

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**“VARIACIONES COMPOSICIONALES Y DE ESTABILIDAD DE LA LECHE DURANTE
LA LACTANCIA EN VACAS LECHERAS”**

Por

Ricardo CARDOZO
Valeria GONNET
Javier GUTIERREZ



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Trabajo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2009**

TG 168
Variaciones
FV/28516



Impreso en

Montevideo, Uruguay

2009

ISBN 978-9973-0-0000-0

POS 1234567

TESIS DE GRADO aprobado por:

Presidente de Mesa:



Dr. Daniel Camarotte

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Luis Barros

Tercer Miembro:



Dra. Silvana Carro

Co tutor: -----

Fecha

18 de Diciembre de 2009

Autores:

Ricardo Cardozo

Valeria Gonnet

Javier Gutiérrez

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con10 (diez) ed.....

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias y amigos por siempre estar ahí, por apoyarnos, entendernos, soportarnos, aconsejarnos por esto y muchas cosas más en todos estos años mil gracias.

A todos los funcionarios del INIA la Estanzuela por su dedicación y paciencia para con nosotros.

A nuestro tutor Luis Barros por todos estos años en los que nos soportó.

Para todo el Laboratorio de Leche del INIA en especial a Inés Delucchi, Andrea Cartaya, Pablo Bouiard por su ayuda, tiempo y dedicación.

A toda la gente que trabajaba en el tambo por su ayuda, predisposición y buena onda en esas largas jornadas de trabajo junto a nosotros, mañanas y tardes en las que el frío o el calor se hacían interminables.

Al mate y café que sin ellos hubiera sido imposible arrancar esas mañanas en las que era preferible quedarse a dormir.

En especial a todas aquellas personas, familiares y amigos que aunque en estos momentos no están con nosotros sabemos que siempre van a estar.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	IV
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>SUMMARY</u>	1
3. <u>INTRODUCCIÓN</u>	2
4. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	4
4.1. <u>IMPORTANCIA DEL SECTOR LÁCTEO EN EL MUNDO Y EN NUESTRO PAÍS</u>	4
4.1.1. <u>El mercado Internacional</u>	4
4.1.2. <u>Mercado Interno</u>	4
4.2. <u>LECHE</u>	5
4.2.1. <u>Concepto</u>	5
4.2.2. <u>Antecedentes Históricos</u>	5
4.2.3. <u>Anatomía de la glándula mamaria, producción, secreción y eyección de la leche</u>	5
4.3. <u>PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS</u>	6
4.3.1. <u>Densidad de la leche</u>	7
4.3.2. <u>Punto de ebullición y punto de congelación</u>	7
4.3.3. <u>pH de la leche</u>	7
4.3.4. <u>Potencial “redox”</u>	8
4.3.5. <u>Viscosidad</u>	8
4.3.6. <u>Tensión superficial</u>	8
4.3.7. <u>Índice de refracción</u>	8
4.3.8. <u>Conductividad eléctrica</u>	8
4.3.9. <u>Capacidad calórica específica</u>	9
4.4. <u>COMPOSICIÓN DE LA LECHE</u>	9
4.4.1. <u>Grasa</u>	9
4.4.2. <u>Proteínas</u>	11
4.4.2.1. <u>Caseínas</u>	11
4.4.2.2. <u>Proteínas del lactosuero</u>	11
4.4.2.3. <u>Componentes nitrogenados no proteicos</u>	12
4.4.3. <u>Glúcidos</u>	12
4.4.4. <u>Minerales</u>	13
4.4.5. <u>Enzimas</u>	14
4.4.6. <u>Vitaminas</u>	14
4.5. <u>FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE</u>	15
4.5.1. <u>Factores fisiológicos</u>	15
4.5.2. <u>Factores alimentarios</u>	16
4.5.2.1. <u>Efecto del nivel de aporte energético de la ración</u>	16
4.5.2.2. <u>Efecto de los aportes de materias nitrogenadas</u>	17
4.5.2.3. <u>Efecto del nivel de aportes de materias grasas</u>	19
4.5.2.4. <u>Efecto del nivel de aportes de minerales</u>	21
4.5.2.5. <u>Efecto del nivel de vitaminas</u>	21
4.5.2.6. <u>Efecto del aporte de fibra y pastura</u>	22
4.5.3. <u>Factores climáticos</u>	23

4.5.4. <u>Factores genéticos</u>	23
4.5.5. <u>Otros Factores</u>	23
4.6. <u>OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA LECHE</u>	24
4.6.1. <u>Procesos térmicos</u>	24
4.6.2. <u>Tipos de procesos térmicos</u>	24
4.7. <u>ESTABILIDAD TÉRMICA</u>	25
4.7.1. <u>Definición</u>	25
4.7.2. <u>Variables que afectan la estabilidad térmica</u>	25
4.7.2.1. <u>Grasas</u>	25
4.7.2.2. <u>Proteínas</u>	25
4.7.2.3. <u>NNP</u>	26
4.7.2.4. <u>Minerales</u>	26
4.7.2.5. <u>Época de lactancia</u>	26
4.7.2.6. <u>Estación climática</u>	26
4.7.2.7. <u>Mastitis</u>	26
4.7.2.8. <u>Dieta</u>	27
4.7.3. <u>Medición de la estabilidad térmica</u>	27
4.7.4. <u>Importancia de la estabilidad térmica</u>	29
5. <u>OBJETIVOS</u>	29
6. <u>HIPÓTESIS</u>	29
7. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	30
7.1. <u>LUGAR</u>	30
7.2. <u>ANIMALES</u>	30
7.3. <u>ALIMENTACIÓN</u>	30
7.4. <u>ANÁLISIS</u>	30
7.5. <u>MUESTRAS</u>	30
7.6. <u>DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS</u>	31
7.6.1. <u>Prueba del alcohol</u>	31
7.6.2. <u>Determinación de grasa, proteína y lactosa en leche</u>	31
7.6.3. <u>Prueba de Caseína</u>	31
7.6.4. <u>Tiempo de coagulación</u>	32
7.7. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</u>	32
8. <u>RESULTADOS</u>	33
9. <u>DISCUSIÓN</u>	39
10. <u>CONCLUSIONES</u>	42
11. <u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	43
12. <u>ANEXO</u>	48



LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I. Composición general de la leche	9
Cuadro II. Composición de la leche de vaca en minerales	13
Cuadro III. Datos del comportamiento térmico de muestras de vacas y vaquillonas para el cálculo de Chi^2 (número de muestras de cada categoría)	33
Cuadro IV. Datos para el cálculo de Chi^2 , correspondiente a cantidad de muestras positivas y negativas al alcohol de vacas y vaquillonas a la dilución 1:1	34
Cuadro V. Datos para el cálculo de Chi^2 , correspondiente a cantidad de muestras positivas y negativas al alcohol de vacas y vaquillonas a la dilución 2:1	34
Cuadro VI. Compilación de resultados de Chi^2 , correspondiente a la estabilidad térmica, para los tres periodos de lactación comparados entre si.....	34
Cuadro VII. Compilación de resultados de Chi^2 , correspondiente a la dilución 1:1 para los tres periodos de lactación comparados entre si	35
Cuadro VIII. Compilación de resultados de Chi^2 , correspondiente a la dilución 2:1 para los tres períodos de lactación comparados entre si	35
Cuadro IX. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente grasa con respecto a la estabilidad térmica.....	36
Cuadro X. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente lactosa con respecto a la estabilidad térmica	36
Cuadro XI. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente proteína con respecto a la estabilidad térmica	36
Cuadro XII. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente grasa con respecto a la prueba del alcohol	37
Cuadro XIII. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente proteína con respecto a la prueba del alcohol	37
Cuadro XIV. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente lactosa con respecto a la prueba del alcohol.....	37
Cuadro XV. Datos para el cálculo de Chi^2 correspondiente a muestras positivas y negativas para la dilución de alcohol 1:1 con respecto a muestras estables e inestables térmicamente	38
Cuadro XVI. Datos para el cálculo de Chi^2 correspondiente a muestras positivas y negativas para la dilución de alcohol 2:1 con respecto a muestras estables e inestables térmicamente	38
Figura 1. Exportaciones de lácteos en el Uruguay.....	4
Figura 2. Comparación de la estabilidad térmica entre muestras de vacas y vaquillonas durante el período de lactancia.	33
Figura 3. Comparación de la prueba del alcohol dilución 1:1 y 2:1 durante el período de lactación	35
Figura 4. Relación entre la prueba del alcohol y la estabilidad térmica.....	38

1. RESUMEN

El objetivo de investigación tuvo por finalidad establecer variaciones composicionales y de estabilidad de la leche en vacas lecheras. Los animales estuvieron divididos en dos grupos de al menos 20 vacas: un grupo de vacas multíparas y otro grupo de vaquillonas. Se realizó un monitoreo mensualmente durante el período de lactancia comprendido desde marzo a octubre. Se trabajó en base a leche entera fresca de mezcla de ambos ordeñes (tarde y mañana). Se analizó su composición (proteínas, grasa y lactosa) y se realizaron las pruebas de estabilidad al alcohol 1:1 (leche:alcohol 70% Vol.) y alcohol modificada 2:1 y prueba de estabilidad térmica en tubo por baño en aceite a 140° C. Los parámetros lácteos (grasa, proteína y lactosa) se analizaron por métodos estadísticos paramétricos y no paramétricos, realizando comparación de medias, análisis de varianza y Chi cuadrado. De las variables analizadas: el número de parto de las vacas lecheras fue en la que constató un efecto sobre la estabilidad térmica, presentando las vaquillonas menores tiempos de coagulación, o sea una mayor inestabilidad que las vacas ($p < 0,01$). No se encontró relación entre el período de lactación y las variaciones composicionales con respecto a la estabilidad térmica. No existió una relación entre la prueba del alcohol y la estabilidad térmica ($p < 0,01$), por lo que se concluye que no debería utilizarse dicha prueba como un predictor indirecto de la estabilidad térmica.

2. SUMMARY

The aim of research has for purpose to establish variations of composition of milk and stability of the milk in dairy cows. The animals were divided in two groups of at least 20 cows: a group of cows multiparous and another group of heifers. A monitoring was realized monthly during the period of lactation included from March to October. The milk was sampled on the basis of mixture of fresh milk from both milking period of the day (evening and morning). Its composition was analyzed (proteins, fat and lactose) and also carried out two tests of stability to alcohol added, with alcohol 1:1 (milk:alcohol 70 % Vol.) and with alcohol modified 2:1. A test of thermal stability was performed in tube using a bath of oil at 140 °C. The milk parameters (protein, fat and lactose) were analyzed with statistical parametric and not parametric methods, with comparison of averages, analysis of variance and square Chi. Of the analyzed variables: the number of parturition of the dairy cows was the one that stated an effect on the thermal stability, presented by the heifers with minor times of coagulation, or else, major instability that the cows ($p < 0.01$). No relation was found between the period of lactation and the compositional variations with regard to the thermal stability. A relation did not exist between the alcohol test and the thermal stability ($p < 0.01$). The conclusion is that not to use the alcohol test as an indirect predictor of the thermal stability.

3. INTRODUCCIÓN

La cadena láctea muestra en los últimos 20 años un notable crecimiento, que la señala como la de mayor dinamismo entre los países exportadores. Este proceso se sustentó en la competitividad de la fase primaria de la cadena, que produce leche a los menores precios internacionales. Con un mercado interno abastecido, el mercado regional fue soporte de un fuerte crecimiento exportador que se basó en las principales commodities lácteas y la consiguiente expansión del parque industrial hacia ese tipo de productos (OPYPA, DIEA-MGAP, INE, Junta Nacional de Leche, 2008).

Este desarrollo industrial ha determinado que el enfoque de la producción láctea se haya ido modificando, primeramente interesaba el volumen producido y la calidad higiénico-sanitaria de la leche (recuento bacteriano, células somáticas y test para la detección de inhibidores), luego se ha puesto interés en el contenido de sólidos con valor comercial, tenor graso y actualmente también en el tenor proteico (Barros, 2009).

En este nuevo esquema se tornan cada vez más relevantes las medidas de manejo y alimentación que promuevan las mejores y mayores respuestas del ganado en término de sólidos de la leche. Los grandes grupos de sólidos de leche incluyen la grasa, las proteínas, la lactosa y los minerales (Acosta, 2002).

Genéricamente, los valores promedios de grasa se ubican en 3,9%; los de proteínas totales en 3,2%, los de lactosa en 5,1%, conteniendo un valor en minerales totales de 0,9% (Amiot, 1991).

La leche es uno de los productos naturales más valiosos y es, desde hace milenios, uno de los constituyentes fundamentales de la alimentación humana y animal (Spreer, 1991). Para que la leche constituya un alimento seguro para el consumo humano, desde el punto de vista microbiológico "en los países industrializados toda leche líquida se somete a un tratamiento térmico para su higienización" (Varnam y Surtherland, 1994). Este tratamiento elimina de forma casi completa la presencia de microorganismos que pueden encontrarse en la leche cruda.

Existe una gran variedad de subproductos de la leche (leche en polvo, dulce de leche, etc.) cuya obtención implica someterla a determinados tratamientos térmicos, siendo necesario que la leche presente estabilidad al calor (termoestable). Es de gran interés a nivel industrial obtener leches termoestables a los procesos tecnológicos, ya que cuando más estables sean, mayor será la reducción en pérdidas económicas.

La estabilidad al calor de la leche se refiere a su resistencia a la coagulación a temperaturas de esterilización (Singh y Creamer, 1992).

No existe una metodología analítica estandarizada que permita medir la estabilidad al calor de la leche. Sin embargo, es aceptado definir la estabilidad térmica como el intervalo de tiempo transcurrido entre la introducción de una muestra de leche en un baño de inmersión (en aceite o glicerina a 140°C) y el comienzo de la coagulación; evidenciada ésta por la floculación, gelación o sedimentación de las proteínas (Negri y col, 2001). Ese lapso es llamado tiempo de coagulación al calor (HCT = heat coagulation time).

El mayor inconveniente de la medición del HCT es su dificultad de aplicarla en el tambo. En tal sentido, la denominada "prueba de corte de la leche al alcohol" o "prueba del alcohol" es utilizada en el tambo como metodología rápida para predecir el comportamiento térmico de la leche y definir, en consecuencia, su destino (rechazo o aceptación) (Barros y col, 2000).

La estabilidad de la leche al alcohol tiene, fundamentalmente, un sentido práctico. La formación de precipitados (coágulos) ante el agregado de un volumen de alcohol a un mismo volumen de leche es un predictor indirecto de una leche con alta contaminación bacteriana, con desarrollo de acidez, pH bajo y de inestabilidad térmica de la muestra de leche analizada (Horne y Muir, 1990). Sin embargo, en trabajos experimentales sobre el tema, realizados en Argentina, se observó que la prueba del alcohol no fue un correcto estimador del comportamiento térmico de leches de aceptable calidad higiénico-sanitaria (Negri y col, 2001; Molina y col, 2001; Negri y col, 2002), cuestionándose el uso de esta prueba para rechazar o aceptar leches ya que las mismas pueden ser inestables al alcohol, aún teniendo pH y acidez normales (Negri y col, 2002).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 IMPORTANCIA DEL SECTOR LÁCTEO EN EL MUNDO Y EN NUESTRO PAÍS

4.1.1. El mercado internacional

A nivel mundial el sector lácteo tiene gran importancia, destacándose en los últimos años un crecimiento acelerado de la demanda global de lácteos y con proyecciones de que la misma se incrementaría en promedio un 2,7% anual hasta el año 2010.

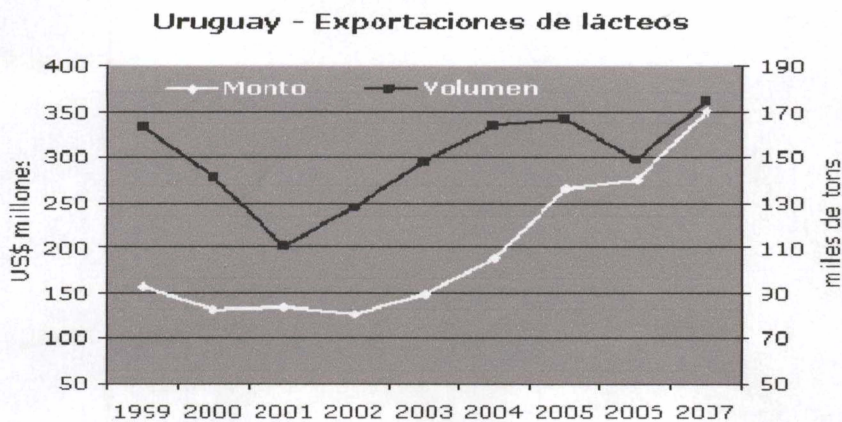
Los mayores aumentos en la producción se observan en Asia (5,5%), mientras que en Europa la estimación de crecimiento se debe a la recuperación de condiciones climáticas normales, menos adversas que en el año anterior. Se estiman incrementos para América del Sur, en los cuales se anotan incrementos para Argentina y Uruguay (Bagnato, 2008).

4.1.2 Mercado interno

Para el Uruguay el sector lácteo es hoy en día uno de los más importantes, teniendo en cuenta que en el año 2007 se exportaron 175074 toneladas de leche y subproductos, representando esta cifra un 17,4% más que el 2006. El precio promedio de las exportaciones fue de un 8,8% por encima del registrado en 2006. De los ingresos totales el 36% fue explicado por las ventas de leche en polvo, 32% a quesos y 9% a manteca. Durante 2006 estas proporciones fueron de 43%, 32% y 10%, respectivamente. La tonelada de leche en polvo descremada se vendió en promedio a US\$ 3.513, los quesos promediaron US\$/ton 4.929 y la manteca se colocó a un promedio de US\$/ton 3.065, valores en todos los casos más de 70% superiores a los obtenidos en diciembre de 2006 (Bagnato, 2008).

Los principales países importadores y que representaron esta notoria demanda fueron México (31%), Venezuela (15%), Cuba (10%), Rusia (6%) y Brasil (5%), existiendo más de 70 destinos hacia los que Uruguay exportó, se destacan mercados que han tenido una fuerte participación en las compras como Corea del Sur, con US\$ 15,3 millones, Argelia con US\$ 11,1 millones y Marruecos con US\$ 10,9 millones (Bagnato, 2008) (Figura 1)

Figura 1. Exportaciones de lácteos en el Uruguay



En el año 2008, la producción de leche remitida a las plantas de Conaprole acumulaba hasta noviembre 14% de aumento respecto al año 2007, lo que constituye un nuevo record en esta materia. Octubre fue por lejos el mes de mayor remisión de la historia. Los productos lácteos exportados por Uruguay en 2008 promedian un valor de 3740 dólares/Ton y prácticamente duplican al del año anterior (Bagnato, 2008).

4.2. LECHE

4.2.1. Concepto

La leche es un fluido biológico complejo, cuya composición y propiedades físicas varían de una especie a otra en función de las necesidades dietéticas de las crías (Varnam y Surtherland, 1994). En términos lactológicos, el concepto de leche se refiere únicamente a la leche de vaca, obtenida como materia prima (leche cruda) en las explotaciones agrícolas y que se ha de tratar en las centrales lechera. Si se trata de leche de otras especies, se ha de indicar correspondientemente (Spreer, 1991).

4.2.2. Antecedentes históricos

Históricamente el consumo regular de leche se remota a la época del mesolítico entre los años 10.000 y 8.000 a.C., en esta etapa el hombre nómada abandonó la caza como medio de subsistencia y comenzó a cultivar la tierra para alimentar a los animales que capturaba y mantenía en un cercado por ejemplo bovinos, ovinos, caprinos y camélidos (Amiot, 1991).

4.2.3. Anatomía de la glándula mamaria, producción, secreción y eyección de la leche

La leche es un líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y pH cercano a la neutralidad. Es producido por la glándula mamaria según un mecanismo fisiológico determinado (Amiot, 1991).

Desde el punto de vista anatómico, existen en realidad cuatro glándulas independientes habitualmente llamadas "cuartos" (anterior derecho, anterior izquierdo, posterior derecho y posterior izquierdo) (Alais, 1985). El tejido de esta glándula esta constituido por alvéolos, los cuales se reúnen en racimos formando los lóbulos. Éstos se comunican, por un conducto colector ramificado, con la cisterna (seno galactóforo) situada en la base de la mama. Esta cisterna desemboca en el seno del pezón por un pliegue de la mucosa. El pezón se abre al exterior mediante un delgado canal único, ocluido por un pequeño esfínter liso. El conjunto forma un reservorio de importante capacidad, estimado en unos 8 litros para la totalidad de los cuatro cuartos de una vaca lechera de tipo medio (Alais, 1985).

La leche se forma en las células secretoras del epitelio que recubre los alvéolos. Estas células están orientadas de forma que el extremo apical, está situado adyacente al lumen, mientras que el extremo basal está separado por la membrana basal de la sangre y la linfa (Varnam y Surtherland, 1994). La glándula utiliza de la sangre el 80% de la glucosa total disponible, el acetato y los aminoácidos para producir leche (Bath et al., 1982). La cantidad de leche sintetizada dependerá del flujo sanguíneo, de la concentración de precursores de la leche en el plasma y de que tan eficientemente sean captados dichos precursores por las células secretoras (Rearte, 1992)

Por los conductos sanguíneos que irrigan la ubre pueden circular unos 30.000 litros de sangre al día. El corazón de una vaca que en el máximo de su periodo de lactación produce 50 litros de leche por día, debe bombear un volumen de unos 600 litros de sangre por cada litro de leche secretada (Amiot, 1991).

La glándula mamaria efectúa la síntesis de la mayor parte de los componentes orgánicos de la leche: lactosa, materia grasa (triacilglicéridos), caseínas, beta-lactoglobulinas y alfa-lactoalbúminas, y ácido cítrico. Estas sustancias secretadas representan alrededor del 92% del extracto seco de la leche de vaca (Alais, 1985). Los otros componentes, minerales, vitaminas, enzimas y globulinas pasan directamente del torrente sanguíneo a la leche (Alais, 1985).

La secreción de la leche comienza poco después del nacimiento del ternero durando el periodo de lactación aproximadamente 300 días. La curva de lactación de leche asciende rápidamente durante las primeras semanas de lactación, alcanzado una cima alrededor de las 8 semanas. Luego desciende en forma progresiva hasta el secado. (Amiot, 1991).

El desarrollo mamario, la iniciación de la lactación y el mantenimiento de la secreción láctea dependen de complejas interacciones entre las hormonas hipofisarias, adrenales, pancreáticas, ováricas y placentarias. Al comienzo de la lactación los niveles de prolactina y STH (somatotrofina- hormona del crecimiento) son altos y los de insulina son bajos. La unión del efecto lipolítico de la STH y de la limitación de los efectos lipogénicos y antilipolíticos de la insulina, permite la intensa lipomovilización a partir del tejido adiposo. La prolactina induce una mayor síntesis de receptores insulínicos en la célula mamaria y una disminución de los mismos en el adiposito. Esto permite que la insulina manifieste su efecto lipogénico, a pesar de sus bajos niveles, casi exclusivamente en la glándula mamaria, donde también favorece la captación de glucosa y aminoácidos. La STH sería la responsable de la mayor densidad de receptores beta-adrenérgicos (lipolíticos) en el adiposito. A medida que la lactación avanza, disminuye la relación STH/insulina plasmática, por lo que el animal podrá regenerar progresivamente sus reservas grasas (Cirio y Tebot, 2000).

Con respecto a la eyección de leche la hormona interviniente es la oxitocina. El masaje de la ubre estimula vía nerviosa ascendente a la glándula pituitaria que secreta la oxitocina; aproximadamente en un minuto llega a la ubre y provoca la contracción de los alvéolos con la consiguiente expulsión de la leche acumulada hacia la cisterna de cada cuarto. Este fenómeno se llama descenso de la leche. La hormona oxitocina actúa durante los cinco a ocho minutos desde que está presente en la sangre (Amiot, 1991).

Cuando la vaca se sobresalta o siente dolor, se produce la secreción de adrenalina, hormona secretada por las glándulas adrenales, que neutraliza o contrarresta el efecto de la oxitocina y entonces la vaca "retiene" su leche, este fenómeno se da con mas frecuencia en los animales sensibles y nerviosos sometidos a stress (Amiot, 1991).

4.3. PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS

Las características físico-químicas de la leche dependen fundamentalmente de la concentración y del grado de distribución de las partículas de sus componentes. Es un sistema poli disperso, ya que sus distintos componentes se encuentran, en forma de partículas de diferentes tamaños con diferentes grados de dispersión, disueltos en agua (Spreer, 1991).

Según el tamaño de las partículas tenemos diferentes sistemas de dispersión:

a- Un sistema de partículas groseramente dispersas, estas son visibles a simple vista (por ejemplo, las proteínas coaguladas) siendo su tamaño de aproximadamente 0,1mm, este fenómeno se observa en leches anormales.

b- Un sistema de partículas finamente dispersas, las partículas son visibles utilizando microscopio, oscilando el diámetro de las partículas entre 0,5 y 100 μm , en este grupo se encuentra a los glóbulos grasos de la leche. Un glóbulo graso es una masa de triacilglicéridos envuelta en una membrana externa lipoproteica. Esta membrana es relativamente frágil y por acción de microorganismos o agitado de la leche puede romperse, provocando la dispersión de los componentes del glóbulo en el suero. En condiciones normales la grasa contenida en los glóbulos está en forma líquida, se trata de un dispersoide del tipo emulsión. La emulsión es un sistema formado por la dispersión de dos fases, es decir la mezcla íntima de dos líquidos que en circunstancias normales no son miscibles. Además, uno de los dos líquidos está disuelto en forma de pequeñas gotitas en el otro.

c- En los sistemas de dispersión coloidal o soluciones coloidales, las partículas tienen un diámetro entre 1 y 500 nm. En estos sistemas se habla ya de disoluciones verdaderas en las que las sustancias disueltas lo están en forma de iones o de moléculas aisladas. La caseína está en solución coloidal. También lo están algunas proteínas séricas, aunque la mayoría de ellas están en dispersión molecular. La lactosa y las sales de la leche se encuentran en solución verdadera (Spreer, 1991).

4.3.1. Densidad de la leche

Se define como la relación entre la masa y el volumen de un cuerpo; dependiendo de la naturaleza y de la cantidad de partículas en emulsión, en disolución coloidal o en disolución verdadera que contenga, la densidad de la leche oscilará entre 1,027 y 1,035 gramos por centímetro cúbico. Cuando se incrementa el contenido en grasa disminuye la densidad; por el contrario cuando aumentan las proteínas, la lactosa o las sales minerales se eleva la densidad (Spreer, 1991).

4.3.2. Punto de ebullición y punto de congelación

El punto de ebullición de la leche es más elevado que el del agua pura (100,2 °C) debido a que las sustancias en solución verdadera que contiene (azúcar, sales y proteínas) hacen que disminuya la tensión de vapor del líquido. Por tanto, para que la presión de vapor tenga el mismo valor que la presión exterior, se necesita una temperatura más elevada.

El punto de congelación oscila entre -0,53 y -0,55 °C. Si está por encima de -0,53°C la leche puede haber sido aguada. La congelación de la leche acaba con su estado de mezcla. Al congelarse primero el agua, aumenta la proporción de extracto seco en la parte de leche que aún no se ha congelado. Por esta razón, cuando ha terminado la congelación hay una separación de sus componentes, en la parte superior se concentra la grasa mientras que en la inferior hay una mayor concentración de proteínas y de sustancias minerales (Spreer, 1991).

4.3.3. pH de la leche

La determinación del pH incluye la concentración de hidrogeniones presentes en la solución. El valor de pH de una solución es el logaritmo decimal negativo del valor numérico de la masa de iones de hidrógeno libre que contiene esa solución (concentración

de los iones de hidrógeno molar). El pH de la leche recién ordeñada de una vaca oscila entre 6,4 y 6,7 (Spreer, 1991).

4.3.4. Potencial “redox”

Los procesos de oxidación y de reducción constituyen variaciones de carga originadas por el traspaso de electrones entre las sustancias implicadas en la reacción. Es una medida de la cantidad de energía que se libera en los procesos de cesión y de aceptación de electrones. En la leche se ve influenciado sobre todo por el metabolismo activo de los microorganismos, lo que permite relacionar la medida del potencial con el número de gérmenes que contiene la leche.

El valor del potencial redox de la leche cruda es entre +250 y +300 mili Volts (mV) (Spreer, 1991).

4.3.5. Viscosidad

Es una medida del rozamiento interno de un líquido. Su valor disminuye cuando aumenta la temperatura. Debido al frotamiento causado por la grasa en emulsión y las proteínas en suspensión, la viscosidad de la leche es aproximadamente el doble que la del agua; siendo mayor cuando coagulan las proteínas y cuanto mayor es la riqueza en grasa de la leche, el valor oscila dependiendo de su contenido de grasa, a una temperatura de 5°C entre $2,9 \times 10^{-3}$ Pa/s (leche magra) y $3,25 \times 10^{-3}$ Pa/s (leche entera) (Spreer, 1991).

4.3.6. Tensión superficial

Corresponde a la fuerza paralela a la superficie del líquido y aplicada sobre 1 cm de longitud del borde en contra de la cual hay que realizar un trabajo para aumentar la superficie del líquido; es un fenómeno de tensión entre las superficies límite que se da en la zona limitante entre una fase líquida y otra gaseosa (el aire).

El valor de la leche cruda es de 49-51 dyn/cm (Spreer, 1991).

4.3.7. Índice de refracción

Está determinado cuando se dirige un haz de luz con un determinado ángulo de un medio ópticamente más claro a otro más denso, éste se desvía al atravesar las superficies limitantes de los medios (refracción de la luz). Esta dado a una determinada temperatura y longitud de onda y es constante para cada sustancia en concreto. Este índice aumenta en las soluciones acuosas proporcionalmente a la cantidad de sustancias disueltas (Spreer, 1991).

Este principio se utiliza para la determinación de la composición (por Ej.; método Índice de refracción, NIR y otros).

4.3.8. Conductividad eléctrica

La leche tiene la capacidad de conducir la corriente eléctrica. Su conductividad específica es pequeña, siendo a 25°C de entre 4×10^{-3} y $5,5 \times 10^{-3}$ segundos por centímetros (S/cm). La conductividad depende fundamentalmente del contenido de iones de sodio y de cloro, un aumento de éstos provoca un incremento en la conductividad. Otras variables que afectan la conductividad son el contenido graso (inversamente proporcional con la

conductividad) y la mastitis (directamente proporcional con la conductividad) (Spreer, 1991).

La glándula mamaria con mastitis produce leche con una alta concentración de iones, y con elevado contenido de células somáticas (células desprendidas del epitelio y células que llegan a la glándula principalmente neutrófilos).

4.3.9 Capacidad calórica específica

El calor específico indica la cantidad de calor que es necesario para aumentar en un Kelvin la temperatura de 1 Kg. de una sustancia. El calor específico de la leche depende de la temperatura; es menor a 40 °C que a 15 °C debido a que a temperaturas bajas aún permanecen en forma cristalizada algunos ácidos grasos, lo que hace que para que se fundan se necesite un calor adicional. Es útil para poder realizar los cálculos necesarios para la determinación cuantitativa del calor en los tratamientos térmicos a los que se somete la leche (Spreer, 1991).

4.4. COMPOSICIÓN DE LA LECHE

La leche es un sistema coloidal constituido por una solución acuosa de lactosa (5%), sales (0,7%) y muchos otros elementos en estado de disolución, en donde se encuentran las proteínas (3,2%) en estado de suspensión y la materia grasa en estado de emulsión (4%). El extracto seco total es por término medio del 13,1% y el extracto seco desengrasado del 9,2% (Amiot, 1991) (Cuadro I).

Cuadro I. Composición general de la leche

Componentes mayoritarios:	
-Agua	86,9%
-Materias grasa	3,9%
-Proteínas y NNP	3,2%
-Carbohidratos	5,1%
-Sales	0,9%
Componentes minoritarios:	
-Enzimas	
-Vitaminas	
-Pigmentos (carotenos, xantofilas, riboflavinas)	
-Células diversas (células epiteliales, leucocitos, bacterias, levaduras, mohos)	
-Otros elementos (dióxido de carbono, oxígeno, nitrógeno y otros gases)	
-Sustancias extrañas	

Fuente: Amiot, 1991. (NNP= nitrógeno no proteico; % expresado por litro de leche).

4.4.1. Grasa

La grasa de la leche tiene una composición compleja. Entre sus componentes, los triacilglicéridos (o triglicéridos o triacilglicerolos) representan un 98% y se encuentran pequeñas cantidades de di- y monoglicéridos y de ácidos grasos libres. La composición de ácidos grasos (AG) de los triacilglicéridos de la grasa láctea es extremadamente compleja y se han identificado varios centenares de AG (Varnam y Surtherland, 1994).

La proporción de cada ácido graso varía de acuerdo con el estado de lactación y la dieta, y es posible manipular la proporción relativa de los principales AG modificando ésta. En condiciones normales, los ácidos grasos saturados representan el 70 % del contenido total de AG, los monoinsaturados suponen el 27 %, mientras que los dienos y trienos sólo el 3 % (Varnam y Surtherland, 1994).

Los ácidos grasos pueden ser de cadena de 4 a 20 carbonos y que serán llamados de cadena corta (C4 a C12) y cadena larga (C14 a C20). Las proporciones relativas de esas cadenas dependerán de la regulación de los mecanismos de secreción / excreción por parte de las células mamarias y del aporte sanguíneo a la glándula mamaria (Barros, 2002).

La leche también contiene lípidos complejos de gran importancia en lechería, como fosfolípidos y cerebrósidos. Asimismo la fracción grasa incluye esteroides, como el colesterol y sus precursores. El contenido de la leche en fosfolípidos es de alrededor de 0,03% (1% de los lípidos totales de la leche) y el contenido en cerebrósidos no supera el 0,002% (Amiot, 1991). Los ácidos grasos que forman parte de los fosfolípidos y de los cerebrósidos son ácidos insaturados de cadena larga lo que, unido a la presencia del grupo fosfórico, les hace muy sensible a la oxidación (Amiot, 1991).

La materia grasa se encuentra en la leche en forma de glóbulos esféricos suspendidos en la fase acuosa del suero. El diámetro de esos glóbulos varía normalmente entre 2 y 10 micras, en el tamaño influyen la especie, la raza y el período de lactación.

La grasa es el componente más variable y es el que más influido está por la alimentación (Hoden y col, 1990). Los ácidos grasos libres presentes en la leche cruda son sustrato de las reacciones más importantes de pérdida de la estabilidad de la grasa láctea (Páez y col, 2001). Provocando el fenómeno denominado lipólisis espontánea produciéndose un enranciamiento de la grasa y cambio organoléptico para el consumidor.

La integridad de la membrana de los glóbulos grasos es una de las variables que pueden afectar la estabilidad de la leche.

Los AG de la grasa láctea se dividen en tres grupos según su origen:

- AG obtenidos sólo a través de síntesis *denovo* en la glándula mamaria bovina (4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 14:1).
- AG obtenidos tanto a partir de síntesis *denovo* en la glándula mamaria bovina como a partir de la sangre (16:0, 16:1)
- AG obtenidos sólo a partir del aporte sanguíneo (18:0, 18:1, 18:2, 18:3). La conversión de 18:0 a 18:1 se produce en la glándula mamaria por acción de una desaturasa específica (Varnam y Surtherland, 1994).

El incremento de AG que provienen de la alimentación y alcanzan la glándula mamaria a través del torrente sanguíneo disminuyen la cantidad de los sintetizados *denovo*, y de esa forma se altera la composición de grasa láctea (Varnam y Surtherland, 1994). Si la alimentación es en base pastoril se observa una mayor proporción de AG de cadena larga no saturados en decremento de los de cadena corta preferentemente saturados (Rearte, 1992).

Los precursores de la grasa de la leche tienen un origen en metabolitos circulantes en sangre. Algunos de éstos son absorbidos por la pared ruminal (acetato y β -hidroxi-butilato), otros provienen del tejido adiposo o del hígado (ácidos grasos no esterificados llamados AGNE (NEFA en inglés), triacilglicéridos y glicerol). Todos ellos son precursores bioquímicos que utilizará la célula secretoria mamaria para transformarlos en grasa neutra (Barros, 2009).

4.4.2. Proteínas

Las proteínas son los elementos constitutivos esenciales de toda célula viviente y tienen una gran importancia en la leche y los productos lácteos (Amiot, 1991). Químicamente las proteínas son polímeros de aminoácidos, siendo estas sustancias orgánicas nitrogenadas de carácter anfótero, ya que poseen a la vez un grupo carboxílico (ácido) y un grupo amino (básico) (Amiot, 1991).

Es de interés separar los diferentes compuestos nitrogenados de la leche. Esta composición incluye las caseínas (80%) llamadas industrialmente las proteínas “verdaderas”, pero también la albúmina (origen lácteo y sanguíneo), las globulinas (sanguíneas), enzimas, aminoácidos, péptidos, y urea. A los efectos productivos debería considerarse diferencialmente como: las caseínas, las proteínas del suero de leche y el nitrógeno no proteico (Barros, 2009).

Las proteínas son sintetizadas por la glándula mamaria a partir de aminoácidos precursores y su secreción es regulada por la célula mamaria. Esa célula sintetiza las diferentes proteínas en sus ribosomas y en el retículo endoplásmico rugoso, mediante una codificación genética.

Las diferentes fracciones de las proteínas tienen significación en la fabricación de derivados lácteos, por lo cual su determinación y cuantificación es de interés industrial. Por un lado, por su utilización en subproductos y por otro, para evitar pagar como proteínas a sustancias nitrogenadas no proteicas además de la detección de adulteraciones o fraudes (Barros, 2009).

4.4.2.1. Caseínas

Las caseínas de la leche son proteínas globulares que se encuentran en forma de fosfo-caseinato cálcico (Amiot, 1991; Varnam y Surtherland, 1994). Ellas son las fracciones de caseínas alfa s1, alfa s2, beta, y kappa. Estas, se sintetizan en la glándula mamaria. Existe un fragmento denominado caseína gamma que se origina en la proteólisis de la caseína beta, por la acción de las proteasas nativas de la leche, principalmente plasmina, o de la actividad proteolítica de las bacterias. Las proporciones relativas de las caseínas alfa, beta, y kappa están sujetas a variaciones genéticas y pueden existir diferencias significativas en la composición de la caseína de diferentes vacas. Sin embargo, la composición global de la caseína de la leche de una explotación, varía muy poco en cualquier fase de la lactación (Amiot, 1991; Varnam y Surtherland, 1994).

Se conocen variaciones de algunas proteínas en los bovinos, por ejemplo, los alelos A y B de las caseínas kappa. Estas y las beta lactoglobulinas presentan interés desde el punto de vista industrial por el rendimiento y por las características físicas que le otorgan a diferentes subproductos de quesería o de cremería (Barros, 2009).

4.4.2.2. Proteínas del lactosuero

Las proteínas del lactosuero comprenden: alfa-lactoalbúmina (LA), beta-lactoglobulina (LG), albúmina sérica bovina (BSA), lactoglobulinas o inmunoglobulinas séricas de cadena pesada (Ig-h), y lactoferrina (Lf) entre otras (Varnam y Surtherland, 1994; Barros, 2009).

Son proteínas termoestables y se desnaturalizan por el calor a temperaturas superiores a los tratamientos de pasteurización. Cuantitativamente, representan el 20% de las proteínas totales. En la leche normal, el 80% de ellas son lactoalbúminas a diferencia del calostro donde las mayoritarias son lactoglobulinas. En el aspecto nutritivo, estas proteínas son más ricas que las caseínas en aminoácidos esenciales (lisina, metionina y

triptófano). No quedan retenidas en los quesos normales ya que no coagulan por acción del cuajo. Sin embargo, hay algunos quesos como la Ricota y Myusot que se fabrican con leche cuyas proteínas solubles han sido previamente desestabilizadas por el calor. La industria lechera tiene un gran interés en recuperar esas proteínas, utilizando diversos métodos como la ultra filtración (Amiot, 1991).

Otra proteína del lactosuero con gran importancia es la lactoferrina, esta proteína tiene como función intervenir en la introducción del hierro en la leche a partir de la sangre. La presencia de hierro en la molécula hace que estas proteínas sean más resistentes a los tratamientos desnaturizantes; y se ha comprobado una actividad bacteriostática debida al sistema "bacteriostasa ferripriva" así como actividad antitóxica (Alais, 1985; Barros y col, 2000).

4.4.2.3. Componentes nitrogenados no proteicos

Se tratan de sustancias de moléculas pequeñas, no representan más que una pequeña parte del nitrógeno total del 5 al 7 % como termino medio. Los componentes nitrogenados no proteicos son numerosos, el más abundante es un producto de desecho, la urea (0,25g/L) con variaciones importantes, en relación con el nivel de aportes nitrogenados en la ración. Existiendo una estrecha correlación entre el contenido de urea de la leche y el de la sangre. (Alais, 1985).

Otras sustancias nitrogenadas son la creatina, creatinina, amoníaco, ácido úrico, aminoácidos libres (ác. glutámico, glicina, lisina, valina, ácido aspártico, arginina y taurina) y vitaminas del complejo B. Es por esto que la fracción de nitrógeno no proteico tiene gran importancia en la nutrición de las bacterias (Alais, 1985).

4.4.3. Glúcidos

Los glúcidos de la leche están compuestos esencialmente por lactosa y algunos otros azúcares en pequeñas cantidades, como la glucosa (0,1%) y la galactosa. La lactosa es el componente cuantitativamente más importante de los sólidos no grasos, junto con los minerales forman parte de los constituyentes osmóticamente más activos, por lo que determinan el volumen de leche producido y por eso su concentración en la leche es relativamente constante (Oldham y Sutton, 1983). La leche contiene alrededor de un 5%, la leche en polvo desnatada contiene un 52% y el lactosuero en polvo un 70% de lactosa. Es un disacárido formado por Alfa-glucosa o Beta-glucosa y Beta-galactosa. Puede encontrarse en dos formas isómericas, alfa y beta, estas dos formas tienen propiedades muy diferentes de solubilidad, cristalización y de rotación. En la leche normal está en solución en las dos formas alfa y beta en una relación concreta que varía con la temperatura, a temperaturas inferiores a 93°C la forma beta es más soluble que la alfa, el equilibrio a 0°C es 1 alfa: 1,65 beta a 25°C es 1 alfa: 1,58 beta (Amiot, 1991).

La lactosa es el único glúcido libre que existe en cantidad importante en todas las leches; es también el componente más abundante, el más simple y el más constante en proporción (Alais, 1985).

Desde el punto de vista biológico, la lactosa se distingue de los azúcares comunes, por su estabilidad en el tracto digestivo y además de ser un glúcido energético (para los seres humanos y para numerosos animales) es la única fuente de galactosa (Alais, 1985).

Es un azúcar relativamente poco soluble si se compara con el azúcar de mesa, aumentando la misma con la temperatura. Es un importante agente de energía en la dieta y puede facilitar la absorción de calcio (Varnam y Surtherland, 1994). Su uso como fuente de energía está limitado por el relativamente alto de personas intolerantes a la lactosa por

falta de lactasa, como resultado de esto, la prevalencia a nivel mundial varía ampliamente dependiendo principalmente del origen étnico. Los grupos mas afectados son los negros, africanos, indios, americanos y asiáticos, contrastando con la baja prevalencia que presentan los norteamericanos caucásicos y los europeos escandinavicos (Suecos 1%, Ingleses 6%, Rusos 15%, Españoles 15%, Árabes 80%, Esquimales 83%, Mexicanos 83%, Africanos 83%, Tailandeses 98%) (www.wikipedia.org). El grado de deficiencia de lactasa, y por lo tanto los síntomas, varían desde la incapacidad para digerir incluso pequeñas cantidades de productos lácticos hasta ligeras molestias gastrointestinales después de consumir grandes cantidades de alimento que contienen lactosa (Varnam y Surtherland, 1994).

A la acción microbiana la lactosa es el componente más lábil, la leche puede contener bacterias de diversos tipos, que transforman este glúcido en ácido láctico y en otros ácidos alifáticos. Transformación a veces nociva y a veces muy útil (Alais, 1985).

A pesar de ser constante, el factor más importante de variación de la lactosa es la infección de la mama, que reduce la secreción de lactosa. Debido a la regulación osmótica, el contenido en lactosa de la leche es inversamente proporcional al contenido en sales (Alais, 1985).

4.4.4. Minerales

Las materias minerales se encuentran en todas las leches en una proporción que varía de 3 a 12 gr/lts. Se trata, por lo tanto, de una fracción pequeña en relación a las antes nombradas (lípidos, proteínas y glúcidos) (Varnam y Surtherland, 1994).

Los minerales más importantes en la leche son: calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K), fósforo (P), Selenio (S) y sodio (Na), éstos derivan del torrente sanguíneo a través de mecanismos de transporte activos y pasivos (Bath et al, 1982; Rearte, 1992; Bagnato y col, 2007) (Cuadro II).

Todos los minerales se distribuyen en una fase soluble y una fase coloidal. La distribución del calcio, citrato, magnesio y fosfato entre las fases solubles, coloidal y sus interacciones con las proteínas de la leche tienen importantes consecuencias para la estabilidad de la leche y los productos lácteos (Varnam y Surtherland, 1994).

Cuadro II. Composición de la leche de vaca en minerales

Minerales	Valores extremos en leche de vaca (gr/litro)	Lactosuero (gr/litro)	Sangre (gr/litro)
Potasio	1.2-1.8	1.68	0.2
Sodio	0.35-1.1	0.53	3.3
Calcio	0.9-1.6	0.48	0.1
Magnesio	0	0.09	0.25
Fósforo	0.75-1.25	0.53	0.05
Cloro	0.7-1.15	1.17	3.5

Fuente: (Alais, 1985).

Los contenidos en fósforo y calcio de la leche en una especie animal determinada son tanto más elevados cuanto más rápido es la velocidad de crecimiento del animal joven, aunque esta relación no es fija. La alimentación de la hembra durante la lactación influye poco en el contenido en minerales de la leche, incluso cuando se produce una carencia,

cosa frecuente para el fósforo y el calcio en las grandes productoras, esta carencia influye a la larga en la producción, que se reduce, pero no en la composición mineral de la leche. En el curso de la lactación el elemento más variable es el magnesio (Alais, 1985). Las leches de principio y final del período de lactación contienen menor cantidad de ácido cítrico y de potasio pero más cloro, sodio, calcio, y magnesio que las leches en plena lactación. El contenido en potasio desciende regularmente hacia el final de la lactación, las variaciones de calcio y fósforo son menos acusadas. El contenido en sodio se eleva al final de la lactación; es un hecho bien conocido que los contenidos en sodio y potasio evolucionan en sentido inverso (Alais, 1985). También se comportan inversamente el contenido en lactosa y la concentración de Na, K, Cl (Bath et al, 1982).

4.4.5. Enzimas

Las enzimas son biocatalizadores secretados por las células vivas. Químicamente son proteínas de distinto punto isoeléctrico, peso molecular y con diferente vulnerabilidad frente a los agentes desnaturizantes (calor, sales, alcohol, etc.). Tienen propiedades específicas para catalizar determinadas reacciones de descomposición, de síntesis o de transformación, teniendo cada una de ellas una temperatura y un pH óptimo de actuación a los cuales sus actividad es máxima (Amiot, 1991).

La leche contiene un gran número de enzimas (aproximadamente 50). Aunque se encuentran en pequeñas cantidades, algunas tienen una considerable importancia en la estabilidad de la leche durante el almacenamiento (Varnam y Surtherland, 1994).

Las enzimas de mayor relevancia son: proteinasas, lipasas, oxidorreductasas y fosfatasa entre otras (Varnam y Surtherland, 1994).

La importancia de las enzimas radica en que:

- Algunas son factores de degradación que tienen importancia tecnológica: lipasa-factor de rancidez; las proteasas que provocan la hidrólisis de las caseínas.
- Su sensibilidad al calor permite el control del calentamiento de la leche en la zona de las temperaturas de pasteurización.
- La cantidad de enzimas depende, para algunas de ellas del número de linfocitos o bacterias, de esta manera se puede obtener datos sobre calidad higiénica de la leche.
- Algunas tienen actividad bactericida y constituyen por eso una protección, desde luego limitada, de la leche, es el caso de las lactoperoxidasas y lisozimas (Alais, 1985).

4.4.6. Vitaminas

Son pequeñas moléculas de estructura variada, a veces muy complejas. Tienen una estrecha relación con las enzimas, pues la mayor parte de ellas actúan como coenzimas y están asociadas a una apoenzima proteica en actividad biocatalítica.

La leche es una fuente de vitaminas liposolubles, A (en forma del precursor beta-caroteno), D, E y K y de vitaminas hidrosolubles C, B1, B2, B6, B12, ácido pantoténico, niacina, biotina y ácido fólico (Varnam y Surtherland, 1994).

Las vitaminas liposolubles están asociadas a la materia grasa; por esto se encuentran en la nata y mantequilla. Su contenido obedece a la influencia de factores exógenos: alimentación y radiaciones solares, por lo tanto son muy variables. Las hidrosolubles se encuentran en la fase acuosa de la leche y lactosuero. La riqueza de la leche en estas vitaminas depende poco de las influencias exteriores, por ello su contenido varía relativamente poco (Alais, 1985).

Las vitaminas del complejo B proceden de los forrajes solamente en parte, su origen principal se encuentra en la biosíntesis de las bacterias del rumen. Pero como el

metabolismo microbiano en el rumen esta condicionado por la naturaleza de los glúcidos ingeridos, la alimentación tiene por lo menos una influencia sobre la cantidad de vitaminas que pasan a la leche (Alais, 1985).

4.5. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE.

Entre los factores que afectan la composición de la leche se encuentran los factores genéticos, la etapa de la lactancia, la edad del animal, el estado sanitario y el ambiente, cuyo componente más importante es la alimentación.

Tradicionalmente la bibliografía reconoce un 55 a un 60% de la variación observada a factores genéticos (razas y líneas genéticas dentro de una misma raza, etc.) y un 40 a 45% a factores ambientales, donde la alimentación y el manejo son los dominantes (Acosta, 2002).

Los factores se pueden agrupar en:

- Fisiológicos
- Alimentarios
- Climáticos
- Genéticos
- Otros

Uno de los aspectos más sorprendentes de la producción lechera en la vaca está representado por las fluctuaciones diarias, que se manifiestan aún cuando todas las condiciones aparecen constantes. Esta fluctuación se refiere, sobre todo, al contenido de materia grasa; las diferencias entre días sucesivos son del 7 al 8% pero también pueden variar del 5 al 20% (Alais, 1985).

En lo que se refiere a la cantidad de leche producida, la diferencias diarias son muy pequeñas, del 5 al 6% como promedio y para las materias nitrogenadas y la lactosa son mucho más reducidas, alrededor del 2,5% (Alais, 1985).

4.5.1. Factores fisiológicos

Normalmente la producción de leche aumenta desde el parto hasta los 35 días descendiendo a continuación a un ritmo regular de aproximadamente el 2,5% semanal, hasta el final de la lactación (McDonald y col, 1993).

El ciclo de lactación de una vaca no se reproduce de manera invariable durante toda la vida del animal. La producción de leche aumenta hasta la quinta lactación y a continuación se mantiene o decrece lentamente según los individuos, después de la 11ª suele observarse un brusco descenso (Alais, 1985).

Durante la lactación se observa variaciones de la composición de la leche. En el período de mayor producción la leche obtenida es de inferior calidad, y la concentración de grasas y sólidos no grasos son bajos, mejorando lentamente hasta los tres últimos meses de lactación (McDonald y col, 1993).

Es preciso un determinado tiempo tras el parto (20 a 25 días) para que el animal se encuentre en plena capacidad de producción de leche, por otro lado la producción de materias nitrogenadas alcanza inmediatamente su valor máximo. Para la caseína y las materias grasas el máximo se alcanza el décimo día de lactación (Alais, 1985).

La producción de grasa luego del parto y en las primeras semanas de lactación coincide con una gran lipomovilización, a medida que la lactación avanza, la producción de grasa disminuye en forma paulatina al igual que la lipomovilización (Cirio y Tebot, 2000).

Con respecto a la edad del animal, a medida que aumenta la edad de la vaca la cantidad de leche producida disminuye y se altera su composición. La regresión de los contenidos en sólidos no grasos sobre la edad es lineal, el descenso de lactosa y proteína es casi al mismo ritmo. El contenido de grasa es relativamente constante las primeras cuatro lactancias descendiendo luego al aumentar la edad (McDonald y col, 1993).

4.5.2. Factores alimentarios

En Uruguay los sistemas de producción de leche se basan en el pastoreo directo de pasturas de gramíneas y leguminosas, anuales y perennes, sembradas puras o en mezcla. Si bien las vacas pastorean durante todo el año, la disponibilidad de forraje durante otoño e invierno disminuye debido a la menor tasa de crecimiento de las pasturas en esas estaciones, y porque en muchos casos las pasturas anuales invernales aun no se han sembrado (Ernst, 2004).

Debido a que los rumiantes poseen un sistema digestivo altamente especializado, con alta capacidad de almacenamiento y mezclado, permite que los microorganismos actúen de forma correcta sobre la pastura dando como resultado la síntesis de compuestos que se clasificarán en: glucogénicos (ácido propiónico), cetogénicos (ácido acético y butírico) y aminogénicos (proteínas microbiana) y otros que no tienen función en el animal por ejemplo metano, el cual es eliminado en forma de gas (Chilibroste, 2002).

La productividad de un animal depende en un 70% de la cantidad de alimento que pueda consumir y en menor proporción de la eficiencia con que digiera y metabolice estos nutrientes (Chilibroste, 2002).

4.5.2.1. Efecto del nivel de aporte energético de la ración

Generalmente el macro nutriente más limitante y por lo tanto más suministrado por la vía del uso de concentrados es la energía. Aumentar la densidad energética de una dieta es en términos simples aumentar la concentración de Carbohidratos No Estructurales (CNE). Dietas predominantemente pastoriles y de forrajes de digestibilidades medias suelen tener contenidos de CNE del orden del 20%, siendo el rango razonable entre 20 y 45%. El manejo de este concepto, (CNE) pone de manifiesto el potencial de respuesta que tiene la calidad del forraje. Niveles razonables de CNE del orden del 30 a 35% pueden alcanzarse con relaciones Forraje/Concentrado 55/45 en el caso de forrajes bastos y de calidad media a baja o con relaciones 70/30 en el caso de forrajes de muy alta calidad (Acosta, 2002). Un adecuado balance de CNE en la dieta suele resultar en un incremento de los tenores de proteína y de grasa en la leche, en tanto que la utilización excesiva de fuentes de CNE suele provocar disminución de grasa y aumento de proteína (Acosta, 2002).

Una disminución de corta duración del nivel energético provoca una caída en la producción lechera, a la vez que aumenta la concentración de grasa. La composición en ácidos grasos se modifica, aumentando la proporción de ácidos grasos de cadena larga, indicando que el animal acude a sus reservas (Luquet, 1991).

Los efectos de la suplementación con concentrados sobre la composición de la leche, dependerán de la cantidad suplementada, del tipo de concentrado utilizado, de la forma de suministro y de las características de la dieta a suplementar (Rearte, 1992).

La suplementación con granos afectará la composición de la leche principalmente su tenor graso, cuando se suministre niveles superiores a 40% de la dieta total (Visser, 1984).

A medida que aumentan los niveles de concentrados en la dieta, baja la relación forraje/concentrado, afectándose la fermentación ruminal. Los efectos son principalmente,

una disminución del pH en el líquido ruminal y un cambio en el tipo de fermentación, favoreciéndose la producción de ácido propiónico en detrimento de los ácidos acético y butírico dado que estos son precursores de la grasa butirosa, estaría explicando la disminución del tenor graso en la leche cuando se suplemente con alta cantidad de concentrado (Luquet, 1991; Rearte, 1992; Davis, 1993).

El aumento de Ácido propiónico en el rumen o almidón en el duodeno, provoca un aumento de insulina en el plasma. El incremento de esta hormona reducirá la lipólisis y aumentará la lipogénesis en el tejido adiposo con la consecuente caída en la síntesis de Grasa butirosa (GB), debido a una reducción en la disponibilidad de los precursores de GB como son el acetato y el beta-hidroxibutirato endógeno y los ácidos grasos circulantes en el plasma.

Altos niveles de granos de endosperma muy harinoso, suele provocar caídas de 0,1% o 0,2% en el contenido de grasa, y aumentos de 0,2 a 0,3 unidades en el contenido de proteínas lácteas. Adicionalmente, el tipo de grano, el procesado de los granos y/o de los concentrados pueden influir en el tenor de sólidos de la leche. La reducción en el tamaño de partículas en los granos suele aumentar la digestibilidad total del grano y la digestibilidad en rumen en particular, con tendencia a aumentar el tenor proteico de la leche y reducción en su tenor graso (Acosta, 2002).

En lo que hace al tenor proteico de la leche se han obtenido respuestas importantes con el suministro de grandes cantidades de concentrado cuando la base de esto lo constituye el maíz (Yousef et al, 1970). Trabajos realizados por Soutton, et al (1980), confirman la hipótesis de que altas concentraciones de propiónico en el rumen favorecen la síntesis de proteína en la leche (Rook y Thomas, 1985). Una alta proporción de propionato favorecería la producción de glucosa en el hígado a partir de dicho metabolito, disminuyendo la glucogénesis a partir de aminoácidos, quedando estos disponibles en mayor cantidad para ser utilizados en la glándula mamaria en la síntesis de proteína de la leche. El aumento en la síntesis de glucosa y la disponibilidad de aminoácidos favorecen también la síntesis de lactosa con el consiguiente aumento en la producción de leche (Annison, 1983).

La respuesta a la suplementación en nuestros sistemas pastoriles en términos de contenido proteico de la leche, dependerá de la cantidad y calidad de la pastura disponible para los animales. Cuando esta no es limitante, la suplementación con concentrados provocará altos niveles de sustitución sin que se mejore el plano nutricional de las vacas, no obteniéndose en consecuencia respuesta productiva. En el caso contrario, si la disponibilidad de pastura es limitante o el forraje ofrecido no es de alta calidad, los animales estarán en un cuadro de subnutrición energética, lo que hará que el suministro de granos mejore no solo la producción de leche sino también su contenido proteico (Rook y Thomas, 1985).

4.5.2.2. Efecto de los aportes de materias nitrogenadas

Los microorganismos del rumen presentan gran importancia en el origen de las proteínas, tienen del 20 al 60% de proteína cruda (PC) de su materia seca; el promedio de PC se divide en bacterias (50%) y protozoarios (50%). El nitrógeno que utilizan los microorganismos proviene de: proteína de la dieta, nitrógeno no proteico (NNP) y nitrógeno reciclado por el rumen para su reutilización. El NNP es inútil en exceso y puede ser negativo pues reduce o incrementa las pérdidas de energía (Owens y Zinn, 1988). La

proteína que llega al intestino delgado es de un 40% a un 60% de origen bacteriano, siendo el resto proteína no degradable en el rumen (Luquet, 1991).

En general el nivel de proteína cruda de la dieta afecta más a la producción de leche (volumen) que al tenor proteico de la leche, excepto con niveles muy limitados (bajos) de proteína en dieta que terminan deprimiendo el tenor proteico de la leche por reducción de la digestibilidad y del consumo total de alimentos por parte del animal (Acosta, 2002; Barros, 2009).

La suplementación proteica no tiene efectos definidos en la concentración de proteína, ni sobre la grasa de la leche (Luquet, 1991). Se ha visto que déficit severos en el consumo de proteínas pueden provocar una reducción en la producción de este componente en la leche, pero aumentar sus niveles por encima de los recomendados tiene poco o ningún efecto en su concentración (Bath et al, 1982; Sutton y col, 1980; Rearte, 1992).

La regulación de la secreción por la glándula mamaria influye en que la composición de las proteínas permanece relativamente constante, a pesar de que se incremente el consumo de proteínas por la dieta. El incremento de la proteína total de la leche en respuesta al aporte de la dieta se hará fundamentalmente sobre la base del aumento del nitrógeno no proteico (Barros, 2009).

La urea es la fuente de NNP más empleada comúnmente debido a su bajo costo, disponibilidad y empleo histórico (Bagnato y col, 2007). El amoníaco producido a partir de NNP no puede ser convertido en proteína microbiana a menos que disponga, simultáneamente, de cadenas carbonadas y una fuente de energía. Los carbohidratos (CH) de la ración cumplen esta función. Sin embargo, la forma en que lo hacen los diferentes CH varía ampliamente. La celulosa es el peor CH para este propósito y el almidón parece ser el más idóneo (Bagnato y col, 2007). Parece que un factor crucial es la velocidad con que los CH liberan energía. Si esta es demasiado lenta, como ocurre con la celulosa, o demasiado rápida como en el caso de la glucosa, el amoníaco es entonces ineficientemente convertido en proteína microbiana. Por lo tanto parece que la conversión de NNP a proteína sería máxima en el caso de un compuesto que se convirtiese a amoníaco a un ritmo similar al que se metaboliza la fuente de CH utilizada (Bagnato y col, 2007).

El nitrógeno que no forma proteína microbiana, pasara por vía sanguínea a la glándula mamaria y directamente a la leche, existiendo una fuerte correlación entre las concentraciones en sangre y en leche. Este nitrógeno no será pagado al productor en el sistema de pago por proteína verdadera (Barros, 2009)

La cantidad de nitrógeno no proteico en la leche esta relacionado positivamente con el aporte nitrogenado y negativamente con el aporte de energía (Gordon y Forbes, 1970). Mientras se mantiene un equilibrio entre estos, no se observan modificaciones en la composición de los CN de la leche, en caso contrario el metabolismo se modifica. Con un desequilibrio neto a favor de los CN no se modifica la concentración de CN totales de la leche, pero el porcentaje de CN no proteicos aumenta, en detrimento de las materias nitrogenadas proteicas y en particular de las caseínas.

Cuando el desequilibrio neto es a favor de los aportes energéticos no se modifica la cantidad de materias nitrogenadas totales de la leche, pero si se modifica el porcentaje de CN no proteicos, que disminuye en tanto que el de sustancias nitrogenadas proteicas aumenta, en particular las caseínas (Luquet, 1991).

La población microbiana del rumen tiene la capacidad de sintetizar todos los aminoácidos (AA) esenciales; este proceso de síntesis microbiana esta influido principalmente por la concentración de NNP en el liquido ruminal y por la presencia de AA que pueden actuar como estimulantes de la síntesis (Luquet, 1991). Solo durante los periodos de alta

producción el aporte de algún AA desde el intestino puede hacerse insuficiente (caso de la metionina durante la lactación) y volverse así un factor limitante para la síntesis proteica (Cirio y Tebot, 2000). En la práctica nutricional corriente la metionina y la lisina serían los factores más aceptados como limitantes en la secreción láctea (Barros, 2009).

4.5.2.3. Efecto del nivel de aportes de materias grasas

Las grasas están presentes en pequeñas cantidades (menos de 50 g/kg MS) en la mayoría de los alimentos naturales disponibles para la alimentación animal (Doreau y Chilliard, 1997). El contenido total de grasa en forrajes frescos se encuentra generalmente entre el 3% y 8% de la MS (Harfoot, 1981). Del total de grasa aproximadamente 40-50% son ácidos grasos (AG), principalmente galactolípidos, fosfolípidos de membrana celular, pigmentos tales como clorofila (Palmquist y Jenkins, 1980; Van Soest, 1994). De estos la mayoría son altamente insaturados (promedio 70-90%), con una gran cantidad de linoleico y linolénico.

La adición de lípidos a la dieta causa una disminución del tenor proteico de la leche, mientras que el efecto sobre la grasa es variable, dependiendo del tipo de lípidos utilizados (Doreau y Chilliard, 1997). Se distinguen tres etapas en la digestión ruminal de los lípidos: hidrólisis, biohidrogenación y saponificación. Las distintas formas lipídicas van a ser casi totalmente hidrolizadas (más del 95%) por hidrolasas bacterianas. A partir de los triacilglicéridos (TAG) se obtienen glicerol y ácidos grasos libres (AGL), conjuntamente con cierta cantidad de galactosa y alcoholes aminados. Una vez separados del glicerol, los AG insaturados van a sufrir una hidrogenación muy importante y rápida. La biohidrogenación transforma los AG insaturados en saturados (principalmente ácido esteárico) y en trans-ímeros de AG monoinsaturados (Barros, 2006, Cirio y Tebot, 2000).

Debido al proceso de biohidrogenación, la composición de los AG que abandonan el rumen es muy diferente de la composición de los AG de la dieta. Los porcentajes de biohidrogenación de los ácidos linoleicos y linolénico son de 80% y 92% respectivamente (Doreau y Ferlay, 1994). Aparentemente no existiría una relación entre el porcentaje de hidrogenación y el total de AG o los AG individuales ingeridos. El alcance de la biohidrogenación es solamente un poco más bajo para lípidos de forrajes que para aceites libres (Hernández, A, Roura, N, Valentín, H, 2008).

Todos los casos de hidrogenación más bajos que 60 y 70% para ácidos linoleico y linolénico, respectivamente, corresponden a dietas conteniendo más de 70% de concentrados. Una alta ingesta de concentrados es el principal factor capaz de reducir la biohidrogenación. Esto coincide con la inhibición de la lipólisis por un bajo pH ruminal. Esto puede suponer por lo tanto, que la limitación de la lipólisis es causa de la reducción de la biohidrogenación. A mayor grado de insaturación de los AG se produce una más extensa biohidrogenación en el rumen. Aún algunas fuentes grasas parecen ser más resistentes a los cambios ruminales que otras. El glicerol es transformado por las bacterias en ácido propiónico, la galactosa en ácido acético y ácido butírico, y los alcoholes aminados son metabolizados hasta amoníaco y ácidos grasos volátiles (AGV). Salvo los AG de cadena media y larga, los demás productos terminales son absorbidos por la pared ruminal.

Los AG pueden ser saturados (mirístico, palmítico y esteárico) o insaturados dentro de los cuales se encuentran los monoinsaturados (oleico, C18:1) y los poliinsaturados con enlaces dobles (linoleico C18:2, araquidónico C20:4) o múltiples: alfa-linolénico (C18:3), eicosapentanoico C20:5 (EPA) y docosahexanoico C22:6 (DHA) (Barros, 2006).

Estos ácidos grasos pueden ser proporcionados solamente por la dieta ya que no pueden ser sintetizados *denovo* en glándula mamaria (Mattos et al, 2004).

Los AG insaturados se agrupan en familias, de acuerdo con la ubicación de sus dobles enlaces en la cadena carbonada formándose así familias omega (O). En la familia "O-3" todos sus miembros poseen el primer doble enlace en la posición 3 respecto al grupo metilo terminal, mientras que en la familia "O-6" el primer doble enlace aparece en la posición 6 (Domínguez y Grau, 2003). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que integran la familia O-3 son el ácido α -linolénico (C18:3) y sus metabolitos EPA (C20:5) y DHA (C22:6); en tanto los integrantes de la familia O-6 son, el ácido linoleico (C18:2) y sus metabolitos ácido-linoleico (C18:3) y ácido araquidónico (C20:4) (Domínguez y Grau, 2003). El alcance de la biohidrogenación es sensible al pH del medio. Factores que influyen el pH ruminal tales como las fuentes de forraje, tamaño de partícula, manejo alimentario, buffers de la dieta puede influenciar la biohidrogenación de los PUFA.

El aporte en cantidad y calidad de grasa en la dieta tiene un efecto directo sobre la fermentación ruminal, provocando por una parte la modificación en la ingesta por el efecto del sentido de saciedad en el animal y por otro por la modificación de las fermentaciones ruminales con modificaciones de la flora celulolítica. Los microorganismos ruminales crecen en forma diferencial variando las concentraciones de ácido propiónico, acético y butírico que inducen a una desviación en la formación de los cuerpos cetónicos, que son los precursores que utilizarán los mamocitos para la síntesis de ácidos grasos no esterificados. Las variaciones de pH del rumen también influyen sobre la variación de la concentración relativa de los ácidos grasos volátiles, que serán absorbidos por la pared ruminal y que serán distribuidos por vía sanguínea, afectando directamente la formación de grasa por el déficit en el aporte de cuerpos cetónicos (acetoacetato y β -hidroxibutirato) por la desviación de su metabolismo (Barros, 2009).

Las raciones ricas en ácidos grasos de más átomos de carbono que el palmítico, suelen incrementar las cantidades de dichos ácidos en la grasa láctea, a expensas de los ácidos C18. Las grasas de la ración ricas en ácidos saturados e insaturados, determinan una mayor producción de los ácidos oleico y esteárico, con descensos simultáneos en los ácidos de cadenas más cortas, especialmente palmítico. La secreción de los ácidos linoleico y linolénico no se afecta debido a la intensa hidrogenación que tiene lugar en el rumen. Existen ciertas indicaciones de que los ácidos poliinsaturados C18 pueden afectar la relación acetato: propionato en el rumen (Palmquist y col, 1993).

Los efectos negativos de la grasa insaturada sobre el contenido y la producción de grasa de la leche, podrían ser explicados a través de dos teorías. Una sugiere que la presencia de grasa insaturada no protegida, podría reducir la grasa de la leche debido a sus efectos a nivel ruminal, sobre la relación de AGV y la síntesis microbiana de ácidos grasos. La otra, alude a efectos posruminales, fundamentalmente a una reducción en la absorción de AG del plasma por la glándula mamaria, a una inhibición de la lipasa lipoproteína y a descensos en la actividad de la acetil-CoA carboxilasa, enzima clave en el proceso de síntesis *de novo* que ocurre en ese órgano (Palmquist y col, 1993).

La suplementación grasa afecta el porcentaje de grasa en la leche y la composición de diferentes maneras. El consumo de grasa puede tener efectos negativos en la digestión de la fibra en el rumen y disminuir la producción de ácido acético y butírico (precursores de AG de cadena cortas y medias en leche), afectando la síntesis *de novo* en la glándula mamaria. Cuando la grasa es incluida en la ración la directa incorporación de los AG de cadena larga en los TAG por la glándula mamaria es incrementada (Palmquist y Jenkins, 1980).

Los mayores y mejores efectos en la utilización de suplementos con grasa se logran en la primera mitad de la lactancia (hasta los 120 días pos parto). También se recomienda

incrementar en un 10 a 15% los tenores de Calcio y Magnesio de la dieta, para compensar la posible pérdida de estos macro minerales en forma de jabones, cuando se utilizan lípidos suplementarios (Acosta, 2002).

La relación entre el contenido de grasa-proteína de la leche es un indicador apropiado para los cambios en la composición de la leche referidos con la respuesta a la dieta, ya que en general, las respuestas del incremento de grasa y de proteína de la leche van en sentidos opuestos cuando se cambia la dieta. Es conocido un efecto de depresión de las caseínas en la leche por el exceso de grasa en la ración (Barros, 2009).

4.5.2.4. Efecto del nivel de aportes de minerales

La alimentación mineral es muy importante para la vaca entre los períodos de lactación, a fin de permitir la reconstitución de las reservas minerales de los huesos. La naturaleza del régimen alimentario y el aporte mineral en particular, no tiene ninguna influencia en la concentración de Ca, P ya que ni la insuficiencia, ni el exceso de uno de estos elementos en la ración modifican su concentración en la leche. Si el aporte alimentario de Ca, P y Mg es insuficiente el animal recurre a sus reservas óseas. El Mg es un elemento muy importante, que interviene como el Ca, en la estabilidad de la micela, es un activador esencial de enzimas, por lo que resulta indispensable para el eficiente metabolismo de los carbohidratos y los lípidos. Sólo 1/3 es micelar el resto se encuentra disuelto.

Los síntomas de la deficiencia de Mg en la ración, se conoce como un trastorno que afecta a los rumiantes adultos, denominado tetania hipomagnésica, el trastorno sin embargo es común en los terneros alimentados a base de leche a los 50-70 días de edad.

La mayor parte de los casos se presenta en los animales en pastoreo sobretodo en primavera, al salir estos a los pastos tiernos y suculentos.

Por ello es importante utilizar fuentes de Mg como ser: salvado de trigo, semillas de algodón, linazas y tréboles (McDonald y col, 1993).

La composición de los minerales no se ve afectada, sólo lo esta la cantidad secretada por unidad de tiempo (Luquet, 1991).

4.5.2.5. Efecto del nivel de vitaminas

- Vitaminas hidrosolubles: los efectos de la alimentación son poco importantes, incluso despreciables. La fuente principal de estas vitaminas no es la alimentación, ya que la vitamina C es sintetizada en el intestino delgado y todas las vitaminas del grupo B son sintetizadas por la flora del rumen, que las libera al intestino, donde se absorben. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la hierba fresca es muy rica en ácido ascórbico, utilizado por la flora del rumen; la cantidad es más o menos independiente del aporte alimentario. En el inicio del pastoreo se puede observar un ligero aumento de la cantidad de vitamina C de la leche y también de las vitaminas del grupo B (Luquet, 1991).

- Vitaminas liposolubles: en la vaca, el contenido de estas vitaminas en la leche depende principalmente de la alimentación. La vitamina A total de la leche obtenida en verano es de 1 a 1.5 veces superior a la de invierno. Su variación está directamente relacionada con las condiciones de alimentación, aumentando con el comienzo de la hierba fresca ya que ésta contiene mayor cantidad de beta caroteno (Luquet, 1991). El beta caroteno es el precursor de la vitamina A, en la que se convierte por hidrólisis en el organismo, con escisión en dos moléculas y fijación de agua; parece ser también que determinadas razas son más aptas que otras para dar un nivel de caroteno más alto, tal es el caso de la raza anglo-normando (Alais, 1985).

Las variaciones de vitamina D son similares a la vitamina A pero parece estar más relacionada con las irradiaciones solares ultravioletas que con la alimentación (Luquet, 1991). Con respecto a la vitamina E, ésta al igual que la A depende de la dieta del animal, siendo su concentración en leche mayor en verano, cuando las vacas consumen hierba fresca, que en invierno, cuando consumen alimentos secos que han perdido parte de su vitamina E (Luquet, 1991). Dada su actuación como antioxidante, el contenido de vitamina E en los alimentos tiene también un gran significado tecnológico. Esto hace que la estabilidad de algunos derivados lácteos pueda depender de su contenido en esta vitamina.

Las vitaminas en la alimentación: si la vitamina D es estable en los alimentos derivados de la leche, la vitamina A plantea algunos problemas, por lo que es necesario utilizar envolturas protectoras. Es preciso tomar el máximo de precauciones para asegurar la presencia de vitaminas en la alimentación del hombre; ahora bien, además de las variaciones naturales, raza, fase de lactación, estación del año, etc., existen también causas exteriores que provocan modificaciones:

- a nivel tecnológico la pasteurización modifica poco la cantidad de vitaminas. Se observan pérdidas algo mayores en los procesos UHT, de un 10 a 15%. La esterilización en recipientes cerrados es la operación más destructora.

- a nivel de métodos analíticos las vitaminas son biológicamente activas y químicamente muy inestables; de ahí el riesgo de destrucción por los reactivos utilizados en su extracción.

- a nivel de industria alimentaria la utilización de productos denominados "Light" provocan una reducción del aporte de vitaminas liposolubles (Luquet, 1991).

4.5.2.6. Efecto del aporte de fibra y pasturas.

Si bien la fibra no es en sí un nutriente con respuesta medible en producto, las vacas lecheras si tienen necesidades de fibra para mantener la funcionalidad y la salud del rumen en particular. Se necesita un nivel cuantitativo de fibra y también un cierto tamaño de partícula de la fibra, que contribuye a estimular la rumia, la producción e ingesta de saliva (agente anti acidez) responsable del mantenimiento del tenor graso y proteico de la leche (Rearte, 1992).

Se recomienda tenores mínimos de fibra detergente ácido (FDA) del orden de 19 a 21% en la materia seca de la dieta total. A su vez el contenido de fibra detergente neutro (FDN) en la dieta total no debería ser inferior a 26 a 28%, tenores menores de ingesta de fibra conducen a tenores bajos de grasa en la leche, posibles cuadros de acidosis, laminitis, consumos de materia seca inestable y fluctuantes, y pérdida de condición corporal, particularmente en lactancia temprana (Acosta, 2002).

El tamaño de 1cm o inferiores no cumplen funciones de fuentes de "fibra efectiva", no estimulan la rumia ni la salivación y suele provocar drásticas reducciones en el tenor graso de la leche, si bien el tenor proteico puede aumentar, su efecto es frecuentemente opacado por caídas en la producción de leche (Acosta, 2002).

Dietas con contenidos altos en fibra suelen ser muy bajas en energía, limitando la producción en volumen de leche, cuando el forraje es aproximadamente el 65% de la dieta de una vaca de alta producción solo con forraje de muy alta calidad se podrá tener un tenor normal de proteína en la leche (Acosta, 2002).

La calidad de la pastura afectará la calidad de la composición de la leche en la medida que se altere el plano nutricional de la vaca. Esto se confirma al analizar la composición de la leche a través de los distintos meses del año. El contenido de GB de la leche es bajo en primavera, dónde se produce el pico máximo de producción, y la leche producida alcanza

su máximo contenido proteico (Bagnato, 2007). Esto no sólo se debe al menor contenido de fibra (lo que aumenta el consumo), sino que además es el momento del año en que la pastura esta mejor balanceada en termino de proteína y energía, por mayor contenido de carbohidratos solubles que en otros meses del año (Rook y Thomas, 1985).

Cuando se compararon distintas especies se observó que algunas leguminosas como por ejemplo el Trébol Blanco superaban a las gramíneas en término de producción de leche, aún cuando los forrajes fuesen de similar digestibilidad. El mayor potencial de producción de las leguminosas se debe principalmente a mayor consumo logrado con estas especies y no a la producción de AGV en el rumen y su relación (Thomson et al, 1985; Losada, 1983). Otro factor sería la mayor cantidad de NNP que tienen las leguminosas en lugar de las gramíneas, lo que favorece la cantidad de nitrógeno no amoniacal que llega al duodeno (Bagnato, 2007).

4.5.3. Factores climáticos

La riqueza de la leche en materia grasa y extracto seco desengrasado es mínima a la mitad de verano y máxima al final del otoño, esta evolución se comprueba en todos los países, independientemente de la alimentación. La cantidad de leche producida disminuye y el contenido en grasas aumenta, rápidamente, cuando la temperatura se eleva por encima de los 27°C pues causa una subalimentación por pérdida de apetito; si la temperatura disminuye por debajo de 5° el cambio es progresivo (Alais, 1985).

Con respecto a la proteína tenemos que las altas temperaturas reducen el total de proteínas en la leche. La concentración de proteína es mayor durante el invierno (DePeters y Ferguson, 1992).

El contenido de NNP de la leche es considerablemente mayor durante el verano que durante el invierno, por que en verano las vacas están pastando y aumenta el contenido de N en la dieta (Hoff, 1997).

4.5.4. Factores genéticos

Existen diferencias importantes en las aptitudes lecheras (producción y composición de la leche) de las vacas pertenecientes a diferentes razas; estas son muy importantes en lo que se refiere a la materia grasa (del 34 al 64%) y las proteínas (del 28,5 al 41,5%) (Alais, 1985).

Existe un orden determinado entre las razas respecto a la calidad de la leche, que guarda una relación inversa con la producción de leche. La Jersey produce la leche de mejor calidad además de presentar valores de urea superiores a la Holstein esto tiene gran importancia en el tema en cuestión el cual será tratado más adelante; mientras que la alta producción de la Holstein determina la peor calidad (McDonald y col, 1993).

También pueden darse variaciones entre las vacas de una misma raza sometidas a las mismas condiciones de medio y alimentación, pueden existir diferencias notables y reproducibles en cuanto a la composición de la leche. Las mismas observaciones pueden hacerse en lo que se refiere a la cantidad de leche producida (Alais, 1985).

4.5.5. Otros Factores

Dentro de este grupo tenemos el ordeño, este puede tener un efecto sobre el contenido en grasa y, por tanto, sobre los sólidos totales, un ordeño incompleto puede dejar en la ubre una importante cantidad de leche residual de alto contenido en grasa. Los intervalos desiguales entre ordeños pueden reducir la producción y el contenido en grasa así como

un aumento en la frecuencia de los ordeños (3) llevan a un aumento en la producción (Alais, 1985).

Otro factor de gran importancia en el rodeo lechero es la aparición de mastitis; ésta es una enfermedad infecciosa específica de la glándula mamaria. Puede ser causada por patógenos contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Corynebacterium bovis*) o patógenos ambientales (*Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella*) entre otros. Esta infección altera generalmente la producción de leche. La filtración selectiva a través de las membranas de los alvéolos no se realiza normalmente y los componentes sanguíneos como las sales, glúcidos y proteínas solubles del suero sanguíneo, pasan a la leche. También se altera la síntesis de caseína, lactosa y materia grasa, lo que da lugar a una leche de composición anormal según el grado de la enfermedad (Amiot, 1991). El contenido de lactosa, caseína, potasio y calcio disminuye, mientras que aumenta el pH, los cloruros (sodio y cloro) y el número de leucocitos comúnmente llamado "recuento de células somáticas" (RCS); o Somatic Cell Count (SCC) y bacterias (Amiot, 1991). El contenido de lactosa es inversamente proporcional al contenido de sales (Alais, 1985). El resultado neto, dependiendo de la gravedad de la infección, consiste en la reducción en los contenidos en sólidos no grasos y sólidos totales (McDonald y col, 1993).

4.6. OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE LA LECHE

La leche es obtenida a través del ordeño manual o mecanizado los cuales deben llevarse bajo determinadas pautas de manejo higiénico-sanitario para garantizar la salubridad del mismo, una vez obtenida se somete a refrigeración en el mismo establecimiento, manteniéndose a una temperatura de unos 4° C, hasta ser recolectada por camiones cisterna y llevadas a las plantas industriales.

A nivel industrial y artesanal es importante partir de una materia prima de excelente calidad composicional e higiénico sanitaria, para obtener productos de alta calidad y seguros para el consumidor.

4.6.1. Procesos térmicos

Los procesos térmicos son los mas aplicados en la industria, el propósito de estos es la destrucción de los microorganismos que hay contenidos en la leche. Un efecto adicional es la inactivación en mayor o menor grado de las enzimas lácteas (Spreer, 1991).

4.6.2. Tipos de procesos térmicos.

La pasteurización es el tratamiento térmico más utilizado para la higienización de la leche y en muchos países industrializados la leche pasteurizada es la leche líquida que se vende en mayor cantidad (Varnam y Surtherland, 1994).

Bajo pasteurización se entiende la destrucción de gérmenes mediante un tratamiento térmico aplicando temperatura de 72°C por 15 a 20 minutos; lo que mejora la calidad higiénica de la leche y posibilita en cierto grado su conservación. El objetivo final que persigue es la destrucción completa de los gérmenes patógenos que en determinadas circunstancias pueden estar presentes en la leche; por ésta razón está legalmente establecido que ha de ser pasteurizada toda la leche que entra a la central. El inconveniente es que se trata de un tratamiento que no garantiza la destrucción de todos los gérmenes; para obtener un producto que se conserve durante un período largo de tiempo es necesario aplicar tratamientos térmicos más intensos, por ejemplo la

esterilización clásica a 118°C por 15 minutos o el calentamiento UHT a 140°C por 5 minutos (Spreer, 1991).

El inconveniente de los procesos térmicos es que produce transformaciones físicas de las características nutritivas y organolépticas, estas dependen de la temperatura, duración del calentamiento, tiempo y cantidad de gérmenes, acidez entre otras (Spreer, 1991).

El incremento de la temperatura y el tiempo provoca, como alteración más notable, la desnaturalización de las proteínas séricas, cuya solubilidad se ve así disminuida y haciendo que, por ejemplo, a un pH 4,6 precipiten con la caseína. Otra consecuencia es la liberación de grupos sulfhídricos lo que puede acarrear la aparición del sabor "a leche cocida" (Spreer, 1991).

4.7. ESTABILIDAD TERMICA

4.7.1. Definición

El concepto de estabilidad de la leche al calor se asocia, normalmente, a la capacidad de una leche para soportar los tratamientos térmicos a los que es sometida previamente y durante la industrialización sin que exista ninguna precipitación de sus componentes durante estos procesos (Shilton et al, 1992).

Los tratamientos térmicos deben aplicarse de forma rutinaria a toda leche que ingrese a las plantas industrializadoras por esto es importante producir leches con una alta estabilidad térmica.

4.7.2. Variables que afectan la estabilidad térmica

4.7.2.1. Grasas

La grasa es el componente más variable y es el que más influido está por la alimentación (Hoden y col, 1990). Los ácidos grasos libres presentes en la leche cruda son sustrato de las reacciones más importantes (lipólisis y oxidación) de pérdida de la estabilidad de la grasa láctea (Páez y col, 2001), pero su influencia en la estabilidad térmica de la leche no esta bien definida (Delucchi, 2009).

4.7.2.2. Proteínas

Dentro de las proteínas las que mayor significado tiene para la estabilidad es la kappa caseína. Niveles altos en el contenido de kappa caseína en la leche están relacionados con micelas de menor tamaño, mayor estabilidad térmica y mejores propiedades para la elaboración de quesos, ya que un 13% de la kappa caseína participa activamente durante el proceso de coagulación de la leche (Taverna, 2004).

Las proporciones relativas de las caseínas alfa, beta, kappa están sujetas a variaciones genéticas y pueden existir diferencias significativas en la composición de la caseína de diferentes vacas (Amiot, 1991; Varnam y Surtherland, 1994).

Se ha establecido claramente que la sensibilidad al pH que presenta la estabilidad térmica de las micelas de caseína se debe, en gran medida, a las proteínas del suero. La beta-lactoglobulina de la leche está estrechamente vinculada a la presencia del máximo de estabilidad a pH 6.8 (Negri, 2009).

4.7.2.3. NNP

La leche con elevada estabilidad térmica contiene altas concentraciones de urea, aunque se cree que es el isocianato, formado a partir de la urea por calentamiento, el responsable de la estabilidad a través de interacciones con los grupos sulfhídricos libres de las proteínas de la leche (Varnam y Surtherland, 1994).

4.7.2.4. Minerales

Todos los minerales se distribuyen en una fase soluble y una fase coloidal. La distribución del calcio, citrato, magnesio y fosfato entre las fases soluble y coloidal y sus interacciones con las proteínas de la leche tienen importantes consecuencias para la estabilidad de la leche y los productos lácteos (Varnam y Surtherland, 1994). El calcio y el potasio son los minerales mayoritarios y más importantes específicamente en el caso de leches inestables ya que están asociados a las micelas de caseína (en una leche sin alteraciones el 65% del calcio, el 60% del magnesio y el 50% del fósforo se encuentran asociados a las caseínas en forma coloidal). La concentración de Calcio iónico se relaciona con el HCT (Negri y col, 2003).

4.7.2.5. Época de lactancia

La distribución de las vacas en ordeño de acuerdo al momento de la lactancia, ocasionan cambios en la composición de la leche mezcla (leche producida por el conjunto de las vacas) que pueden afectar las propiedades de estabilidad (Chávez, 2004). Sin embargo, la composición global de la caseína de la leche de una explotación, varía muy poco en cualquier fase de la lactación (Amiot, 1991; Varnam y Surtherland, 1994).

El incremento de leche de vacas del primer período de lactancia, reduce la estabilidad térmica de la leche y este efecto es mayor cuando se suma, la leche producida durante los primeros días posparto (Chávez, 2004).

4.7.2.6. Estación climática

El HCT evidencia un marcado efecto estacional siendo similar para la leche cruda y la leche en polvo. Las leches de otoño son las más estables térmicamente, a la inversa de las de invierno-primavera. Las leches crudas de invierno-primavera incrementarían los precipitados en el interior de los equipos durante los tratamientos térmicos y las leches en polvo elaboradas durante este período presentan restricciones para utilizarse en subproductos que requieran nuevos tratamientos térmicos. (Negri y col, 2002). La urea es un factor importante en la estabilidad de la leche no concentrada y la variación estacional de la concentración de urea en la leche tiene como consecuencia una variación estacional de la estabilidad térmica (Varnam y Surtherland, 1994).

4.7.2.7. Mastitis

Las mastitis provocan simultáneamente la modificación de la composición y la disminución de la producción de leche, llegando al secado del animal y, en ocasiones, a la pérdida definitiva de uno o varios cuartos, representando una pérdida económica importante para el productor (Alais, 1985). Las pérdidas económicas también lo son para las industrias ya que los cambios ocasionados por la mastitis afectan negativamente la calidad y cantidad

de los productos lácteos (Smith et al, 2001); determinando leches impropias para determinados usos, principalmente en quesería; ya que disminuye la actividad de los fermentos, y se altera la consistencia de la cuajada, también se observan cambios en las cualidades organolépticas de los productos. Además, la mastitis provoca leches inestables al calor debido a variaciones composicionales (Alais, 1985; Amiot, 1991).

4.7.2.8. Dieta

La alimentación como ya fue mencionado tiene un gran efecto sobre el nivel butírico y proteico (exceptuando las caseínas, que dependen de la genética del animal) de la leche (Hoden y col, 1990).

El efecto de la alimentación sobre la estabilidad podría explicar las variaciones estacionales, ya que la causa de esta podría ser la alimentación diferente según la época en que nos encontremos.

Un marcado efecto estacional en los HCT (mayores en otoño con respecto a los HCT de invierno y primavera) coinciden con determinaciones realizadas en Nueva Zelanda que han determinado que la leche en polvo estable térmicamente se realiza desde mediados de octubre a marzo (Negri y col, 2001). La suplementación con concentrados en los sistemas pastoriles de producción no mejoró las características de procesamiento a excepción de la estabilidad al etanol. Estos resultados sugieren que la producción en un sistema rotativo pastoril puede lograr una producción eficiente de leche de buena calidad y que la suplementación con concentrados no mejora las características a los procesados cuando está disponible una pastura de buena calidad (O'Brien, 1999).

4.7.3. Medición de la estabilidad térmica

Hay varios métodos para medir la estabilidad térmica de la leche. El método más comúnmente utilizado en nuestras condiciones es el tiempo de coagulación (HCT), en el cual se mide el tiempo requerido por la leche para coagular a 140°C en baño de aceite o glicerina, usando capilares (75mm de largo, diámetro interno 1,44 mm y externo 1.6 mm) (Chávez, 2004) o también tubos de ensayos de vidrio y tapa rosca.

Las muestras se pueden clasificar de acuerdo al HCT en: estables e inestables térmicamente. Las leches descremadas en polvo, según algunas normas, son consideradas estables si el HCT es mayor a 20 min (Negri y col, 2003).

Otros la estudian en relación al pH. Como el "ensayo subjetivo de estabilidad térmica" inicialmente desarrollado por Miller y Sommer (1940) y modificado por Davies y White, (1966) para reconocer la dependencia del pH de la estabilidad térmica de la leche. Este método involucra muestras de leche con un pH de 6.3 a 7.3, contenidas en un tubo sellado, sumergidas en un baño de aceite termostáticamente controlado (generalmente a 140°C para leche fluida y 120°C para leche deshidratada) y se mide el HCT, generalmente indicado por la floculación de la proteína láctea.

Un método más preciso para medir la estabilidad térmica es el "ensayo objetivo de estabilidad térmica", en el cual el porcentaje de proteína total sedimentable por fuerzas de centrifugado se mide como función del tiempo de calentamiento a una temperatura constante (O'Connell y Fox, 2000). La curva de depleción de proteína resultante muestra un agudo quiebre al inicio de la coagulación; el punto de inflexión en la curva indica el HCT (Fox, 1982). Sweetser y White, (1974) usaron el "ensayo objetivo de estabilidad térmica" para usar los mecanismos de coagulación con el mínimo del método del HCT-perfil de pH. La curva de depleción de proteína con el mínimo con dos puntos de inflexión diferentes, sugiriendo que la proteína láctea atraviesa dos distintos y mutuamente exclusivos

procesos de coagulación (Sweetsur y White, 1974). El primer punto de inflexión corresponde al HCT determinado por el “ensayo subjetivo de estabilidad térmica”, mientras que el segundo punto de inflexión ocurre al tiempo que se hubiera esperado si el mínimo no hubiera existido (Sweetsur y White, 1974, Parker y col, 1979).

Se ha sugerido (Sweetsur y White, 1974) que los dos niveles de los procesos de coagulación están dados por la prematura coagulación de las grandes micelas provocadas por la absorción de precipitados de fosfatos de Ca, seguidos por una segunda coagulación que involucra a las micelas menores de caseína, que también absorbe precipitados de fosfato de Ca pero son intrínsecamente más estables que las grandes micelas. El nivel de la glicosilación de k-caseína e hidrofobicidad de la superficie de la proteína se incrementa en función del tamaño de la micela (O'Connell, y Fox, 2002).

La mayor dificultad de la medición de la termoestabilidad es su imposibilidad de aplicarla en el tambo. En tal sentido la denominada prueba del alcohol es utilizada en el tambo como metodología rápida para predecir el comportamiento térmico de la leche.

La estabilidad al alcohol y la estabilidad térmica de la leche son propiedades diferentes, dependientes las dos de los componentes de la misma. El comportamiento de la leche frente al calor es diferente que ante el agregado de alcohol. La estabilidad al alcohol se determina mezclando partes iguales de leche y alcohol etílico 70° a 21°C (Chávez, 2004), esta prueba determina la aceptación o el rechazo de la leche al recibo por la planta industrializadora, empleándose como un control de la estabilidad física (Pierre, 1985). Es empleada también para medir indirectamente la estabilidad de la leche al tratamiento térmico y al pH, ya que existe un paralelismo en el comportamiento de la estabilidad a las tres pruebas (Chávez, 2001; Horne y Muir, 1990). La acidez produce la pérdida de la estabilidad y la floculación de las proteínas (Horne y Parker, 1981).

El efecto de la estabilidad al calor está relacionado con los cambios de las propiedades físico-químicas y hay similitudes en la composición de la leche con aquella leche que flocula por efecto del alcohol. En el caso del alcohol, el efecto es una deshidratación de la fase líquida que pone en mayor contacto los elementos reaccionantes (Barros y col, 2000).

Con respecto a la prueba de alcohol, se ha constatado una cierta influencia de la época del año, siendo la alteración aparentemente más frecuente en los meses de otoño, en el cambio de estación de invierno a primavera y también relacionada a períodos de sequía. Existe una evidente relación entre la positividad de la prueba y el período de lactación de la vaca, ya que se constata más frecuentemente en el inicio y en el fin de lactación. (Barros y col, 1999). Se han relacionado empíricamente esas variaciones con dietas a pastos ricos en calcio, con deficiencia o desbalances minerales (Ca, P, Mg), con cambios bruscos de la dieta, siendo inconstante la respuesta a las suplementaciones minerales. El tenor de calcio ionizado está directamente relacionado con la positividad de la prueba, encontrándose también otras variaciones de la composición de la leche. (Barros, 2009).

La prueba del alcohol resulta en un predictor indirecto de una leche con alta contaminación bacteriana, con desarrollo de acidez, pH bajo e inestabilidad térmica de la muestra analizada (Horne y Muir, 1990).

Sin embargo, bajo ciertas condiciones no muy bien definidas, se observaron resultados positivos a la prueba del alcohol en leches de aceptables calidad higiénica-sanitaria, marcando una serie de interrogantes sobre la capacidad de esta prueba como un correcto estimador de la estabilidad térmica (Negri y col, 2001).

En un trabajo experimental llevado a cabo por Negri y col (2002) se evaluó la aptitud de la prueba de alcohol para predecir la estabilidad térmica de leche cruda, obteniéndose como resultado que cuando la prueba de alcohol detectó una leche inestable, ésta tuvo el 60% de posibilidad de ser inestable térmicamente. Pero así también, cuando se detectó una muestra estable al alcohol, ésta tuvo una posibilidad del 50% de ser inestable

térmicamente. Se observó también, que el HCT fue más sensible que la prueba de alcohol para detectar leches inestables (55% y 35%, respectivamente). Mediante análisis de Chi-Cuadrado ($p=0,45$) se evidenció independencia entre los resultados de la clasificación aplicadas en ambas metodologías. Según los criterios utilizados en este trabajo, se demuestra que la prueba de alcohol no fue un correcto estimador del comportamiento térmico de la leche. Así mismo es cuestionable el uso de esta prueba para rechazar o aceptar leches ya que las mismas pueden ser inestables al alcohol, aún teniendo pH y acidez normales. Por lo tanto, el uso de esta prueba para clasificar leches en las industrias lácteas, según la severidad del tratamiento térmico que se le va a aplicar, no sería el más adecuado (Negri y col, 2002).

4.7.4. Importancia de la estabilidad térmica

A nivel industrial es de gran importancia que la leche que ingrese a las plantas industrializadoras presente esta propiedad, es decir que sea estable al calor. De esta manera se pueden obtener una gran variedad de subproductos, siendo necesario para su obtención, someter a la leche a elevadas temperaturas, es el caso de las leches UHT (Ultra High Temperature) y leches en polvo entre otros.

En situaciones en donde la materia prima no cumple con esta condición, se observan grandes pérdidas económicas a nivel industrial, por tener que desecharse grandes cantidades de la misma, ya que no soporta las temperaturas de elaboración de subproductos.

Por esto es que se determina que una elevada estabilidad térmica es una propiedad y un requisito de calidad tecnológica importante en la leche cruda como así también lo son la susceptibilidad a la lipólisis y auto oxidación (Taverna y col, 2001; Negri y col, 2002).

5. OBJETIVOS

Objetivo general: Evaluar variaciones composicionales y de estabilidad de la leche bovina.

Objetivos particulares:

- Evaluar variaciones de estabilidad térmica en función del período de lactancia en vacas individuales y grupos de vacas y vaquillonas.
- Evaluar el efecto de la composición (grasa, proteínas, lactosa) sobre la estabilidad térmica.
- Comprobar existencia de una relación entre la estabilidad térmica y la prueba del alcohol.

6. HIPÓTESIS

Como primera hipótesis se planteó que las variaciones composicionales existentes entre la leche de vaca y de vaquillona en sus distintos períodos de lactación tienen un efecto sobre la estabilidad térmica y en segunda instancia que puede utilizarse la prueba del alcohol como una prueba rápida y práctica de predicción de la estabilidad térmica de la leche.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. LUGAR

El trabajo se realizó en el INIA-La Estanzuela-Laboratorio Calidad de Leche; ubicado en Colonia.

Los períodos de muestreo se realizaron una semana al mes, haciendo coincidir la semana de trabajo con el control lechero, que se realiza en el tambo de dicho instituto dentro de la primera semana de cada mes. Comenzando el muestreo dentro de los 20 días posparto (marzo) y finalizando en octubre (total=8 meses). Se prestó especial atención a las primeras semanas posparto, al período medio de lactancia y al último tercio.

Se tomaron muestras de leche en el tambo, en el ordeño de la tarde y de la mañana.

7.2. ANIMALES

Se utilizaron 49 vacas lecheras de raza Holstein, dividiéndose en dos grupos uno de 21 vacas múltiparas y otro de 28 uníparas, realizando muestreos durante el primer, segundo y tercer trimestre de lactación. El término primíparas hace referencia a vacas que comenzaban su primera lactancia, mientras que el término múltipara hace referencia a vacas que comenzaban su segunda (o mayor) lactancia.

7.3. ALIMENTACIÓN

Al total de los animales se les suministró una dieta base, esta consistía en ensilaje de grano húmedo de maíz (EGHM), ofrecido a razón de 6 kg/vaca/día base fresca, una asignación diaria igual de praderas pluri-anales mezcla de gramíneas y leguminosas (10kg MS/vaca/día) bajo pastoreo directo y ensilaje de maíz de planta entera (18kg BF/vaca/día) ofrecido a voluntad en comederos colectivos.

7.4. ANÁLISIS

Se trabajó en base a leche entera fresca con un bacteriostático (Lactofol), en la cual se analizó, su composición (proteínas, grasa, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos, CCS), pruebas de estabilidad al alcohol (70% Vol.), dilución tradicional 1:1 (1ml de alcohol y 1 ml de leche) y alcohol modificada 2:1 (2ml de alcohol y 1ml de leche) y prueba de estabilidad térmica, en tubo de vidrio con tapa rosca (baño aceite 140° C). Se realizaron en el Laboratorio de Calidad de Leche (INIA), composición centesimal, estabilidad directa al alcohol y baño de aceite a 140° C.

7.5. MUESTRAS

En el tambo se tomó una muestra de leche de cada vaca individualizada en el ordeño de la tarde y el de la mañana siguiente. Estas muestras fueron obtenidas a partir de jarras de acrílico graduada las cuales son utilizadas en el control lechero; para ello las muestras se almacenaron en 2 tubos uno de 60cc y otro de 35cc de material plástico con su debida tapa e identificación individual de cada animal. Ambas muestras (tarde y mañana) se mezclaron para su posterior análisis en el laboratorio.

7.6. DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

En el laboratorio las muestras fueron sometidas a una serie de métodos analíticos, los cuales incluyen la prueba al alcohol, análisis de composición, prueba de caseínas y estabilidad térmica.

7.6.1. Prueba de alcohol

La prueba al alcohol sirve para detectar leches con poca estabilidad térmica, calostros o leches con alteraciones del balance salino. El principio de este método se basa en la variación del pH de la leche. La leche fresca tiene un pH promedio de 6.5-6.7 y a medida que aumenta la acidez se produce una disminución de dicho pH. La prueba se realiza mezclando volúmenes iguales de leche y de alcohol (para Uruguay 70%), en condiciones en que la leche presenta mayor acidez el alcohol produce floculación o coagulación de la misma.

En este trabajo se harán dos tipos de diluciones (la tradicional 1:1 y la modificada 2:1). Los materiales necesarios son placas de petri de 5 cm de diámetro, pipeta de volumen variable y alcohol al 70%. En la dilución 1:1 colocar en la placa de petri 1 ml de la muestra homogénea y a temperatura ambiente y 1 ml de alcohol a temperatura ambiente y en la dilución 2:1 colocar 2 ml de alcohol y 1 ml de muestra. Mezclar suavemente los líquidos con movimientos circulares sin agitar, corrientemente dentro de los primeros 10 segundos, observar a contraluz e inclinando la placa en varias direcciones si ha ocurrido floculación o coagulación. Anotar las observaciones en la planilla correspondiente con el número dos (2) si hubo coagulación o con número uno (1) si no hubo (Horne y Muir, 1990; Barros, 2002).

7.6.2. Determinación de grasa, proteína y lactosa en leche

La determinación de la composición se realizó mediante la espectroscopía infrarrojo medio (NIR), ésta se basa en la absorción de energía infrarrojo medio a longitudes de onda específicas por los grupos CH en la cadena de ácidos grasos de las moléculas de grasa (3.48 micrómetros), por los grupos carbonilo en las uniones éster de las moléculas de grasa (5.723 micrómetros), por las uniones peptídicas entre aminoácidos de las moléculas de proteínas (6.465 micrómetros) y por los grupos OH en las moléculas de lactosa (9.610 micrómetros). El equipo utilizado es el Bentley 2000.-Bentley Instruments, Inc. USA año 1997. Este equipo tiene adjunto un PC con un software específico que comanda todas las operaciones del análisis de leche y almacena los resultados en el disco duro del PC. Cabe aclarar que esta máquina está conectada en serie con el equipo anteriormente mencionado que realiza el recuento de células somáticas y la medición es automática una vez que las muestras se encuentran en cada frasco en el riel (Delucchi, procedimiento trabajo INIA, 2006).

7.6.3. Prueba de Caseína

En ésta se determinó el valor indirecto de la caseína, la misma se basa a partir de una muestra de leche a la cual se hace cuajar mediante la renina o cuajo (enzima presente en el abomaso de los terneros lactantes), ácido sulfúrico y cloruro de calcio (ClCa), la acción de la renina sobre la caseína y el calcio disuelto en la leche forman paracaseinato de calcio, comúnmente llamado cuajada este es un gel que atrapa la mayoría de los componentes sólidos de la leche (caseínas y sólidos grasos); este gel se contrae poco a

poco ayudado por la acidificación previa de la leche por medio del ácido sulfúrico y al contraerse va expulsando el suero (agua, proteínas del lactosuero y carbohidratos) comúnmente llamado a este proceso “desuerado”. La efectividad de la cuajada es función de la temperatura, la concentración del sustrato (la leche), concentración de calcio y la acidez.

La prueba se realizará de la siguiente forma; se colocará en tubos de plástico de 150 ml, por lo menos 60 ml de la leche de cada muestra y poner a baño maría a 37°C, luego en estos tubos se colocará primeramente con pipeta dos gotas de cloruro de calcio consecutivamente dos gotas de ácido sulfúrico y por último dos gotas de renina.

Luego se volverán las muestras al baño y se esperará hasta que forme la cuajada, cuando se forme, retirar del baño y pasar a otros tubos de plástico los cuales tendrán un filtro y un embudo que dejará pasar el suero y retendrá la cuajada, en última instancia se analizará en espectroscopia infrarrojo el suero. Para ello utilizaremos el Milko-Scan 104 A/B -Foss Electric Denmark año 1992. Es un equipo semi-automático que al igual que el equipo descrito anteriormente consta básicamente de una fuente infrarrojo medio que es dirigida a pasar a través de la muestra y de un detector que capta la energía y la amplifica convirtiéndola en un valor de lectura (Delucchi, procedimiento de trabajo INIA, 2006).

7.6.4. Tiempo de coagulación.

El calentamiento de la leche cruda a altas temperaturas con la finalidad de determinar el tiempo que demora en coagular, es una medida que puede definir su destino industrial. Se han descrito cinco grupos de reacciones inducidas por el calor: desarrollo de la acidez, precipitación del fosfato de calcio, reacción de Maillard, modificaciones en la caseína y desnaturalización de las proteínas del suero. No todas ellas llevan a la coagulación de la leche pero los productos de cualquiera de ellas influyen las otras y todas en mayor o menor medida se van desarrollando con el calentamiento de la leche. A 135-140°C dentro de los primeros 5 minutos ya ha ocurrido la desnaturalización de las proteínas del suero y la precipitación del fosfato de calcio pero normalmente el tiempo de coagulación de la leche es mayor a 5 minutos.

El equipo, el material y reactivo que se utilizarán será: baño termostático de glicerina con agitador eléctrico, tubos de ensayos con tapa rosca y glicerina anhidra.

El procedimiento a seguir es: encender el baño de aceite y esperar que alcance la temperatura de 140°C. Verificar el nivel de aceite y la marcha correcta del agitador (60 oscilaciones/minuto). Identificar los tubos de ensayos de acuerdo a las muestras que van a ser analizadas. Cuando se llega a la temperatura requerida (140°C) colocar 2.5 ml de leche en cada tubo, taparlos y colocar toda la tanda simultáneamente dentro del baño (probablemente 5 o 6) y anotar en la planilla correspondiente la hora y minutos de ingreso al baño. Por último anotar en la planilla la hora y minutos cuando se comenzaron a observar los primeros signos de floculación o coagulación observándose en intervalos de 5 minutos hasta los diez minutos y luego se toman intervalos de 10 minutos (Delucchi, procedimiento de trabajo INIA, 2006).

7.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se analizaron los parámetros de composición (proteínas, grasa y lactosa) y de estabilidad a la prueba térmica y al alcohol por los métodos estadísticos: análisis de varianza, test T de Student y Chi cuadrado, según las variables fueran cuantitativas y/o cualitativas.

8. RESULTADOS

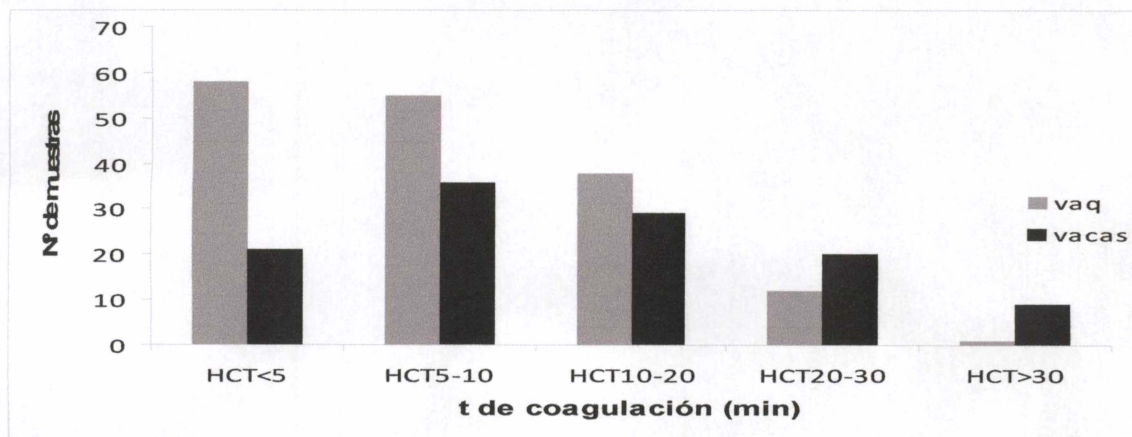
Se analizó la variable número de partos (paridad) con respecto a la estabilidad térmica. Con la finalidad de determinar relaciones entre la paridad y la estabilidad térmica, ésta fue medida como el tiempo de coagulación de las muestras de leche. Se realizó la prueba χ^2 , planteando la hipótesis nula que no hay asociación entre las muestras de vacas (varios partos) y vaquillonas (un parto) con respecto a la estabilidad térmica (Cuadro III). El resultado obtenido fue de $\chi^2 = 21,1$ con una $p > 0,05$; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula con un nivel de significación del 95%, demostrando así que hay variaciones en el comportamiento térmico de muestras obtenidas de vacas y de vaquillonas. Se consideró como estables aquellas muestras con tiempos de coagulación mayores a 20 minutos y las inestables menores a este.

Cuadro III. Datos del comportamiento térmico de muestras de vacas y vaquillonas para el cálculo de χ^2 (número de muestras de cada categoría)

	Muestras estables	Muestras inestables	Totales
Vaquillonas	13	155	168
Vacas	31	74	105
Totales	44	229	273

En el siguiente gráfico (Figura 2), se muestra el comportamiento térmico de las muestra de leche correspondiente a vacas y vaquillonas, en el cual se observa una mayor inestabilidad térmica en las vaquillonas, determinando que menor tiempo de coagulación es considerado como más inestable.

Figura 2. Comparación de la estabilidad térmica entre muestras de vacas y vaquillonas durante todo el período de lactancia.



(Vaq= vaquillonas; HCT < 5= Tiempo de coagulación menor a 5 minutos; HCT 5-10= entre 5 y 10 minutos; HCT 10-20= entre 10 y 20 minutos; HCT 20-30= entre 20 y 30 minutos; HCT > 30= mayor a 30 minutos).

El número de partos también se analizó con respecto a la estabilidad al alcohol en las dos diluciones utilizadas 1:1 (1 ml de alcohol/1 ml de leche) y 2:1 (2 ml de alcohol/1 ml de leche). Se aplicó la prueba de χ^2 , planteando para la misma una hipótesis nula que expresa que no hay variación entre las muestras de vacas y vaquillonas con respecto a la

estabilidad al alcohol. Los resultados obtenidos para la dilución 1:1 fueron $X^2= 0,8$ $p<0,01$ (Cuadro IV) y para la dilución 2:1, $X^2= 0,21$, $p<0,01$ (Cuadro V), por lo tanto se acepta la hipótesis nula con un nivel de significación del 99% para ambas diluciones.

Cuadro IV. Datos para el cálculo de χ^2 , correspondiente a cantidad de muestras positivas y negativas al alcohol de vacas y vaquillonas a la dilución 1:1.

	Muestras positivas al alcohol	Muestras negativas al alcohol	Totales
Vaquillonas	16	179	195
Vacas	6	116	122
Totales	22	295	317

(Dilución 1:1= 1 ml de alcohol/1 ml de leche).

Cuadro V. Datos para el cálculo de χ^2 , correspondiente a cantidad de muestras positivas y negativas al alcohol de vacas y vaquillonas a la dilución 2:1.

	Muestras positivas al alcohol	Muestras negativas al alcohol	Totales
Vaquillonas	22	173	195
Vacas	11	111	122
Totales	33	284	317

(Dilución 2:1= 2 ml de alcohol/1 ml de leche).

Con estos resultados, se puede establecer que el comportamiento inestable de la leche a la prueba del alcohol no se relaciona con la paridad de los animales.

En consecuencia, se puede afirmar que la estabilidad de la leche a la prueba térmica y al alcohol tiene comportamiento diferente con relación a la variable paridad.

Siguiendo con el estudio de las variables que pueden relacionarse con la estabilidad térmica y al alcohol, se analizó el período de lactación, dividiendo a la lactación total en tres períodos: primero, segundo y tercero. Para determinar una relación entre estos períodos y la estabilidad térmica. Se realizó la prueba χ^2 , planteando la hipótesis nula que no hay asociación entre los períodos de lactación (primero, segundo y tercero) con respecto a la estabilidad térmica. Con los resultados obtenidos se acepta la hipótesis nula con un nivel de significación del 99% para los tres periodos de lactación (Cuadro VI). Lo que es interpretado como que no hay relación entre la estabilidad térmica y los diferentes períodos de lactación.

Cuadro VI. Compilación de resultados de χ^2 , correspondiente a la estabilidad térmica, para los tres períodos de lactación comparados entre sí.

	Resultado de χ^2	Valor de p	Hipótesis
1er-2do	0,16	$p<0,01$	Acepta
2do-3er	2,46	$p<0,01$	Acepta
1er-3er	0,96	$p<0,01$	Acepta

(1er=primer periodo de lactación; 2do=segundo periodo de lactación; 3er=tercer periodo de lactación; Valor de p=probabilidad).

Para evaluar la relación entre el período de lactación y la estabilidad al alcohol en las dos diluciones utilizadas (1:1 y 2:1) se aplicó la prueba de Chi², planteando como hipótesis nula que no hay asociación entre el período de lactación y la estabilidad al alcohol. Con los resultados obtenidos se acepta la hipótesis nula, con un nivel de significación del 99% para el primer-segundo período y segundo-tercero en ambas diluciones. Para el primer-tercer período la hipótesis nula se rechaza con un nivel de significación del 95% en ambas diluciones (cuadro VII y VIII).

Cuadro VII. Compilación de resultados de Chi², correspondiente a la dilución 1:1, para los tres períodos de lactación comparados entre sí.

	Resultado de Chi ²	Valor de p	Hipótesis
1er-2do	0,61	p<0,01	Acepta
2do-3er	3,00	p<0,01	Acepta
1er-3er	7,34	p>0,05	Rechaza

(1er=primer período de lactación; 2do=segundo período de lactación; 3er=tercer período de lactación; Valor de p=probabilidad).

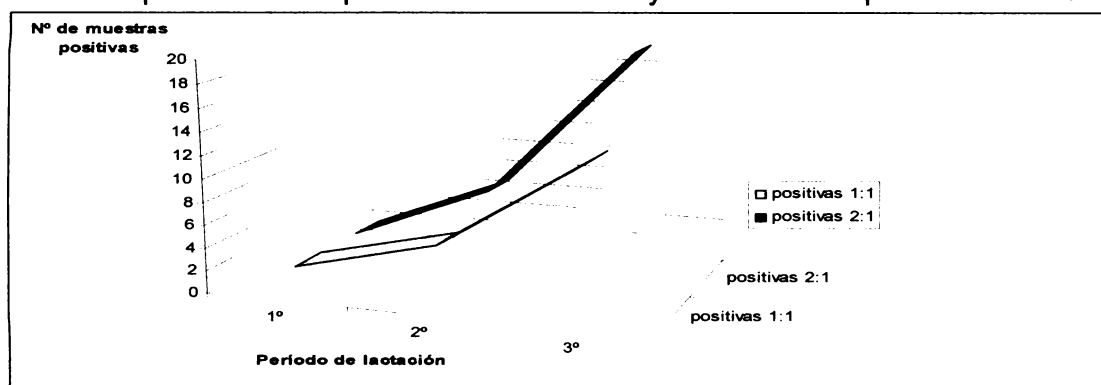
Cuadro VIII. Compilación de resultados de Chi², correspondiente a la dilución 2:1, para los tres períodos de lactación comparados entre sí.

	Resultado de Chi ²	Valor de p	Hipótesis
1er-2do	1,91	p<0,01	Acepta
2do-3er	6,21	p<0,01	Acepta
1er-3er	15,03	p>0,05	Rechaza

(1er=primer período de lactación; 2do=segundo período de lactación; 3er=tercer período de lactación; Valor de p=probabilidad).

Los resultados estadísticos indican que hay una variación de la estabilidad al alcohol en el primer y tercer período de lactación para las dos diluciones utilizadas (1:1 y 2:1). Determinando en este caso que las muestras de leche son más inestables al final de la lactación, este comportamiento se muestra en el siguiente gráfico (Figura 3).

Figura 3. Comparación entre prueba del alcohol 1:1 y 2:1 durante el período de lactación.



(Pos 1:1= cantidad de muestras positivas a la dilución 1:1; Pos 2:1= cantidad de muestras positivas a la dilución 2:1; 1= primer período de lactación; 2= segundo período de lactación; 3= tercer período de lactación). Con valores significativos en el primer y tercer período p>0,01).

Para evaluar si hay un efecto de los diferentes componentes de la leche (grasa, proteína, lactosa) sobre la estabilidad térmica se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y Test de Fisher, utilizando para dichos cálculos los datos del cuadro I de anexo.

Los resultados obtenidos indican que estadísticamente no hay un efecto significativo de los componentes grasa, lactosa; proteína sobre la estabilidad térmica, $p > 0,05$ (Cuadro IX, X y XI).

Cuadro IX. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente grasa con respecto a la estabilidad térmica.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Est <5	0,25614	1	0,25614	0,51	0,4753
Est 5-10	0,07864	1	0,07864	0,16	0,6924
Est 10-20	0,10731	1	0,10731	0,21	0,6440
Est 20-30	0,39140	1	0,39140	0,78	0,3777
Est >30	0,15244	1	0,15244	0,30	0,5818
Residual	141,383	282	0,50136		
Total (corregido)	142,4	287			

(Est 5= Tiempo de coagulación menor a 5 minutos; Est 5-10= Tiempo de coagulación entre 5 y 10 minutos; Est 10-20= Tiempo de coagulación entre 10 y 20 minutos; Est 20-30= Tiempo de coagulación entre 20 y 30 minutos; Est 30= Tiempo de coagulación mayor a 30 minutos; GDL= Grado de Libertad; Residual=Suma de los errores).

Cuadro X. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente lactosa con respecto a la estabilidad térmica.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Est <5	0,03138	1	0,03138	0,57	0,4520
Est 5-10	0,02046	1	0,02046	0,37	0,5436
Est 10-20	0,08409	1	0,08409	1,52	0,2187
Est 20-30	0,02582	1	0,02582	0,47	0,4951
Est >30	0,12296	1	0,12296	2,22	0,1371
Residual	15,6026	282	0,05533		
Total (corregido)	15,907	287			

(Est 5=Tiempo de coagulación menor a 5 minutos; Est 5-10=Tiempo de coagulación entre 5 y 10 minutos; Est 10-20=Tiempo de coagulación entre 10 y 20 minutos; Est 20-30=Tiempo de coagulación entre 20 y 30 minutos; Est 30=Tiempo de coagulación mayor a 30 minutos; GDL= Grado de Libertad; Residual=Suma de los errores)

Cuadro XI. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente proteína con respecto a la estabilidad térmica.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Est <5	0,00031	1	0,00031	0,01	0,9375
Est 5-10	0,01168	1	0,01168	0,23	0,6319
Est 10-20	0,02388	1	0,02388	0,47	0,4936
Est 20-30	0,02133	1	0,02133	0,42	0,5175
Est >30	0,14836	1	0,14836	2,92	0,0886
Residual	14,3273	282	0,05081		
Total (corregido)	14,8392	287			

(Est 5= Tiempo de coagulación menor a 5 minutos; Est 5-10= Tiempo de coagulación entre 5 y 10 minutos; Est 10-20= Tiempo de coagulación entre 10 y 20 minutos; Est 20-30= Tiempo de coagulación entre 20 y 30 minutos; Est 30= Tiempo de coagulación mayor a 30 minutos GDL= Grado de Libertad; Residual=Suma de los errores).

Para evaluar si hay un efecto de los diferentes componentes de la leche (grasa, proteína, lactosa) sobre la estabilidad al alcohol se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y Test de Fisher, utilizando para dichos cálculos los datos del cuadro I de anexo.

Los resultados indican para el componente grasa que no hay estadísticamente un efecto significativo de ésta sobre la estabilidad el alcohol en ambas diluciones, $p > 0,05$ (Cuadro XII).

Cuadro XII. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente grasa con respecto a la estabilidad al alcohol.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Alco 1	0,00440	1	0,00440	0,01	0,9253
Alco 2	0,51176	1	0,51176	1,03	0,3117
Residual	164,99	331	0,49846		
Total(Corregido)	166,554	333			

(Alco 1= dilución 1:1: 1ml de leche y 1 ml de alcohol; Alco 2= dilución 2:1: 1 ml de leche y 2 ml de alcohol; GDL= Grados de Libertad).

Al analizar el componente proteína en la leche se encontró un efecto de éste en la prueba del alcohol a la dilución 2:1; presentando valores de proteína menores ($x = 3.01\text{mg/ml}$) con un nivel de significación ($p < 0,05$) que en la dilución 1:1 ($x = 3.12\text{mg/ml}$) (Cuadro XIII).

Cuadro XIII. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente proteína con respecto a la estabilidad al alcohol.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Alco 1	0,09538	1	0,09538	1,74	0,1887
Alco 2	0,31388	1	0,31388	5,71	0,0174
Residual	18,1959	331	0,05498		
Total (corregido)	18,5567	333			

(Alco 1= dilución 1:1: 1ml de leche y 1 ml de alcohol; Alco 2= dilución 2:1: 1 ml de leche y 2 ml de alcohol; GDL= Grados de Libertad).

Para la lactosa, los resultados indican un efecto de este componente en la prueba del alcohol a la dilución 1:1, presentando valores de lactosa mayores ($x = 4.90\text{mg/ml}$) con un nivel de significación ($p < 0,05$) que en la dilución 2:1 ($x = 4.69\text{mg/ml}$) (Cuadro XIV).

Cuadro XIV. Datos del análisis de varianza (ANOVA) y test de Fisher para el componente lactosa con respecto a la estabilidad al alcohol.

	Suma de cuadrados	GDL	Media de cuadrados	Test de Fisher	Valor de p
Alco 1	0,35842	1	0,35842	7,05	0,0083
Alco 2	0,02962	1	0,02962	0,58	0,4457
Residual	16,8183	331	0,05081		
Total (Corregido)	18,2755	333			

(Alco 1= dilución 1:1: 1ml de leche y 1 ml de alcohol; Alco 2= dilución 2:1: 1 ml de leche y 2 ml de alcohol; GDL= Grados de Libertad).

Cuadro XV. Datos para el calculo de χ^2 correspondiente a muestras positivas y negativas para la dilución de alcohol 1:1 con respecto a muestras estables e inestables térmicamente.

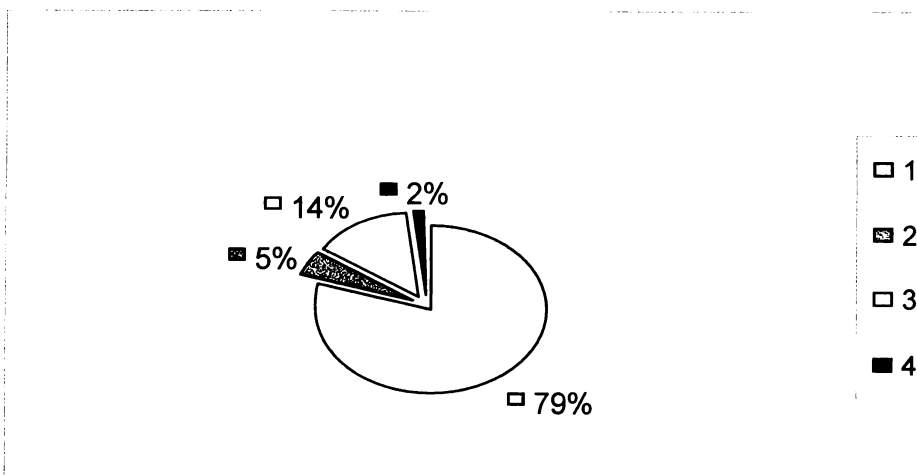
	Muestras positivas al alcohol	Muestras negativas al alcohol	Totales
Estables	5	40	45
Inestables	15	235	250
Totales	20	275	295

Cuadro XVI. Datos para el calculo de χ^2 correspondiente a muestras positivas y negativas para la dilución de alcohol 2:1 con respecto a muestras estables e inestables térmicamente.

	Muestras positivas al alcohol	Muestras negativas al alcohol	Totales
Estables	7	38	45
Inestables	22	228	250
Totales	29	266	295

En el siguiente grafico (Figura 4) se representa el comportamiento de las muestras frente a la prueba de estabilidad térmica y a la prueba del alcohol expresado en porcentajes. Encontrándose muestras que son inestables al calor y negativas al alcohol, así como también muestras estables térmicamente y positivas al alcohol, por lo cual no son pruebas coincidentes una de otra.

Figura 4. Relación entre la prueba del alcohol y la estabilidad térmica



(Porcentaje de muestras inestables térmicamente: 1= con resultado negativo a la prueba del alcohol; 2= con resultado positivo a la prueba del alcohol; muestras estables térmicamente: 3= con resultado negativo a la prueba del alcohol; 4= con resultado positivo al alcohol).

9. DISCUSIÓN

Al evaluar la variable paridad con respecto a la estabilidad térmica, se determinó una relación entre éstas. Comportándose de forma más inestable la leche obtenida de vaquillonas, este acontecimiento ya se había planteado como un supuesto en un ensayo realizado por Chávez (2004), en el cual la inestabilidad de las muestras obtenidas del tanque del tambo analizado aumentaba, coincidiendo con la incorporación al rodeo de vaquillonas.

Para poder encontrar una explicación a este comportamiento térmico diferente entre vacas y vaquillonas nos basamos en la bibliografía, según la misma son tres los principales factores que pueden influir en la estabilidad térmica.

Según Varnam y Surtherland (1994) un factor que determinaría mayor estabilidad, sería el nivel de urea en leche, este mismo concepto fue reportado por Negri y col, (2001); Horner y Muir, (1990) y Singh y Creamer, (1992). Si a este planteo se asocia un estudio realizado por el laboratorio de DHIA de Pensilvania (www.dhia.psu.edu) en el cual se observó que a medida que aumenta el número de lactancias de las vacas se incrementa la concentración de urea en leche, podría explicarse teóricamente la mayor estabilidad térmica de las muestras de leche de vacas del presente trabajo. En el mencionado trabajo las vaquillonas presentaban valores medios de 13.56 mg/dl (SD= 3.90), las vacas con 2 lactancias 13.82 mg/dl (SD= 4.09) y las vacas con 3 lactancias 13.63 mg/dl (SD= 4.21) (Acosta y Delucchi, 2002). En el presente ensayo, los valores de urea no se midieron.

Además de lo anteriormente expuesto hay que considerar otros factores, concentración de proteínas del lactosuero y calcio iónico. Según Negri (2009) las proteínas del lactosuero tienen correlación positiva con la estabilidad térmica, siendo mayor su concentración en las muestras de vacas multíparas. Considerando este concepto se calcularon en este experimento las medias de la concentración de proteínas de vacas y vaquillonas, respectivamente los valores obtenidos fueron 1,13 mg/dl y 1,03 mg/dl esto podría explicar en parte porqué las muestras de las vacas son más estables térmicamente. Con respecto al calcio iónico (Negri y col, 2001; Barros y col, 1999; Davies y White, 1958), observaron que la concentración de este mineral es mayor en leches de vaquillonas y tiene una correlación negativa con la estabilidad térmica. Los valores de urea así como los de calcio iónico de la leche en el presente ensayo no se midieron.

Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Mendoza, (2004) en el departamento de Colonia (Uruguay) el cual no detectó una diferencia en la estabilidad térmica en muestras obtenidas de vacas y vaquillonas.

De igual manera se evaluó la variable paridad con respecto a la estabilidad a alcohol para las dos diluciones utilizadas (1/1 y 2/1), determinando que el comportamiento inestable de la leche a la prueba del alcohol no se relaciona con la paridad de los animales. En consecuencia, se puede afirmar que la estabilidad de la leche a la prueba térmica y al alcohol tiene comportamiento diferente con relación a la variable paridad.

Al evaluar la variable período de lactación con respecto a la estabilidad térmica, se encontró que no existe relación entre ambas, estos resultados no coinciden con lo reportado por Taberna, Chávez y Costabel (2009), los cuales determinan en su ensayo un efecto estacional, planteando que las muestras de primavera se comportan de manera más inestable a la estabilidad térmica, correspondiendo en el presente ensayo la "primavera" con el tercer periodo de lactación. Este efecto estacional fue explicado por la mayor concentración de Ca iónico y menor concentración de proteínas del lactosuero en esta estación.

Paralelamente se evaluó el periodo de lactación con la estabilidad al alcohol para las dos diluciones, siendo las muestras de leche más inestables al final de la lactación, coincidiendo con lo reportado por Horne et al (1986), Davies y White (1958), Barros (1999), los cuales verificaron que la leche correspondiente a estos periodos (primer y tercero) mostraba una mayor inestabilidad al alcohol. Actualmente en el 2009. Taverna y col. demostraron el mismo comportamiento sin dar una explicación al mismo, que es explicado por Vennekool (1999), aseverando que este efecto puede acentuarse por el stress térmico y la mala alimentación que sufren las vacas en estos periodos.

Considerando el segundo objetivo del ensayo, se analizó si puede otorgarse algún efecto de los principales componentes de la leche (grasa, proteína y lactosa) sobre la estabilidad térmica durante toda la lactación.

En vista de los resultados obtenidos y comparándolos con los del ensayo realizado por Mendoza, (2008), se apreció la coincidencia de los mismos en que no se evidenció incidencia alguna de dichos componentes sobre la estabilidad térmica; no habiéndose encontrado trabajos que demuestren lo contrario. Debemos destacar que esta coincidencia mencionada es aparente, ya que los métodos estadísticos aplicados por Mendoza, (2008) son diferentes a los de este ensayo.

La explicación más adecuada para dichos resultados se puede encontrar en trabajos publicados anteriormente (Singh y Creamer, 1992) en los cuales a juicio de dichos autores son cuatro los factores que contribuyen a la estabilidad de la micela y pueden ser afectados por efectos del calor: repulsión electroestática de las cargas de la superficie o capas de la micela, efectos estéricos por la presencia de la pilosidad de la k-caseína, la cohesión interna de la micela dada por el fosfato de calcio coloidal e interacción hidrofóbica entre las caseínas que forman la micela.

De la misma manera realizamos el estudio de estas variables (grasa, proteína y lactosa) con respecto a la estabilidad al alcohol, para el componente grasa estadísticamente no se constató efecto significativo alguno sobre el comportamiento de las muestras frente a la prueba del alcohol en las dos diluciones utilizadas (1/1 y 2/1), $p > 0,05$, coincidiendo con trabajos realizados por Ponce et al. (2009), en los cuales al evaluar dicha variable (grasa) en diferentes condiciones experimentales no determinó en ningún momento un efecto sobre la estabilidad al alcohol.

Al analizar las proteínas, considerándolas como un todo y no separando cada fracción de las mismas, se constató estadísticamente ($p < 0,05$) un efecto sobre la estabilidad al alcohol en la dilución 2/1. Este efecto puede asociarse a la concentración de las proteínas en la leche, ya que las muestras que fueron positivas a la dilución 2/1y presentaron una media menor ($x = 3,01$ mg/ml) en comparación con las muestras que fueron positivas a la dilución 1/1, cuya media fue de $x = 3,12$ mg/ml. Este efecto del componente proteína con respecto a la prueba del alcohol ya se había mencionado en un trabajo reportado por Barros (2001), quién determinó que las proteínas junto con lo minerales, particularmente el calcio ionizado representan los factores más importantes que determinan la estabilidad de la leche frente a la prueba del alcohol, en el mencionado trabajo se analizaron la fracciones de proteínas por separado, encontrando que las más involucradas en este efecto son las caseínas (kappa y beta caseína).

También aquí se encontró un efecto estadístico ($p < 0,05$) del componente lactosa, pero en este caso fue para la prueba del alcohol en la dilución 1/1. Al analizar los valores medios de la concentración de lactosa, se determinó para las muestras positivas a la prueba del alcohol en la dilución 1/1 una media de 4,90 mg/ml la cual es mayor en comparación con

la media de las muestras positivas para la dilución 2/1 ($\bar{x}=4,69$ mg/ml). Estos resultados exponen que al presentar las muestras de leche mayor concentración de lactosa se comportan de manera más inestable frente a la prueba del alcohol, esto no coincide con lo reportado por Ponce, (2009), ya que en dichos trabajos el emplea el término de síndrome de leche anormal (SILA), donde las leches que se incluyen bajo esta denominación se caracterizan por tener un pH superior a 6,74 y concentraciones de lactosa, proteína, caseínas, fósforo y magnesio inferiores a lo normal.

Con respecto al tercer objetivo, el cual fue planteado por considerar a la prueba del alcohol, como una de las pruebas más utilizadas en nuestro medio para determinar la calidad higiénico sanitaria de la leche y predecir el comportamiento térmico de la misma, los resultados obtenidos en este trabajo demostraron estadísticamente ($p<0,01$) que la prueba del alcohol no es un predictor confiable de la estabilidad térmica. En Uruguay no existe referencia bibliográfica sobre el tema, pero en Argentina Chávez (2009), Negri y col. (2001) ya habían mencionado dicho concepto, así como lo publicaron también Horne y Muir (1990). La prueba del alcohol ha sido una manera de controlar a nivel de tambo la calidad de la leche producida, ya sea para la detección de leches con calostro o con altos niveles de mastitis, así como también para la determinación de leches con baja acidez, por todas estas funciones se considera a esta prueba como uno de los varios ensayos de calidad de leche requeridos para su procesamiento térmico. En los últimos años comenzó a ponerse en juicio esta asociación entre las pruebas ya que se han determinado leches de buena calidad-higiénico sanitaria y que frente a la prueba del alcohol se manifestaban de forma inestable.

Una de las posibles argumentaciones del porqué no puede utilizarse a la prueba del alcohol como un predictor confiable del comportamiento térmico, radica en el estudio de las variables que influyen a cada una de las mencionadas pruebas y en que ambas pruebas actúan por mecanismos diferentes. El K, Cl, Ca iónico y el conteo de células somáticas según la bibliografía son las variables que definen la estabilidad al alcohol; en cambio el Ca, P, Urea, pH, proteínas del lactosuero y el Ca iónico serían las variables que influyen en la estabilidad térmica.

10. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y a los resultados obtenidos se puede concluir que hubo variaciones de la estabilidad térmica con relación a varios de los factores estudiados.

Así:

1. El número de partos de las vacas lecheras fue una de las principales variables relacionadas con la estabilidad térmica: a medida que avanza el número de lactaciones la leche se hace más estable. El período de lactación no presentó relación con la estabilidad térmica.
2. Las variaciones de composición grasa, proteína y lactosa no afectaron la estabilidad térmica.
3. La prueba del alcohol no debe utilizarse como un predictor confiable del comportamiento de la leche a la estabilidad térmica a nivel de tambo. De la misma manera, la prueba del alcohol no es un criterio correcto para definir la aceptación o rechazo de las leches inestables a la prueba térmica a nivel de tambo.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta, Y (2002). Calidad de leche: Alimentación y sólidos en leche. Jornada de Lechería: 10 Años de Actividades del Laboratorio de Calidad de Leche, INIA La Estanzuela. Serie Actividades de Difusión N° 287, pp. 30-34.
2. Acosta, Y, Delucchi, I (2002). Determinación de urea en leche. Disponible en: www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/pol/2002/mun.pdf. Fecha de consulta: 20-03-2009.
3. Acuña, M (2009). Factores que afectan los resultados de la prueba del alcohol en leche cruda. 1ª Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 25 p.
4. Alais, C (1985). Ciencia de la leche. 2ª ed., Barcelona, Reverté, 873 p.
5. Amiot, J (1991). Ciencia y tecnología de la leche. Zaragoza, Acribia, 547 p.
6. Anison, E (1983). Metabolite utilization by the ruminants mammary gland. En Mepham, T. Biochemistry of Lactation, Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers, pp 399-436.
7. Bagnato, G, Bouvier, A, Zorrilla de San Martín, A (2007). Ensilaje de grano húmedo de maíz para producción de leche. Estrategias de utilización: Corrección proteica. Tesis de Grado de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República Oriental del Uruguay 90 p.
8. Bagnato, G (2008) Indicadores de precios de la leche y productos lácteos. OPYPA. Disponible en: www.portalechero.com. Fecha de consulta 15-03-08.
9. Barros, L, Denis, N, González, A, Núñez, A (1999) Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. Prácticas Veterinarias 9:315.
10. Barros, L, Denis, N, Núñez, A, González, O, Galain, C, De Torres E, González P (2000). Variaciones de la leche y prueba del alcohol. 28º Congreso Mundial de Buiatría, Punta del Este, Uruguay, 577p.
11. Barros, L, Ceretta, M E, González, P (2001) Determinación de fracciones proteicas de leche de tambo por electroforesis. 7ª congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, pp. 58-66.
12. Barros, L (2006). Trastornos metabólicos que afectan la calidad de la leche. Montevideo, Facultad de Veterinaria, 20p.
13. Barros, L (2009). El calcio iónico como responsable de la estabilidad de la leche. 1ª Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 10p.
14. Bath, D, Dickinson, I, Tucker, H, Appleman, R (1982). Ganado lechero; principios, practicas, problemas y beneficios. 2ª ed., México, Interamericana, 541p.
15. Cirio, A, Tebot, I. (2000). Fisiología metabólica de los Rumiantes. Publicaciones del Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria. Montevideo, 145p.
16. Chávez, M, Negri, L, Taverna, M, Cuatrín, A, Robert, L (2001). Factores que afectan el resultado de la prueba de alcohol en leches con bajos recuentos de bacterias viables. 24º Congreso de Producción Animal, INTA-Rafaela. Disponible en: www.inta.gov.ar. Fecha de consulta: 12-03-2007
17. Chávez, M, Cuatrín, A, Taverna, M, Rubiolo, A (2002). Aptitud de la prueba de alcohol para predecir la Estabilidad térmica de la leche cruda. Producción Animal, INTA-Rafaela, 22:398-399.
18. Chávez, M, Taverna, M, Negri, L, Charlon, V, Amherdt, P (2004). Estabilidad térmica al alcohol de leche cruda de tanque en relación con el ingreso al ordeño de vacas después del parto. Anuario de Producción Animal. INTA-Rafaela. Disponible en: www.inta.gov.ar. Fecha de consulta: 12-03-2007.

19. Chávez, M (2009). Relación entre estabilidad térmica y al alcohol. 1ª Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 14 p.
20. Chávez, M, Taverna, M, Negri, L, Costabel, L (2009). Factores que afectan la estabilidad térmica y al alcohol en leches de calidad higiénico-sanitaria. 1ª Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 26 p.
21. Chilbroste, P (2002). Integración de patrones de consumo y de oferta para Vacas Lecheras en Pastoreo durante el Período Otoño-Invierno. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 90-96.
22. Davies, D, White, J (1958). The relation between the chemical composition of milk and the stability of the casein complex. III. Coagulation by ethanol. J. Dairy Res. 25:256-266.
23. Davies, D, White, J (1966). The stability of milk protein to heat: 1. Subjective measurement of heat stability of milk. J Dairy Res 33:67–81.
24. Davis, C (1993). Alimentación de la vaca lechera alta productora. Illinois, Dundee. Milk Specialities Company. 60 p.
25. Delucchi, I, Mieres, J, La Manna, A (2002). Calidad de leche; alimentación y rendimiento de sólidos. En: Jornada de lechería (2002, La Estanzuela, Colonia). Montevideo, INIA, pp. 46-57.
26. Delucchi, I, (2009). Efectos de los distintos componentes de la leche sobre la estabilidad térmica: Cual es el grado de interferencia que podemos tener externamente sobre la leche producida. 1ª Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 11 p.
27. De Peters, E, Ferguson, J (1992). Non protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. J. Dairy Sci. 75; 3192-3209.
28. Disponible en: <http://www.semergen.es/semergen2/cda/documentos/calculadoras/-calc/calculadora.jsp?id=8987>. Fecha de consulta: 15-03-2009.
29. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Intolerancia_a_la_lactosa. Fecha de consulta: 15-03-2008
30. Domínguez P, Grau M (2003). La harina de pescado como suplemento proteico. Efectos sobre la producción y composición sobre la leche de vacas Holando. Tesis Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay, 114 p.
31. Donnelly, W, Horne, D (1986) Relationship between ethanol stability of bovine milk and natural variations in milk composition. J. Dairy Res. 50, 1:23-33.
32. Doreau, M, Chilliard, Y (1997). Digestion and metabolism of dietary fat farm animals. British J Nutr; 78:15-35.
33. Doreau, M, Ferlay, A (1994). Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants, Anim Feed Sci Tech; 45:379-396.
34. Drackley, J, Cicela, T, Lacount, D (2003). Responses of primiparous and multiparous Holstein cows to additional energy from fat or concentrate during summer. J. Dairy Sci. 86: 1306–1314.
35. Ernst, O (2004). Uso del suelo en los tambos relevados. Proyecto: "Interacción alimentación-reproducción" Informe final 2003. CONAPROLE. Área Producción lechera, 52 p.
36. Harfoot, C (1981). Lipid metabolism in the rumen. En: Schroeder G. Lipid Metabolism in Ruminant Animals. New York, Christie, pp. 21–56.
37. Hernández, A, Roura, N, Valentín, H (2008). Efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre la producción y reproducción en vacas Holando primíparas en

- pastoreo durante el periodo de transición. Tesis de grado de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica Oriental del Uruguay 46 p.
38. Hoden, A, Coulon, J, Faverdin, P (1990). Alimentación de vacas lecheras. En: González Cano, J. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. 2ª ed., Madrid, pp. 121-140.
 39. Hoover, W, Miller, T (1996) Feeding for maximum rumen function. Mid-South Ruminant Nutrition Conference proceedings, Ed. Jordan: 33-46.
 40. Horne, D, Parker, T (1981). Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. Effect of serum phase components. *J. Dairy Res* 48:273-284.
 41. Horne, D, Parker, T, Donnelly, W, Davies, D (1986). Factors affecting the ethanol stability of bovine skim milk. VII. Lactational and compositional effects. *J. Dairy Res* 53, 3: 407-417.
 42. Horne, D (1987). Ethanol stability of casein micelles- a hypothesis concerning the role of calcium phosphate. *J. Dairy Res.* 54:389-395.
 43. Horne, D, Muir, D (1990). Alcohol and heat stability of milk protein. *J Dairy Sci.* 73:3613-3626.
 44. Huber, J.T; Liming Kung, J.R (1981). Protein and non protein nitrogen utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64:1170-1195.
 45. Losada, H (1983). The digestion nutrient supply of fresh perennial ray grass and white clover feed to growing cattle. Ph. D. Thesis. S.I. University of Reading, 50p.
 46. Mahieu, H (1991). Factores que influyen en la composición de la leche. En: Luquet, F.M. Leche y productos lácteos vaca-oveja-cabra. Tomo 1, capítulo 3. Zaragoza, Acribia. pp. 117-173.
 47. Mattos R, Staples C, Arteche A, Wiltbank M, Diaz F, Jenkins T, Thatcher W (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF₂ α , Milk composition and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J Dairy Sci.* 87:921-932
 48. McDonald, P, Edwards, R, Greenhalgh, J, Morgan, C (1993). Nutrición animal. 3ª ed. Zaragoza. Acribia, 518 p.
 49. Mendoza, (2004). La semilla de girasol entera como suplemento para vacas lechera en pastoreo: efectos sobre la calidad de la leche, perfiles metabólicos y el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto. Tesis de Maestría, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay 25 p.
 50. Miller, P, Sommer, H (1940). The coagulation temperature of milk as affected by pH, salts evaporation and previous heat treatment. *J Dairy Sci.* 23:405-421.
 51. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. DIEA (2003). Dirección de Estadísticas Agropecuarias M.G.A.P. Montevideo, Uruguay. Disponible en: www.mgap.gub.uy. Fecha de consulta: 31-01-2008.
 52. Molina, L, González, R, Brito, C, Carrillo, B, Pinto, M (2001). Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Valdivia, Chile, 33:233-240.
 53. Negri, L, Chávez, M, Taverna, L, Roberts, L, Speranza, J (2001). Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. *Producción Animal*, INTA-Rafaela, 21:275.
 54. Negri, L, Chavez, M, Cuatrín, A, Taverna, M, Rubiolo, A (2002). Aptitud de la prueba del alcohol para predecir la estabilidad térmica de la leche cruda. *Anuario de Producción Animal*. INTA- Rafaela. 25º Congreso Argentino de Producción Animal, Buenos Aires. Disponible en: www.inta.gov.ar . Fecha de consulta: 12-03-2007.
 55. Negri, L, Chávez, M, Taverna, M, Cuatrín, A, Rubiolo A (2003). Determinación de

- las variables que afectan la estabilidad térmica de la leche utilizando un método capilar para evaluar el tiempo de coagulación por calor. *Producción Animal*, INTA-Rafaela, 22:33-44.
56. O'Brien, B, Dillon, P, Murphy, J, Mehra, R, Guinee, T, Connolly, J, Kelly, A, Joyce, P (1999). Effects of stocking density and concentrate supplementation of grazing dairy cows on milk production, composition and processing characteristics. *J Dairy Res* 66:165-76.
 57. O'Connell, J, Fox, P (2002). Heat stability of milk and heat induced changes. En P Fox and P Mc Sweeney. *Advanced Dairy Chemistry I. Proteins*. 3^a ed. Kluwer, NY, pp. 1331-1334.
 58. Oldham, J.D; Sutton, J.D (1983). Composición de la leche y la vaca de alta producción. En: Broster, W.H; Swan, H. (eds.). *Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción*. México, AGT. pp. 84-108.
 59. Owens, F, Zinng, R (1988). Protein metabolism of ruminant animals. En: Church, D.C. (Eds.). *The ruminant animal; digestive physiology and nutrition*. New Jersey, Prentice Hall. pp. 227-249.
 60. Páez, R, Taverna, M, Cuatrín, A, Negri, L, Charlon, V (2001). Efecto del recuento de células somáticas y de bacterias totales sobre la concentración de ácidos grasos libres y la relación caseína/proteína verdadera en leche de tambo. *Anuario de Producción Animal*, INTA-Rafaela, 21:170.
 61. Palmquist, D, Jenkins T (1980). Fat in lactation ration: Review. *J. Dairy Sci.* 63:1-14.
 62. Palmquist, D, Beaulieu, A, Barbano, D (1993) Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J Dairy Sci.* 76:1753-1771.
 63. Parker, T, Horne, D, Dalgleish, D (1979). Theory for the heat-induced coagulation of a type A milk. *J Dairy Res* 46:377-380.
 64. Pierre, A (1985). Étude de la stabilité du lait à l'alcool. Solubilité du phosphate et du calcium du lait en présence d'alcool. *Le Lait*, 65:201-212.
 65. Ponce, P, Ponce, G, A (2009). Síndrome de leche anormal: Un enfoque integral sobre las alteraciones en las características físico-químicas de la leche en las condiciones de cuba. 1^a Conferência Internacional sobre Leite Instável, EMBRAPA Clima Temperado - UFRGS, Pelotas, RS – Brasil, 13p.
 66. Rearte, D (1992). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Buenos Aires, Centro Regional Sur., 94 p.
 67. Rook, J, Thomas, P (1985). Ensilaje para la producción de leche. S.I, Nird. 176 p.
 68. Shilton, N, Johnson, A, Lewis, M (1992). An investigation of a possible relationship between the ethanol stability of milk and the fouling of milk in an ultra high temperature process. *J Soc Dairy Tech.* 45:9-10
 69. Singh, H, Creamer, L (1992). En: *Advanced Dairy Chemistry. 1. Proteins.* (ed). P Fox. Elsevier Appl. Science, London, 621-656.
 70. Smith, K, Hillerton, J, Harmon, J (2001). National Mastitis Council guidelines on normal and abnormal raw milk based on somatic cell counts and signs of clinical mastitis.
 71. Spreer, E (1991). *Lactologia Industrial*. 2^a ed. Zaragoza. Acribia, 117 p.
 72. Sutton, J, Oldham, J, Hert, I (1980). Products of digestion, hormonal and energy utilization in milking cows given concentrate containing varying proportions of barley or maize. En: Mount, L. (ed). *Energy metabolism*. London, Butterworth. pp. 303-306.
 73. Sweetsur, A, White, J (1974). Studies on the heat stability of milk protein. Interconversion of type A to type B milk heat stability curves. *J. Dairy Res.* 41:349-358.

74. Taverna, M, Páez, R, Chávez, M, Charlon, V, Quaino, O (2001). Efecto de distintos grupo de ordeño sobre la concentración de ácidos grasos libres en la leche y su evolución durante la conservación. Anuario de Producción Animal, INTA-Rafaela.
75. Thomson, D, Beever, D, Haimes, M, Cammell, S, Evans, R, Dhanoa, M, Austin, A (1985). Yield and composition of milk from Friesian cows grazing either perennial ray grass or white clover in early lactation. J. Dairy Res. 52:1731.
76. Van Soest, P (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant Comstock Publishing Associates. Ithaca (New York), Cornell University Press 476 pp.
77. Varnam, A, Sutherland, J (1994). Leche y productos lácteos. Zaragoza, Acribia, 461p.
78. Vennekool, M, V (1999). Leche inestable, proteína inestables o sila, un problema complejo. Hoard 's Daryman en español; Mexico; V 6, 404 pp.
79. Vidal, M. (2007). Producción lechera: Situación y perspectivas. Disponible en: www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/anuario06/docs/08-producci%C3%B3n_lechera_vidal.pdf. Fecha de consulta: 03-05-2009.
80. Visser, H (1984). Krachtvoer voor hoogproductief melkvee runtsouen met snijmais. Bedrij Fsontwikkeling. 15:383- 389.
81. Yousef, I, Huber, J, Emery, R (1970). Milk protein synthesis as affected by high-grain, low-fiber rations. J. Dairy Sci. 53:734.

12. ANEXO

meses		alcohol 1:1 (+)	alcohol 1:1 (-)	alcohol 2:1 (+)	alcohol 2:1 (-)	prot x (mg/ml)	grasa x (mg/ml)	lactosa x (mg/ml)	establ	inestabl
3	vaca	0	20	1	19	3,04	3,37	4,92	-	-
	vaquillona	2	25	4	23	3,03	3,5	4,91	-	-
4	vaca	1	20	1	20	3,01	3,96	4,98	4	16
	vaquillona	0	28	0	28	2,92	3,44	4,97	4	24
6	vaca	0	20	0	20	3,06	3,82	4,92	4	16
	vaquillona	1	27	1	27	2,98	3,61	4,84	0	28
7	vaca	0	20	0	20	2,89	3,5	4,88	0	20
	vaquillona	1	27	1	27	2,84	3,41	4,86	5	23
8	vaca	1	19	3	17	3,14	3,29	4,83	5	15
	vaquillona	3	25	3	25	3,07	2,94	4,84	1	27
9	vaca	1	19	3	17	3,15	2,93	4,97	0	20
	vaquillona	1	27	3	25	3,14	3,34	4,98	0	28
10	vaca	3	17	4	16	3,16	3,35	4,9	17	3
	vaquillona	8	20	10	18	3,15	3,39	4,91	3	25

Cuadro 1. Datos obtenidos durante el ensayo utilizados para los diferentes cálculos estadísticos (Prot., grasa; lactosa; x= medias de los diferentes componentes de la leche; establ.= estables; inestable= inestables).

	Vacas	Vaquillonas
X anuales	1,016	1,003

Cuadro 2. Medias anuales de la concentración de proteínas del lactosuero para vacas y vaquillonas.