

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

**Efecto de las Variantes Genéticas A y B de *k*-caseína y
 β -lactoglobulina, sobre la Composición Proteica y
Mineral de la Leche. Época de Otoño**

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

Patricio Javier Ramírez Delgado

VALDIVIA – CHILE
2005

PROFESOR PATROCINANTE

Sra. Luz Haydée Molina C.

Prof. Biología y Química

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES

Sra. Carmen Brito C.

Ingeniero en Alimentos, M. Sc. Food Science

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Srta. Irma Molina V.

Prof. Matemáticas y Física, M. en Estadística

Instituto de Estadística

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a la profesora Luz H. Molina por su constante comprensión y ayuda durante la elaboración de mi tesis.

Al proyecto FONDECYT 1030345, que de alguna u otra forma participo en la elaboración de esta tesis.

A mis padres Roberto y Olga, por su apoyo, amor, y educación que ellos mismos me han otorgado.

A mi hermano Roberto, y amigos que durante los años de estudios he compartido momentos de gran satisfacción junto a ellos.

A mi polola Natalí, por su apoyo y amor durante los años de estudios, y durante el proceso de mi titulación.

A todos los profesores que contribuyeron en el desarrollo de mis años de estudios en la universidad.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	La leche y su composición	3
2.2	Importancia del manejo genético animal	3
2.3	Factores que afectan la producción y composición de la leche	5
2.3.1	Variaciones en la composición de la leche	5
2.3.2	Variaciones en la producción de leche	7
2.4	Proteínas de la leche y polimorfismo genético	8
2.4.1	Polimorfismo genético y producción de leche	12
2.4.1.1	κ -caseína	12
2.4.1.2	β -lactoglobulina	13
2.4.2	Polimorfismo genético y composición de leche	13
2.4.2.1	κ -caseína	13
2.4.2.2	β -lactoglobulina	15
2.5	Frecuencia de las variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina	17
2.5.1	κ -caseína	17
2.5.2	β -lactoglobulina	19
2.6	Calcio y fósforo	20
2.7	Caracterización del rebaño Frisón Negro chileno	22

3	MATERIAL Y METODO	25
3.1	Materiales	25
3.1.1	Obtención de muestras	25
3.1.2	Lugar de análisis	25
3.1.3	Diseño experimental	25
3.2	Metodología	26
3.2.1	Métodos de análisis	26
3.2.1.1	Contenido de proteína total y proteína del suero	26
3.2.1.2	Separación de proteínas del suero	26
3.2.1.3	Contenido de caseína	26
3.2.1.4	Contenido de fósforo	26
3.2.1.5	Contenido de calcio	27
3.2.1.6	Separación muestra para electroforesis κ -caseína y β - lactoglobulina	27
3.2.1.7	Determinación variantes genéticas κ -caseína y β -lactoglobulina	27
3.2.2	Análisis estadísticos	27
4.	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	28
4.1	Contenido proteico, mineral, (calcio y fósforo) y producción de leche, en la época de otoño	28
4.1.1	Contenido de proteína total en las muestras de leche	28
4.1.2	Promedio del contenido de caseína total en la leche	30
4.1.3	Promedio del contenido total de proteína del suero en la leche	31
4.1.4	Promedio del contenido de calcio total en la leche	33
4.1.5	Promedio del contenido de fósforo total en la leche	35
4.1.6	Producción de leche por vaca ordeña AM	36
4.2	Evaluación del efecto de las variantes genéticas A y B	

	de κ -caseína sobre la composición proteica y mineral de la leche	38
4.2.1	Efecto de las variantes A y B de κ -caseína sobre el contenido de proteína total	39
4.2.2	Efecto de las variantes A y B de κ -caseína sobre el contenido de caseína total	40
4.2.3	Efecto de las variantes A y B κ -caseína sobre el contenido de proteína del suero	41
4.2.4	Efecto de las variantes A y B κ -caseína sobre el contenido de calcio	42
4.2.5	Efecto de las variantes A y B κ -caseína sobre el contenido de fósforo	43
4.3	Efectos de la interacción de las variantes A y B de κ -caseína y BB de β -lactoglobulina sobre la composición química y mineral de la leche	43
4.4	Comparación de la composición proteica y mineral (calcio y fósforo) de la leche de vacas individuales en las distintas estaciones del año	45
4.4.1	Proteína total	47
4.4.2	Caseína	49
4.4.3	Proteína del suero	51
4.4.4	Calcio	53
4.4.5	Fósforo	56
4.5	Comparación de la composición proteica y mineral, (calcio y fósforo) de la leche de acuerdo al número de lactancias	58
5	CONCLUSIONES	60
6	RESUMEN	61

	SUMMARY	62
7	BIBLIOGRAFIA	63
	ANEXOS	78

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Efecto de la época, mes y número de parto sobre el contenido de grasa y proteína	6
2	Concentración y variantes de las proteínas de la leche	11
3	Comparación de la frecuencia genotípica de la κ -caseína en estudios realizados en USA, Dinamarca y Chile	19
4	Frecuencia génica de las variantes A y B de β -lactoglobulina	19
5	Características de rebaños Frisón Negro chileno	23
6	Composición genética promedio de las distintas razas	24
7	Diseño experimental	26
8	Promedio y desviación estándar del contenido de proteína según muestreo en la época de otoño	28
9	Promedio y desviación estándar del contenido promedio de caseína según muestreo en la época de otoño	30
10	Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero según muestreo en la época de otoño	32
11	Promedio y desviación estándar del contenido de calcio según muestreo en la época de otoño	34
12	Promedio y desviación estándar del contenido de fósforo según muestreo en la época de otoño	35

13	Promedio y desviación estándar de la producción de leche ordeña AM para las muestras de leche según numero de vacas en la época de otoño	37
14	Promedio general de la composición proteica y mineral de la leche, según las variantes genéticas A y B de <i>k</i> -caseína en la época de otoño	39
15	Promedio general y desviaciones estándares para los principales parámetros composicionales en leches analizadas en las distintas épocas del año	46
16	Promedio general y desviaciones estándares para las principales características analizadas, según número de lactancias	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Distribución de las medianas del porcentaje de proteína total para cada estación del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	47
2	Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de proteínas durante las estaciones del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	48
3	Distribución de las medianas del contenido de caseína total para cada estación del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	50
4	Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de caseína durante las estaciones del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	50
5	Distribución de las medianas del contenido de proteína del suero para cada estación del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	52
6	Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de proteína del suero durante las estaciones del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	53
7	Distribución de las medianas del contenido de calcio para cada estación del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	54
8	Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de calcio durante las estaciones del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	55

9	Distribución de las medianas del contenido de fósforo para cada estación del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	56
10	Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de fósforo en las distintas épocas del año. (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004)	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Caracterización general de las vacas en estudio	79
2	Determinación de proteína total, proteína del suero, y caseína	80
3	Determinación del contenido de fósforo total en leche según método espectrofotométrico FIL/IDF 42B: 1990	82
4	Determinación del contenido de calcio en leche según Ntailianas y Whitney, (1964)	83
5	Preparación de muestra para electroforesis de Isoenfoque	84
6	Variantes genéticas de <i>k</i> -caseína y β -lactoglobulina	86
7	Resultados obtenidos durante la época de otoño para los distintos muestreos y análisis realizados sobre la composición proteica y mineral de la leche.	87
8	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de proteína (%) para cada uno de los muestreos	91
9	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de caseína (%) para cada uno de los muestreos	92
10	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de proteína del suero (%) para cada uno de	

	los muestreos	93
11	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de calcio (g/L) para cada uno de los muestreos	94
12	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de fósforo (%m/m) para cada uno de los muestreos	95
13	Resultados de la producción de leche ordeña AM para las muestras de leche según n° de vaca en la estación de otoño	96
14	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos de las variantes A y B de <i>k</i> -caseína, para cada una de las propiedades analizadas	97
15	Resultados obtenidos de los análisis estadísticos según número de lactancias, para todas las propiedades analizadas.	100

1. INTRODUCCION

El aumento del consumo aparente de leche y una mayor producción ha llevado a las industrias a un mejoramiento del proceso en cuanto a tecnología, y calidad, es por eso que es de gran importancia el estudio en los distintos componentes de la leche como materia prima.

Factores como la diferencia de razas en las distintas vacas lecheras ha llevado a un mejoramiento genético, para evaluar el efecto sobre los principales componentes de la leche.

Al caracterizar los rebaños lecheros de acuerdo a las variantes genéticas, sobre las distintas propiedades químicas y tecnológicas de la leche, se traduce en mejores rendimientos lecheros, elaboración de productos lácteos, y mejor calidad de leche.

En el presente estudio se plantea como hipótesis que la variante B de *k*-caseína y β -lactoglobulina de la leche de vacas Frisón Negro Chileno, tienen influencias positivas sobre la composición química de la leche.

La presente investigación tiene como objetivo general evaluar la incidencia de las variantes genéticas A y B de *k*-caseína y β -lactoglobulina sobre la composición proteica y mineral de la leche de vaca Frison Negro.

Los objetivos específicos de la investigación son:

- Determinar el contenido de proteína total, caseínas, proteínas de lactosuero, de fósforo y calcio en las muestras de leche.
- Evaluar la influencia de las variantes genéticas sobre las características composicionales analizadas, mediante análisis estadísticos.
- Medir la producción de leche de las vacas en estudio en la ordeña de la mañana (AM).
- Relacionar el contenido de caseínas y proteínas del lactosuero de la leche obtenida en otoño, con las características composicionales obtenidas en la leche de otras estaciones del año, para el mismo grupo de vaca.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 La leche y su composición

La leche es el líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, conteniendo agua, grasa, proteínas, lactosa y minerales (CASADO y GARCIA, 1985). Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 2001), leche “es el producto extraído de la ordeña completa e interrumpida de vacas sanas, bien alimentadas y en reposo, exenta de calostro.

La composición de la leche según ALAIS (1985), BADUI (1984), WALSTRA y JENESS (1984) varía entre 87,1% a 87,3% de agua; 3,4% a 3,9% de grasa; 3,1% a 3,4% de proteínas; y 0,7% a 0,9% de cenizas. Las diferencias de composición encontradas en los diferentes estudios, se debe a factores tales como el período en que fueron realizados los estudios, climáticos, alimentación, raza, etapa de lactancia, los cuales afectan la composición química de la leche.

2.2 Importancia del manejo genético animal

Con los avances en las técnicas de genética molecular es de gran interés estudiar el efecto que tiene los factores genéticos sobre los rasgos cuantitativos en distintos rebaños lácteos, siendo los genes de las proteínas los que tienen mayor efecto sobre los rasgos fenotípicos. (AGGREY et al., 1998).

Varios de los resultados que han surgido del estudio del polimorfismo genético de las proteínas de la leche, se han realizado con el propósito del mejoramiento de los diferentes sectores de la industria láctea. (NG-KWAI-HANG, 1998).

Según TIRADOS (2001), la mejora genética animal ayuda a contribuir a un conocimiento mas profundo de la base genética en la que se asientan los caracteres productivos y permitir un adecuado control genealógico.

En las investigaciones para determinar la relación entre la presencia de varios marcadores genéticos y rasgos de producción, se ha puesto una real atención a la relación entre el polimorfismo genético de las proteínas y las propiedades químicas y fisicoquímicas de la leche. (KRÓL, y LITWINEZUK, 2002).

El bovino ha sido sometido a múltiples cruza a través de los años, que han derivado en las distintas razas especializadas. Esto hace que vacas del mismo peso promedio, pero de distintas razas y sometidas a un ambiente similar, tengan importante diferencias, tanto en el volumen producido, como en la composición de la leche (HERVÉ, 1991).

En cuanto a los aspectos genéticos razas Jersey y Friesian, todas con el genotipo AB de *k*-caseína, manejadas idénticamente fueron comparadas de acuerdo a la composición y propiedades de coagulación de la leche, encontrándose que las mayores concentraciones de la mayoría de los componente de la leche como proteína, caseína, y grasa, son mejores en raza Jersey, así como también una mayor rapidez de coagulación y firmeza de la cuajada (AULDIST *et al.*, 2004).

2.3 Factores que afectan la producción y composición de la leche

Las principales fuentes de variación en la composición proteica y mineral de la leche, se pueden clasificar en factores ligados al animal (lactancia, raza, sanidad), y factores ambientales (alimentación, estación del año) (LATRILLE, 1993; ALAIS, 1985).

2.3.1 Variaciones en la composición de la leche. La materia grasa es el componente que presenta mayor variación, aunque las proteínas, lactosa y sales minerales también varían pero en menor proporción (ALAIS, 1985; CASADO Y GARCIA, 1985).

En relación al contenido de nitrógeno, se ha determinado que vacas Holstein Friesian, tienen menor contenido de proteína cruda, de proteína total, y de caseína en comparación a las leche de vacas Jersey (De PETERS y FERGUSON, 1992).

Otra fuente de variación, así se ha observado en las proteínas de la leche, y en general en los sólidos totales es la etapa de la lactancia en que se encuentra la vaca. La concentración de proteínas declina gradualmente las primeras 12 semanas de lactación, posterior a ello vuelve a aumentar hasta llegar aproximadamente a los niveles con que se inició la lactancia (PHILLIPS, 2001).

Los contenidos de calcio y fósforo son mayores al inicio de la lactación disminuyendo durante el avance de esta, para luego ir incrementando su concentración al final de la lactación (AMIOT, 1991).

Según BRITTEN *et al.* (2002), no hay diferencia estadísticamente significativa entre las variantes A y B de β -lactoglobulina, y la etapa de lactancia. La proporción de β -lactoglobulina en la fracción de proteína del suero de la leche

para β -lactoglobulina AA fue de 59 y 57.8% (p/p) en <60 días de lactancia y > 270 días de lactancia respectivamente. Además se encontró que el genotipo BB de β -lactoglobulina produce mayor contenido de caseína lo cual es más beneficioso para la elaboración de producto.

Variaciones estacionales de la leche se presentan en el contenido de materia grasa y proteína siendo esta menores en verano, y mayores al final del otoño, (ALAIS, 1985; O'BRIEN *et al.*, 1997; HERRERA, 1997).

En el CUADRO 1 se presenta la variación del contenido de proteína y grasa debido a factores estacionales, como época, mes y número de parto, encontrándose solo diferencia estadísticamente significativa en el factor de época de parto.

CUADRO 1. Efecto de la época, mes y número de parto sobre el contenido de grasa y proteína.

	Época de Parto		Mes de Parto en otoño			Número de Parto			
Análisis	Otoño	Primavera	Marzo	Abril	Mayo	1	2	3 y 4	>5
Proteína	3,19 ^a	3,23 ^b	3,17 ^a	3,20 ^a	3,19 ^a	3,18 ^a	3,21 ^a	3,21 ^a	3,21 ^a
Grasa	3,72 ^a	3,71 ^b	3,68 ^a	3,68 ^a	3,66 ^a	3,75 ^a	3,72 ^a	3,71 ^a	3,68 ^a

* Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

FUENTE: PEREZ (2003b)

La alimentación afecta a la cantidad y composición de leche producida. Con una reducción de alimento disminuye la cantidad de leche y aumenta la materia grasa, una sub-alimentación aumenta la cantidad de leche y la materia grasa solo disminuye si hay una reducción de los aportes energéticos y nitrogenados (ALAIS, 1985).

Según ALAIS (1985) y UNDERWOOD (1981), la alimentación influye muy poco en la composición mineral de la leche.

En un estudio sobre el efecto del régimen alimenticio sobre la composición de la leche de vaca de los fenotipos A y B de β -lactoglobulina en rebaños de Nueva Zelanda, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el régimen de alimentación, y la composición proteica de la leche (AULDIST, *et al.*, 1999).

VILLOCH y PONCE (1986), estudiaron la relación entre la alimentación y el contenido de minerales en leche de vacas Holstein, concluyendo que sus contenidos de calcio, sodio y potasio se ven afectados significativamente por la alimentación.

2.3.2 Variaciones en la producción de leche. Después del parto hay un incremento paulatino del nivel de producción hasta llegar a un máximo alrededor de la sexta a octava semana de lactación. Posteriormente la producción disminuye de una manera sostenida hasta el quinto mes de preñez, y luego hay un descenso acelerado de la producción hasta el punto de secado (ALAIS 1985).

Según OKANTAH (1992), la producción aumenta desde la primera lactancia, hasta alcanzar un máximo en la tercera, desde la cual empieza a declinar paulatinamente.

Según ESPINDOLA *et al.* (2002), vacas lecheras Frisón Negro en pastoreo rotativo primaveral a las que se suministraba diariamente la siguiente suplementación energética por vaca: T1: 6 kg de maíz molido, T2: 6 kg de maíz molido al vapor y T3: 4 kg de maíz molido al vapor tuvieron una producción de

leche mayor ($p < 0,05$) para T2 y T3 (29,1 kg/día) que para T1 (27,6 kg/día), debido a que los tratamientos T2 Y T3, ingirieron mayor cantidad de pradera.

La producción de leche es influenciada por las temperaturas, que las afectan negativamente cuando es elevada. Durante los partos de primavera- verano, la producción de leche se ve afectada por temperaturas elevadas y por mala calidad de los alimentos provocando además, un efecto negativo sobre el contenido de grasa y proteína. Sin embargo, en los partos de otoño-invierno, donde el contenido de grasa y proteína es superior, las vacas podrán alcanzar una máxima producción, de acuerdo al tipo de alimentación. (CASADO Y GARCIA, 1985).

2.4 Proteínas de la leche y polimorfismo genético

La mutación dentro de los genes de proteínas de la leche produce las variantes genéticas lo cual, puede ser detectado por electroforesis. (NG-KWAI-HANG, 1998)

El polimorfismo en el ganado bovino consiste en variaciones en las proteínas del plasma sanguíneo, suero, glóbulos blancos, glóbulos rojos y leches. Se ha utilizado electroforesis en geles de almidón, agarosa o poliacrilamida como medio de separación de las variantes genéticas, sin embargo, la electroforesis de isoelectroenfoque es la que más se ha utilizado en diferentes estudios. (GONZALEZ de LLANO, 1990; FRIES y RUBINSKY, 1999).

El polimorfismo genético se refiere a que existen varias formas genéticas de una proteína, es decir se trata de variantes cuya síntesis está gobernada por un gen en particular. Las variantes genéticas se designan por letras A, B, C, etc; en las especies bovina la frecuencia de los tipos genéticos varía con la raza (ALAIS, 1985).

Dentro de las caseínas se pueden distinguir cuatro fracciones caseínicas que se van a diferenciar por su punto isoeléctrico y peso molecular que son: α s-caseína, β -caseína, κ -caseína, γ -caseína. (ALAIS, 1985).

Debido a su estructura y propiedades, la κ -caseína posee un poder estabilizante frente al calcio sobre las otras caseínas, por lo que se considera que tiene un papel de coloide protector (ALAIS, 1985).

Generalmente, sólo se describen las variantes A y B de κ -CN, pero GONZÁLEZ de LLANO (1990), sugiere la identificación de cuatro variantes A, B, C y E. Además, según el mismo autor, el alelo correspondiente a la variante A, tiende a predominar en la mayoría de las razas.

Alrededor del 20% de la proteína total de la leche bovina pertenece al grupo de las llamadas proteínas del suero, esta fracción esta compuesta por cuatro proteínas principales: β -lactoglobulina (50%), α -lactoalbumina (20%), seroalbúmina (10% BSA) y la inmunoglobulina (Ig 10%) (FOX y McSWEENEY, 1998).

La β -lactoglobulina es una pequeña proteína globular, a pH de la leche se encuentra como un dímero de dos subunidades monoméricas, no unidas covalentemente, que contienen 162 residuos de aminoácidos (GONZALEZ de LLANO, 1990).

Es la proteína más abundante en el lactosuero de la leche de vaca y la mayor fuente de grupos sulfhidrilos (-SH). Se caracteriza por ser una molécula muy compacta, dado su naturaleza hidrofóbica, cuya cadena está fuertemente plegada (VEYSSEYRE, 1980; WALSTRA *et al.*, 1999).

Las variantes génicas de las proteínas de la leche pueden diferenciarse unas de otras, debido a una sustitución o delección de aminoácidos, esto produce diferencias en las cargas, lo cual provoca cambios en las propiedades fisicoquímicas y, modificación de la estructura secundaria y terciaria de la proteína. (JACOB y PUHAN, 1995; VEISSEYRE, 1980).

Las variantes más comunes para β -lactoglobulina son la A y B y se diferencia por la sustitución de aminoácidos en la posición 64, Gly-Asp y 118 Ala-Val (EIGEL *et al.*, 1984).

Las variantes genéticas pueden ser homocigotos, que producen una sola variante o individuos heterocigotos, que contienen una mezcla de variantes (FOX y McSWEENEY, 1998; ALAIS, 1985).

Righetti *et al.* citados por HAMES (1998), señalan que la electroforesis de isoenfoque presenta ventajas por trabajar con un parámetro fisicoquímico intrínseco de la proteína que es su pI; y permite una buena resolución de proteínas en las que su pI difiere en solo 0.01 unidades de pH.

En cuanto a la composición mineral Berg *et al.* citados por HORNE y MUIR (1994), señalan que leches con presencia del genotipo BB de κ -CN presenta un mayor contenido de ión calcio. DALGLEISH (1989) y DELACROIX – BUCHET *et al.* (1993), encontraron que leches que poseían la variante B de κ -caseína presentaban un tiempo de coagulación menor que aquellas leches que presentan la variante A de κ -caseína. Esta situación tendría relación con el tamaño de las micelas y también a la presencia de Ca^{++} libres.

En el CUADRO 2 se presentan las características de las proteínas de la leche.

CUADRO 2. Concentración y variantes de las proteínas de la leche

Componente	Contenido g/L	Variante genética	P.I	P.M (Dalton)	Numero de aminoácidos
caseínas	27.2			23500	
α_{S1} -caseína	13.6	A, B, C, D, E	5.1 ⁽¹⁾		199
α_{S2} -caseína		A,B,C,D	4.6 ⁽¹⁾		207
β -caseína	8.2	A ¹ , A ² , A ³ B,C,D,E	5.3 ⁽²⁾	24000	209
k-caseína	4.1	A,B,C	3.4- 4.2 ⁽¹⁾	19000	169
γ -caseína	1.4		5.8 ⁽³⁾		
γ_1		A ¹ , A ² , A ³		20500	
γ_2		A ¹ , A ³ , B		11800	
γ_3		A ¹ , B		11500	
Proteínas del suero	6.8				162
β -lactoglobulina	3.6	A, B, C, D	5.3 ⁽³⁾	18300	162
α -lactoalbumina	1.7	A, B, C	5.1 ⁽²⁾	14200	
inmunoglobulina	0.6		4.6- 6.0 ⁽²⁾		
seroalbumina	0.4		4.7 ⁽¹⁾	69000	
Proteasa-peptona	0.7		3.7 ⁽³⁾	4000- 40000	

FUENTE: (1) BADUI (1984); (2) VEISSEYRE (1980); (3) BELITZ y GROSCH (1997).

Las variantes más comunes de k-caseína son la A y B que se diferencian por la sustitución de treonina por isoleucina en la posición 136, y el residuo ácido aspártico por alanina en la posición 148 (FELMER y BUTENDIECK, 1998; HORNE et al., 1996; EIGEL *et al.*, 1984).

2.4.1 Polimorfismo genético y producción de leche. Numerosos estudios referente a la relación entre producción de leche y variantes genéticas de κ -caseína y β -lactoglobulina son inconsistentes por varias razones, las cuales incluyen: tamaño de población relativamente pequeña, crías de rebaño, muy bajas frecuencias de algunas variantes, método de expresión de producción y el rigor de análisis estadísticos. (NG-KWAI-HANG, 1998).

2.4.1.1 κ -caseína. NG-KWAI-HANG *et al.* (1986), determinaron en leche de la raza Holstein-Friesian que el fenotipo AB de κ -caseína presentaba la mayor producción de leche.

Sin embargo otros estudios en raza Holstein indicaron que la κ -caseína AA, estaba asociada con una alta producción de leche, en comparación con aquellas que presentaban la variante BB. (Ng-Kwai-Hang, citado por JAKOB y PUHAN, 1995).

Según ANTONINI *et al.* (2003), en 146 vacas de razas criollas Saavedra, de la estación experimental de Saavedra en Bolivia, el único locus que evidenció diferencias significativas en producción de leche entre los tres posibles genotipos de κ -caseína, fue el genotipo AA el que estaba asociado con una mayor producción de leche ($p \leq 0,05$). Este genotipo produjo 20% más (150 litros) que los genotipos BB y AB en su primera lactación.

Los resultados encontrados por ERHARDT *et al.* (1999), muestran una clara asociación entre el polimorfismo de κ -caseína, y las características de producción de leche, encontrándose que en el genotipo heterocigoto AB de κ -caseína demostró tener mejores características de producción de leche.

2.4.1.2 β -lactoglobulina. Según BANOS *et al.* (2005), para el genotipo de β -lactoglobulina se encontraron diferencias significativas sobre la producción de leche (AB>AA).

Según McLEAN *et al.* (1984), no encontraron relación entre las variantes genéticas de la β -lactoglobulina y la producción de leche.

Son muchos los estudios sobre la relación del polimorfismo genético con la producción de leche, siendo la variante A de la β -lactoglobulina la que está asociada a una mayor producción de leche (NG-KWAI-HANG, 1997).

Sin embargo, Aschaffenburg y Drewry citados por TSIARAS *et al.* (2005), mencionan que la variante B de β -lactoglobulina aumenta la producción de leche.

2.4.2 Polimorfismo genético y composición de leche. El efecto de las variantes genéticas sobre la composición y propiedades tecnológicas de la leche ha sido objeto de diferentes estudios (ALAIS, 1985).

2.4.2.1 *k*-caseína. NG-KWAI-HANG *et al.* (1986), mencionan que la concentración de grasa y proteínas son mayores en leche de raza Holstein-Friesian que presentan el fenotipo BB de *k*-caseína.

De acuerdo a VAN DEN BERG (1993), el fenotipo BB de *k*-caseína está asociado con un mayor porcentaje de proteína, caseína y más bajo porcentaje de proteínas del suero, lo que resulta en un número más alto de caseína.

Según BANOS *et al.* (2005), el genotipo de *k*-caseína afecta significativamente al contenido de proteínas (genotipo AB>AA), aumentando también la producción y contenido de grasa con el genotipo AB.

La leche de las vacas que portan el alelo B del gen de la *k*-caseína presenta un rendimiento cualitativo y cuantitativo superior en la producción de quesos, comparado con el obtenido con la leche de las vacas que tienen el alelo A, sin embargo este último se encuentra con mayor frecuencia en la raza Holstein (LOPEZ, y VASQUEZ, 2004).

Según AHLFORS *et al.* (1999), encontraron una mayor firmeza de la cuajada y tiempo de coagulación para el alelo B de *k*-caseína.

Las vacas que presentan la variante B de *k*-caseína producen leche con un alto contenido de proteínas y de caseínas. (WALSTRA *et al.*, 1999).

En otros estudios se afirma que la variante B de la *k*-caseína en ganados criollos lecheros de México, tiene influencia directa sobre el porcentaje de proteína y de producción de leche, y no están ligados al contenido de grasa. También se ha observado en el análisis simultáneo de otras de las caseínas, que la *k*-caseína presenta una cierta interacción con genes que rigen las otras caseínas. (De ALBA, 1997).

De un total de 789 vacas de raza Finnish Ayrshire en la época de primavera, se encontró que el alelo B de *k*-caseína estaba asociado con un alto contenido de proteínas, durante la primera lactación (IKONEN *et al.*, 1999).

La variante genética B de *k*-caseína fue asociada con mayores contenidos de proteínas y caseínas en vacas de razas Holstein. (PETITCLERC y ROBITAILLE, 2000).

Los resultados encontrados muestran una clara asociación entre el polimorfismo de *k*-caseína y el contenido de proteína. El genotipo homocigoto *k*-

caseína BB presentes en cruza de crías blancas y negras alemanas 25% Jersey, 50% Holstein Friesian, presenta mayor contenido de grasa y proteína (ERHARDT *et al.*, 1999).

CREAMER y HARRIS (1997), en un estudio realizado en vacas Frisonas encontraron que el tiempo de coagulación térmica de *k*-caseína B a 140° C, es entre un 40 y 90% mayores que los apreciados en la *k*-caseína A.

2.4.2.2 β -lactoglobulina. LODES *et al.* (1996), establecieron que la variante AB de β -lactoglobulina está asociado con un mayor contenido de caseína y grasa, lo mismo encontró LAWRENCE (1993), en la variante B de β -lactoglobulina

HILL (1993), establece que leches de vaca con fenotipo BB de β -lactoglobulina presentaban menor contenido de proteínas del suero y mayor porcentaje de caseína, grasa y sólidos totales que vacas con fenotipo AA de β -lactoglobulina.

La variante B de β -lactoglobulina esta asociada con una mayor concentración de caseína en la leche, dándole mejores aptitudes de coagulación durante la elaboración de quesos (NG-KWAI-HANG, *et al.*, 1984; NG-KWAI-HANG, 1998).

En un estudio realizado por BENAVIDES (2003), en vacas de raza Frisón Negro Chileno, pertenecientes al Fundo Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, provincia de Valdivia, en la época de primavera, se determinó que el fenotipo AB de β -lactoglobulina, tiene un efecto significativo, sobre la aptitud de la coagulación de la leche ($p < 0,05$), sin embargo el mes de muestreo, no tuvo ningún efecto sobre este parámetro.

BOBE *et al.* (1999), concluyeron que la concentración total de proteína de la leche no es afectado significativamente por cualquiera de los genotipos de las

proteínas de la leche, sin embargo las vacas con β -lactoglobulina AA producen mayor contenido de proteínas.

JANSON *et al.* (1997), estudiaron la relación entre las variantes genéticas y la composición de la leche en rebaños de vacas de raza Holstein Swedish, blancas y rojas, estableciendo resultados positivos sobre el efecto del alelo B de β -lactoglobulina sobre el contenido de caseína y la razón entre el número de caseína y proteína total de la leche.

Según BANOS *et al.* (2005), para el genotipo de β -lactoglobulina se encontraron diferencias significativas sobre la producción de grasa (BB y AB > AA) y el contenido de lactosa (AB > AA), en 278 vacas de raza Holstein, durante la primera y segunda lactación.

El efecto de la variante AA de β -lactoglobulina sobre la concentración de proteínas del suero fue mayor, pero menor en la concentración de caseína, en la leche con fenotipo BB, de razas Friesian; no existiendo interacción entre los efectos de alimentación de praderas, y el fenotipo, sobre la producción y composición de la leche. (AULDIST *et al.*, 2000)

Entre las aptitudes tecnológicas de la leche como la viscosidad aparente y los rendimientos de leche descremada concentrada a distintos tiempos y temperatura, durante la elaboración de leche en polvo, fue notablemente diferente para las distintas variantes genéticas de la leche. Es así, como la variante B de β -lactoglobulina muestra un incremento más rápido de la viscosidad aparente y mayor rendimiento a distintos tiempos y temperaturas de almacenamiento que la variante A de β -lactoglobulina (BIENVENUE *et al.*, 2003).

El genotipo de β -lactoglobulina AA fue asociado significativamente con un aumento en la concentración de β -lactoglobulina en la fracción de proteínas del suero. El genotipo de, β -lactoglobulina, no tubo efecto significativo para el número de caseína aunque se observo una tendencia hacia un mayor número de caseína en vacas de razas Holstein con el genotipo BB de β -lactoglobulina (BRITTEN *et al.*, 2002).

Por otra parte HILL (1993), afirma que la leche de vaca del fenotipo β -lactoglobulina BB, es más deseable para la elaboración de queso, que la leche proveniente de vacas AA, tales diferencias se atribuyen a un mayor contenido de caseína y contenido de grasa para la variante BB de β -lactoglobulina.

Un análisis de la variación de las características de producción en relación al polimorfismo genético de las proteínas de la leche, muestra que terneros con genotipo β -lactoglobulina AA, comparado con los genotipos AB y BB muestran una ganancia significativa en el peso corporal y producen leche con propiedades tecnológicas mejores para procesos industriales (CHLADEK *et al.*, 2002).

2.5 Frecuencia de las variantes genéticas de *k*-caseína y β -lactoglobulina

2.5.1 *k*-caseína PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.* (1998), estudiaron el polimorfismo genético en las proteínas de las leche en 429 vacas Holstein–Friesian, españolas, determinando en la variante genética A de *k*-caseína una frecuencia alélica de 83,3% y para la variante B un 16,7% respectivamente. En el mismo estudio determinaron para la variante A de β -lactoglobulina una frecuencia de 45,3% y para la variante B un 54,7%.

También en distintos ganados de cabras la *k*-caseína A y B son las variantes más comunes encontradas en varias razas como francesas, españolas, e

italianas. La variante B es predominante en casi todas las razas, a excepción de la raza Canaria, donde la variante A es la que prevalece (HABIB, 2003).

Según NG-KWAI-HANG *et al.* (1986), la frecuencia genotípica en porcentaje en vacas Holstein-Friesian para *k*-caseína es de 53,01 para fenotipo AA, 42,79 para fenotipo AB, y de 4,21 para fenotipo BB.

Otros estudios indican que la frecuencia fenotípica para vacas de raza Holstein Friesian para la variante de *k*-caseína BB es muy baja 1,98%, con respecto a la variante de *k*-caseína AA y AB, 53,07% y 44,95% respectivamente (FITZGERALD, 1998).

No obstante en rebaños Holstein argentinos la variante A de *k*-caseína fue la más importante, así el genotipo AA de *k*-caseína tuvo mayor frecuencia que los del genotipo BB y AB, con un 75% (BONVILLANI *et al.*, 2000).

En leche de raza Modenese en Italia existe un equilibrio entre la frecuencia de la variante A y B de *k*-caseína (0.505A vs. 0.495B), por el contrario en la raza Friesian italiana la variante A es más frecuente que la variante B (0.755A vs. 0.245B) (MALACARNE *et al.*, 2002).

Las diferencias en las frecuencias alélicas respecto a una raza en particular, se deben probablemente a variaciones en el tamaño de muestra de la investigación, o bien, a causas inherentes al animal como pureza de las razas o cruce de éstas que harán variar la frecuencia (NG KWAI HANG, 1997).

En el CUADRO 3 se presenta la comparación de la frecuencia fenotípica de distintas razas para *k*-caseína (FELMER y BUTENDIECK, 1998)

CUADRO 3. Comparación de la frecuencia genotípica de la *k*-caseína en estudios realizados en USA, Dinamarca y Chile.

RAZA	FRECUENCIA GENOTÍPICA <i>k</i> -CASEÍNA			
	AA	AB	BB	Nº animales
Holstein (USA)	81.3%	15.6%	3.1%	32
Frisón Negro Danés	73.5%	22.9%	3.6%	223
Frisón Negro Chileno	65.8%	33.1%	1.1%	278

FUENTE: FELMER y BUTENDIECK (1998).

2.5.2 β -lactoglobulina. Las variantes A y B de β -lactoglobulina tienen similar frecuencia génica en los distintos tipos de razas lecheras. En el CUADRO 3 se observa la distribución de las variantes A y B en diferentes ganados.

CUADRO 4. Frecuencia génica de las variantes A y B de β -lactoglobulina.

RAZA	A	B
HOLSTEIN (USA)	0.5	0.5
HOLSTEIN (Australia)	0.51	0.49
GUERNSEY (USA)	0.38	0.62
JERSEY (USA)	0.36	0.64

FUENTE: GONZALEZ de LLANO (1990).

La frecuencia alélica de las variantes de las proteínas de la leche fueron estudiadas en rebaños Kangayaman al sur del India, exhibiendo polimorfismo

con alta frecuencia alélica, un $0,9315 \pm 0,0159$, para la variante B de β -lactoglobulina (JEICHITRA *et al.*, 2003).

2.6 Calcio y fósforo

Estas sales se encuentran en menor proporción que los demás constituyentes de la leche, y son parte importante de la formación del complejo fosfocaseinato de calcio (ALAIS 1985).

La interacción de κ -caseína con las fracciones de α_s y β -caseína, genera que todo el complejo formado sea estable y no precipite en presencia de iones calcio presentes en la leche en pequeña proporción (BADUI, 1984).

La concentración promedio de estas sales que se encuentran en la leche son de: 1200mg/L y 950mg/L para calcio y fósforo, respectivamente. El 90% del fósforo y del calcio, se encuentran en las micelas de caseína formando parte de la estructura micelar (FOX y McSWEENEY, 1998; PRIMO, 1997).

Una baja concentración de calcio en la leche, produce una coagulación más lenta y una cuajada mas blanda durante la elaboración de quesos siendo esto negativo sobre las propiedades tecnológicas de la leche (FOX y McSWEENEY, 1998).

Los grupos fosfatos aumentan la estabilidad de la caseína por la formación de distintos complejos, así como el valor nutricional de la leche (FOX y McSWEENEY, 1998).

MACHEBOEUF *et al.* (1993), no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de calcio y las variantes genéticas de κ -caseína

en las razas Holstein, Montbéliarde y Tarentaise, registrando concentraciones de 1,22; 1,23 y 1,24 g/L para las variantes AA, AB y BB, respectivamente.

En cuanto a la composición mineral Berg *et al.* citados por HORNE y MUIR (1994), señalan que leches con presencia del genotipo BB de κ -caseína presenta un mayor contenido de ión calcio. DALGLEISH (1989), y DELACROIX – BUCHET *et al.* (1993), encontraron que leches que poseían la variante B de κ -caseína presentaban un tiempo de coagulación menor, que aquellas leches que presentan la variante A de κ -caseína. Esta situación tendría relación con el tamaño de la micela y también a la presencia de iones de Ca^{++} .

De acuerdo DAVIS *et al.* (2001), la variación del contenido de calcio en la leche, está estrechamente asociada al contenido de proteína en la leche, es así, como a mayor contenido de caseína en la leche existirá una mayor concentración de calcio coloidal unido a las caseínas, argumentando que existe un factor de variación de origen genético en el contenido de caseínas de la leche.

Razas de vacas Modenese son mas ricas en calcio (122.1 vs. 116.9 mg/100 ml) y fósforo (101.9 vs. 91.7 mg/100ml) que la raza Friesian Italian (MALACARNE *et al.*, 2002).

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

Se determinaron diferencias estadísticamente significativas entre las variantes genéticas A y B de κ -caseína respecto al contenido de calcio total, fósforo total, en la leche de vacas Frisón Negro en la época de primavera (PEREZ, 2003a).

HORNE y MUIR (1994), encontraron niveles de calcio soluble idéntico para leche de vacas Friesian en los diferentes fenotipos de k-caseína; el promedio del contenido de calcio soluble fue de 7.90mM para k-caseína AA y 8.05 para k-caseína BB, además mencionan que los efectos de la composición mineral no influyen en las propiedades de coagulación de la cuajada.

2.7 Caracterización del rebaño Frisón Negro chileno

Junto con Holstein Frisean, constituyen las razas lecheras más importantes del país. Los animales Frisón Negro se introducen en el país, especialmente en la zona sur, a principios de siglo, provenientes de ganado Alemán y Holandés es considerado como un animal de doble propósito. Su importancia radica en su mayor adaptabilidad a las condiciones de la Zona Sur del país, con mayor eficiencia en zonas marginales, lo que se traduce en producciones de leche y carne a menores costos. La raza Frisón Negro (Overo Negro), es una raza lechera, que ha sido adoptada a las condiciones ambientales de la zona sur del país. A mediados de la década de los 70 se introdujo genes para Overo Negro de toros Frisones provenientes de Inglaterra y Nueva Zelanda.

En los últimos años, se ha utilizado semen proveniente de Gran Bretaña, USA, Canadá y Nueva Zelanda, seleccionando los mejores reproductores de esos países, con el fin de incorporarle a esta raza características de mayor producción láctea, conformación de sistema mamario y carácter lechero, obtenido en algunos casos híbridos con hasta 75% de genes Holstein (CENEREMA, 2003; UACH, 1999¹).

Las características promedios propias de un rebaño de vacas Frisón Negro Chileno son observados en el CUADRO 5.

¹<http://www.uach.cl/centro/inseminacionartificial/productos/frisonnegro.htm>

CUADRO 5. Características de rebaños Frisón Negro chileno.

	Hembra	Macho
Altura (cm)	130-140	150
Peso (Kg)	600	1000
Producción (L)	> 5500	---
Materia Grasa (%)	3,8	---
Proteínas (%)	3,2	---

FUENTE: CENEREMA, 2003

En la zona sur, X Región de Chile, se destaca la Raza Holando-Chileno, que en realidad es el Holstein Friesian, raza lechera más importante del mundo, adaptada a las condiciones de producción de la región con el uso de inseminación artificial, con semen de toros provenientes principalmente de Estados Unidos, Canadá, Holanda y Nueva Zelanda. También está la raza Jersey, la cual es relativamente nueva en el país y en la X región. Es más pequeña que la raza Holando-Chileno, aunque mantiene las características morfológicas de las razas especializadas en producción de leche, es decir, musculatura larga y ubres muy bien conformadas (Sago-Fisur 2003)².

Según CUEVAS *et al.* (2002), al comparar razas Frisón Negro Chileno, Holstein Americano, y Frison Neozelandés, de acuerdo a su composición genética, concluyeron que la raza Frisón Negro Chileno es inferior en cuanto a producción de leche y contenido de grasa en relación a las razas de los orígenes neozelandeses y americanos.

² <http://www.sago.cl/eventosyferias/exposicion.php#frison>

La composición genética promedio de las distintas razas del estudio realizado por CUEVAS *et al.* (2002) se presentan en el CUADRO 6.

CUADRO 6. Composición genética promedio de las distintas razas

Composición Genética	Frisón Negro Chileno (%)	Frisón Británico (%)	Frisón Neozelandés (%)	Holandés Americano (%)
10N	91,6	7,3	0,9	0,2
0,5Nz	33,9	15,7	50	0,4
0,75Nz	21,1	5,9	72,9	0,1
0,5Ho	36,9	12,4	0,2	50,5

FUENTE: CUEVAS *et al.* (2002)

10N= 100% Frisón Negro Chileno; 0,5Nz= 50% Frisón Neozelandés; 0,75Nz= 75% Frisón Neozelandés; 0,5Ho= 50% Holandés Americano.

En el CUADRO 6 se observa que en el caso del ganado 100% Frisón Negro Chileno (10N), existe un 91,6% del mismo, combinado con 7,3% de Frisón Británico; 0,9% de Frisón Neozelandés, y 0,2% de Holandés Americano, con diferentes combinaciones para las demás mezclas.

3. MATERIAL Y METODO

3.1 Materiales

3.1.1 Obtención de muestras. Las muestras de leche se obtuvieron desde el predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile durante el periodo Abril – Julio del año 2004 de 8 vacas raza Frison negro. Las vacas en estudios fueron seleccionadas de manera que presentaran características similares como: tercera lactancia, libres de mastitis, misma alimentación. Tales características son presentadas en el ANEXO 1.

La fase experimental del estudio se realizó en la época de otoño, completando un total de 4 muestreos. Las fechas de cada muestreo fueron realizadas en abril, (24/04/2004); mayo, (17/05/2004); junio, (14/06/2004) y julio, (05/07/2004).

Las muestras se tomaran de acuerdo a la Norma Chilena 1011/1 (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, 1998).

3.1.2 Lugar de análisis. Las muestras de leche fueron transportadas al Instituto de Ciencia y Tecnología de los alimentos (ICYTAL), refrigeradas dentro de horas después de la ordeña, en el cual se realizaron los respectivos análisis.

3.1.3 Diseño experimental. En el CUADRO 7 se presenta el diseño experimental

CUADRO 7. Diseño experimental.

Muestras (n)*	Factores		Respuestas	
	Muestreo	Variantes de Proteína		
1	Abril	<i>K-caseína</i>	A	Proteína Total
2			B	Caseína Total
3	Mayo	<i>β</i> -lactoglobulina	A	Proteína del Suero
4			B	Fósforo
5	Junio	<i>β</i> -lactoglobulina	A	Calcio
6			B	
7	Julio	<i>β</i> -lactoglobulina	A	
8			B	

* Vacas del grupo 2 del predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile (2004)

3.2 Metodología

3.2.1 Métodos de análisis. Los métodos para los distintos análisis que se realizaron a las muestras de leche son presentadas a continuación.

3.2.1.1 Contenido de proteína total y proteína del suero. Se determinó mediante el método Semi Micro Kjeldahl FIL/IDF 20B: (1993) (ANEXO 2).

3.2.1.2 Separación de proteínas del suero. Se determinó por el método McGann et al. citado por PINTO *et al.* (1998) (ANEXO 2).

3.2.1.3 Contenido de caseína. Según el procedimiento utilizado por Rowland citado por FOX y McSWEENEY (1998) (ANEXO2).

3.2.1.4 Contenido de fósforo. Según método espectrofotométrico FIL/IDF 42B : 1990 (ANEXO 3)

3.2.1.5 Contenido de calcio. Según NTAILIANAS y WHITNEY (1964) (ANEXO 4).

3.2.1.6 Separación de la muestra para electroforesis de κ -caseína y β -lactoglobulina. Se realizó mediante el método de MCKENZIE y WAKE (1961) LOWE *et al.* (1995) (ANEXO 5), y la determinación del contenido de proteínas por el método LOWRY *et al.* (1951) (ANEXO 6).

3.2.1.7 Determinación de las variantes genéticas κ -caseína y β -lactoglobulina. Electroforesis de Isoenfoque (CASANOVA 2001). Información obtenida del proyecto Fondecyt 1030345 (BRITO *et al.*, 2003) (ANEXO 6).

3.2.2 Análisis estadístico. Se aplicó un análisis de varianza simple y comparación de promedios, con el fin de detectar el efecto de los factores estudiados en la leche de las diferentes vacas para cada respuesta en estudio.

Además, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, debido a que se encontraron diferencias significativas en la prueba de contraste de varianza, la cual anula el análisis de varianza simple, a fin de encontrar diferencias significativas entre las respuestas estudiadas para cada estación del año.

Para el análisis de los resultados obtenidos se utilizó el programa computacional STATGRAPHIC plus Versión 5.1.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 Contenido proteico, mineral, (calcio y fósforo) y producción de leche

Los resultados obtenidos durante la época de otoño para los distintos muestreos y análisis realizados sobre la composición química y mineral de la leche se presentan en el ANEXO 7.

4.1.1 Contenido de proteína total en las muestras de leche. En el CUADRO 8 se presentan el promedio para cada uno de los muestreos realizados durante la época de otoño

CUADRO 8. Promedio y desviación estándar del contenido de proteína según muestreo en la época de otoño.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	16	3,25 \pm 0,51 ^a
2	16	2,99 \pm 0,48 ^a
3	14 ^{**}	3,05 \pm 0,51 ^a
4	16	3,15 \pm 0,53 ^a
Total muestreos	62	3,12 \pm 0,51

* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).
n: número de muestras.

** 1 vaca, (1353) durante el tercer muestreo con problemas de mastitis.

De acuerdo al CUADRO 8 el contenido de proteína promedio fue $3,12 \pm 0,51$.

promedios entre muestreo (ANEXO 8).

El contenido promedio de proteína obtenido fue menor en comparación a otras razas como Jersey, cuyo contenido promedio fue de un 4,01% durante la primera lactación, en un total de 116 vacas; y para razas Holstein que, también en primera lactación y de un total de 916 vacas, fue de un 3,27% (FAMULA *et al.*, 1997). MAGA y MURRAY (1999) informan un contenido de proteína promedio de 3,6%. La variación o diferencia con otros autores sobre el contenido promedio de proteína puede estar relacionado con el tamaño de muestra, y con factores como la estación del año, alimentación, y etapa de lactancia.

Sin embargo, un estudio realizado por LAVIN (1996), determinó un contenido proteico para vacas Frisón Negro, de primera lactancia, correspondiente a 2,96% de proteína. Para la misma raza de vacas Frisón Negro Chileno se encontró un porcentaje de proteína total de $3,36 \pm 0,14$ en el período de Octubre a Marzo. (NOBOA, 1998)

En el estudio realizado por KRAMM (2003), con muestras de leche obtenidas del mismo predio, pero en la época de primavera para un grupo diferente de 10 vacas que se encontraban en la primera lactancia, obtuvo un valor de proteína total de $3,09 \pm 0,18\%$, encontrándose levemente un mayor contenido de proteína en la tercera lactancia del presente estudio.

También IKONEN *et al.*, (1999), encontraron valores promedios de 3,28% de proteínas en vacas de razas Finnish Ayrshire, en su primera etapa de lactación.

HAYES *et al.* (1982), encontraron valores promedios de proteínas, para 2800 vacas de raza Holstein Friesian, de $3,4 \pm 0,02\%$, siendo valores superiores por

sobre los valores analizados, esto puede deberse a la etapa de lactancia, edad, y número de partos, como se mencionó anteriormente. Los mismos autores analizaron las muestras para los primeros 10 días de lactación encontrándose un aumento en el porcentaje de proteína total con un 3,81%, siendo menor a los dos meses de lactación con un porcentaje de 3,08.

4.1.2 Promedio del contenido de caseína total en la leche. En el CUADRO 9 se presenta el promedio para cada uno de los muestreos realizados durante la época de otoño

CUADRO 9. Promedio y desviación estándar del contenido promedio de caseína según muestreo en la época de otoño

Muestreo N°	n	Promedio ± desviación estándar (%)
1	16	2,49 ± 0,44 ^a
2	16	2,21 ± 0,53 ^a
3	14 ^{**}	2,28 ± 0,35 ^a
4	16	2,37 ± 0,37 ^a
Total	62	2,34 ± 0,43

*Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) n: número de muestras

** 1 vaca, (1353) eliminada porque durante el tercer muestreo presento mastitis

El contenido de caseína promedio fue de $2,34 \pm 0,43$. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en contenidos promedios por muestreo (ANEXO 9).

El contenido de caseína obtenido está por debajo de los valores descritos por HAYES *et al.*, (1982) los cuales encontraron valores de caseína para raza Holstein Friesian de $2.708 \pm 0,02$, en 2800 vacas, esto puede deberse a la etapa

de lactancia, edad, y número de partos, es así como los mismos autores, analizan las muestras para los primeros 10 días de lactación encontrando un aumento en el porcentaje de caseína total, cuyo valor fue de un 3,05%, y a los dos meses de lactación solo un porcentaje de 2,46.

HILL (1993), encontró rangos de contenidos de caseína superiores, con valores de 2,49% y 2,66% en rebaños de vacas de razas Friesian y Nueva zelandesas.

El promedio de caseína total es distinto entre razas, es así que al comparar el valor de la raza Frisón Negro obtenidos en este estudio, promedio de $2,34 \pm 0,43$ en la época de otoño, se encuentra que este valor esta por debajo de la raza Modenese en la cual se encontró un valor de $2,75 \pm 0,11\%$, sin embargo es muy similar a lo encontrado en la raza Italian Friesian en la cual se informa un $2,32 \pm 0,1\%$ (MALACARNE *et al.*, 2002).

El valor promedio calculado para el porcentaje de caseína en la misma raza Frisón Negro Chileno pero para leche de primera lactancia y en la época de primavera, fue de $2,36 \pm 0,16\%$ (KRAMM, 2003), siendo muy similar a los resultados obtenidos en la estación de otoño del presente estudio, en otro grupo de animales diferentes al del estudio anterior.

McLEAN *et al.* (1984), informan para vacas Holstein - Friesian valores de $2,39 \pm 0,12\%$ de caseína en 238 vacas, mientras que para vacas Jersey (263), registraron $3,07 \pm 0,15\%$ de caseína.

4.1.3 Promedio del contenido de proteína del suero total en la leche. En el CUADRO 10 se presenta el promedio para cada uno de los muestreos realizados durante la época de otoño.

CUADRO 10. Promedio y desviación estándar del contenido de proteínas del suero según muestreo en la época de otoño.

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	16	0,76 \pm 0,17 ^a
2	16	0,78 \pm 0,16 ^a
3	14 ^{**}	0,78 \pm 0,16 ^a
4	16	0,78 \pm 0,19 ^a
Total	62	0,78 \pm 0,17

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

n: número de muestras

** 1 vaca, (1353) eliminada porque durante el tercer muestreo presento mastitis

El contenido promedio de proteína del suero fue de $0,78 \pm 0,17\%$. De acuerdo al análisis de varianza realizado (ANEXO 10), no se detectaron diferencia estadísticamente significativa entre muestreos para un intervalo de confianza de un 95%.

El promedio general de proteínas del suero determinado es mayor a los valores descritos por HAYES *et al.*, (1982), los cuales encontraron valores de proteínas del suero para 2800 vacas de raza Holstein Friesian de $0,687 \pm 0,01\%$, esto puede deberse a la diferencia de etapa de lactancia, edad y numero de partos. Es así como los mismos autores, analizan las muestras para los primeros 10 días de lactación encontrando un mayor porcentaje de proteína del suero, correspondiente a 0,76%, y a los dos meses de lactación solo hubo un porcentaje de 0,62.

NG KWAI HANG *et al.* (1986), en estudios con vacas Holstein determinaron valores promedios de proteína del suero de 0,699% en 1908 vacas Holstein - Friesian, siendo inferiores a los encontrados en la presente investigación.

AULDIST *et al.* (2000), encontraron contenidos de proteínas del suero que van desde 0,525 a 0,606%, en vacas de raza Friesian, también menores a las encontradas en la presente investigación, estas diferencias podrían ser atribuidas a la diferencia en las características fenotípicas de las proteínas, raza, etapa de lactación y metodología de análisis.

KRAMM (2003), para vacas de razas Frisón Negro chileno, del mismo predio, analizadas durante la época de primavera, y que se encontraban en su primera lactancia, obtuvo contenidos de proteínas del suero de $0,72 \pm 0,05\%$, levemente inferior (0,06) a las determinadas en la presente investigación. Esto se puede atribuir a que el grupo de vacas analizadas por KRAMM se encontraban en distintas condiciones, mencionadas anteriormente, además de características fenotípicas distintas.

Los resultados encontrados en el estudio difieren de los reportados por los autores antes mencionados. Las diferencias existentes en relación al contenido de proteína del suero, pueden originarse debido a un tamaño de muestra menor, a la utilización de una raza distinta de las empleadas en investigaciones previas, a la etapa y número de lactancias, y la estación del año en el cual fue realizada la investigación

4.1.4 Promedio del contenido de calcio total en la leche. En el CUADRO 11 se presenta el promedio del contenido de calcio para cada uno de los muestreos realizados durante la época de otoño. Debido a que la prueba de contraste de varianzas se obtuvo diferencia significativa, se debió trabajar con la prueba de Kruskal-Wallis, la cual trabaja con las medianas de todos los datos realizados durante los muestreos.

CUADRO 11. Promedio y desviación estándar del contenido de calcio según muestreo en la época de Otoño

Muestreo N°	n	Promedio \pm desviación estándar (g/L)
1	16	1,025 \pm 0,16 ^a
2	16	1,046 \pm 0,10 ^a
3	14 ^{**}	0,924 \pm 0,09 ^b
4	16	0,924 \pm 0,053 ^b
Total	62	0,981 \pm 0,122

* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) n: número de muestras

** 1 vaca, (1353) eliminada porque durante el tercer muestreo presento mastitis

El contenido promedio de calcio total es de $0,981 \pm 0,122$ (g/L), existiendo diferencias estadísticamente significativas, entre los meses de muestreo abril-mayo y Junio-Julio. (ANEXO 11), esto puede atribuirse a que la proporción de calcio es mayor a inicios de la lactancia, disminuyendo así gradualmente en los siguientes meses de lactancias (VEISSEYRE, 1980).

Estos resultados son inferiores a los mencionados por ALAIS (1985), quien informa que el contenido promedio de calcio es de 1,3 g/Lt. De acuerdo a DAVIS *et al.* (2001), la variación del contenido de calcio está estrechamente asociada al contenido de caseína en la leche, es así como ha mayor contenido de caseínas existirá una mayor concentración de calcio coloidal unido a ellas, argumentando que existe un factor de variación de origen genético en el contenido de caseína de la leche; por lo tanto el bajo contenido de calcio determinado podría ser consecuencia del bajo contenido de caseína total encontrado.

PEREZ (2003a), analizó leche de vacas de raza Frisón Negro chileno del mismo predio pero con un grupo de vacas distintas a las de este estudio,

durante su primera lactancia y durante la época de primavera, determino un valor promedio de $1,26 \pm 0,0059$ (g/L) de calcio, no hallando diferencias estadísticamente significativas entre los meses de muestreo. De acuerdo a estos resultados hay un menor contenido de calcio total, debido a la diferencia de estación de año, lactancia, y factores genéticos de los animales.

CID (2004), también analizó vacas de raza Frisón Negro Chileno del mismo predio, pertenecientes al mismo grupo de vacas analizadas por PEREZ (2003a), y en su segunda lactancia, durante la época de invierno, encontrándose un valor promedio de calcio de $1,11 \pm 0,11$ g/L, siendo significativamente diferente a un nivel del 95% de confianza entre los meses de muestreo.

4.1.5 Promedio del contenido de fósforo total en la leche. En el CUADRO 12 se presenta el contenido promedio de fósforo para cada uno de los muestreos realizados durante la época de otoño

CUADRO 12. Promedio y desviación estándar del contenido de fósforo según muestreo en la época de otoño

Muestreo Nº	n	Promedio \pm desviación estándar (%)
1	16	$0,093 \pm 0,025^a$
2	16	$0,059 \pm 0,019^b$
3	14**	$0,065 \pm 0,016^b$
4	16	$0,090 \pm 0,016^a$
Total	62	$0,077 \pm 0,024$

* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)
n: número de muestras

** 1 vaca, (1353) eliminada porque durante el tercer muestreo presento mastitis

El contenido de de fósforo promedio general fue $0,077 \pm 0,024\%$ m/m. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas, entre los meses de muestreo abril-julio y mayo-junio. (ANEXO 12).

Los valores promedios obtenidos son menores a los informados por MARIANI *et. al.* (1997), que encontraron contenidos de fósforos de 0,086 (%m/m), en 51 muestras de leche de vacas de raza Italian Friesian.

El contenido promedio de fósforo en el presente estudio es menor al encontrado por PÉREZ (2003a), en leche de distinto grupo de vaca estudiado, durante el periodo de primavera, las cuales se encontraban en su primera lactancia con un contenido promedio de fósforo de 0,093 (%m/m), pudiendo ser este uno de los factores de la disminución de fósforo debido a que las vacas del presente estudio fue realizado en vacas que se encontraban en su tercera lactancia.

WALSTRA *et al.* (1999), mencionan que la mayoría de los componentes de la leche disminuye con el número de lactancias. Así Mahieu *et al.* citados por VERA (2000), indican que al aumentar el número de lactancias el contenido de fósforo tiende a disminuir.

El promedio de fósforo en el primer muestreo es alto comparado con el segundo y tercer muestreo incrementándose así en el muestreo final esto se afirma por CASADO y GARCIA, (1985); VEISSEYRE, (1980); WEBB *et al.* (1980); AMIOT, (1991), el cual podría explicarse debido al mes de lactancia, las vacas se encontraban en su primer y segundo mes de lactancia.

4.1.6 Producción de leche por vaca ordeña AM. En el CUADRO 13 se presenta el promedio de producción de leche para las ocho vacas en estudio en cada uno de los muestreos durante la época de otoño. Debido a que la prueba

de contraste de varianza obtuvo diferencia significativa, se debió trabajar con la prueba de Kruskal-Wallis.

Las mayores producciones de leche promedio fueron encontrados para las vacas números 825, 1376 con fecha de parto el 08/04/04 y 26/03/04 respectivamente, siendo menores para las vacas número 1398, y 2266, con fecha de parto el 10/02/04 y 25/06/03, respectivamente, por lo tanto las vacas con menor producción se encontraban en una etapa de lactancia mas avanzada, lo que puede influir en el parámetro.

En el CUADRO 13 se puede observar la producción de leche promedio para cada una de las vacas en estudio.

CUADRO 13. Promedio y desviación estándar de la producción de leche ordeña AM para las muestras de leche según n° de vacas en la época de otoño.

Nº Vacas	n	Promedio ± desviación estándar (%)
825	8	19,8 ± 1,3
1311	8	17,0 ± 2,0
1321	8	18,2 ± 1,5
1353	6**	15,3 ± 0,5
1357	8	14,1±0,6
1376	8	19,5±1,1
1398	8	6,75±3,4
2266	8	9,1±1,1
Total	62	15,0 ± 4,9

n: número de muestras

** 1 vaca, (1353) eliminada porque durante el tercer muestreo presento mastitis

El promedio de producción de leche ordeña AM es de $15,0 \pm 4,9$ (Lt), existiendo diferencias estadísticamente significativa en la producción de leche por vaca, en la época de otoño (ANEXO 13).

HERRERA (1997), en un predio con partos de otoño en la Décima Región encontró que se producen diferencias significativas entre las vacas que inician su lactancia en abril y las que la comienzan en marzo, siendo superior en aquellas de lactancias iniciadas en abril con respecto a las iniciadas en mayo-junio con un 3,4%. Esta diferencia se puede observar en la vaca número 825 la cual tiene una producción promedio de $19,8 \pm 1,3$ (Lt) y, fecha de parto el 08/04/04, siendo mayor que las vacas número 1321 y 1357, con valores de producción de $18,2 \pm 1,5$ (Lt), y $14,1 \pm 0,6$ (Lt), respectivamente.

BROSTER y SWAN (1992), mencionan que la curva de lactancia es descendente, donde las mayores producciones ocurren entre las dos a seis semanas post parto, seguido de un descenso paulatino. Esto puede explicar la menor producción de las vacas número 1398 y 2266, con fecha de parto el 10/02/04 con un promedio de $6,75 \pm 3,4$ (Lt) y el 25/06/03 con un promedio de producción de leche de $9,1 \pm 1,1$ (Lt), respectivamente.

4.2 Evaluación del efecto de las variantes genéticas A y B de κ -caseína sobre la composición proteica y mineral de la leche

Mediante el análisis de varianza simple no se detectaron diferencias estadísticamente significativas para la composición proteica y mineral de la leche, según las variantes A y B de k-caseína presente en la raza de vacas Frisón Negro chileno, durante la época de otoño, detectándose solo diferencias en la producción de leche (AM). (ANEXO 14).

Además, se percibe que aquellas muestras de leches con la presencia de la

variante B de k-caseína poseen mayores valores en la composición química y mineral de la leche, que aquellas leches con la variante A de k-CN

CUADRO 14. Promedio general de la composición proteica y mineral de la leche. Época de otoño, según las variantes genéticas A y B de k-caseína.

Características	k-caseína A promedio ± D.E n=38	k-caseína AB promedio ± D.E n=8	k-caseína B promedio ± D.E n=16
Proteína total (%)	3,07 ± 0,53 ^a	2,93 ± 0,14 ^a	3,32 ± 0,51 ^a
Proteína del suero (%)	0,77 ± 0,2 ^a	0,76 ± 0,03 ^a	0,8 ± 0,12 ^a
Caseína (%)	2,29 ± 0,47 ^a	2,16 ± 0,12 ^a	2,52 ± 0,39 ^a
Calcio(g/L)	0,98 ± 0,14 ^a	0,97 ± 0,07 ^a	0,99 ± 0,07 ^a
Fósforo(%m/m)	0,076 ± 0,025 ^a	0,073 ± 0,009 ^a	0,082 ± 0,027 ^a
Producción de leche AM.(Lt)	16,42 ± 4,26 ^a	16,95 ± 1,98 ^a	10,42 ± 4,46 ^b

* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)
n: número de muestras

4.2.1 Efecto de las variantes A y B de k-caseína sobre el contenido de proteína total. En el contenido de proteína total no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en un 95% de confianza, aunque numéricamente se determinó mayor contenido de proteína total en la variante B de k-caseína.

McLEAN *et al.* (1984), trabajando con ganado Jersey y Frisón tampoco encontraron diferencias en el contenido de proteínas de leches que presentaron la variante A o B de k-caseína. Las conclusiones establecidas por McLEAN *et al.* (1984), también fueron informadas por HAENLEIN *et al.* (1987).

En el estudio realizado por BOBE *et al.* (1999), en 233 vacas de raza Holstein-

Friesian no se observó efecto sobre el porcentaje de proteína de la leche según las variantes genéticas de k-caseína.

En vacas de razas Finnish Ayrshire, en su primera lactación, se encontraron niveles altos en el contenido de proteína total para la variante B de k-caseína (IKONEN, *et al.* 1999). AHLFORS, *et al.*, (1999), por otra parte han relacionada la variante B de k-caseína con una mayor firmeza de la cuajada como también así una mayor producción quesera.

DELACROIX – BUCHET *et al.* (1993), mencionan también que leches con el fenotipo BB de k-caseína fueron asociadas con contenidos mayores de k-caseína.

4.2.2 Efecto de las variantes A y B de k-caseína sobre el contenido de caseína total. Para el contenido de caseína total no se encontró diferencia significativa en un 95% de confianza, aunque se obtuvo un mayor valor numérico de caseína en la variante B de k-caseína.

Por su parte, HORNE y MUIR (1994), señalan que leches de vaca frisona homocigotas para k-caseína B tienen un tiempo de coagulación más corto que para la variante A, generando a su vez geles de una consistencia más firme. Lo anterior también es ratificado por autores como JAKOB y PUHAN (1995), estableciendo que leches de k-caseína BB generan cuajadas más firmes y en menor tiempo.

McLEAN *et al.* (1984), mencionan que no existen diferencias significativas entre los porcentajes de caseína de leches que contengan, ya sea, el fenotipo AA, AB o BB.

El contenido de caseína de acuerdo al promedio es mayor en la variante B de k-

caseína con un valor de 2,52%. NG KWAI HANG *et al.* (1986), señalan que leches que presentaban el fenotipo BB de k-caseína presentaban 0,10% más de caseína, que aquellas que presentaban el fenotipo AA. Para RAHALI y MÉNARD (1991), en base a estudios con ganado lechero francés, mencionan que el fenotipo BB de k-caseína es significativamente mayor que los otros fenotipos. Estos autores informan valores de 2,55%, 2,65% y 2,72% para los fenotipos AA, AB y BB, respectivamente.

KRAMM (2003), en la investigación realizada en el predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, en la época de primavera para vaca de razas Frisón Negro chileno, las cuales se encontraban en su primera lactancia determinó que el % caseína de leches con la variante B de k-caseína es significativamente mayor (95% confianza), que aquellas que contienen la variante A. La variante B de k-caseína presentó 0,09% más caseína que la variante A, con un porcentaje de 2,38%. En el presente estudio se determinó un promedio de 2,52% de caseína para la variante B de k-caseína, en distinto grupo de vacas.

4.2.3 Efecto de las variantes A y B de k-caseína sobre el contenido de proteína del suero. Para el contenido de proteína del suero no se encontró diferencia significativa en un 95%, aunque numéricamente el contenido de proteína del suero fue mayor en la variante B de k-caseína.

Esto concuerda con lo mencionado por NG KWAI HANG *et al.* (1986), RAHALI y MÉNARD (1991), quienes tampoco determinaron diferencias estadísticamente significativas entre contenido de proteínas de suero en leche de vacas con distintos fenotipos de k-caseína.

Lo anterior concuerda por lo expresado por HAYES *et al.* (1982), los cuales no encontraron diferencia significativa entre las variantes de k caseína y proteína

del suero obteniendo resultados de 0,71%; 0,70%; 069%, para el fenotipo AA, AB, BB respectivamente.

4.2.4 Efecto de las variantes A y B de k-caseína sobre el contenido de calcio. Al igual que en los constituyentes proteicos de la leche, también se encontró un contenido levemente mayor de calcio en la variante B de k-caseína, no significativo, ($p > 0,05$).

Esto concuerda con lo determinado por RAHALI y MENARD (1991), los cuales informaron que no existen diferencias significativas en el contenido de calcio entre las muestras de leche que presentan las variantes AA, AB y BB de k-caseína. Pero, sí obtuvieron valores diferentes para las tres variantes, siendo de 1,32, 1,28 y 1,34 g/L para las variantes AA, AB y BB, respectivamente, obteniéndose así un mayor promedio para el genotipo BB de k-caseína.

HORNE y MUIR (1994), analizaron la influencia del polimorfismo de k-caseína y su efecto sobre el tiempo de coagulación, determinando que no existen diferencias significativas entre los fenotipos encontrados en k-caseína y los niveles de calcio soluble presente en dichas leches, aunque el fenotipo BB de k-caseína registró un mayor contenido numérico del ión calcio respecto sus otras variantes.

Por otra parte PEREZ (2003a), al comparar estadísticamente los contenidos de calcio total en las muestras de leche, considerando las variantes genéticas de k-caseína y β -lactoglobulina, observó diferencias significativas en el contenido de calcio total en leche de vaca Frisón Negro entre las variantes A y B de k-caseína ($p < 0,05$), para un total de 10 muestras de otro grupo de vacas.

De acuerdo DAVIS *et al.* (2001), la variación del contenido de calcio en la leche, está estrechamente asociada al contenido de proteína en la leche, es así como

a mayor contenido de caseínas existirá una mayor concentración de calcio coloidal unido a las caseínas, argumentando que existe un factor de variación de origen genético en el contenido de caseínas en la leche. Esto puede relacionarse con el contenido de proteínas encontradas en este estudio debido a que tampoco se encontraron diferencias significativas entre las variantes de κ -caseína para este parámetro.

4.2.5 Efecto de las variantes A y B de κ -caseína sobre el contenido de fósforo. Para el contenido de fósforo no se encontró diferencia estadísticamente significativa en un 95% de confianza, pero si se obtuvo un mayor contenido numérico en la variante B de κ -caseína.

CID (2004), en 10 vacas de raza Frisón Negro chileno del mismo predio Santa Rosa, en su segunda lactancia, tampoco informó diferencias estadísticamente significativas en el contenido de fósforo entre las variantes A y B de κ -caseína en la época de invierno ($P > 0,05$).

En cambio PEREZ (2003a), encontró diferencias significativas en el contenido de fósforo total en leche entre las variantes genéticas A y B de κ -caseína, en distinto grupo de vacas, en primera lactancia, durante la primavera. Esto puede deberse a la época del año, etapa de lactancia y tipo de alimentación de los animales en el presente estudio.

MARIANI *et al.* (1997), identificaron que la presencia de la variante B de κ -caseína en leche proveniente de vacas de la raza Bruna, presentaban un alto contenido de fosfato de calcio coloidal.

4.3 Efectos de la interacción de las variantes A y B de κ -caseína y BB de β -lactoglobulina sobre la composición química y mineral de la leche

En el grupo de vacas analizadas, la identificación de las variantes genéticas

(identificación realizada en estudios anteriores para el mismo grupo de vacas) se ha encontrado sólo la variante B de β -lactoglobulina, no siendo posible realizar una comparación estadística con las muestras analizadas debido a que no se identificaron las variantes AA y AB de β -lactoglobulina.

En la interacción de las variantes de las proteínas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la composición química y mineral de la leche, ($p>0,05$) aunque se percibe que aquellas leches con la presencia de la variante B de k-caseína y B de β -lactoglobulina poseen contenidos mayores, que aquellas leches con la variante AA y AB de k-CN y BB de β -lactoglobulina. En producción de leche AM, se observó diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$), encontrándose producciones mayores para la interacción AB y A de k-caseína y BB de β -lactoglobulina, con valores de producción de $16,42 \pm 4,26$ y $16,95 \pm 1,98$ respectivamente.

Por el contrario KRAMM, (2003), en la investigación realizada en la época de primavera en vacas Frisón Negro chileno, las cuales se encontraban en su primera lactancia determinó que si existe una interacción significativa entre las variantes de k-caseína, y β -lactoglobulina, encontrándose contenidos de 2,39% y 2,37%, en el contenido de caseína en la variante B y AB de k-caseína y β -lactoglobulina respectivamente. También en producción de leche AM encontró diferencias estadísticamente significativas encontrándose contenidos mayores ($13,42 \pm 0,65$), en la interacción de la variante A/AB de k-caseína y β -lactoglobulina respectivamente. La diferencia de las conclusiones puede deberse a que el grupo de vacas estudiados es distinto y presentan características genotípicas, cómo también un porcentaje de holsteinización diferente, aunque pertenecen al mismo predio.

HILL *et al.* (1997), mencionan que leche de vacas que presentan la combinación BB/BB de k-caseína y β -lactoglobulina contiene significativamente un número de caseína mayor que las restantes combinaciones de variantes, paralelamente en la presente investigación se obtienen contenidos mayores de $2,52 \pm 0,39$ para las variantes antes mencionadas.

LEE, *et al.*, (1996) en 566 vacas de razas Holstein-Canadienses, encontraron que no existen diferencias estadísticamente significativas para el contenido de proteína y producción de leche.

HORNE y MUIR, (1994), mencionan que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de calcio y las variantes genéticas de k-caseína y β -lactoglobulina en vacas de raza Montbeliarde y Holstein, sin embargo se asocia a un mayor contenido de calcio (1,24 g/L) a la variante B de k-caseína y β -lactoglobulina.

4.4 Comparación de la composición proteica y mineral (calcio y fósforo) de la leche de vacas individuales en las distintas estaciones del año

Para poder realizar el análisis de la composición de la leche durante las distintas estaciones del año (otoño, Invierno, Primavera, Verano), se debe considerar que se analizó un mismo grupo de vacas, pero en distinta etapa de lactancia distinta, y número de lactancia para cada estación, las que van desde la segunda lactancia, hasta una tercera lactancia; fecha de parto iniciadas en el periodo de otoño y número de vacas muestreadas para cada estación.

A continuación en el CUADRO 15 se muestra un resumen de los promedios generales obtenidas en las principales variables analizadas: proteína total, proteína del suero, caseína, calcio, y fósforo, para las cuatro estaciones del año.

CUADRO 15. Promedio general y desviaciones estándares para los principales parámetros composicionales en leches analizadas en las distintas estaciones del año.

ANALISIS	OTOÑO² 3° Lactancia n= 62	INVIERNO² 2° Lactancia n= 78	PRIMAVERA² 2° Lactancia n= 80	VERANO² 2° Lactancia n= 32
Proteína total (%)	3,12±0,51	3,12±0,26	3,23±0,23	3,4±0,19
Proteína del suero (%)	0,778±0,168	0,797±0,052	0,81±0,061	0,838±0,061
Caseína (%)	2,34±0,43	2,32±0,23	2,42±0,22	2,56±0,18
Calcio (g/l)	0,981±0,12	0,88±0,12	0,97±0,23	1,16±0,077
Fósforo (%m/m)	0,077±0,024	0,089±0,012	0,097±0,099	0,083±0,00

n: Numero de muestras

²: Grupo 2 de vacas de raza Frisón Negro chileno, en estudio realizado del predio Santa Rosa, Universidad Austral de Chile.

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si existe o no diferencias significativas entre las propiedades analizadas y las estaciones del año, puesto que el contraste de varianza dio diferencias significativas ($p < 0,05$), para todas las variables en estudio

Las variaciones estacionales de la composición de la leche están gobernadas por varios factores como los nutricionales asociados con cambios en la calidad de las praderas a lo largo del año, cambios fisiológicos asociados con el estado de la lactancia de las vacas y factores patológicos asociados con cambios en la incidencia de mastitis, esta es la razón por la cual en algunas ocasiones pueden confundirse los efectos de un factor con los de otro. (ALAIS, 1985)

4.4.1 Proteína Total. De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas del % de proteína total y las estaciones del año para un nivel de confianza del 95,0%. Para determinar cuáles son las medianas significativamente diferentes entre si, se presentan en el gráfico de cajas y bigotes en la FIGURA 1.

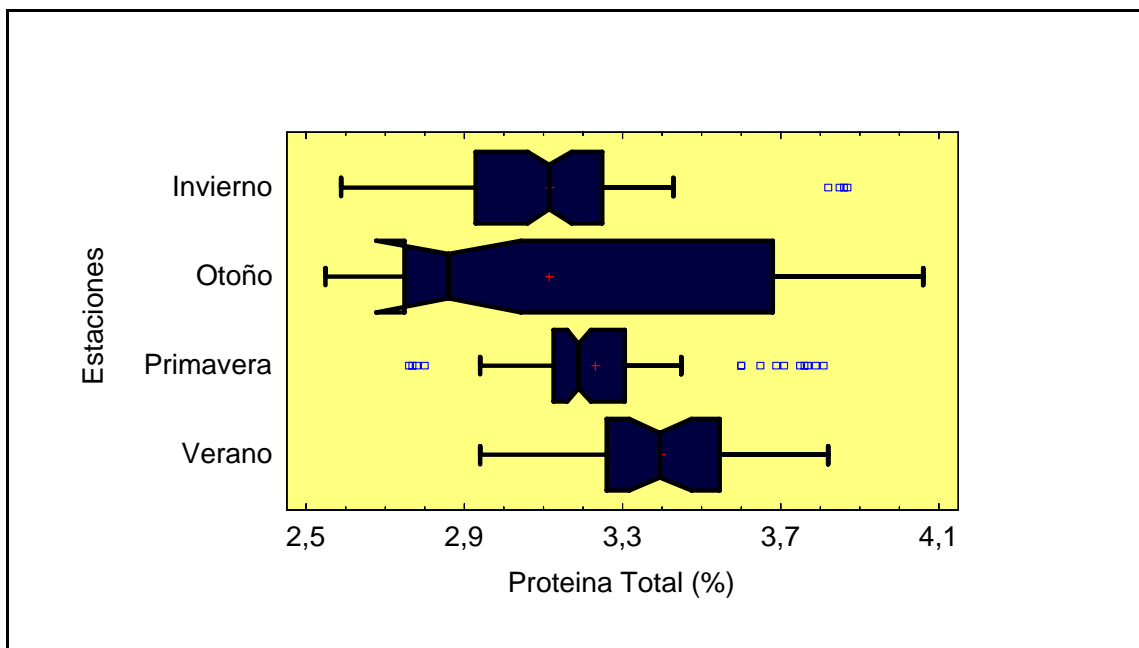


FIGURA 1. Distribución de las medianas del porcentaje de proteína total para cada estación del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

En la figura se observa que el contenido de proteína total es mayor en la estación de verano, y menor durante el otoño e invierno con un porcentaje de $3,4 \pm 0,19\%$ y $3,12 \pm 0,51\%$ respectivamente, la cual puede ser consecuencia del tipo de alimentación y la etapa de lactancia en las que se encontraban las vacas durante el muestreo realizado.

Para observar con mayor claridad el comportamiento del porcentaje de proteína total durante las distintas estaciones se presenta la FIGURA 2.

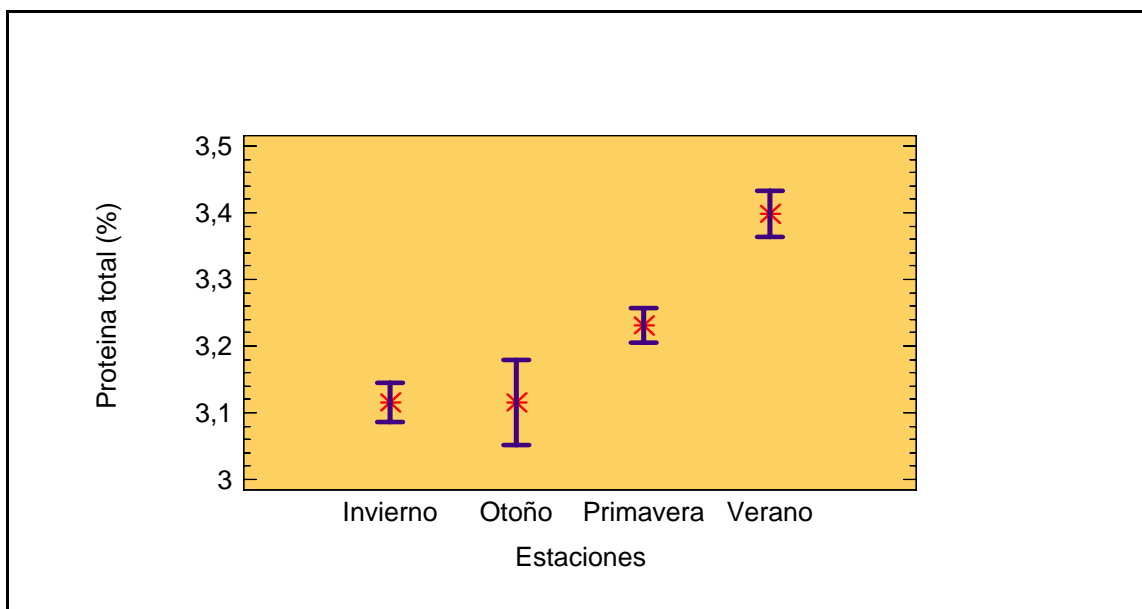


FIGURA 2. Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de proteínas durante las estaciones del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

Los resultados descritos concuerdan en parte por lo descrito por O'BRIEN *et al.* (1997), el cual observó un aumento en proteína total en la estación de primavera y una disminución en la estación de invierno debido a que aumenta la disponibilidad de pasto por día en la estación de primavera.

MURPHY y OMARA (1993), mencionan que alimentación con concentrados, mas régimen pastoril en la época de primavera podría provocar mejoramientos en el contenido de proteína en leche, cuando la suplementación con concentrados aumenta el consumo de energía, debido a una mayor digestibilidad y una mayor fermentación en el rúmen del animal. Esto podría explicar el aumento del contenido de proteína total en la época de primavera.

El aumento del porcentaje de proteína en primavera puede estar favorecido por la época de parto el cual fue en la época de otoño, con lo cual en esas vacas se encuentran en su 5° y 6° mes de lactancia. Según HERRERA (1997) y BRAVO (1998), la mayor concentración de proteína que se obtiene con partos de otoño

se produce debido a que las lactancias iniciadas en otoño se ven favorecidas por la primavera siguiente, en tanto que las lactancias iniciadas en primavera se ven afectadas por el periodo de verano, lo cual disminuye su duración.

Por otra parte KRAMM (2003) y CID (2004), en la investigación realizada en el predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, en 10 vacas de raza Frisón Negro Chileno con lactancias iniciadas en la época de otoño señalan una disminución del contenido de proteína de invierno a primavera, con valores de $3,27 \pm 0,15\%$ y $3,09 \pm 0,18\%$ respectivamente.

LAVIN (1996), realizó un estudio de comparación entre el contenido de proteína y número de lactancias, determinando que existe un incremento de un 7,6% de proteína desde la primera a la segunda lactancia. En la presente investigación se obtuvo un aumento de un 9% entre la primera y segunda lactancia, para luego disminuir en la tercera lactancia en un 9%.

4.4.2 Caseína. De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas del % de caseína y las estaciones del año para un nivel de confianza del 95,0%.

El contenido de caseína es mayor en la estación de verano, y menor en la estación de otoño e invierno con un porcentaje de 2,56%; 2,34%; y 2,32, respectivamente.

Para determinar cuáles son las medianas significativamente diferentes entre si, se presenta el grafico de caja y bigotes en la FIGURA 3.

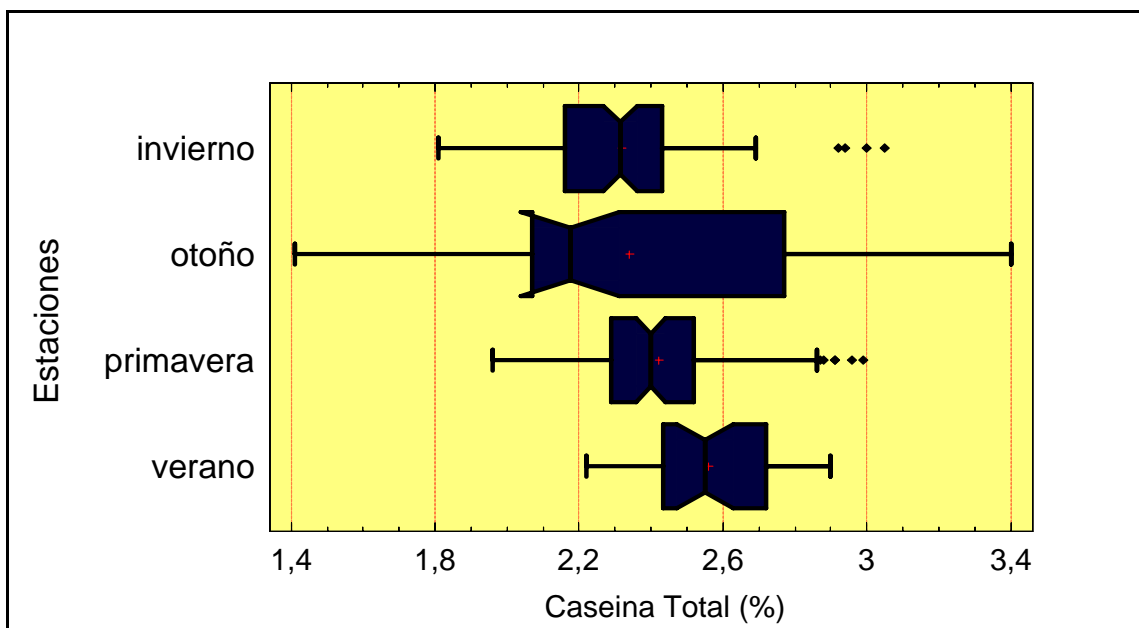


FIGURA 3. Distribución de las medianas del contenido de caseína total para cada estación del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

El porcentaje promedio de caseína durante las distintas estaciones se puede observar en la FIGURA 4

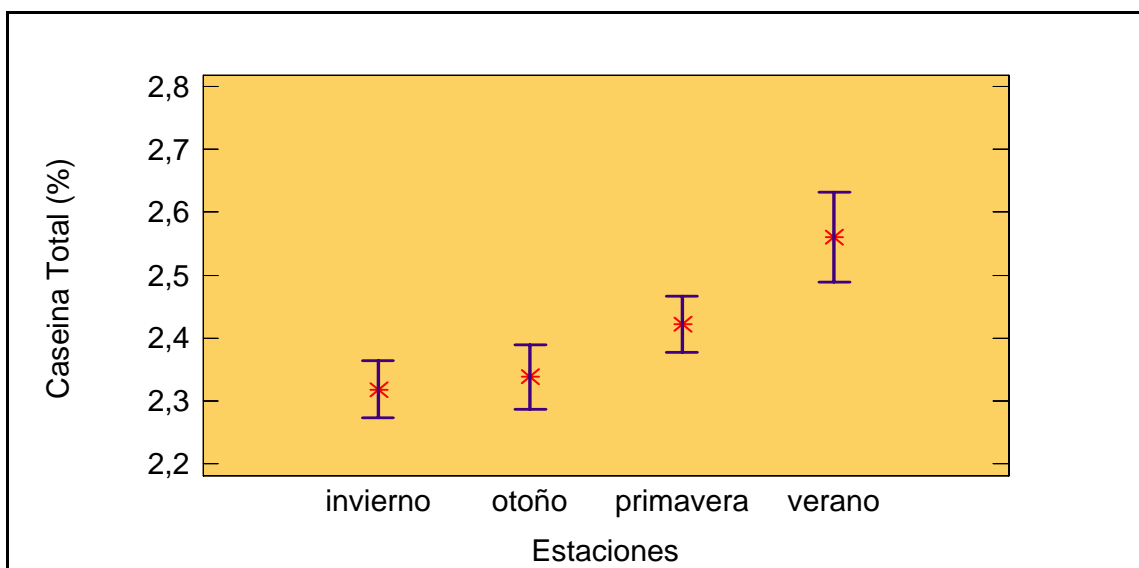


FIGURA 4. Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de caseína durante las estaciones del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

Esto se corrobora con lo dicho por De PETERS y FERGURSON (1992), los cuales determinaron que el contenido de caseínas disminuye con el número de partos es por esto que los análisis realizados en otoño tienen un contenido menor que en las otras épocas del año que se encontraban en la en la 2° lactación, en época de primavera, invierno y verano.

Sin embargo eso no concuerda con lo señalado por CASADO y GARCIA (1985), quienes encuentran un mayor contenido de caseína como también de proteínas en la estación de otoño. Esto puede deberse a que el grupo de vacas analizadas no se encuentran en la misma etapa de lactancia como tampoco en un mismo número de parto, esto puede atribuirse al registro que se realiza durante toda la lactancia para un grupo de vacas más homogéneas y con una mayor cantidad de muestras.

KRAMM, (2003), determinó un total de $2,36 \pm 0,16\%$ en el contenido de caseína, para 10 vacas de la misma raza, pero distinto grupo a las de este estudio, las que se encontraban en su primera lactancia en la época de primavera, valor menor a los obtenidos en el otro grupo de vacas del mismo predio, las que se encontraban en su segunda lactancia en la estación de primavera, cuya leche presentó $2,42 \pm 0,22\%$ de caseína total

4.4.3 Proteína del suero. De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas del % de proteína del suero y las estaciones del año para un nivel de confianza del 95,0%. Para determinar cuáles son las medianas significativamente diferentes entre sí, se presenta el gráfico de caja y bigotes en la FIGURA 5.

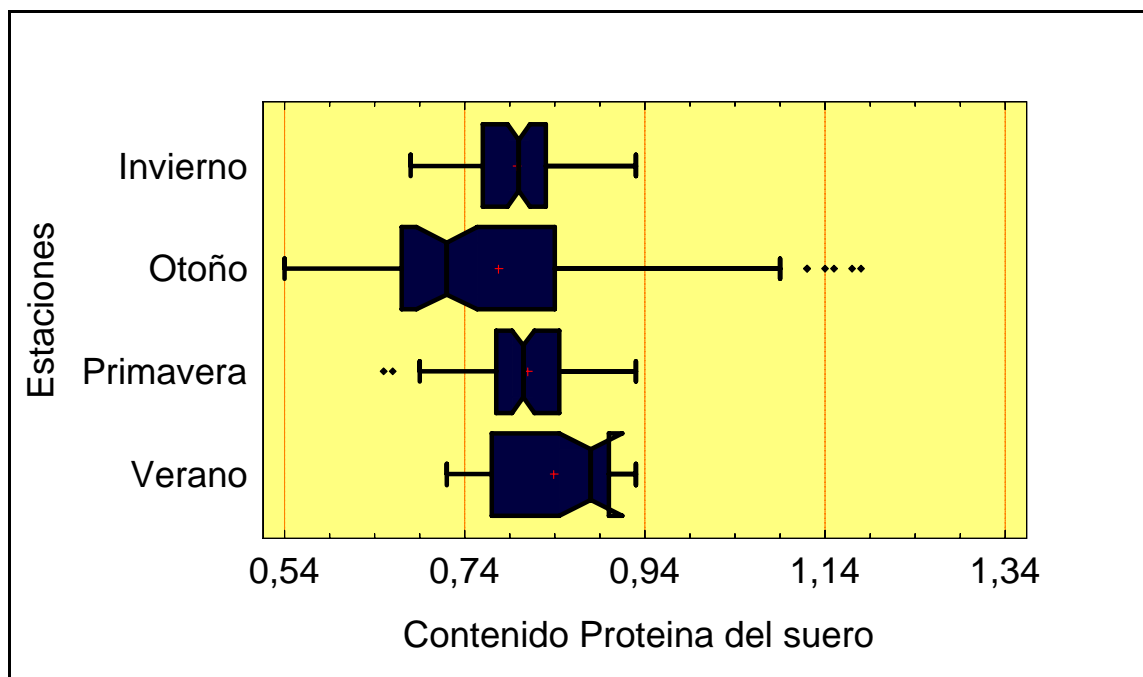


FIGURA 5. Distribución de las medianas del contenido de proteína del suero para cada estación del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

El contenido de proteína del suero es mayor en la estación de verano con 0,838% y menor en la estación de otoño e invierno, con un porcentaje de 0,779% y 0,797%, respectivamente. Los resultados de proteína del suero siguen un comportamiento similar a lo encontrado en el contenido de proteína total. Esto puede variar de acuerdo al tipo de alimentación y etapa de lactancia en las que se encontraban durante el muestreo realizado. Alimentación con praderas en primavera aumenta la energía disponible, influyendo positivamente sobre el contenido de proteína del suero, debido a que aumenta la digestibilidad de la flora microbiana del rumen. (ALAIS, 1985; DE PETERS y FERGUSON, 1992). Esto podría explicar el aumento del contenido de proteína del suero desde $0,778 \pm 0,168\%$ y $0,797 \pm 0,052\%$, para la época de otoño e invierno, hasta llegar a los $0,81 \pm 0,061\%$ y $0,838 \pm 0,061\%$ en la época de primavera y verano, respectivamente.

Para observar con mayor claridad el comportamiento del porcentaje de proteína del suero durante las distintas estaciones se presenta la FIGURA 6.

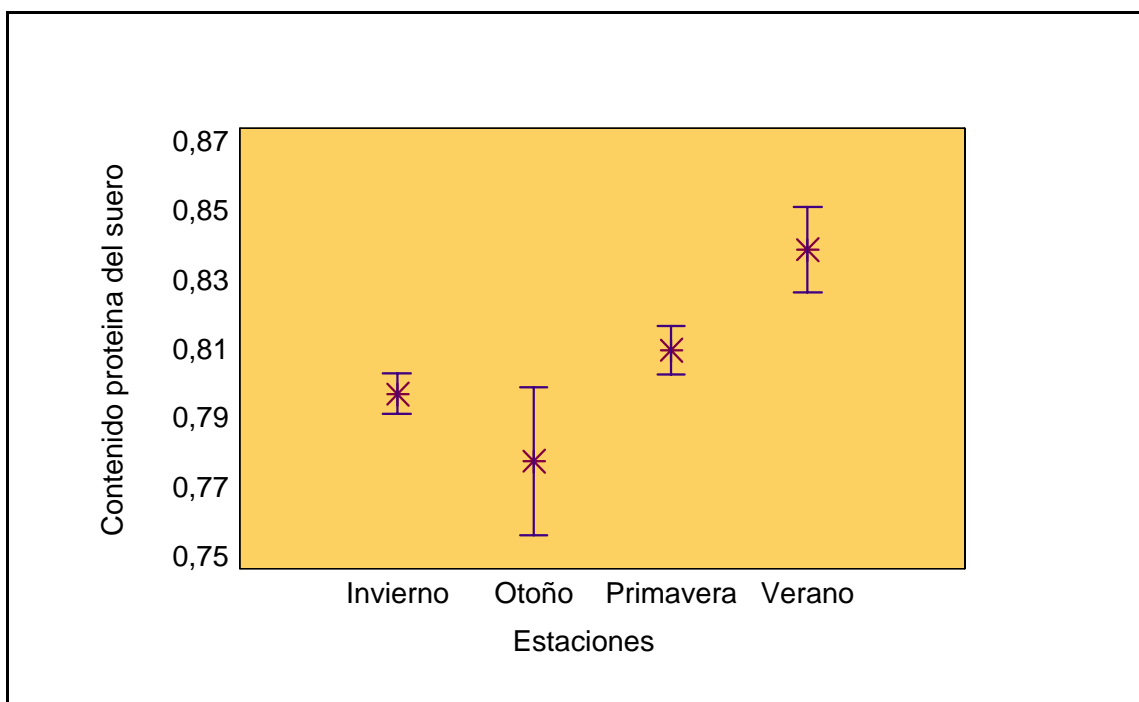


FIGURA 6. Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de proteína del suero durante las estaciones del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

KRAMM (2003), determinó valores de $0,72 \pm 0,05\%$ en el contenido de proteína del suero, para 10 vacas de la misma raza que se encontraban en su primera lactancia; en la época de primavera. Los resultados obtenidos en la presente investigación durante la época de otoño son menores en comparación a las demás estaciones del año.

4.4.4 Calcio. De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, hay diferencia estadísticamente significativa de las medianas del contenido de calcio entre las estaciones del año para un nivel de confianza del 95,0%. Para determinar cuáles son las medianas significativamente diferentes entre sí, se presenta el gráfico de caja y bigotes en la FIGURA 7.

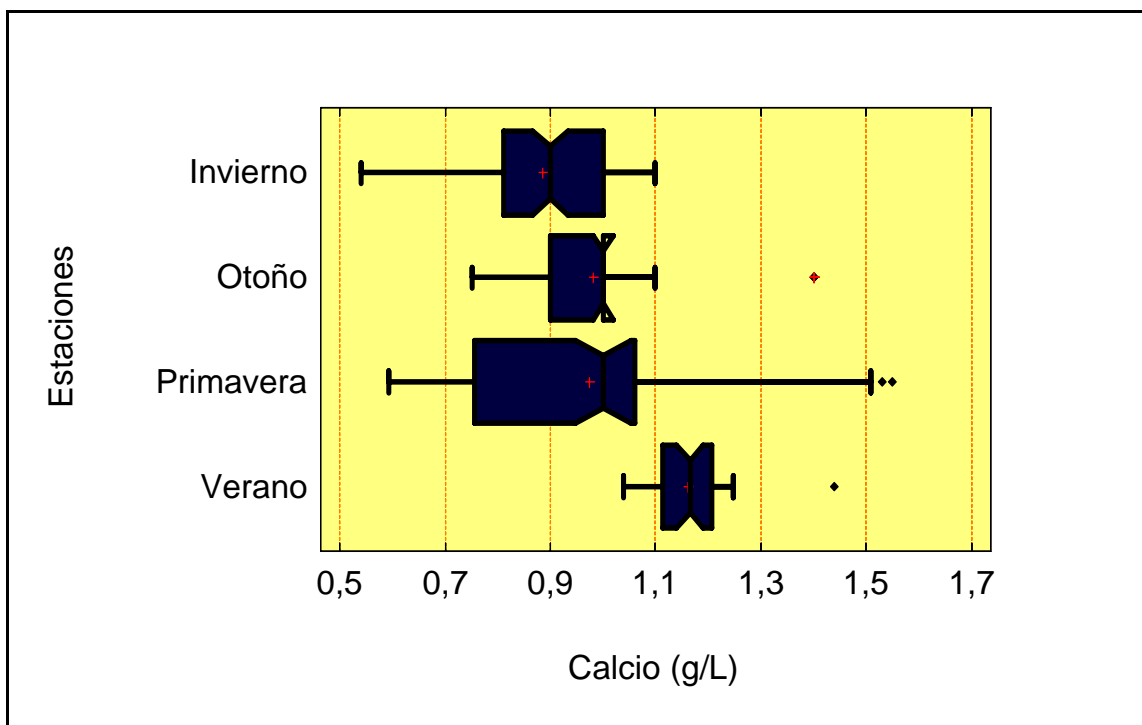


FIGURA 7. Distribución de las medianas del contenido de calcio para cada estación del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

En el contenido de calcio, de acuerdo a las medianas, se puede observar una diferencia significativa en la estación de verano, observándose también una menor dispersión de los datos para la misma estación

De acuerdo al contenido de calcio se observa una disminución en la época de invierno para luego ir aumentando gradualmente en la época de otoño, primavera y verano. Esto puede atribuirse al número de lactancias, etapa de lactancias, número de muestras, y al tipo de alimentación que se administraba durante la investigación para cada época del año.

Para observar con mayor claridad como es el comportamiento del porcentaje de calcio durante las distintas estaciones se puede observar en la FIGURA 8

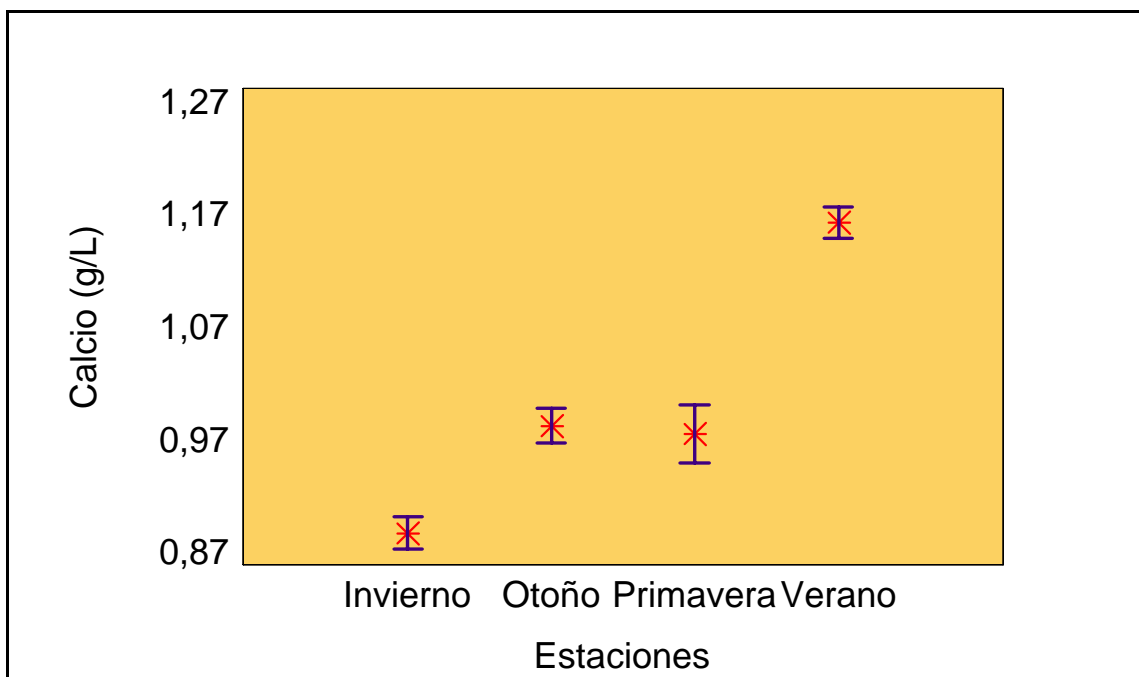
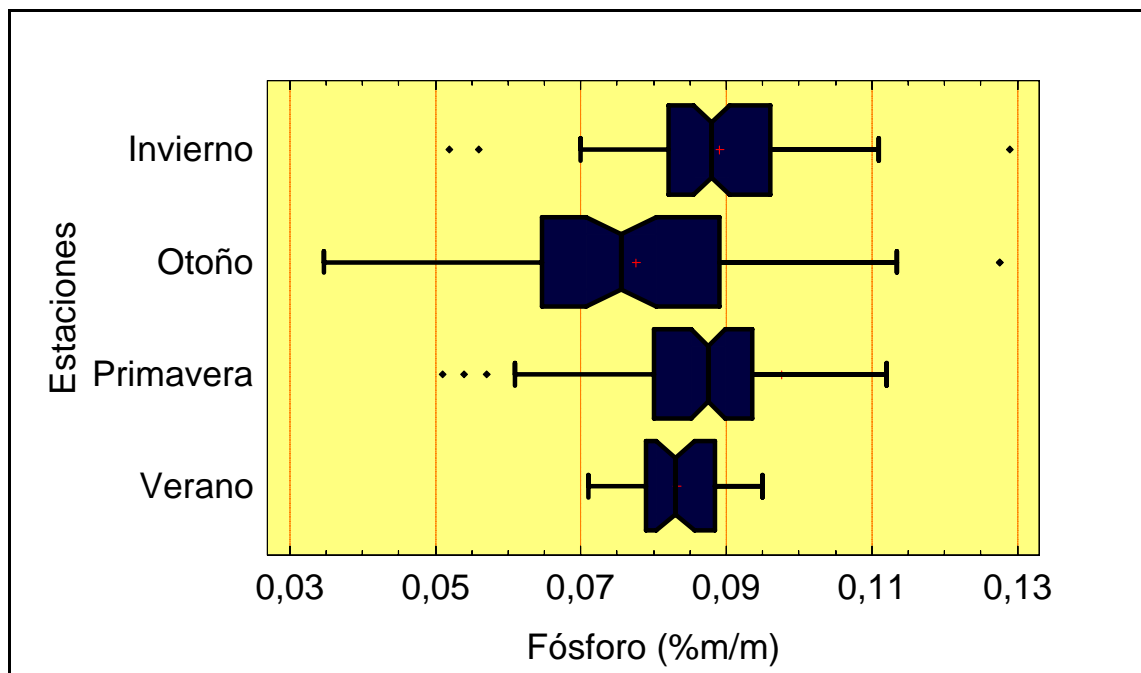


FIGURA 8. Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de calcio durante las estaciones del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

CID, (2004), determinó valores promedios de $1,11 \pm 0,11$ (g/L) para la época de invierno en 10 vacas de la misma raza que se encontraban en su segunda lactancia. En otra investigación PÉREZ (2003a), analizó leche del mismo grupo de vacas utilizadas por CID (2004), pero con animales que se encontraban en su primera lactancia durante la época de primavera, encontrando un valor promedio de $1,26 \pm 0,0059$ (g/L) de calcio.

Otro factor que podría influir en el contenido de calcio es la estación del año, Mahieu *et al.* citados por VERA (2000), expresan que en aquellas vacas que son sometidas a pastoreos diarios el contenido de calcio y fósforo en la leche son más elevados en primavera que en otoño-invierno. De acuerdo a esto el tipo de concentrado suministrado más los pastoreos diarios a los cuales son sometidas las vacas podrían aumentar el contenido de calcio.

4.4.5 Fósforo. De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas del contenido de fósforo y las estaciones del año para un nivel de confianza del 95,0%. Para determinar cuáles son las medianas significativamente diferentes entre sí, se presenta el gráfico de caja y bigotes en la FIGURA 9.



.FIGURA 9. Distribución de las medianas del contenido de fósforo para cada estación del año (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

El mayor contenido de fósforo fue encontrado en las estaciones de primavera e invierno de acuerdo a las medianas, con un porcentaje promedio de 0,097% m/m y 0,089% m/m respectivamente.

Para observar con mayor claridad como es el comportamiento del porcentaje de fósforo durante las distintas estaciones se presenta la FIGURA 10.

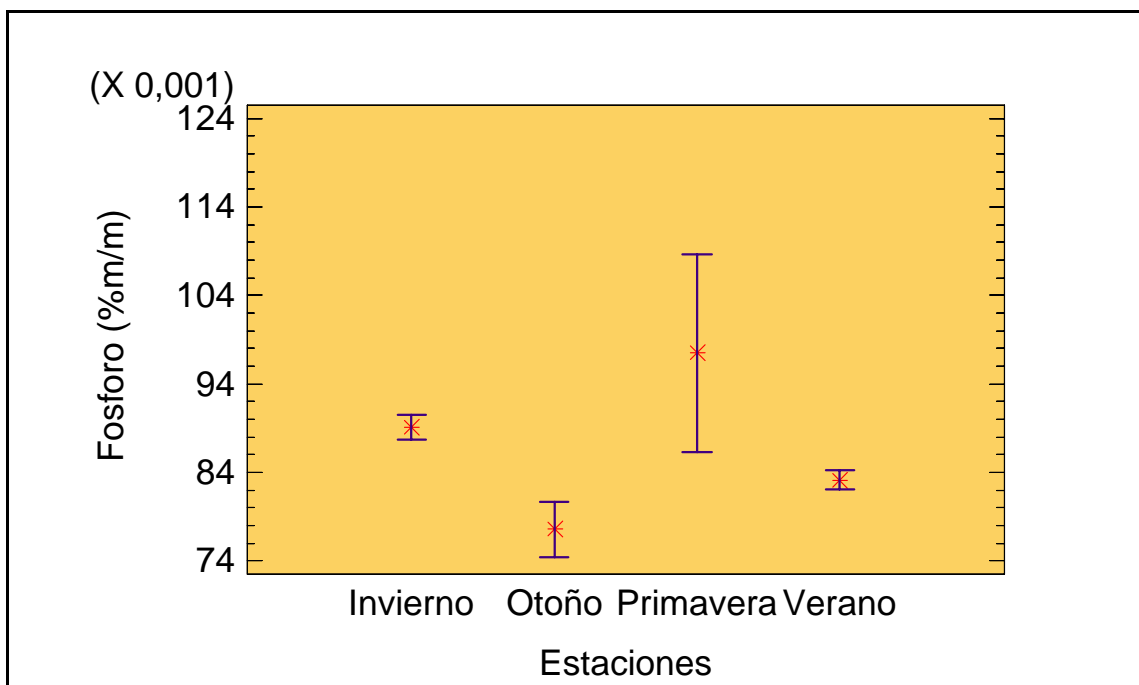


FIGURA 10. Comportamiento del promedio y desviación estándar del contenido de fósforo en las distintas estaciones del añoH (Invierno-primavera 2003, otoño-verano 2004).

Se puede observar un mayor contenido de fósforo en las estaciones de invierno, primavera, como también un menor contenido en la estación de otoño, y verano. GIVENS *et al.* (2000), señala que esto puede atribuirse a que la pradera no posee los contenidos adecuados de fósforos, durante la estación de verano y otoño, y además que el fósforo presenta una mayor deficiencia en los forrajes utilizados para la alimentación del ganado.

CID (2004), y PEREZ (2003), encontraron valores de $0,089 \pm 0,005$, y $0,093$ (%m/m) respectivamente para las épocas de invierno y primavera, observándose un aumento en el contenido de fósforo. Se observa el mismo comportamiento al encontrado en la presente investigación, para la misma raza de vacas del predio Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, esto puede atribuirse a que la alimentación durante las épocas de invierno y primavera, fueron similares para los distintos años en estudio.

4.5 Comparación de la composición proteica y mineral, (calcio y fósforo) de la leche de acuerdo al número de lactancias

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, para todas las variables en estudio, encontrándose de esta forma diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de las propiedades analizadas y el número de lactancias (ANEXO 15).

Los promedios para cada propiedad analizada, de acuerdo al número de lactancia son presentados en el CUADRO 16.

CUADRO 16. Promedio general con sus respectivas desviaciones estándares para las principales características analizadas según número de lactancias.

ANALISIS	Lactancia n°2² n=158	Lactancia n°3² N=62
Proteína total (%)	3,17±0,25	3,11±0,5
Proteína del suero (%)	0,80±0,057	0,79±0,17
Caseína (%)	2,37±0,23	2,34±0,43
Calcio (g/l)	0,93±0,19	0,98±0,12
Fósforo (%m/m)	0,093±0,071	0,077±0,024

n: numero de muestras

²: Grupo 2 de vacas de raza Frisón Negro chileno, en estudio realizado del predio Santa Rosa, Universidad Austral de Chile.

De acuerdo al número de lactancias se observa que la composición proteica y mineral, presenta una disminución para las propiedades analizadas desde la segunda a la tercera lactancia, encontrándose solo un aumento en el contenido de calcio. Esto concuerda con De PETERS y FERGUSON (1992), quienes

consideran que el contenido de proteína total, y de caseína son más altos, para una vaca en su primera y segunda lactación.

Ng-KWAI-HANG *et al.* (1982), afirman que entre la primera y segunda lactancia la cantidad de proteína total, y proteína del suero sufrirían un leve aumento, y que en lactancias posteriores esta cantidad disminuiría.

La disminución en la tercera lactancia puede atribuirse a otros factores como, la estación del año donde fue realizada la investigación y el tipo de alimentación (LAVIN, 1996). Esta disminución concuerda con el análisis realizado anteriormente debido a que la tercera lactancia se desarrolló en la época de otoño, donde también se encontró una disminución de la composición proteica y mineral de la leche.

En la composición mineral de la leche hay un aumento de la segunda a tercera lactancia, desde $0,93 \pm 0,19$ (g/L) a $0,98 \pm 0,12$ (g/L) para calcio; y una disminución desde $0,093 \pm 0,071$ (%m/m) a $0,077 \pm 0,024$ (%m/m) para el contenido de fósforo. VERA (2000), reportan que el efecto producido por el número de lactancias sobre el contenido de calcio es mínimo.

CID (2004), y PEREZ (2003a), encontraron un aumento desde la primera a la segunda lactancia en vacas del mismo predio pero en distinto grupo de vacas.

5. CONCLUSIONES

- No se detectaron diferencias estadísticas en el contenido proteico, pero si en el contenido de calcio y fósforo de la leche según mes de muestreo, durante la época de otoño.
- No se observó influencia de las variantes de *k*-caseína sobre el contenido proteico y mineral de la leche; tampoco se observó influencia en la interacción *k*-caseína A y B con β -lactoglobulina BB, sobre la composición proteica y mineral de la leche, durante la época de otoño.
- Se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las variantes A y B de *k*-caseína en la producción de leche en ordeña AM, siendo mayores en el fenotipo AB de *k*-caseína.
- El contenido proteico de la leche fue menor en la estación de otoño e invierno que en las estaciones de primavera y verano, y la composición mineral fue mayor en primavera y verano para fósforo y calcio respectivamente, al comparar los resultados entre estaciones para el mismo grupo de vacas.

6. RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la incidencia de las variantes genéticas de *k*-caseína y β -lactoglobulina sobre la composición proteica y mineral de la leche, en muestras de leche de 8 vacas individuales, de raza Frisón Negro Chileno, durante la época de otoño.

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.

A las muestras de leche se les determinó el contenido de proteína total, caseína, proteína del suero, calcio y fósforo. A su vez se realizó la separación de *k*-caseína y β -lactoglobulina de las muestras de leche según los métodos establecidos por McKENZIE y WAKE (1961) y LOWE et al. (1965), respectivamente. La identificación de las variantes genéticas de *k*-caseína, y β -lactoglobulina fueron obtenidas del proyecto Fondecyt 1030345.

Se obtuvo como resultado que ninguno de los fenotipos A y B de *k*-caseína presentaban influencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) sobre la composición proteica y mineral de la leche, encontrándose solo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) sobre la producción de leche AM. Además se identificó sólo el fenotipo BB de β -lactoglobulina, en el grupo de vacas estudiadas. Las muestras con la presencia de la variante B de *k*-caseína presentaron valores mayores para el contenido proteico y mineral. En proteína total se encontraron valores de $3,32 \pm 0,51$ para la variante B, $3,07 \pm 0,53$ para la variante A, y $2,93 \pm 0,14$ para el fenotipo AB. En caseína los valores obtenidos fueron de $2,52 \pm 0,39$, $2,29 \pm 0,47$, y $2,16 \pm 0,12$ para las variantes B, A, y AB respectivamente. Para el contenido de proteína del suero fueron de $0,8 \pm 0,12$, $0,77 \pm 0,2$, $0,76 \pm 0,03$, para las variantes B, A, y AB respectivamente. En tanto para el contenido de calcio los valores fueron de $0,99 \pm 0,07$, $0,98 \pm 0,14$, $0,97 \pm 0,07$, para las variantes B, A, y AB respectivamente, y para el contenido de fósforo fueron de $0,082 \pm 0,027$, $0,076 \pm 0,025$, $0,073 \pm 0,009$ en las variantes B, A, y AB respectivamente.

Los menores valores en el contenido proteico y mineral de la leche se observaron en la estación de otoño e invierno, siendo mayores en la época de primavera y verano, al analizar los datos de investigaciones realizadas en otras épocas para el mismo grupo de vacas.

SUMMARY

The present investigation had as objective to evaluate the effect the genetic variants of κ -casein y β -lactoglobulin on the protein composition and mineral of the milk in samples of milk from 8 individual cows, of Chilean Black Friesian race, during autumn.

The samples of milk from Chilean Black Friesian cows were obtained from the farm Santa Rosa belonging to Universidad Austral de Chile. They were carried four samples, during the period April-July of 2004, in the morning.

The milk samples were determined the total protein content, casein, whey protein, calcium and phosphorus. In turn, was carried out the κ -casein and β -lactoglobulin separation of the samples of milk according to the methods settled down by MCKENZIE and WAKE (1961) and LOWE et al. (1995), respectively. The identification of the genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin were obtained of the project Fondecyt 1030345.

As a result it was obtained that none of the A and B phenotype of κ -casein presented influence statistically significant ($p > 0,05$) on the contents protein and mineral of the milk, being alone statistically significant difference ($p < 0,05$) on production of milk AM. In addition only was identify the BB phenotype of β -lactoglobulin, in the group of studied cows. The samples with the presence of the B variant of κ -casein they presented major values for the protein content and mineral. For total protein they found values of $3,32 \pm 0,51$ for B variant, $3,07 \pm 0,53$ for the A variant, and $2,93 \pm 0,14$ for the AB phenotype. For casein the obtained values were of $2,52 \pm 0,39$, $2,29 \pm 0,47$, y $2,16 \pm 0,12$ for the B, A, and AB variants respectively. For the content of whey protein were of $0,8 \pm 0,12$, $0,77 \pm 0,2$, $0,76 \pm 0,03$, for the B, A, y AB variants respectively. While for the content of calcium the values were of $0,99 \pm 0,07$, $0,98 \pm 0,14$, $0,97 \pm 0,07$, for the B, A, y AB variants respectively, and for the content of phosphorus were of $0,082 \pm 0,027$, $0,076 \pm 0,025$, $0,073 \pm 0,009$ for the B, A, y AB variants respectively.

The minor values in the protein and mineral content of the milk was observe on the autumn station and winter, being major in the springs epochs and summer, to analyse the facts of investigation were carried in others epochs for the same cows groups.

7. BIBLIOGRAFIA

- AGGREY, S., SABOUR, M., LIN, C. ZADWORN, D., y KUHNIEIN, U., 1998.
Analysis of the β -lactoglobulin locus using the granddaughter design in the Canadian Holstein population. Canadian Journal of Animal Science, 78 (3): 245-248
- AHLFORS, k., IKONEN, T., KEMPE, R., OJALA, M., y RUOTTINEN O., 1999.
Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. Journal of Dairy Science 82:205-214.
- ALAIS, C. 1985. Ciencias de la leche. Principios de técnica lechera. Editorial Reverte. Barcelona. España. 873 p.
- 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.
- AMIOT, J. 1991. Ciencia y Tecnología de la leche. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 547 p.
- ANTONINI, A., CORVA, P., De LUCA, J., DULOUT, F., GIOVAMBATTISTA, G., RIPOLI, M., y ROJAS, F., 2003. Association between five candidate

genes and milk yield in the Saavedreña creole cattle breed. Archivos de Zootecnia. 52:89-92.

AULDIST, M., BOLAND, M., FITZSIMONS, P., JOHNSTON, K., WHITE, N., 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. Journal of Dairy Research. 71(01): 51-57.

AULDIST, M., HILL, J., MACKLE, T., PROSSER, C., y THOMSON, N., 2000. Effects of Pasture Allowance on the Yield and Composition of Milk from Cows of Different β -Lactoglobulin Phenotypes. Journal of Dairy Science. 83:2069-2074.

AULDIST, BRYANT, HILL, MACKLE y PETCH, 1999. Nutritional Influences on the Composition of Milk from Cows of Different Protein Phenotypes in New Zealand. Journal of Dairy Science. 82:172-180

BADUI, S. 1984. Química de los alimentos. Editorial Pearson Educación. México. 427 p.

BANOS, G., BARGOUILI, G., BOSCO, M., TSIARAS, M., 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin Loci on Milk Production Traits and Reproductive Performance of Holstein Cows. J. Of Dairy Sci. 88:327-334

BELITZ, H-D y GROSCH, W. 1997. Química de los alimentos. Editorial Acribbia S.A Zaragoza, España. Pp. 537-552

BENAVIDES, T. 2003. Efectos de las variantes genéticas A y B de *k*-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. 97 p.

BIENVENUE, A., JIMENEZ-FLORES, R., y SINGH, H., 2003. Rheological Properties of Concentrated Skim Milk: Influence of Heat Treatment and Genetic Variants on the Changes in Viscosity during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(22): 6488-6494.

BOBE, G., BEITZ, C., FREEMAN, A., y LINDBERG, G., 1999. Effect of Milk Protein Genotypes on Milk Protein Composition and Its Genetic Parameter Estimates. *Journal of Dairy Science*. 82 : 2797-2804.

BONVILLANI, Di RENZO, TIRANTI, 2000. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 4, 819-823.

BRAVO, M. 1998. Efectos de diferentes grados de cruzamientos con el genotipo Holstein Friesian sobre la producción y curva de lactancia en la lechería Punahue. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 109 p.

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. Proyecto Fondecyt 1030345. Fondo Nacional de Investigación y Tecnología.

BRITTEN, MORISSET, PETITCLERC, ROBITAILLE, 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(04):651-654.

BROSTER, W., SWAN, T., 1992. Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. AGT Editor, S.A. México. 380 p.

CASADO, P. y GARCIA, J. 1985. La calidad de la leche y los Factores que la influyen. Industrias lácteas Españolas. N° 81. 298 p.

CASANOVA, M. 2001. Identificación de las variantes genéticas de k-caseína en leche de vacas Holstein – Friesian y Jersey por electroforesis de isoenfoque. Tesis Lic. en Ing. en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 102 p.

CENEREMA, Centro general de capacitación y entrenamiento en reproducción y manejo animal, 2003. Situación actual y mejoramiento de la productividad de la ganadería bovina de la pequeña agricultura en centro América y Sudamérica, Valdivia. 144 p.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, 1998. Leche y Productos Lácteos. Muestreo Parte I. Leche Cruda. 9 p.

CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2001. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Diario Oficial de la República de Chile. 13 de mayo de 1997. 208 p.

CHLADEK, G., DOBICKI, A., y ZACHWIEJA, A., 2002. Growth rate of calves and condition of their red and white, Charolais, F₁ or R₁ dams in relation to the genetic polymorphism of milk proteins. Animal Science Papers and reports. 20 (suppl):161-167.

- 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 Lic. en Ing. en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 86 p.
- CREAMER, L. y HARRIS, D. 1997. Relationship between milk protein polymorphism and physico-chemical properties. En: Milk Protein Polymorphism. International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Pp.112 – 117.
- CUEVAS, A., GARCIA, X., GONZALEZ, H., y MAGOFKE, J.C., 2002. Comparison of different crosses between Chilean Black Friesian with New Zealand Friesian and American Holstein. Archivo de Zootecnia. 51:303-314.
- 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.
- DALGLEISH, D. 1989. The behaviour of minerals in heated milks. In International Dairy Federation. Bulletin Document. 248: 31-34.
- DELACROIX-BUCHET, A., LEIFIER, D. y NUYTS – PETIT, V. 1993. Polymorphism of kappa casein from three French breeds and its coagulability. Lait. 73: 61-72.
- De ALBA, J., 1997. Polimorfismo en caseína y la calidad de la leche en ganados criollos lecheros. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. N° 5, N°4

- De PETERS, E. Y FERGUSON, J. 1992. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science*. 75 (11):3192-3209.
- EIGEL, W. BUTLER, J. ERNSTROM, C. FARRER, H; HARWALKAR, V. JENNESS, R. WHITNEY, R. 1984. Nomenclatura of Protein of cow milk. Fifth revision. *Journal of Dairy Science*. 67 (8): 1599-1631.
- ERHARDT, G., FREYER, G., LIU, Z., y PANICKE, L.,1999. Casein polymorphism and relation between milk production traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 116 (2): 87
- ESPINDOLA, LAVERNE, PULIDO, URIBE, 2002. Supplementation with Ground or Steam Flaked Corn And Performance of Spring Grazing Dairy Cows. *Archivos de Zootecnia*. 51:397-400
- FAMULA, T.R., MEDRANO J.F., OJALA, M.,1997. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. *Journal of Dairy Science* 80: 1776-1785.
- FELMER, R., y BUTENDIECK, M., 1998. Frecuencia alélica del gen de k-caseína bovina en un rebaño Frisón Negro Chileno. *Arch. Med. Vet.* 30 (2): 145-150.
- FITZGERALD, R., 1998. Genetic Variants of Milk Proteins and their Association with Milk Production and Processing Properties. The Dairy Products Research Centre Moorepark, Fermoy, Co. Cork. N°19
- FOX, P. F. y McSWEENEY, P. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional. London. 478 p.

- FRIES, R. y RUBINSKY, A. 1999. The Genetics of Cattle. CABI publishing. Londres. Inglaterra. 710 p.
- GIVENS, D.I., OWEN, E., AXFORD, R.F.E. y OHMED, H.M. 2000. Forage evaluation in ruminant nutrition. CABI Publishing, Wallingford, UK. (Original no consultado). [www.monografias.com]
- GONZALEZ de LLANO, D. 1990. Polimorfismo genético de las proteínas de la leche de vaca. Alimentación, Equipos y Tecnología. Julio-Agosto: 77-81.
- HAENLEIN, G.F.W., GONYON, D.S., MATHER, R.E., y HINES, H.C., 1987. Associations of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits. Guernseys. J. of Dairy Sci. 70 : 2599 - 2609.
- HABIB, M., 2003. Genetic Polymorphism in goat. Study of the k-casein, β -lactoglobulin and stearoyl coenzyme A desaturase genes. Tesis Universidad Autonoma de Barcelona. Facultad de Ciencias Veterinarias.
- HAMES, B. 1998. Gel electrophoresis of Proteins, A practical approach. Oxford University Press. USA. Pp. 127-187.
- HAYES, JF., MONARDES, HG., MOXLEY, JE., NG-KWAI-HANG., 1982. Environmental influences on protein content and composition of bovine Milk. J. of Dairy Sci. 65 (10):1993-8.
- HERRERA, J. 1997. Evaluación de algunos efectos genéticos y no genéticos sobre el comportamiento productivo, en dos rebaños lecheros de la Xª Región. Tesis M.Sc. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 150 p.

- HERVÉ, M. 1991. Apuntes de zootecnia general. Universidad Austral de Chile. 134 p..
- HILL, J., PATERSON, G. y McGIBBON, A. 1997. Joint Effect of β -lactoglobulina and κ -Casein variants on the heat stability of milk. . En: Milk Protein Polymorphism. International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Pp.231 – 236.
- HILL, J.P. 1993. The Relationship between β -lactoglobulin Phenotypes and Milk Composition in New Zealand Dairy Cattle. Journal of Dairy Science. 76: 282-286.
- HORNE, D. y MUIR, D. 1994. Genetic polymorphism of κ -casein and rennet coagulation time. Effects of serum phase components. Milchwissenschaft. 49 (8): 446-449.
- HORNE, D.S., BANKS, J.M. y MUIR, D.D. 1996. Genetic polymorphism of milk protein: Understanding the technological effect. Hannah Research Institute Yearbook. p. 70-78.
- IKONEN, T., OJALA, M., y RUOTTINEN, O., 1999. Associations Between Milk Protein Polymorphism and First Lactation Milk Production Traits in Finnish Ayrshire Cows. Journal of Dairy Science. 82:1026-1033
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 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). 42B:1990. Determination of total phosphorus content. Spectrometric Method. 3 p.
- JACOB , E. y PUHAN, Z. 1995. Implications of genetic polymorphism of milk protein on production and processing of milk. Bulletin of the International Dairy Federation. IDF 304:2-25
- JANSON, L., LUNDEN, A., y NILSSON, M., 1997. Marked Effect of β -Lactoglobulin Polymorphism on the Ratio of Casein to Total Protein in milk. Journal of Dairy Science. 80:2996-3005.
- JEICHITRA, V., KANDASAMY N., PANNEERSELVAM S., 2003. Milk protein polymorphism in Kangayam cattle. Trop Anim Health Prod. 35(2):147-153
- 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.
- KRÓL, J., LITWINEZUK, Z., 2002. Polymorphism of main proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. Animal Science Papers and Report . 20 (suppl):33-40
- LATRILLE, L. 1993. El valor nutritivo de la leche bovina y factores que alteran su composición. Producción Animal. Valdivia. Chile.27-56 p.
- LAWRENCE, R.C. 1993. Relation between milk protein genotypes and cheese yield capacity. In: Factors Affecting the yield of cheese. International Dairy Federation: Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North. New Zealand: 121-125 p.

- LAVIN, R. 1996. Variaciones de la composición láctea de vacas con distinto número de lactancia. Tesis Lic. Medicina Veterinaria. Universidad Austral de Chile. Facultad de Medicina Veterinaria. Valdivia. 84 p.
- LEE, B, LIN, G., CROOKER, B., MURTAUGH, M., HANSEN, L., y CHESTER-JONES. H., 1996. Association of somatotropin (BST) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows. *Domestic Animal Endocrinology* 13(4) : 373-381.
- LODES, A.; BUCHBERGER, J.; KRAUSE, I.; AUMANN, J. y KLOSTERMEYER, H. 1996. The influence of genetic variant of milk protein on the compositional and technological properties of milk. *Milchwissenschaft* 51 (10): 543-547.
- LOPEZ, R.; VASQUEZ, N., 2004. Determinación del sexo y genotipificación del gen de la κ -caseína en embriones bovinos. *Rev. Col. Cienc. Pec.* Vol. 17:3.
- LOWE, R; ANEMA. S; PATERSON. G; HILL, J; 1995. Simultaneous separation of the lactoglobulin A,B y C variant using polyacrylamide gel electrophoresis. *Milchwissenschaft*.50(2):633-666.
- LOWRY, O., ROSEBROUGH, N., FARR, A. y RANDALL,R. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *Journal of biological chemistry*. 193: 265-275.
- MACHEBOEUF, D., COULON, J. y D' HOUR, P. 1993. Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows milk coagulation properties. *Journal of Dairy Research*. 60:43-54.

- MAGA, E. y MURRAY, J. y 1999. Changing the composition and properties of milk. *Transgenic Animals in Agriculture*. Londres, Inglaterra. CABI Publishing. Pag. 193 – 208.
- MALACARNE, M., MARIANI, P., MARTUZZI, F., SUMMER, A., 2002. Structural and Functional Characteristics of Modenese cow milk in Parmigiano-Reggiano Cheese production. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma* (Vol. XXII, 2002) - p. 163 - 174.
- MARIANI, P., ZANZUCCHI, G., MASORI, M., SERVENTI, P. y PECORARI, M. 1997. Percentage distribution of caseins and kappa-casein fractions separated by reverse-phase HPLC in Italian Brown cows with different genotypes at the kappa-casein locus. *Sc. Tecn. Latt. Caes.* 46: 30-35.
- McKENZIE, H. y WAKE, R. 1961. An improved method for the isolation of κ -casein. *Biochemistry Biophysical Acta.* 47: 240 – 242.
- McLEAN, D.M, GRAHAM, E.R.B, PONZONI, R. W. y McKENZIE, H.A. 1984. Effects of milk protein genetic variants milk yield and composition. *Journal of Dairy Science.* 51:531:-546
- MURPHY, J.J., F. O'MARA. 1993. Nutritional modification of milk protein concentration and its impact on the dairy industry, *Livest. Prod. Sci.* 35: 117-134.
- MURRAY, J. y MAGA, E. 1999. Changing the composition and properties of milk. *In*: Murray, J., Anderson, G., Oberbauer, A. y McGloughlin, M. (Eds.). *Transgenic Animals in Agriculture*. Londres, Inglaterra. CABI Publishing. Pag. 193 – 208.

- NG-KWAI-HANG, K.F. 1998. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties. *Canadian Journal of Animal Science* 78 (suppl): 131-147
- NG-KWAI-HANG, K.F. 1997. A review of the relationship between milk protein polymorphisms and milk composition and production. In: *Milk Protein Polymorphism*. International Dairy Federation. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerstone North. New Zealand: 22-37.
- NG-KWAI-HANG, K.F.; HAYES, J.F.; MOXLEY, J.E.; y MONARDES, H.G. 1986. Relations between milk protein polymorphisms and mayor milk constituents in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*.69: 22-26.
- NG-KWAI-HANG, K., HAYES, J., MOXLEY, J. y MONARDES, H. 1984. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 67: 835-840.
- NG-KWAI-HANG, K., HAYES, J. y MOXLEY, J. 1982. Enviromental influences on protein content an composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*. 65 (10): 1993-1998.
- NOBOA, J., 1998. Calidad sanitaria y composición nutricional de leche de estanque en predios de la provincia de Valdivia, durante el período primavera-verano. Tesis Lic Instituto de Zootecnia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinaria. Valdivia. 114 p.

- 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.
- O'BRIEN, B., MURPHY, J., CONNOLLY, J., MEHRA, R., GUINEE, T. y STAKELUM, G. 1997. Effect of altering the daily herbage allowance in mid lactation on the composition and processing characteristics of bovine milk. *J. Dairy Res.* 64: 621-626.
- OKANTAH, S.A. 1992. Partial milking of cattle in smallholder on the Acra Plains: some factors affecting daily partial milk yield and milk composition. *Anim. Prod.* 54 (1): 15-21.
- PÉREZ, E. 2003a. 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.
- PEREZ, L. 2003b. Estudio de algunos factores no genéticos que afectan la producción y composición de leche en un rebaño de pariciones biestacionales de la décima region. Tesis Lic. en Agronomía. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. 126 p.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, M; MARTÍN-ALVAREZ, P; RAMOS, M; GARCÍA-MURO, E; ZARAZAGA, I. y AMIGO, L. 1998. Genetic polymorphism of bovine milk proteins in Holstein-Friesian and Fleckvieh breeds exploited in Spain. *Milchwissenschaft*. 53 (10): 541-546.
- PETITCLERC, D., y ROBITAILLE, G., 2000. Expression polymorphism of *k*-casein gene in Holstein cows. *Journal of Dairy Research*. 67(01):107-111.

- PHILLIPS, C. 2001. Principles of Cattle Production. CABI Publishing. Londres, Inglaterra. 288 pág.
- PINTO, M., VEGA Y LEON, S. y PEREZ, N. 1998. Métodos de análisis de la leche y derivados. Garantía de calidad. Editorial U.A.CH., Dirección de investigación y desarrollo. Valdivia, Chile. 489 p.
- PRIMO, E. 1997. Química de los Alimentos. Editorial Síntesis. Madrid, España. 461 p.
- RAHALI, V. y MÉNARD, J. 1991. Influence des variants génétiques de la β lactoglobuline et de la κ - caseína sur la composition du lait et son aptitude fromagere. Lait. 71: 275-297.
- TIRADOS, F., 2001. Livestock genetic improvement in the second half of the 20th century. Arch. Zootec. 50:517-546.
- TSIARAS, A., BARGOULI, G., BANOS, G., y 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
- UNDERWOOD, E. 1981. Los minerales en la nutrición del ganado. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 210 p.
- VAN DEN VERG, G. 1993. Genetic polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin in relation to milk composition and cheesemaking properties.

International Dairy Federation. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North. New Zealand: 123-133

VEISSEYRE, R. 1980. Lactología técnica. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 629 p.

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.

VILLOCH, A. y PONCE, P. 1986. Genetic an environmental factors affecting milk mineral composition in Holstein-Friesian cows. Revista de Salud Animal. 8 (2): 1983-191. Original no consultado. Dairy Science abstrat. 1987. 49(12): 844

WALSTRA, P. y JENNESS, R. 1984. Dairy Chemistry and Physics. Editorial John Wiley & Sons. USA. 467 p.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A. y VAN BOEKEL. 1999. Dairy Technology. Principies of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker, Inc. New York. 727 p.

WEBB, B., JOHNSON, A. y ALFORD, J. 1980. Fundamentals of Dairy Chemistry. AVI Publishing Company. Inc. Wesport. Connecticut. Pp 2-124.

ANEXOS

ANEXO 1

- **Caracterización general de las vacas en estudio**

VACA	% HF	Nº LACTANCIA	FECHAS DE PARTO	ALIMENTACION
825	50,0%	3	08/04/04	concentrado
1311	75,0%	3	08/04/04	Concentrado
1321	---	3	01/03/04	Concentrado
1353	77,3%	3	20/04/04	Concentrado
1357	25,0%	3	03/03/04	Concentrado
1376	56,3%	3	26/03/04	Concentrado
1398	78,0%	3	10/02/04	Concentrado
2266	68,8%	3	25/06/03	Concentrado

FUENTE: CENTRO EXPERIMENTAL PREDIOS AGRICOLAS (2004)

- **Características de alimentación**

Composición proximal					
Proteína Total (%)	Fibra cruda (%)	Energía MATAB (MCal×Kg)	Calcio (gr/Kg)	Fósforo (gr/Kg)	Humedad (%)
15	14	3,3	2,9	1,0	13,5

- **Ingredientes:** Granos de cereales, subproducto de molinería de cereales, afrecho de oleaginosas, melazas de remolacha, Sales minerales, ensilaje.

ANEXO 2

Determinación de proteína total, proteína del suero, y caseína

- **Contenido de proteína total y proteína del suero según el método Semi Micro Kjeldahl FIL/IDF 20B: 1993.**

El método consiste en la digestión de la muestra, usando un aparato de bloque de digestión, con una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y peróxido de hidrógeno y sulfato de potasio, junto con un catalizador, para convertir el nitrógeno orgánico presente en sulfato de amonio. La adición de un exceso de hidróxido de sodio a la digestión fría libera amoníaco. Se destila el amoníaco usando una unidad de destilación por arrastre de vapor y el destilado se recoge dentro de un exceso de solución de ácido bórico y luego se titula con ácido sulfúrico.

- **Separación de proteínas del suero según McGann et al. Citado por PINTO et al. (1998).**

- Se transfiere 100 ml de leche en un matraz cónico limpio y seco.
- Se lleva a 40°C y se agrega 3 ml de ácido acético 33,3% p/v y colocar a baño María
- Después de 10 minutos agregar 3 ml de acetato de sodio 3.33 N, mezclar y esperar 3 minutos
- Filtrar a través de filtro plegado (Whatmann n° 40) y recibir el filtrado en un matraz cónico seco

(continuación ANEXO 2)

- **Determinación del contenido de caseína según el procedimiento utilizado por Rowland citado por FOX y McSWEENEY (1998).**

La muestra de leche se determinara sustrayendo el contenido de proteína total menos el contenido de proteína del suero.

ANEXO 3

Determinación del contenido de fósforo total en leche según método espectrofotométrico FIL/IDF 42B: 1990

- Pesar la muestra de digestión 1,5 g de leche lo mas cercano a 1mg
- Agregar 4 ml de Ac. Sulfúrico concentrado
- Colocar matraces en digestor, y luego enfriar a temperatura ambiente
- Agregar 2ml de peroxido de hidrogeno y recalentar
- Enfriar, y luego lavar el cuello del matraz con 2ml de agua, y luego calentar hasta ebullición del agua.
- Transferir el contenido del matraz de digestión a un matraz aforado de 100ml.
- Pipetear 2ml y diluir en matraz aforado de 50ml.
- Calentar en baño Maria por 15 minutos, y luego enfriar en baño de agua fría.
- Realizar lectura en espectrofotómetro a 820 nm.

Expresión de resultados. Usando la curva de calibración se determinara la masa de fósforo correspondiente a la absorbancia neta de la muestra. El contenido total de fósforo expresado en %m/m es:

$$\%m/m = \frac{m_1}{200 \cdot m_0}$$

Donde:

m_0 = masa en gramos de la muestra en problemas

m_1 = masa en microgramos, de fósforo, leído de la curva de calibración

ANEXO 4

Determinación del contenido de calcio en leche según Ntailianas y Whitney (1964).

La determinación de calcio total, fue por el método complexométrico, descrito por NTAILIANAS y WHITNEY (1964), por medio de una retrotitulación con solución estándar de cloruro de calcio, en una alícuota de leche que contiene un exceso de Etilendiamino tetracetato (EDTA), usando una solución indicadora calceína como indicador. La determinación de calcio sólo, se realizó en los rangos de pH 13-13,5

ANEXO 5

Preparación de muestra para electroforesis de isoenfoque

- **Separación de k - caseína de las muestras de leche para análisis electroforético.**

Preparación de k caseína para electroforesis de isoelectroenfoque en relación a lo descrito por McKENZIE Y WAKE (1961), modificado:

- Precipitar la caseína de 950 mL de leche descremada por adición de HCl 0,1N hasta obtener un pH de 4,5.
- Centrifugar a 4000 r.p.m. por 15 min.
- El precipitado se filtra a través de filtro Whatman N° 2 u otra forma equivalente.
- La caseína obtenida se lava 4 veces con agua destilada.
- La caseína lavada se purifica con una re-precipitación isoelectrónica, disolviéndola con NaOH diluido. (0,05 M)
- Agregar HCl hasta obtener un pH de 4,7.
- Se centrifuga a 4000 r.p.m. por 15 min.
- Se disuelve 20 g de caseína ácida con NaOH 1N hasta pH 7,0 – 7,5 y se completa con agua destilada hasta obtener un volumen aproximado de 300 mL.
- Se enfría a 2 °C y se agrega 30 mL de CaCl₂ 4M ajustado a pH 6,5 – 7,0 con NaOH 1N.
- Se agita continuamente durante 1h. Las caseínas sensibles al calcio precipitarán por calentamiento a 35 °C.
- El precipitado se remueve a temperatura ambiente por centrifugación a 5500 r.p.m. por 60 min. Obteniéndose en el sobrenadante la k - caseína.

(continuación ANEXO 5)

- **Separación de β - lactoglobulina de las muestras de leche para análisis electroforético.**

Preparación de β - lactoglobulina para electroforesis de isoelectroenfoque según LOWE et al. (1995):

- Preparar el suero ajustando las muestras de leche a pH 4,6 con HCl 1M.
- Luego, centrifugar a 13.000 r.p.m. por un tiempo de 5 min.
- El sobrenadante es diluido 10 veces en buffer muestra.

ANEXO 6

Variantes genéticas de k-caseína y β -lactoglobulina.

Vacas	Variante k-caseína	Variante β -lactoglobulina	Interacción k-caseína y β -lactoglobulina
825	A	BB	ABB
1311	AB	BB	ABBB
1321	A	BB	ABB
1353	A	BB	ABB
1357	B	BB	BBB
1376	A	BB	ABB
1398	B	BB	BBB
2266	A	BB	ABB

FUENTE: BRITO *et al.* (2003). Información obtenida del proyecto Fondecyt 1030345

Curva de calibración para la determinación de proteínas siguiendo el método descrito por LOWRY *et al.* (1951)

Vaca	Muestreo	A1	B1	B2	B3	C	D	E	F
825	2	0,189	65,12	43,23	44,13	108,54	2713,38	542,68	18
1311	2	0,185	63,91	42,21	43,10	106,52	2662,88	532,58	19
1321	2	0,186	64,21	42,46	43,36	107,02	2675,51	535,10	19
1353	2	0,29	95,73	69,13	70,03	159,55	3988,64	797,73	13
1357	2	0,176	61,18	39,90	40,79	101,97	2549,24	509,85	20
1376	2	0,196	67,24	45,03	45,92	112,07	2801,77	560,35	18
1398	2	0,144	51,48	31,69	32,59	85,81	2145,20	429,04	23
2266	2	0,13	47,24	28,10	29,00	78,74	1968,43	393,69	25

ANEXO 7

Resultados obtenidos durante la época de otoño para los distintos muestreos y análisis realizados sobre la composición proteica y mineral de la leche.

- Muestreo N°1: 24-04-2004.

Vacas	Proteína (%)	Proteína del Suero (%)	Caseína (%)	Fósforo (%m/m)	Calcio (g/L)
825	2,95	0,70	2,25	0,0750	0,90
825	2,96	0,70	2,26	0,0762	1,00
1311	3,12	0,78	2,34	0,0689	1,05
1311	3,14	0,78	2,36	0,0682	1,00
1321	2,81	0,68	2,13	0,1102	0,85
1321	2,76	0,68	2,08	0,1134	0,90
1353	3,90	1,17	2,74	0,1313	1,40
1353	4,03	1,15	2,88	0,1308	1,40
1357	2,74	0,67	2,07	0,1276	1,00
1357	2,80	0,67	2,13	0,1276	1,05
1376	2,79	0,69	2,10	0,0854	1,00
1376	2,78	0,69	2,08	0,0861	1,00
1398	3,67	0,84	2,83	0,0808	1,05
1398	3,66	0,84	2,82	0,0793	1,05
2266	3,90	0,62	3,29	0,0688	0,85
2266	4,01	0,62	3,40	0,0691	0,90

(continuación ANEXO 7)

- Muestreo N°2: 17-05-2004.

Vacas	Proteína (%)	Proteína del Suero (%)	Caseína (%)	Fósforo (%m/m)	Calcio (g/L)
825	2,62	0,71	1,91	0,0465	1,00
825	2,66	0,73	1,93	0,0441	1,00
1311	2,82	0,79	2,03	0,0909	1,00
1311	2,96	0,80	2,16	0,0833	1,00
1321	2,64	0,69	1,95	0,0468	1,00
1321	2,64	0,70	1,94	0,0390	0,99
1353	2,69	1,18	1,51	0,0363	1,00
1353	2,55	1,14	1,41	0,0385	1,40
1357	2,77	0,69	2,08	0,0347	1,05
1357	2,76	0,70	2,06	0,0502	1,10
1376	2,80	0,72	2,08	0,0744	1,10
1376	2,82	0,73	2,09	0,0646	1,00
1398	3,84	0,85	2,99	0,0813	1,10
1398	3,80	0,85	2,95	0,0709	1,00
2266	3,71	0,65	3,06	0,0789	1,00
2266	3,77	0,64	3,13	0,0661	1,00

(continuación ANEXO 7)

Muestreo N°3: 14-06-2004.

Vacas	Proteína (%)	Proteína del Suero (%)	Caseína (%)	Fósforo (%m/m)	Calcio (g/L)
825	2,75	0,59	2,16	0,0516	0,75
825	2,68	0,59	2,09	0,0457	0,80
1311	2,87	0,76	2,11	0,0728	1,00
1311	2,91	0,76	2,15	0,0714	1,00
1321	2,59	0,71	1,88	0,0464	0,85
1321	2,62	0,72	1,91	0,0528	0,85
1353	mastitis	mastitis	mastitis	mastiis	mastitis
1353	mastitis	mastitis	mastitis	mastitis	mastitis
1357	2,94	0,75	2,19	0,0451	1,05
1357	2,96	0,75	2,20	0,0508	0,95
1376	2,62	0,64	1,97	0,0709	0,90
1376	2,66	0,65	2,02	0,0738	0,90
1398	3,68	0,91	2,77	0,0840	0,90
1398	3,69	0,92	2,76	0,0888	0,90
2266	3,94	1,09	2,85	0,0837	1,05
2266	3,89	1,09	2,80	0,0847	1,04

(continuación ANEXO 7)

Muestreo N°4: 05-07-2004.

Vacas	Proteína (%)	Proteína del Suero (%)	Caseína (%)	Fósforo (%m/m)	Calcio (g/L)
825	2,73	0,54	2,19	0,0844	0,95
825	2,75	0,54	2,21	0,0888	0,95
1311	2,76	0,72	2,04	0,0622	0,85
1311	2,85	0,72	2,13	0,0718	0,88
1321	2,75	0,77	1,98	0,0810	0,90
1321	2,75	0,77	1,98	0,0890	0,85
1353	3,21	0,83	2,38	0,1048	0,98
1353	3,32	0,82	2,50	0,1077	0,98
1357	2,89	0,65	2,24	0,1013	0,90
1357	2,91	0,65	2,27	0,1062	0,90
1376	2,81	0,62	2,19	0,0691	0,85
1376	2,74	0,62	2,12	0,0683	0,95
1398	4,04	1,01	3,03	0,0928	0,95
1398	4,03	1,02	3,01	0,0935	0,90
2266	3,90	1,12	2,78	0,1123	1,02
2266	4,06	1,12	2,94	0,1081	0,98

ANEXO 8

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de proteína (%) para cada uno de los muestreos.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	F	Valor P
Efectos					
A: Muestreos	0,618595	3	0,206198	0,80	0,5008
Residuos	15,0157	58	0,258892		
TOTAL	15,6343	61			

Valor $p < 0,05$ indica que el factor tiene un efecto estadísticamente significativo al 95% de confianza.

Contraste múltiple de rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Muestreo	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	16	2,99063	0,127204	X
3	14	3,05714	0,135986	X
4	16	3,15625	0,127204	X
1	16	3,25125	0,127204	X

* Denota diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$)

ANEXO 9

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de caseína (%) para cada uno de los muestreos.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F	Valor P
Efectos					
A: Muestreo	0,734258	3	0,244753	1,31	0,2806
Residuos	10,8543	58	0,187143		
Total	11,5886	61			

Valor $p < 0,05$ indica que el factor tiene un efecto estadísticamente significativo al 95% de confianza

Contraste múltiple de rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

MUESTREO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
2	16	2,205	X
3	14	2,275	X
4	16	2,374	X
1	16	2,491	X

* Denota diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$)

ANEXO 10

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de proteína del suero (%) para cada uno de los muestreos.

Análisis de varianza

Fuente	Sumas de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F	Valor P
Efectos					
A: Muestreo	0,00615351	3	0,00205117	0,07	0,9762
Residuos	1,72448	58	0,0297324		
Total (Corr.)	1,73063	61			

11.2 Contraste múltiple de rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Muestreo	Frec.	Media	Grupos homogéneos
1	16	0,7606	X
3	14	0,7807	X
4	16	0,7825	X
2	16	0,7856	X

* Denota diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$)

ANEXO 11

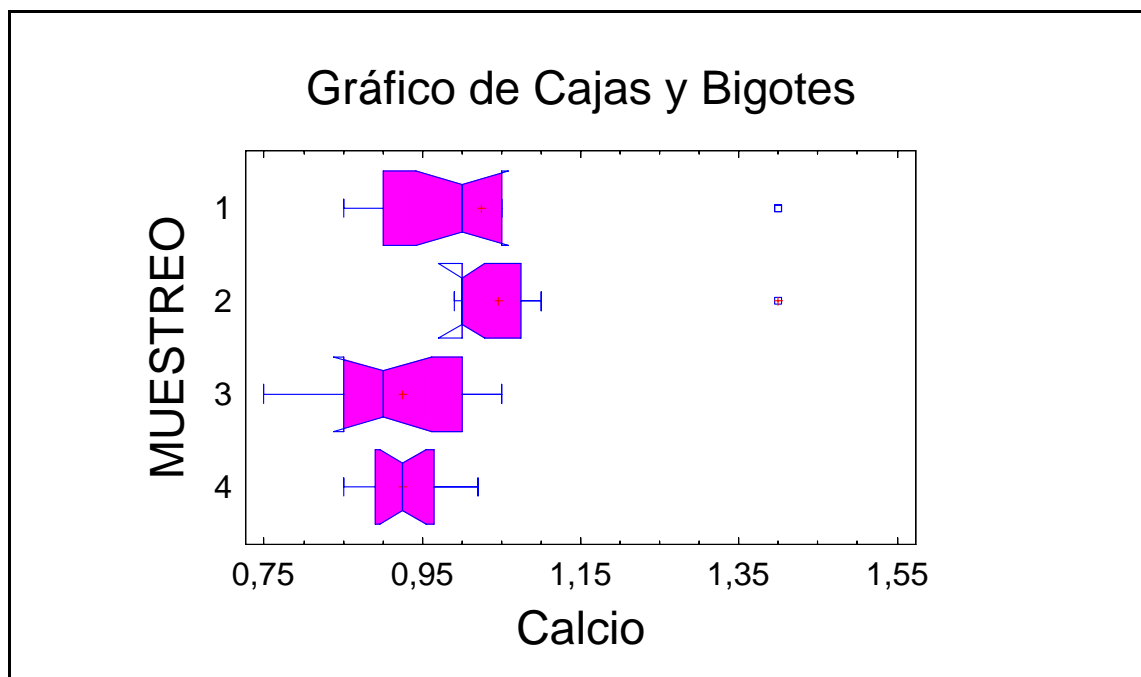
Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de calcio (g/L) para cada uno de los muestreos.

Contraste de Kruskal-Wallis ara calcio

MUESTREO	Tamaño muestral	Rango Promedio
1	16	36,8125
2	16	44,25
3	14	24,0
4	16	20,0

Estadístico = 18,8586 P-valor = 0,000292438

Medianas significativamente diferentes



ANEXO 12

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos del contenido de fósforo (%m/m) para cada uno de los muestreos.

Análisis de varianza

Fuente	Sumas de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio
Entre grupos	0,0139853	3	0,00466175
Intra grupos	0,0222944	58	0,000384386
Total (Corr.)	0,0362796	61	

Contraste múltiple de rangos.

Método: 95,0 porcentaje LSD

MUESTREO	Frec.	Media	Grupos homogéneos
2	16	0,0591563	X
3	14	0,0658929	X
4	16	0,0900813	X
1	16	0,0936687	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	*0,0345125	0,0138753
1 - 3	*0,0277759	0,0143623
1 - 4	0,0035875	0,0138753
2 - 3	-0,00673661	0,0143623
2 - 4	*-0,030925	0,0138753
3 - 4	*-0,0241884	0,0143623

* Indica diferencia estadísticamente significativa

ANEXO 13

Resultados de la producción de leche ordeña AM para las muestras de leche según n° de vacas en la estación de otoño.

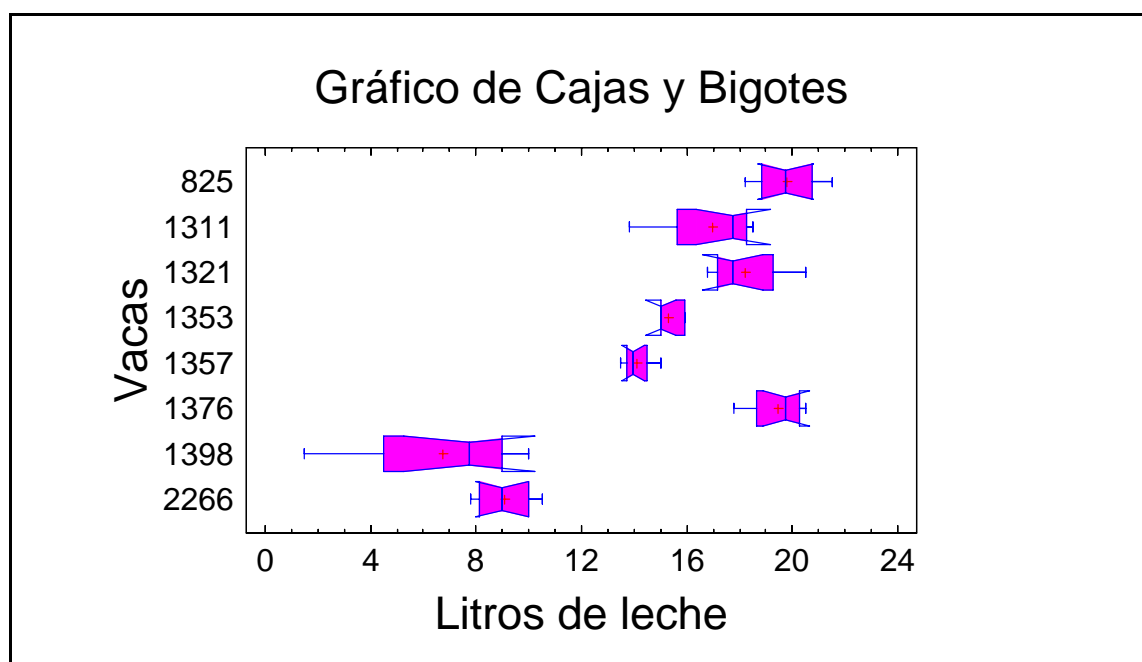
Contraste de Kruskal-Wallis

Vacas	Tamaño muestral	Rango Promedio
-------	-----------------	----------------

825	8	53,0
1311	8	36,5
1321	8	42,75
1353	6	28,8333
1357	8	22,5
1376	8	50,75
1398	8	6,5
2266	8	10,5

Estadístico = 52,6517 P-valor = 4,34305E-9

Medianas significativamente diferentes.



ANEXO 14

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos de las variantes A y B de k-caseína, para cada una de las propiedades analizadas.

- Análisis de varianza para proteína total**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFEECTO					
A: k-caseína	1,06092	2	0,530462	2,15	0,1258
Residuos	14,5734	59	0,247007		
Total (Corr.)	15,6343	61			

- Análisis de varianza para caseína total**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos					
A: k-caseína	0,866761	2	0,43338	2,38	0,1009
Residuos	10,7218	59	0,181726		
Total (Corr.)	11,5886	61			

(continuación ANEXO 14)

- Análisis de varianza para proteína del suero**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos					
A: k-caseína	0,00976841	2	0,00488421	0,17	0,8462
Residuos	1,72087	59	0,0291672		
Total (Corr.)	1,73063	61			

- Análisis de varianza para contenido de calcio**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos					
A:k-caseína	0,00206109	2	0,00103054	0,07	0,9351
Residuos	0,905044	59	0,0153397		
Total (Corr.)	0,907105	61			

- Análisis de varianza para contenido de fósforo**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos					
A: k-caseína	0,0005096	2	0,0002548	0,42	0,6588
Residuos	0,03577	59	0,000606272		
Total (Corr.)	0,0362796	61			

(continuación ANEXO 14)

- Análisis de varianza para producción de leche A.M**

Fuente	S.C	gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos					
A: k-caseína	441,838	2	220,919	13,03	0,0000
Residuos	1000,19	59	16,9524		
Total (Corr.)	1442,03	61			

- Contraste Múltiple de Rango para Litros de leche según variante de K-caseína.**

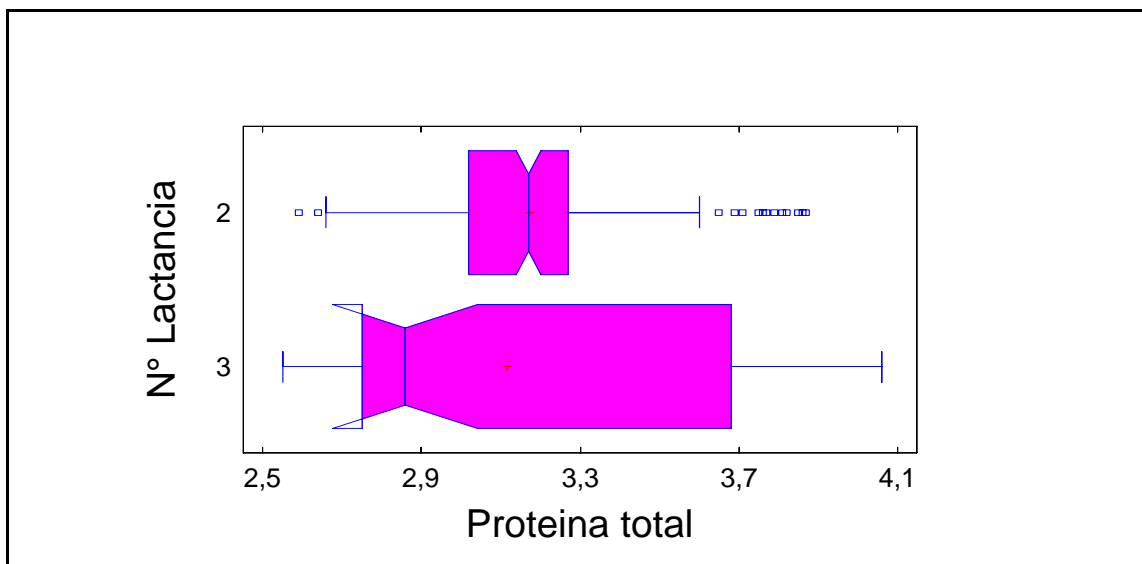
K CASEIN	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B	16	10,425	X
A	38	16,4211	X
AB	8	16,95	X
Contraste		Diferencias	+/- Límites
A - AB		-0,528947	3,20483
A - B		*5,99605	2,45532
AB - B		*6,525	3,5675

* indica una diferencia significativa.

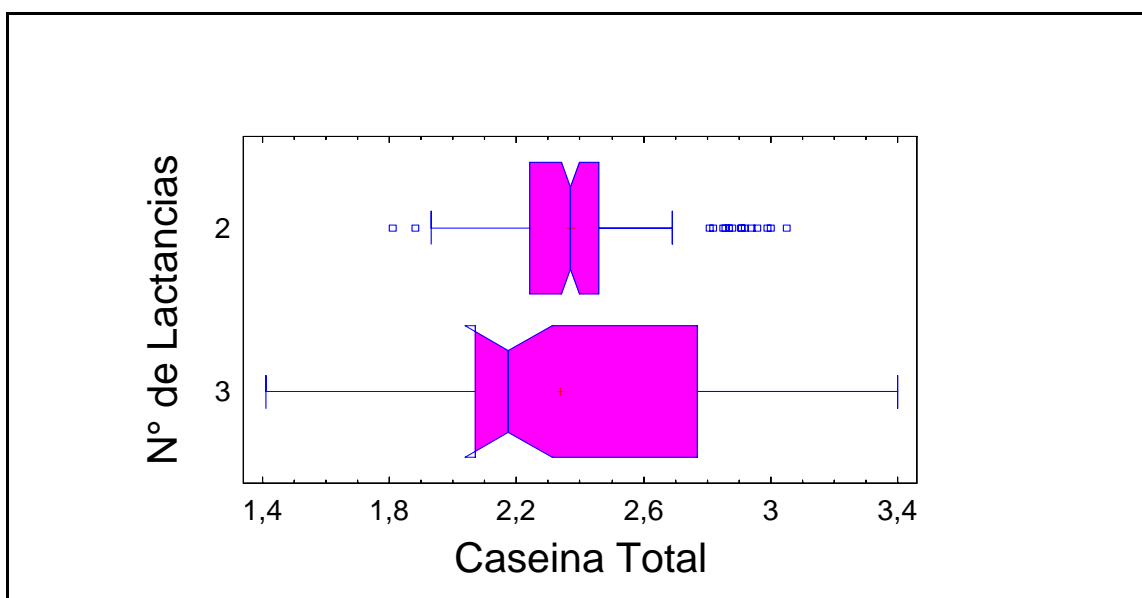
ANEXO 15

Resultados obtenidos de los análisis estadísticos según número de lactancias, para todas las propiedades analizadas

- Proteína Total (%)

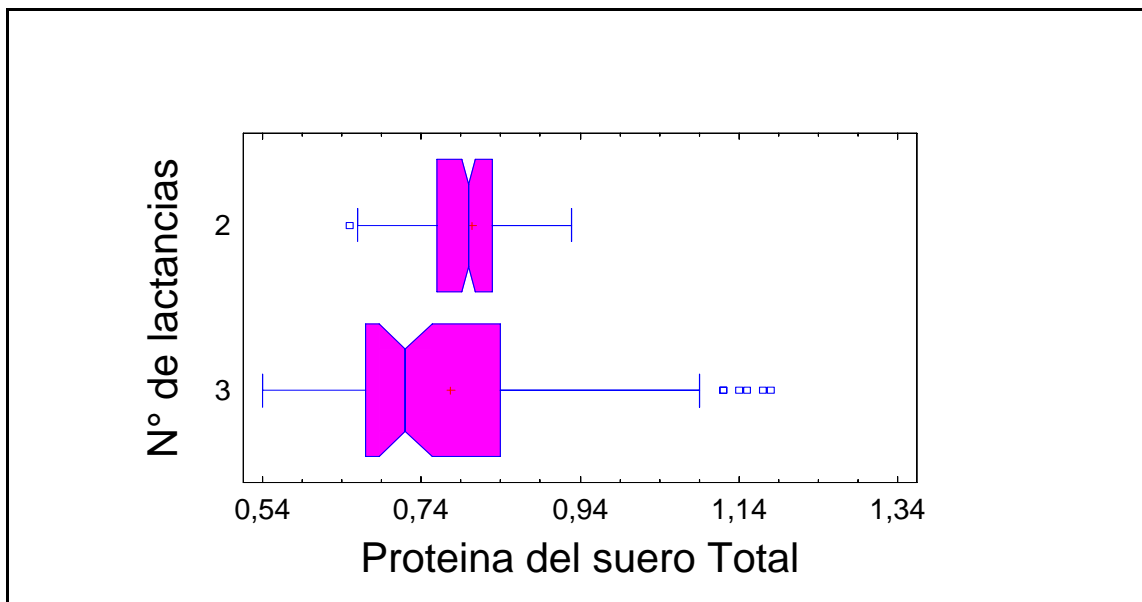


- Caseína Total (%)

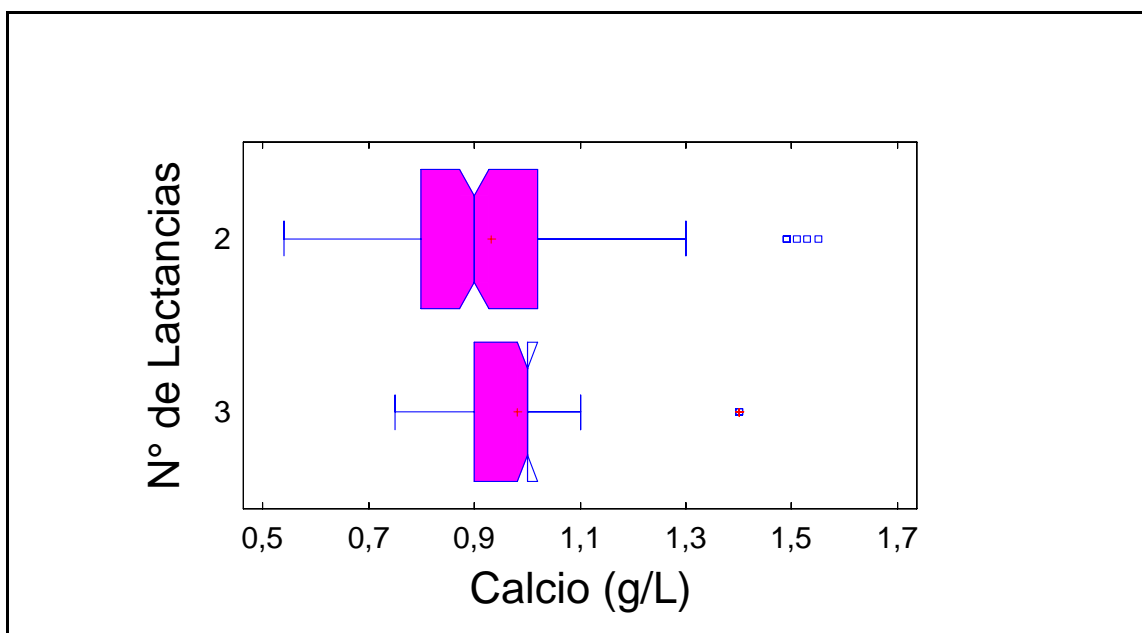


(continuación ANEXO 15)

- **Proteína del suero Total (%)**



- **Calcio (g/L)**



(continuación ANEXO 15)

- Fósforo (%m/m)

