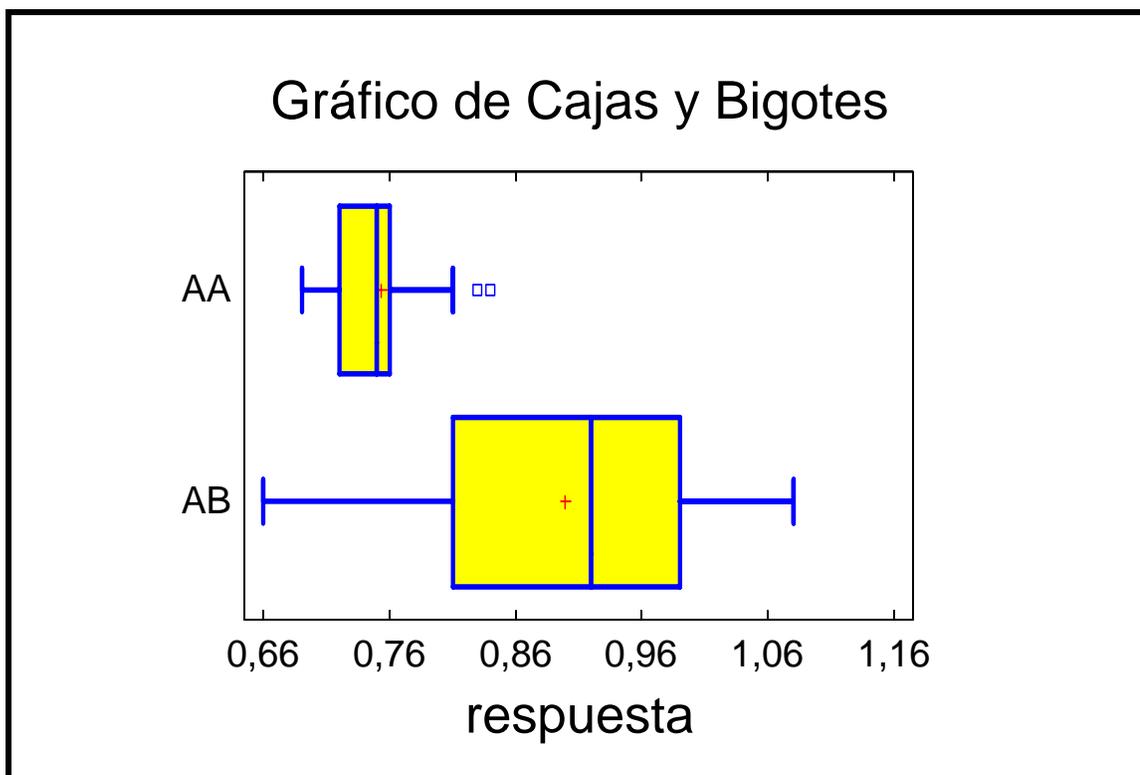
Test de Levene: 12,5392 P-valor = 0,000762859

- ✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
AA	14	15,0
AB	50	37,4

Estadístico = 15,8496 P-valor = 0,0000685808

(Continuación ANEXO 11)



ANEXO 12

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para calcio y fósforo según variantes genéticas de κ -caseína.

- **Calcio**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,743973 P-valor = 0,00396889

Contraste de Bartlett: 1,04446 P-valor = 0,108708

Contraste de Hartley: 2,90583

Test de Levene: 4,55919 P-valor = 0,0367012

- ✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
A	8	40,0625
B	56	31,4196

Estadístico = 1,53695 P-valor = 0,215069

- **Fósforo**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,762531 P-valor = 0,00170482

Contraste de Bartlett: 1,05209 P-valor = 0,0830844

Contraste de Hartley: 3,21107

Test de Levene: 1,85867 P-valor = 0,177709

- ✓ **Test Kruskal-Wallis**

	Tamaño Muestral	Rango Medio
A	8	28,0
B	56	33,1429

Estadístico = 0,534066 P-valor = 0,464902

ANEXO 13

Resultados obtenidos de los análisis estadístico para calcio y fósforo según variantes genéticas de B-lactoglobulina.

- **Calcio**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,641313 P-valor = 0,111015

Contraste de Bartlett: 1,02519 P-valor = 0,220374

Contraste de Hartley: 1,78795

Test de Levene: 1,62993 P-valor = 0,206475

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,183222	1	0,183222	6,06	0,0166
Intra grupos	1,87537	62	0,0302479		
Total (Corr.)	2,05859	63			

- ✓ **Contraste Múltiple de Rango**

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A	14	0,953571	X
AB	50	1,083	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - AB	*-0,129429	0,105123

- indica una diferencia significativa.

(Continuación ANEXO 13)

- **Fósforo**

- ✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,63041 P-valor = 0,142639

Contraste de Bartlett: 1,02637 P-valor = 0,209994

Contraste de Hartley: 1,7057

Test de Levene: 1,00348 P-valor = 0,320364

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,00263299	1	0,00263299	5,28	0,0249
Intra grupos	0,0309071	62	0,000498501		
Total (Corr.)	0,0335401	63			

- ✓ **Contraste Múltiple de Rango**

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

	Frec.	Media	Grupos homogéneos
AB	50	0,104719	X
A	14	0,120234	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A - AB	*0,0155155	0,0134953

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 14

Análisis estadísticos para combinación de variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina

- Proteína total**

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,37819	2	0,189095	3,26	0,0450
Intra grupos	3,53359	61	0,0579276		
Total (Corr.)	3,91178	63			

- ✓ **Contraste Múltiple de Rango**

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

Frec.	Media	Grupos homogéneos
k_Cn B _ β _lg A	8	3,2875 X
k_Cn A _ β _lg A	8	3,48375 XX
k_Cn B _ β _lg A	48	3,52229 X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
k_Cn A _ β _lg AB - k_Cn B _ β _lg AA	0,19625	0,289106
k_Cn A _ β _lg AB - k_Cn B _ β _lg AB	-0,0385417	0,220808
k_Cn B _ β _lg AA - k_Cn B _ β _lg AB	*-0,234792	0,220808

- indica una diferencia significativa.

(Continuación ANEXO 14)

- **Proteínas del suero**

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,188608	2	0,0943042	7,85	0,0009
Intra grupos	0,733167	61	0,0120191		
Total (Corr.)	0,921775	63			

- ✓ **Contraste Múltiple de Rango**

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

Frec.	Media	Grupos homogéneos
k_Cn B _ β_lg AA	8	0,725 X
k_Cn A _ β_lg AB	8	0,865 X
k_Cn B _ β_lg AB	48	0,890833 X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
k_Cn A _ β_lg AB - k_Cn B _ β_lg AA	*0,14	0,131689
k_Cn A _ β_lg AB - k_Cn B _ β_lg AB	-0,0258333	0,100579
k_Cn B _ β_lg AA - k_Cn B _ β_lg AB	*-0,165833	0,100579

* indica una diferencia significativa.

(Continuación ANEXO 14)

- **Caseínas**

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,0141385	2	0,00706927	0,16	0,8550
Intra grupos	1,30181	29	0,0448899		
Total (Corr.)	1,31595	31			

- **Calcio**

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,113958	2	0,0569792	1,79	0,1761
Intra grupos	1,94464	61	0,0318793		
Total (Corr.)	2,05859	63			

- **Fósforo**

- ✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,000670979	2	0,000335489	0,62	0,5399
Intra grupos	0,0328691	61	0,000538838		
Total (Corr.)	0,0335401	63			

ANEXO 15

Producción de leche a través de los muestreos.

Muestreo	Vacas	Producción (Litros)
1	546	13
1	579	18
1	591	8,5
1	596	12
1	633	15
1	636	12,5
1	639	14
1	642	14,6
1	644	15
2	546	8
2	579	15
2	591	6,5
2	596	12
2	633	9,2
2	636	14
2	639	13
2	642	11,5
2	644	13,1
3	546	11
3	579	19
3	591	Vaca seca
3	596	13
3	633	14
3	636	11
3	639	11,5
3	642	12,5
3	644	12,8
4	546	13
4	579	17
4	591	Vaca seca
4	596	Vaca seca
4	633	12,8
4	636	7

(Continuación ANEXO 15)

4	639	Vaca seca
4	642	12
4	644	13

ANEXO 16
Análisis estadísticos para la producción de leche AM.

❖ **Según muestreo**

✓ **Contraste de Varianza**

Contraste C de Cochran: 0,319723 P-valor = 1,0
 Contraste de Bartlett: 1,01272 P-valor = 0,953671
 Contraste de Hartley: 1,51426
 Test de Levene: 0,136515 P-valor = 0,937393

✓ **Análisis de la Varianza**

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	25,1483	3	8,38277	1,07	0,3776
Intra grupos	219,309	28	7,83246		
Total (Corr.)	244,457	31			