
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**ESTUDIO COMPARATIVO DE COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LECHE (CABRA Y VACA)
EMPLEANDO 3 MÉTODOS DE HIDROLISIS PROTEICA**

POR:

ADELA NAZARETH GARCÍA SÁNCHEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2015

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO



DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ESTUDIO COMPARATIVO DE COMPOSICION QUIMICA DE LECHE (CABRA Y VACA) EMPLEANDO 3 METODOS DE HIDROLISIS PROTEICA

PRESENTADO POR:

ADELA NAZARETH GARCIA SANCHEZ

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para Obtener el título de:

INGENIERA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

El presente trabajo ha sido dirigido por el siguiente comité:

Asesor Principal

Coordinador de Ciencia Animal



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO



DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ESTUDIO COMPARATIVO DE COMPOSICION QUIMICA DE LECHE (CABRA Y VACA) EMPLEANDO 3 METODOS DE HIDROLISIS PROTEICA

PRESENTADO POR:

ADELA NAZARETH GARCIA SANCHEZ

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para Obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

El presente trabajo ha sido dirigido por el siguiente comité:

Asesor Principal

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Asesor

M.C. Gustavo López Guarín

Asesor

Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor

Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

ii

**“Descubrí, aunque inconsciente e incesablemente, que el placer de observar y
razonar era mayor que el que reside en tantas otras cosas...”**

Charles Darwin

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa.”

Mahatma Gandhi

DEDICATORIAS

“A ti madre que eres capaz de dar todo por mí, sin recibir nada. De quererme con todo tu corazón sin esperar nada a cambio. De invertir todo un proyecto en mí, sin medir la rentabilidad que te aporte. A ti que sigues teniendo confianza en mí cuando todos los demás la han perdido. ” Porque siempre has sido el pilar de la familia, te amo mami, porque se lo que sacrificas por nosotras, eres una guerrera con una voluntad implacable, no comprendo cómo es que eres, como eres, me hubiera gustado ser más como tu; pero a pesar de ello, sé que siempre estas feliz, de tener una hija medio extraña, que te demuestra que todo lo que te ha prometido, lo puede lograr, y algún día podrá darte la felicidad que siempre has merecido.

A todas mis hermanas, que siempre he querido con toda mi alma! A pesar de nuestras diferencias, siempre han estado conmigo impulsándome a seguir adelante... Todas de alguna forma diferente, pero siempre presentes, gracias cerdiin, gracias piniyo, gracias Bere, gracias pity. No olvidando a mis grandiosos sobrinos! Que me comparten de una felicidad limpia y pura!... gracias meliisiiita y gracias bollo.

A mi papa que fue un apoyo para que terminara mis estudios, y que a través de los años, en especial en mi infancia me ha enseñado infinidad de saberes, los cuales de alguna u otra manera influyeron para que escogiera esta carrera como profesión, gracias papa por darme toda la fruta para mis prácticas.

Perrin te conocí al inicio de toda esta historia...! Y hemos formado otra historia..! A pesar de toooooo lo ocurrido en este capítulo de vida, estoy segura de que hacemos un muy buen equipo...!! Gracias por toda la ayuda, entendimiento y buenas vibras. Estoy segura esto es solo, el comienzo de algo mejor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia, por haberme motivado día con día a realizarme de una manera profesional apoyándome en todos los aspectos que siguieron tras esta decisión en mi vida. El camino fue difícil, los obstáculos fueron en todo momento, la vida me golpeaba a cada momento, una y otra vez sin cesa, pues verdaderamente fue una etapa difícil. Sin embargo siempre tuve una mano para sostenerme, una palabra de aliento, un taco en la boca, la manera de llegar a la bendita narro; pese la corta distancia que hay entre mi hogar y la universidad. Gracias por eso y por cada cosa que me brindan, cada momento que me regalan, cada lección que me enseñan con su manera de concebir la vida.

A mis familiares y amigos que me apoyaron de alguna manera en la trayectoria de este capítulo de mi vida.

Fue agradable compartir vivencias con cada uno de ustedes, a pesar de la gran diversidad de personalidades, gustos y maneras en que nos relacionamos y convivimos fue grato el haber conocido a quienes verdaderamente estuvieron conmigo.

A Beto quien me hablaba cada mañana alegrándome el día con su cotorreo!!!, parte de la universidad no hubiese sido igual sin ti pequeño plumífero.

A los maestros que desde pequeña me motivaron igualmente a seguir estudiando y a los que realmente me compartieron sus conocimientos; de igual manera agradezco a todos aquellos que me subestimaron por ser diferente, pues me impulsaron a demostrarles que la apariencia y los gustos de una persona no son una limitante para que un individuo se supere.

A la doctora Ana Verónica Charles, quien me abrió puertas y posibilidades académicas, además de instruirme en la etapa final de este recorrido que termina para dar comienzo a una nueva etapa en mi senda. De igual manera se merece su agradecimiento la laboratorista Maricela Lara López que contribuyó a la realización de mis prácticas.

A todos aquellos que hicieron y hacen posible el funcionamiento de esta casa de estudios superiores, sus instalaciones y espacios son algo genial... no por el cuidado excepcional de sus jardines y alrededores, si no por el modo natural tipo salvaje en que se encuentran dejando un agradable sabor a rancho a quienes la conocen o la visitan; Haciendo énfasis especial a el alemán, que fue mi refugio por largo tiempo y que me acogió infinidad de ocasiones!!!

RESUMEN

En México, la leche fluida destinada al consumo humano debe ajustarse a las normas de calidad fisicoquímica establecidas, donde existen varios factores que la determinan, entre los que destacan el genotipo del animal y el sistema de producción. Los objetivos del estudio fueron evaluar la calidad fisicoquímica de 2 tipos de leche en estabulación en el norte de México; estimando los parámetros de cuantificación de proteína, así como un análisis microbiológico.

Durante 2 semanas, se colectaron cada 2 días muestras de leche de los ordeños matutinos de vacas y cabras individuales de los hatos muestreados, y se analizaron para determinar los porcentajes de proteína (caseína). Seguido de un análisis de determinación de proteína utilizando el método de kjeldahl, evaluando tres métodos de hidrólisis distintos, los cuales fueron: Hidrólisis Química, empleando ácido cítrico. Hidrólisis Física, aplicando tratamiento térmico, en distintas formas; esterilización y microondas.

Los resultados en porcentaje del contenido proteico no mostraron una diferencia significativa, sin embargo en el análisis microbiológico demostró que aplicando el tratamiento de microondas en leche de cabra se logra reducir, un ciclo logarítmico de crecimiento bacteriano, en comparación con los 2 tratamientos restantes. Por otra parte la aplicación de ácido cítrico en leche de vaca demostró también un cambio significativo, reduciendo un ciclo logarítmico en la carga total microbiana.

PALABRAS CLAVE: Leche, Hidrólisis, Proteínas, Tratamiento Térmico, Ácido Cítrico, Hidrolizado.

Correo electrónico; Adela Nazareth Garcia Sanchez, nazareth_gs@hotmail.com

CONTENIDO

1. INTRODUCCION	¡Error! Marcador no definido.
1.1 ANTECEDENTES	¡Error! Marcador no definido.
1.1.1 CONSUMO DE DIFERENTES TIPOS DE LECHE.	¡Error! Marcador no definido.
1.1.2. PRODUCCIÓN MUNDIAL DE LECHE.	¡Error! Marcador no definido.
1.1.3 PROTEÍNAS HIDROLIZADAS.	¡Error! Marcador no definido.
1.2 OBJETIVOS	¡Error! Marcador no definido.
1.2.1 OBJETIVO GENERAL	¡Error! Marcador no definido.
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	¡Error! Marcador no definido.
1.3 HIPOTESIS	4
1.4 JUSTIFICACION	¡Error! Marcador no definido.
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	¡Error! Marcador no definido.
2.1 DEFINICIÓN Y CONSTITUCIÓN DE LA LECHE	5
2.2 COMPONENTES DE LA LECHE	¡Error! Marcador no definido.
2.2.1 AGUA	¡Error! Marcador no definido.
2.2.2 SÓLIDOS TOTALES	¡Error! Marcador no definido.
2.2.3 PROTEÍNAS	¡Error! Marcador no definido.
2.2.4 PROTEÍNAS LÁCTEAS: CASEÍNAS, PROTEÍNAS DEL SUERO Y PROTEÍNAS MINORITARIAS.	13
2.3 FACTORES QUE MODIFICAN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE	15
2.3.1 FACTORES NUTRICIONALES	16
2.3.2 CONSUMO DE ENERGÍA Y PROTEÍNA	17
2.3.3 CONSUMO Y COMPOSICIÓN DEL CONCENTRADO	18
2.3.4 RELACIÓN FORRAJE CONCENTRADO	20
2.4 FACTORES NO NUTRICIONALES	21
2.4.1 RAZA	21

<u>2.4.2 DIFERENCIACIÓN CELULAR</u>	22
<u>2.4.3 FRECUENCIA DE ORDEÑO</u>	22
<u>2.4.4 NÚMERO DE PARTOS</u>	23
<u>2.4.5 ÉPOCA DEL AÑO Y EFECTO DE HATO</u>	24
<u>2.4.6 ENFERMEDADES</u>	24
<u>2.5 MÉTODOS DE HIDROLISIS EN LA LECHE</u>	25
<u>2.5.1 HIDROLISIS ACIDO- BASE</u>	25
<u>2.5.2 HIDROLISIS EN QUÍMICA ORGÁNICA</u>	25
<u>2.5.3 HIDRÓLISIS DE AMIDAS Y ÉSTERES</u>	26
<u>2.6 CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS, POR EL MÉTODO DE BIURET</u>	26
<u>3. MATERIALES Y METODOS</u>	28
<u>3.1 ANIMALES Y UBICACIÓN</u>	28
<u>3.2 TOMA DE MUESTRAS DE LECHE</u>	29
<u>3.3 MÉTODO DE HIDROLISIS</u>	30
<u>3.3.1HIDROLISIS QUÍMICA</u>	30
<u>3.3.2 HIDROLISIS FÍSICA (PROCESO TÉRMICO)</u>	30
<u>3.3.2.1 ESTERILIZACIÓN:</u>	30
<u>3.3.2.2 MICROONDAS:</u>	30
<u>3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</u>	30
<u>3.5 ANÁLISIS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE KJELDAHL</u>	32
<u>3.6 ANÁLISIS DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BIURET.</u>	32
<u>4. RESULTADOS Y DISCUSION</u>	33
<u>4.1 MÉTODOS DE HIDROLISIS</u>	33
<u>4.1.1 EFECTOS DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA LECHE (HIDROLISIS FÍSICA)</u>	33
<u>4.1.2 EFECTOS DEL TRATAMIENTO QUÍMICO SOBRE LA LECHE (HIDROLISIS QUÍMICA)</u>	33
<u>4.2 MICROBIOLÓGICO</u>	34
<u>4.3 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE KJELDAHL</u> ...	41
<u>4.3.1 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE BIURET.</u>	41

5. CONCLUSIONES	47
6. BIBLIOGRAFIA	48

INDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA 1. PRESENTA ALGUNOS DATOS PUBLICADOS POR LA FAO (FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION) DE LA PRODUCCIÓN MUNDIAL DE LA LECHE. ¡Error! Marcador no definido.</u>	
<u>FIGURA 2. PRINCIPALES COMPONENTES DE LA LECHE. FUENTE: ADAPTADO DE MILLER ET AL., 2007. ¡Error! Marcador no definido.</u>	
<u>FIGURA 3: REACCIÓN DE BIURET</u>	27
<u>FIGURA 4. MATERIALES UTILIZADOS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</u>	31
<u>FIGURA 5. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO COMPARATIVO DE 3 MÉTODOS DE HIDRÓLISIS EN LECHE DE CABRA.</u>	34
<u>FIGURA 6. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO COMPARATIVO DE 3 MÉTODOS DE HIDRÓLISIS EN LECHE DE VACA.</u>	35
<u>FIGURA 7. COMPARACIÓN GRAFICA DE PORCENTAJE DE ACIDEZ EN AMBAS MUESTRAS</u>	42
<u>FIGURA 8. COMPARACIÓN GRAFICA DE PH OBTENIDO EN AMABAS MUESTRAS</u>	43
<u>FIGURA 9. COMPARACIÓN GRAFICA DE °DORNIC, PRESENTES EN AMBAS MUESTRAS</u>	44
<u>FIGURA 10. COMPARACIÓN GRÁFICA DEL CONTENIDO EN PORCENTAJE DE CASEÍNA</u>	45
<u>FIGURA 11. COMPARACIÓN GRAFICA DE CONTENIDO PROTEICO EN LOS DOS TIPOS DE LECHE EVALUADOS.</u>	46

ÍNDICE DE CUADROS

<u>CUADRO 1. COMPARTIMIENTOS Y CONSTITUYENTES DE LA LECHE</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>CUADRO 2. COMPARTIMIENTOS Y CONSTITUYENTES DE LA LECHE (2)</u>	8
<u>CUADRO 3. FRACCIONES PROTEICAS DE LA LECHE DE VACA</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>CUADRO 4. CONSTITUYENTES DE LA LECHE</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>CUADRO 5. PROTEÍNAS LÁCTEAS.</u>	14
<u>CUADRO 6. NÚMERO Y GENOTIPO DE ANIMALES EMPLEADOS EN EL ESTUDIO</u>	28
<u>CUADRO 7. MICROORGANISMOS PRESENTES EN LECHE DE CABRA EN UFC/ML</u>	36
<u>CUADRO 8. MICROORGANISMOS PRESENTES EN LECHE DE CABRA EN UFC/ML</u>	37
<u>CUADRO 9 .MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE MICROORGANISMOS CULTIVADOS EN LECHE DE CABRA Y VACA</u>	38

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1. Consumo de diferentes tipos de leche.

El consumo regular de leche animal se remonta a la época en que el hombre dejó de ser nómada y comenzó a domesticar animales (principalmente cabras y ovejas) que pudieran satisfacer sus necesidades de alimentación y vestido (6000 años antes de cristo).

Bajo relieves descubiertos en las proximidades de Ur. (Antigua caldea) demuestran que hacia los 3500 años antes de cristo, el hombre ya realizaba el ordeño de vacas y separaba la grasa de la leche.

Posteriormente (unos 400 años antes de cristo), los griegos dieron uso medicinal a la leche de vaca, la cual era recetada como antídoto para casos de envenenamiento; similarmente, los romanos consideraban que la leche poseía propiedades rejuvenecedoras; en Egipto se le daba uso cosmético haciendo referencia a los baños de leche de burra que tomaba Cleopatra.

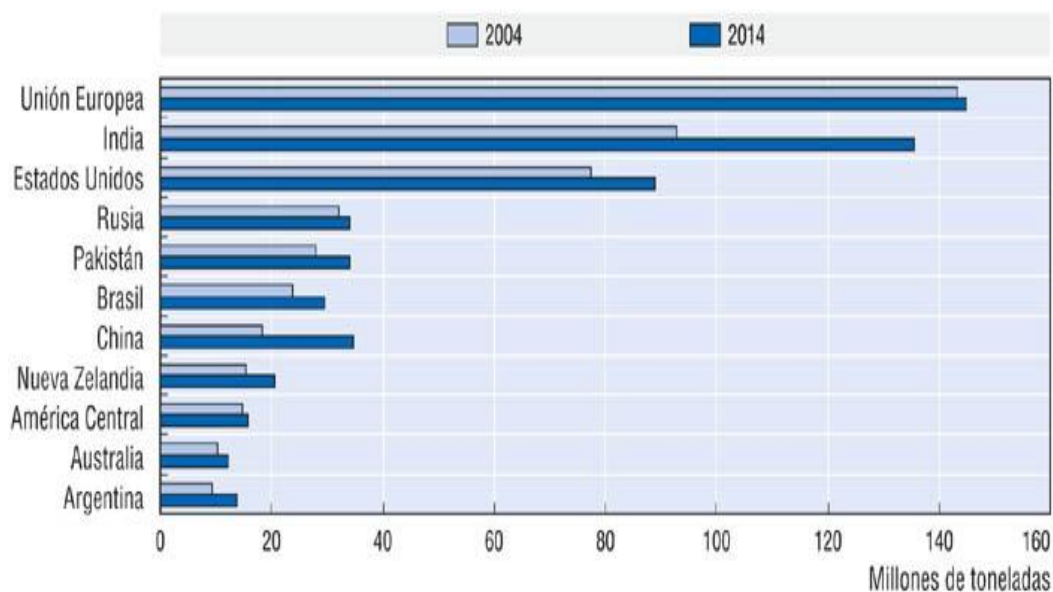
Ya en la edad media, el consumo de leche en Europa se concentraba en el medio rural, y era prácticamente reservado para las sirvientas y artesanos.

Durante la revolución industrial (siglo XIX) la leche deja de ser un alimento exclusivo de las áreas rurales y pasa a consumirse también en las ciudades. Años más tarde, el francés Nicolás Appert realizó los primeros ensayos de conservación de la leche mediante esterilización, y en 1835 el inglés William Newton consiguió conservar la leche mediante calentamiento a temperaturas menos elevadas que las usadas en la esterilización, agregándole azúcar; este procedimiento dio origen 20 años más tarde a la primera fábrica de leche concentrada de azucarada.

Fue hasta mediados del siglo XIX (1864) que los descubrimientos de Louis Pasteur representaron la primera victoria de la ciencia contra la acción de toxinas y microorganismos; y en el siglo XX, se introdujo la cadena de frío y se manejaron las técnicas de conservación y de transformación, que han hecho de la leche una de las más importantes industrias alimentarias en el mundo.

1.1.2. Producción Mundial de leche.

Los datos de la producción mundial de leche son muy variados; se estima que la producción mundial de leche alcanzo unos 415mil millones de toneladas, en el año 2005, siendo los 25 países de la unión Europea, los que concentran el mayor volumen de producción, con un 31% del total. Estados Unidos es considerado el país que produce más leche con cerca de 83 millones de toneladas, la cual significa el 19% de la producción global. Las estadísticas del sector lácteo reportan que el continente asiático registra uno de los cambios más importantes destacándose la China, que incremento su producción de leche en un 24% y conjuntamente con India representan al 16% del volumen mundial. En américa del sur, el principal productor de leche es Brasil con cerca de 25 millones de toneladas anuales, alcanza la autosuficiencia en materia láctea (la figura 1) presenta algunos datos publicados por la FAO (*Food and Agricultural Organization*) de la producción mundial de la leche.



FAO (Food and Agricultural Organization) 2004-2014

Figura 1. Presenta algunos datos publicados por la FAO (*Food and Agricultural Organization*) de la producción mundial de la leche.

1.1.3 Proteínas hidrolizadas.

Las alergias y las reacciones a los alimentos son frecuentes y pueden estar relacionadas con los alimentos, incluidas las fórmulas de leche modificadas. Se han utilizado fórmulas que contienen proteínas hidrolizadas para el tratamiento de lactantes con alergia o intolerancia alimentaria. Sin embargo, no está claro si se puede defender el uso de la fórmula hidrolizada para prevenir la alergia o la intolerancia alimentaria en lactantes sin evidencia de alergia.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- Realizar un estudio comparativo de la composición química en dos tipos de leche (Cabra y Vaca) empleando 3 métodos de hidrolisis proteica.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar 3 métodos de hidrolisis proteica en 2 tipos de leche: vaca y cabra que se encuentran estabuladas en el norte de México.
- Efectuar un análisis microbiológico.
- Estimar porcentaje de proteínas presentes en ambas muestras.

1.3 HIPÓTESIS

Es posible hidrolizar la proteína de la leche (cabra y vaca) por medio de una hidrólisis química y otra física.

1.4 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se necesitan proporcionar métodos sencillos para hidrolizar la proteína de cualquier tipo de leche existente.

La esencia de la hidrólisis proteica es la rotura del enlace peptídico, y en consecuencia la generación de péptidos de menor tamaño o incluso de aminoácidos libres. La rotura de estos enlaces puede producirse por métodos químicos y físicos. Los primeros incluyen la hidrólisis mediante el tratamiento con ácidos y bases. Hoy en día apenas se utiliza la hidrólisis química debido a sus efectos perjudiciales sobre la calidad nutricional del hidrolizado, ya que se destruyen L-aminoácidos, se forman D- aminoácidos y compuestos tóxicos como Lisinoalanina. Por otro lado, los métodos físicos conducen la hidrólisis por medios alternativos al proceso térmico convencional.

Una de las aplicaciones más importantes de los hidrolizados de proteína es su utilización como fuente de nitrógeno en la formulación de dietas enteras con destino a la alimentación infantil y/ o de adultos enfermos. Estas dietas entéricas se diseñan para ser absorbidas en el intestino sin una digestión previa en el estómago y son esenciales en el tratamiento de pacientes con desordenes estomacales o problemas de la mucosa intestinal, así como en lactantes con síndromes de malabsorción- malnutrición, con cuadros alérgicos en la mayoría de los casos (Lebenthal 1983).

En cuanto a los dos tipos de leche más allá de sus posibilidades económicas y de su uso para llenar las necesidades nutricionales diarias, la leche de cabra posee cualidades que la hacen apropiada para niños, adultos y madres que amamantan, entre las que se puede citar sus propiedades nutracéuticas y anti alérgicas (Gilbere y Hom 2002). En niños que presentan malnutrición por mala alimentación o lactancia deficiente, la leche de cabra ha demostrado ser un sustituto superior a la leche de vaca (*Bos taurus*) (Gilbere y Hom 2002; Capra 2004). No obstante, los pediatras no la recomiendan como sustituto total de la leche materna en infantes menores de un año

dado su alto nivel proteico y mineral, y por su bajo contenido de carbohidratos, ácido fólico y vitaminas C, D, E, B₆ y B₁₂ (Darnton *et al.* 1987). Y la leche de vaca es un alimento de primera necesidad. De gran demanda por su alto valor nutricional que se refleja en sus componentes, es considerada un alimento básico.

Los hidrolizados proteicos también tienen aplicaciones no alimentarias, como fuente de fermentación para el crecimiento de microorganismos, como son los hidrolizados de levaduras o caseína que todos conocemos. También se usan en cosmética para el tratamiento del cabello ya que se ha sugerido su efecto en el fortalecimiento del pelo. Así mismo, también se usan como fertilizantes vegetales.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definición y constitución de la leche

La leche es un fluido complejo que contiene diversos tipos de moléculas; sus principales constituyentes son agua, lípidos, azúcares y proteínas, en conjunto con otros elementos traza como minerales, vitaminas, hormonas y enzimas (Thompson *et al.*, 2009).

La leche se define como el producto normal de la secreción de la glándula mamaria, de composición compleja, de color blanquecino y opaco, con un pH cercano a la neutralidad, de sabor dulce y libre de calostro (Wattiaux, 2011).

De acuerdo al uso final que se le dé, hay varias definiciones de leche. Desde el punto de vista dietético la leche es un alimento completo ya que contiene aminoácidos esenciales (Walstra *et al.*, 2006), es fuente de calcio, fósforo, vitaminas liposolubles e hidrosolubles y proporciona un aporte importante de lípidos y lactosa, que en conjunto constituyen una importante fuente energética para quien la consume (Agudelo y Bedoya, 2005).

La definición química de la leche es la de un fluido complejo formado por agua y sólidos totales que están constituidos por miles de moléculas diversas (Neville, 1995).

Físicamente la leche es más bien una emulsión combinada con una fase coloidal en dispersión en la que la fase continua es una solución (Sherbon, 1999).

Biológicamente la leche es el producto de la secreción de las glándulas de las hembras mamíferas, cuya función natural es crucial para la sobrevivencia y alimentación de los recién nacidos (Keenan y Patton, 1995).

Científicamente la leche se define como la secreción de la glándula mamaria de los mamíferos que tiene un pH entre 6.5 y 6.7 (Fox, 2002); es una emulsión de grasas en agua, estabilizada por una dispersión coloidal de proteínas en una solución de sales, vitaminas, péptidos, lactosa, oligosacáridos, caseína y otras proteínas (Sherbon, 1999). La leche también contiene enzimas, anticuerpos, hormonas, pigmentos (e.g. carotenos, xantofilas, riboflavina), células (e.g. epiteliales, leucocitos, bacterias y levaduras), CO₂, O₂ y nitrógeno (Fox, 2002), por lo que se concluye que la leche constituye un sistema complejo (Neville, 1995). Legalmente se define como leche, al producto destinado para consumo humano, proveniente de la secreción natural de las glándulas mamarias de vacas sanas ((LICONSA, 2007; SAGARPA, 2009), excluyendo el producto obtenido 15 días antes y 5 días después del parto, sin haber sufrido ningún proceso industrial (NOM-024-ZOO- 1995). No debe contener sustancias extrañas a su composición natural, tales como bactericidas, bacteriostáticos, preservativos químicos o biológicos, antibióticos o sustancias tóxicas (LICONSA, 2007). La leche producida por otras especies se designará indicando el nombre de la especie correspondiente. Por ejemplo, leche de oveja, leche de cabra, etc. (Agudelo y Bedoya, 2005). La leche se integra por tres sistemas o fases donde encontramos a los constituyentes principales, junto con otras muchas sustancias que se presentan en solución, suspensión o emulsión en agua (Cuadro 1).

La fase de solución está constituida por lactosa, proteínas séricas, minerales y vitaminas hidrosolubles. En la suspensión coloidal están presentes algunas de las proteínas de la leche, como la caseína, dentro de gran número de macropartículas o micelas, que no se sedimentan salvo que sufra alteraciones térmicas importantes (Thompson et al., 2009). Las grasas y vitaminas liposolubles forman la fase de emulsión dentro de diversos glóbulos que impiden que se mezclen con el agua (Jensen et al., 1991).

Cuadro 1. Compartimientos y constituyentes de la leche

COMPARTIMIENTOS	LECHE BOVINA %	CONSTITUYENTES
Fase Acuosa	87	
Cenizas (1nm)	0.7	Ca, Mg, PO ₄ , Na, K, Cl, CO ₂ , Citrato y Caseína
Proteínas del Suero (3 a 9nm)	0.6	α-lactoalbúmina, lactoferrina, inmunoglobulinas (IgA), Lisozimas y Seroalbúminas (20% del total de N)
Azucares	4.7	Lactosa (4.6%) y oligosacáridos (0.1%)
NNP ¹	30mg N DI ⁻¹	Componentes de nitrógeno no proteico: glucosamina, urea, aminoácidos (5%del total de N)
Vitaminas		Misceláneos: Complejo B, ácido ascórbico.
Dispersión Coloidal	2.6	Caseína: α-, β-, κ-, Ca, PO ₄
11 a 55nm 10 ¹⁵ /dL		Glóbulos Grasos: Triglicérols, vitaminas liposolubles, ésteres de colesterol.
Emulsión	3.9	
Glóbulos de Grasa 4 μm, 1.1x10 ¹⁰ /dL		Membranas de glóbulos de grasa-proteína, fosfolípidos, colesterol, enzimas y minerales traza.
Membrana de glóbulos de grasa	2% del total de la grasa	
Células 8-40μm 10 ⁴ a 10 ⁵ /DI		Macrófagos, Leucocitos (neutrófilos, linfocitos) y células epiteliales

NNP= nitrógeno no Proteico

Fuente: Jerson et al. (1991) Cuadro 1. Compartimientos y constituyentes de la leche

2.2 Componentes de la leche

La leche entera (Figura 1) está constituida por alrededor del 88% de agua y contiene en promedio 12% de sólidos totales (Jenkins y McGuire, 2006). Se le han identificado más de 100 diferentes componentes que resultan relevantes para la nutrición humana, tal es el caso de las vitaminas (D, A, B12), los minerales (Ca, K y P), las proteínas (caseína) y otros factores benéficos para la salud (ácidos grasos omega 3 y 6) (Miller et al., 2007).



Figura 2. Principales componentes de la leche.

Fuente: Adaptado de Miller et al., 2007.

Existen varios factores que influyen en la composición de la leche (Figura 2), tales como, la genética, la raza, la etapa de lactancia, el número de parto, la dieta (cantidades de granos o forrajes), el estado nutricional de la vaca y la época de parto (Jenkins y McGuire, 2006; Tyler y Ensminger, 2006; Thompson et al., 2009; Wattiaux, 2011). Sin embargo, dicha condición se neutraliza al juntar diferentes leches en el tanque de recibo o pipas de transporte, y durante el proceso de homogenización (Jensen et al., 1991; Fox, 2002).

Cuadro 2. Compartimientos y constituyentes de la leche (2)

COMPONENTE	ENTERA
Agua%	88.30
Proteína%	3.20
Grasa%	3.20
Ceniza%	0.70
Carbohidratos%	4.50
Energía,kcal/100g	60.00
Colesterol mg/100g	10.00
Ácidos grasos % total	
• saturados	64.90
• mono insaturados	28.30
• poli insaturados	6.80

Fuente: Jenkins y Mc Guire (2006)

Existen cambios en la composición de la leche durante el progreso de la lactancia. El calostro es la secreción de la glándula mamaria inmediatamente después del parto; es un fluido que contiene altos niveles de proteína sérica e inmunoglobulinas (Huppertz y Kelly, 2009). La leche de hembras enfermas de mastitis, los calostros o la leche de animales que hayan recibido un tratamiento farmacológico sin que transcurra el tiempo de retiro estipulado para cada producto, no deberán ser incluidos en el tanque de reciba del hato (Jensen et al., 1991).

2.2.1 Agua

La leche contiene entre 86 y 90% de agua, el resto está integrado por sólidos disueltos o sólidos totales (Wattiaux, 2011). Es el agua el disolvente de los compuestos solubles como son las vitaminas hidrosolubles, la lactosa y los minerales (Roos, 2002).

El agua no es un componente nutricional, pero determina muchas de las características fisicoquímicas de la leche y sus derivados, (e.g. viscosidad, propiedades termodinámicas, etc.); y es un factor clave en el crecimiento microbiano, palatabilidad, vida de anaquel de leche y derivados y punto de congelación de la leche (Roos, 2002). La producción de leche es afectada directamente por la disponibilidad de agua de bebida (Wattiaux, 2011) y variará dependiendo de la raza (Shearer et al., 2003). La cantidad de agua en la leche es regulada por la lactosa dentro de las células secretoras de la glándula mamaria (Wattiaux, 2011). El agua en la leche se puede encontrar en dos estados en relación con las proteínas: agua libre y agua ligada. El agua libre está en solución con sales minerales y lactosa pero independiente de sustancias insolubles. El agua ligada es la que encontramos retenida en las fases de emulsión y suspensión, no tiene capacidad de disolver porque está unida a proteínas ocupando cerca del 70% del espacio dentro de las micelas de las proteínas (Alais, 2003). Existe una proporción no fija, pero en equilibrio, entre el agua ligada y el agua libre, que depende de condiciones de la leche tales como, temperatura, pH, concentración de sales, etc. (Alais, 2003). El agua dentro de la ubre normalmente no es reabsorbida ya que los ductos secretores de leche son impermeables a la mayoría de los componentes, sólo se limitan a conducir y almacenar la leche dentro de la ubre (Tyler y Ensminger, 2006).

El agua que se le agrega a la leche (adulteración) es fácilmente detectable por diversos métodos analíticos. Estos métodos están basados en el punto de congelamiento o punto de crioscopia de la leche o cambios en la refracción de la luz en el suero de la leche (Alais, 2003).

2.2.2 Sólidos totales

Los sólidos totales (ST) en la leche se refieren en especial al contenido de grasa, lactosa, proteínas y minerales, o sea, a todos los componentes de la leche con excepción del agua; se calcula como la diferencia que hay entre el porcentaje de agua con respecto al cien por ciento (Shearer et al., 2003). El valor económico y nutricional de la leche está directamente asociado a los ST; a mayor contenido de sólidos totales mayor rendimiento al procesar la leche para obtención de queso u otros derivados (Shearer et al., 2003). Gasque y Blanco (2001) muestran que existe una diferencia en la producción promedio de sólidos totales entre razas lecheras, en el caso de las vacas la raza Jersey produce leche con 14.5% de ST, la raza Holstein con 11.93%, la raza Suiza con 13.41% y las vacas de razas Cebuínas leche con 13.5% de ST.

- Sólidos grasos Desde un punto de vista práctico los lípidos tienen una importancia fundamental, ya que, confieren valor nutricional, textura y las propiedades organolépticas características de la leche y sus derivados (e.g. crema, quesos, mantequilla, etc.) (MacGibbon y Taylor, 2006).
- Sólidos no grasos Los sólidos no grasos en la leche se refieren a los elementos como proteínas, lactosa, vitaminas y minerales, con excepción del contenido de agua y de lípidos.

2.2.3 Proteínas

La leche aparte de ser un alimento, también apoya funciones fisiológicas; éstas son llevadas a cabo principalmente por las proteínas y péptidos, incluyendo inmunoglobulinas, enzimas, enzimas inhibidoras, factores de crecimiento, hormonas y agentes antibacteriales (Thompson et al., 2009). La leche es reconocida por ser una fuente excelente de proteína

de alta calidad, elevado valor biológico y de fácil digestión (Pinto et al., 1998; Walstra et al., 2006). Alrededor del 3.5% del peso de la leche es proteína y representa el 38% del total de sólidos no grasos (Miller et al., 2007). El contenido proteico de la leche es heterogéneo ya que resulta de una mezcla de varias proteínas, enzimas y trazas de nitrógeno no proteico (Miller et al., 2007). El porcentaje de proteína varía según la raza (Tyler y Ensminger, 2006) y está en relación directa con la cantidad de grasa en la leche (Wattiaux, 2011): cuanto mayor es la cantidad de grasa, mayor es la cantidad de proteína.

La caseína es la proteína principal dentro de la leche (80%) (Miller et al., 2007); precipita a un pH de 4.6, propiedad que es utilizada para la fabricación de diversos quesos y derivados (Walstra et al., 2006). La caseína es una proteína “completa” ya que contiene aminoácidos esenciales que los humanos no son capaces de sintetizar (Fukagawa y Yu, 2009). Puede ser fraccionada electroforéticamente (Cuadro 3) en cuatro fracciones principales, alfa caseína (α_1 - y α_2 -), beta caseína (β -), gamma caseína (γ -) y kappa caseína (κ -) con actividad biológica específica (Miller et al., 2007).

Cuadro 3. Fracciones Proteicas de la leche de Vaca

FRACCIONES	CONCENTRACIÓN EN LECHE (G/L)
Proteína total	36
Caseína	29.50
α_1 - caseína	11.90
α_2 - caseína	3.10
β – caseína	9.80
κ – caseína	3.50
γ – caseína	1.20
Proteínas del Suero	6.30
β - Lactoglobulina	3.20
α - Lactalbúmina sérica	1.20
Seroalbúmina	0.40
Inmunoglobulinas	0.80
Proteosa Peptona	1.00

La α S1-, α S2-, β -, y κ -caseína, se producen en diferentes porcentajes. La κ -caseína se encuentra glicosilada con varias moléculas. Parte de la β -caseína se divide por las enzimas proteolíticas en γ -caseína y proteosa peptona. La α S1-, α S2-, y β -caseínas son fosfoproteínas que tienen varios grupos fosfato esterificados con restos de serina; esto facilita que se precipite en presencia de Ca^{2+} , pero la κ -caseína la protege para que esto no ocurra en situaciones normales, pero, al exponerlas a la enzima quimosina (cuajo) esta protección termina y la proteína se precipita (Walstra et al., 2006). La diferencia entre las fracciones de la caseína es la fosforilación y glicosilación, así como la capacidad de proteólisis.

El suero contiene proteínas disueltas como la β -lactoglobulina (16%) y α -lactoalbúmina (4%); esta última contiene altos niveles de triptófano precursor de la niacina. Otras proteínas presentes en el suero, en bajas concentraciones, son la seroalbúmina, algunas inmunoglobulinas (e.g. IgA, IgG, IgM), la lactoferrina y la transferrina (Miller et al., 2007).

Las proteínas presentes en el suero son globulares por lo que son termolábiles (Walstra et al., 2006). La β -lactoglobulina es la proteína del suero más concentrada, sus propiedades químicas tienden a dominar las propiedades de las proteínas séricas, sobre todo en las reacciones que ocurren en el tratamiento térmico. Su solubilidad depende del pH y no se precipita en acidificación (Walstra et al., 2006).

La α -lactoalbúmina tiene funciones de coenzima en la síntesis de lactosa. Es una proteína pequeña, esférica y compacta no asociada al ión de calcio (Walstra et al., 2006). Tiene un elevado contenido de triptófano que actúa como precursor de la niacina (Miller et al., 2007). Las globulinas son glicoproteínas (alfa-globulinas, beta-globulinas y gammaglobulinas (Walstra et al., 2006)) que pasan a la leche directamente del suero sanguíneo por lo que son variadas para cada raza (Tyler y Ensminger, 2006). Existen diversas clases de inmunoglobulinas (IgA, IgM, IgD, IgE, IgG) que son anticuerpos específicos para cada antígeno, y se encuentran más concentradas sobre todo en los calostros (Walstra et al., 2006).

La lactoferrina es un inhibidor bacteriano que también limita la disponibilidad de hierro (Fe³⁺) en la leche, por lo que no resulta ser una fuente suficiente de este mineral para los niños lactantes y se complementa en las fórmulas infantiles (Walstra et al., 2006).

Otras proteínas misceláneas están presentes en la leche en muy bajas concentraciones, sobre todo las provenientes de la membrana del glóbulo de grasa (glicoproteínas) (Walstra et al., 2006), las enzimas y las hormonas.

2.2.4 Proteínas lácteas: caseínas, proteínas del suero y proteínas minoritarias.

En el mundo de la química láctea se considera normalmente como proteína láctea a la suma de todas las moléculas nitrogenadas que se determinan como tales mediante el método de kjeldahl. Este valor bruto de proteína (contenido total de proteína, cuadro 4) es, debido a la porción de nitrógeno no proteico (NNP), demasiado alto. El contenido en proteína pura total de la leche es en promedio un 0.17% menor al contenido total de proteína.

Cuadro 4. Constituyentes de la leche

FRACCIÓN NITROGENADA	VALOR MEDIO (MG N/100ML) RANGO DE VARIACIÓN	PORCIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL SEGÚN KJELDAHL EN % (REDONDEADO)
Nitrógeno de Caseína	431 (349-602)	76
Nitrógeno de Proteína de suero	76 (67-110)	14
Nitrógeno de Proteosa Peptona	28(17-46)	5
Nitrógeno no proteico	31 (23-42)	5
Nitrógeno total ^a	566 (482-770)	100

- (a) Los contenidos de nitrógeno determinados con el método de kjeldahl se transforman, aplicando factores que dependen del contenido en nitrógeno de cada proteína, en el contenido correspondiente de proteína. Para la proteína total de la leche el factor es de 6,38; para el contenido de NNP de la leche es 3,60. Fuente: *Kielwein (1985)*.

Cuadro 5. Proteínas lácteas.

PROTEÍNAS LÁCTEAS		CONTENIDO MEDIO EN % EN PESO (RANGO DE VARIACIÓN)
Caseínas	2,7	(2,2-3,8)
Proteínas del suero	0,6	(0,5-0,9)
Proteosa-peptona	0,08	(0,05-0,18)
Proteínas de la membrana del glóbulo graso	0,04	

Fuente: *kielwein (1985), Meisel en: Schlimme (1990^a).*

El nitrógeno no proteico (NNP) engloba al contenido de nitrógeno de aquellos componentes de la leche que permanecen en disolución tras el precipitado de las proteínas lácteas (caseínas, proteínas del suero, proteosa-peptona) con ácido tricloroacético al 12%.

La fracción NNP contiene en promedio el 5% del nitrógeno total de la leche con un rango de oscilación del 4-8%. La porción de NNP supone entre 200-400mg por litro de leche.

Las proteínas lácteas están constituidas por el grupo que aparece en el cuadro 5 que se pueden diferenciar en función de su precipitabilidad o solubilidad.

. Las caseínas se precipitan mediante acidificación hasta pH 4,6; las proteínas del suero permanecen en disolución en el suero tras la precipitación de las caseínas.

La función primaria de las proteínas con función nutricional es el aporte suficiente de aminoácidos esenciales y de nitrógeno orgánico. Por investigaciones de (*Young y Pellet, 1988*), sabemos que la pérdida inevitable de nitrógeno, esto es la pérdida diaria de nitrógeno cuando se ingiere una dieta sin proteínas, es en el hombre (en todo el mundo) de unos 40 mg por kilogramo de peso corporal.

La ingesta mínima de proteína tiene que reemplazar estas pérdidas tanto cuantitativa como cualitativamente, para equilibrar el balance corporal de nitrógeno. El metabolismo corporal diario de una persona sana supone unos 3 o 4 de proteína por kilo de peso corporal. Este

balance comprende un flujo total diario 500-600 mg de nitrógeno. Según estos datos la reutilización de aminoácidos en un adulto con un balance fisiológico-nutricional equilibrado es de un 90%. Únicamente se oxida un 10% de los aminoácidos. El aporte mínimo de proteínas adecuado para surtir las necesidades fisiológicas de un adulto es de 0,6 gramos por kilo de peso corporal. En este valor está considerada una retención de los aminoácidos ingeridos con la dieta “debida a la digestibilidad y resorción-biodisponibilidad de las proteínas de la dieta” de un 70%.

2.3 Factores que modifican la producción y composición de la leche

La producción y la composición de la leche de vaca, son dos aspectos relevantes desde el punto de vista económico, tanto para el productor, como para la industria lechera. La composición es fundamental para la valoración de la leche, debido a que afecta su valor nutritivo y su dificultad de proceso (Lindmark-Månsson et al., 2003).

Dentro de los factores que influyen la producción y composición de la leche, se encuentran: la raza de la vaca, la etapa de la lactancia, la nutrición, el sistema y nivel de alimentación, los cambios estacionales, la frecuencia de ordeño y sistema de ordeño (Huppertz y Kelly, 2009); aunque también existen fluctuaciones diarias en los animales que se manifiestan aun cuando todas las condiciones de producción son constantes (Alais, 2003; LindmarkMånsson et al., 2003).

Entender estos factores es fundamental para maximizar la rentabilidad de la unidad de producción. De acuerdo con Banks (1987), la manipulación de la composición de la leche, en especial de la grasa y la proteína, puede ser considerada a tres niveles: Cambio en el contenido del componente, cambio en la producción del componente y cambio en la estructura del componente.

2.3.1 Factores nutricionales

La nutrición es una de las principales herramientas para modificar la producción y composición de la leche en el corto plazo (*Brun-Lafleur et al., 2010*).

Factores dietarios de particular importancia, incluyen:

- ❖ cantidad de forraje consumido
- ❖ relación forraje: concentrado de la ración
- ❖ composición de carbohidratos y lípidos en el concentrado
- ❖ consumo total y frecuencia de alimentación

La proteína y la grasa en leche son los componentes de mayor importancia en los sistemas actuales de comercialización; en relación a éstos la modificación por medio de la alimentación es de 0.5% para proteína, mientras que para la grasa el cambio puede ser de hasta 3%(Sutton, 1989).

Con respecto a los sólidos no grasos, se ha encontrado que su variación es paralela a la variación del contenido de proteína, pero no de caseína; por consiguiente, el margen de manipulación de los sólidos no grasos por medio de la alimentación es limitado (Banks, 1987). Jenkins y McGuire (2006) señalaron que el contenido de lactosa no puede ser manipulado con cambios en la dieta, excepto con restricciones muy severas en la alimentación. Según Walsh (1968) la subalimentación trae consigo una reducción de 0.2% en el contenido de sólidos no grasos.

Otros factores, como el contenido de urea en leche, son dependientes del balance proteína-energía de la dieta; de modo que un incremento en el contenido de proteína en dieta sin la suficiente fuente de carbohidratos fermentables, ocasiona mayor presencia de urea en la sangre, y por lo tanto, mayor concentración de urea en la leche (Eicher et al., 1999).

2.3.2 Consumo de energía y proteína

Aunque la producción de leche puede ser afectada por varios nutrientes de la dieta son la proteína y la energía los más críticos (Brun-Lafleur et al., 2010).

Algunas investigaciones han demostrado que con un aumento en el consumo de energía, hay un incremento lineal en la producción de leche; sin embargo, no hay efecto en la concentración de proteína; mientras que para el caso de la grasa, se ha reportado un ligero decremento. Por su parte, una mejora en el consumo de proteína, promueve un aumento en producción de leche; sin embargo, no hay influencia en concentración de grasa o proteína (Brun-Lafleur et al., 2010).

Generalmente la concentración de proteína y caseína incrementan con el aumento del consumo de energía de la dieta; pese a ello, no se ha observado una alteración en las fracciones de caseína. No obstante, varios trabajos (Barber et al., 2005) han demostrado que las fracciones α S1 y α S2 de caseína, varían en función del tipo de fuente de energía (e.g. granos, aceites) con que se alimenta a los animales.

Con respecto al consumo de proteína, cuando ésta se ofrece por encima de los requerimientos del animal, la respuesta en composición de proteína y caseína no tienen tendencia definida (Barber et al., 2005). Un consumo bajo de proteína y energía, así como pobre eficiencia de utilización de la proteína de la dieta, son responsables de un punto de congelación de leche alto (Henno et al., 2008).

Animales subalimentados, en balance negativo de energía, normalmente hay una movilización de tejido adiposo, esto trae consigo un cambio en la concentración de grasa en leche y composición de la misma (Palmquist et al., 1993).

El consumo de forraje afecta directamente a la producción de leche y sus componentes, por estar directamente relacionado con el consumo de energía y proteína. Dicho consumo, es a su vez afectado por la calidad, composición y disponibilidad del forraje.

En sistemas de pastoreo, el manejo de la carga animal es un aspecto clave que regula el consumo y calidad de la pastura; cargas altas traen consigo un descenso en el consumo de forraje por rumiante, en consecuencia hay menor producción de leche y sus componentes (Holmes y Wilson, 1989).

Algunos estudios han observado un aumento significativo en las concentraciones de proteína total y caseína con el incremento en el nivel de forraje ofrecido, mientras que, con una alimentación restringida se ha presentado una reducción en el contenido de proteína cruda y proteína total, así como de caseína, en hembras de lactancia temprana y media (Barber et al., 2005). Cuando se comparan sistemas de producción (e.g. estabulado vs pastoreo) se ha encontrado que animales en pastoreo presentan una menor producción de leche, así como menor producción de grasa y proteína (Bargo et al., 2002). Se ha planteado que estas diferencias probablemente son consecuencia de un cambio en los requerimientos de energía para mantenimiento, relacionado a la actividad de pastoreo y la caminata hasta la plataforma de ordeño; incluso, se ha cuantificado que el gasto de energía en estas actividades es de alrededor 5.4 Mcal d⁻¹. Considerando que para producir un kg de leche se necesitan 0.64 Mcal de ENL, estas actividades pueden representar hasta 8.4 kg d⁻¹ de diferencia (Bargo et al., 2002). A pesar que ha sido demostrado que la producción de leche en pastoreo es menor que la de animales estabulados, cuando se compara la composición de la leche de hembras alimentadas con dieta totalmente mezclada, a la de pastoreo, ésta última presenta mayor concentración de ácido linoléico conjugado (CLA) (White et al., 2001).

2.3.3 Consumo y componentes del concentrado

Se ha observado que con un incremento en el consumo de granos (almidón fermentable), se incrementa la producción de leche y proteína, pero la concentración de grasa disminuye (Palmquist et al., 1993).

El tipo de grano y el proceso al que éste se somete tiene influencia sobre la producción de leche, contenido de grasa y su composición; sin embargo, el efecto es variable, por ejemplo, las dietas basadas en cebada reducen la concentración de grasa en leche, no obstante, no hay cambio en la estructura de la grasa; en contraste con dietas basadas en maíz amarillo que produjeron grasa de leche con una baja concentración de C4:0 pero alta en C18:1 (Palmquist et al., 1993).

El motivo principal de inclusión de grasa o aceite en el concentrado de la dieta es para incrementar el consumo de energía y la producción de leche; no obstante, ha sido ampliamente aceptado que esta inclusión tiene efectos específicos en la concentración de grasa en leche y la composición de ácidos grasos de la grasa de ésta (Sutton, 1989).

Estos efectos se deben parcialmente a la influencia que tiene la grasa en la fermentación del rumen; específicamente, la suplementación con grasa de 6 a 8% de total de la materia seca (Sutton, 1989), trae consigo un descenso en la digestión de los carbohidratos estructurales (fibra). Como consecuencia de esto, hay un cambio en el patrón de formación de ácidos grasos volátiles en el rumen, con un incremento en la concentración de ácido propiónico, mientras que los ácidos acético y butírico descienden.

Una insuficiencia de ácido acético en el rumen puede ser la causa de una severa depresión de la síntesis de grasa en la glándula mamaria (Palmquist et al., 1993).

Con la adición de grasa en la dieta, ya sea de granos enteros o aceite, protegida o no para su degradación en rumen, se ha observado un descenso de 0.1 a 0.3 unidades porcentuales de proteína; también existe una disminución de los sólidos no grasos (DePeters y Cant, 1992; Carroll et al., 2006). De manera similar, el contenido de Nitrogeno total en leche y la fracción de Nitrogeno en caseína descienden conforme se aumenta la grasa en la dieta (Carroll et al., 2006). Por su parte, Schroeder et al. (2004) observaron que la concentración de grasa en leche fue incrementada 5.1% con una suplementación con

grasa saturada a animales en pastoreo, mientras que hubo un decremento de 8% en la concentración de grasa cuando éstos se suplementaron con grasa insaturada.

Ciertas dietas causan una marcada reducción en la producción de grasa de leche en rumiantes, comúnmente conocida como depresión de grasa de la leche o MFD por sus siglas en inglés; en este sentido, numerosas teorías han sido propuestas para explicar este fenómeno (Bauman y Griinari, 2003).

No obstante lo anterior, la teoría más soportada ha sido la de la biohidrogenación de los ácidos grasos de la dieta en el rumen, la cual establece que bajo ciertas condiciones de la dieta, las vías de biohidrogenación en el rumen son alteradas para producir únicamente intermediarios de ácidos grasos que inhiben la síntesis de grasa en leche. Dentro de estos intermediarios se encuentran los isómeros trans-10 y cis-12 del ácido linoléico conjugado (Bauman y Griinari, 2003). Con base en lo anterior, la suplementación de aceites insaturados de origen animal o vegetal ricos en ácido linoléico conjugado es una forma potencial de causar la depresión de grasa en la leche.

2.3.4 Relación forraje concentrado

La relación forraje: concentrado de la dieta está estrechamente relacionada con el cambio de concentración y consumo de energía; usualmente una reducción de la relación forraje: concentrado causa una caída de la concentración de grasa en leche (Sutton, 1989), sin embargo, el contenido de proteína y la producción de leche se incrementan (DePeters y Cant, 1992).

Varias investigaciones (Sutton, 1989; DePeters y Cant, 1992) han encontrado que con una relación forraje: concentrado 50:50 no hay cambio en el contenido de proteína, caseína y grasa; sin embargo, una reducción de esta relación trae consigo cambios significativos en producción y componentes de la leche.

La presencia de una cantidad determinada de forraje en la dieta de la vaca lechera, es principalmente para mantener un ambiente ruminal saludable; en específico para mantener

un pH ruminal adecuado a través del estímulo de la masticación y salivación, la cual tiene efecto buffer, además de ayudar a mantener un nivel aceptable de grasa en leche (Sutton, 1989).

2.4 Factores no nutricionales

2.4.1 Raza

La habilidad para producir leche, grasa, y sólidos no grasos, son características heredables que presentan variación entre razas y entre individuos de la misma raza. En general, con una disminución de la producción de leche, el contenido de grasa se incrementa de acuerdo con la raza del animal, por ejemplo para vacas: Holstein, Pardo Suizo, Ayrshire, Guernsey y Jersey; la variación en el contenido de grasa va de 2.6 a 6% en Holstein, mientras que para Jersey se ha reportado que ésta va de 3.3 a 8% (Tyler y Ensminger, 2006).

La producción de leche actual y corregida al 4% de grasa, es mayor en la raza Holstein, respecto a Jersey y Pardo Suizo; esta tendencia también se observa para la producción de grasa, proteína y sólidos no grasos; mientras que el contenido total de N, nitrógeno no proteico y urea en leche, así como la concentraciones de Ca, Na, K, Mg y P no difieren entre razas (Carroll et al., 2006).

La raza también influye en el pico de producción diaria de lactosa, proteína y grasa, así como en el día en que se alcanza el pico de producción de grasa y proteína (Hickson et al., 2006).

Henno et al. (2008) encontraron que la raza tiene efecto ($p < 0.05$) en el punto de congelación de la leche (rango -0.520 a -0.530 °C) siendo las vacas de la raza Holstein las que presentan el valor más alto respecto a razas nativas. En cuanto a la concentración de ácidos grasos, se ha encontrado que la leche de vacas Holstein es alta en ácido linoléico conjugado, C16:1, C18:1 y baja en C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 y C14:0, respecto a Jersey (White et al., 2001).

2.4.2 Diferenciación celular

A pesar de que se ha señalado que la producción y composición de la leche son dependientes de la alimentación (Brun-Lafleur et al., 2010), y de la raza (Tyler y Ensminger, 2006), se ha demostrado que el número de células secretoras de leche y su actividad son las que determinan la forma y la curva de lactancia. En un estudio en el que se dio seguimiento a la lactancia en mamíferos, se encontró que el número de células secretoras es mayor al inicio de la lactancia, aunque la producción de leche es baja, no obstante, la producción de leche por célula se incrementa significativamente hasta el pico de lactancia y entonces se mantiene constante. Se ha propuesto la hipótesis de que este incremento se deriva de la diferenciación celular, mientras que, la disminución en producción de leche después del pico de producción, probablemente es resultado de la muerte de células secretoras por apoptosis y no por pérdida de actividad secretora (*Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005*).

Factores tales como la nutrición, el estrés oxidativo impuesto por la alimentación, y hormonas reproductivas como estradiol y progesterona, además de la frecuencia de ordeño, regulan la muerte celular programada (apoptosis) de las células secretoras; este proceso es un factor clave en la dinámica celular y con ello la persistencia de la lactancia puede ser modificada (*SvennerstenSjaunja y Olsson, 2005*).

2.4.3 Frecuencia de ordeño

Se ha demostrado que con un aumento en la frecuencia de ordeño es posible incrementar la producción de leche de 10 a 15%. Esta mejora es atribuida a la frecuente remoción de la glicoproteína FIL (Factor inhibidor de la lactancia), la cual es producida en las células epiteliales, y tiene efectos negativos en el número de células secretoras; por ello una mayor remoción de esta proteína (ordeño) promueve la proliferación de células secretoras y como consecuencia una mayor producción de leche (*Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005*).

Hickson et al. (2006) reportaron que la frecuencia (tres veces, al día) de ordeño afecta la producción total de leche, así como producción diaria y los días transcurridos desde el parto hasta que se alcanza el pico de producción de lactosa, proteína y grasa. Estos autores también encontraron que la persistencia de la curva de lactancia se mejora con dos ordeñas diarias.

2.4.4 Número de partos

El número de lactancia o parto está estrechamente relacionado con la edad del animal. Cuando alcanzan su madurez y máxima producción de leche en mamíferos rumiantes es alrededor de los seis años de edad, después su producción declina; este efecto también ha sido notado para la producción de grasa (Tyler y Ensminger, 2006). Por su parte, el contenido de grasa en leche decrece alrededor de 0.2 unidades porcentuales de la primera a la sexta lactancia (Walsh, 1968).

Para el caso de los sólidos no grasos, el impacto del número de lactancia es mayor: el decremento en su concentración de la primera a la quinta lactancia va de 0.06 a 0.08% por cada lactancia. Esta caída está ligada a un descenso en contenido de lactosa, y no de proteína, ya que esta última desciende sólo 0.08% de la primera a la quinta lactancia (Walsh, 1968).

(*Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005*) mencionaron que el número de parto afecta la persistencia de la lactancia; en relación con lo anterior, rumiantes de primer parto presentan una persistencia mayor que hembras multíparas. Conforme se incrementa el número de parto el contenido de caseína en leche disminuye; mientras que la proteína alcanza su máximo en animales de 3 años de edad, después declina (*DePeters y Cant, 1992*).

2.4.5 Época del año y efecto de hato

El porcentaje de grasa en leche varía de 0.3 a 0.5% con la estación del año, es alta en invierno y cae en primavera y verano (Tyler y Ensminger, 2006). Los sólidos no grasos también presentan variación estacional, con el porcentaje más bajo en primavera y verano (Tyler y Ensminger, 2006). Este efecto ha sido reafirmado por (Ozrenk y Sekul, 2008) quienes encontraron que existe variación estacional significativa para el contenido de proteína, sólidos totales, grasa y acidez titulable; con porcentajes altos de grasa, proteína y sólidos totales en invierno y bajos durante el verano.

Respecto al efecto del hato sobre la producción y composición de la leche, se ha puntualizado que muchas de las diferencias encontradas son atribuibles a la raza, al potencial genético de los animales, la edad, la etapa de la lactancia y la presencia de enfermedades como mastitis. Para el caso de los sólidos no grasos, se encontró que la edad, la etapa de la lactancia, la raza y el conteo de células somáticas explican el 70% de la variación entre hatos en sólidos no grasos (Walsh, 1968).

2.4.6 Enfermedades

La mastitis es una enfermedad que tiene impacto en la composición de la leche. En vacas afectadas hay una reducción en el contenido de caseína, mientras que la proteína de suero de la leche se incrementa (DePeters y Cant, 1992). Otros estudios encontraron que con una infección bacteriana en la ubre, hay una disminución en la producción de leche, también baja el contenido de grasa, sólidos no grasos, lactosa y caseína, mientras que hay un aumento de agua, nitrógeno total, albuminas y globulinas (Walsh, 1968).

Se ha observado que la incidencia de acidosis ruminal subaguda en ganado estabulado fue de 0.3% a través de la lactancia y es mayor en el primer mes posparto. En vacas afectadas de acidosis se ha notado un descenso en la producción de leche de 3 kg vaca-1

día-1, también se encontró una disminución en la concentración de grasa y proteína (Krause y Oetzel, 2006).

2.5 Métodos de hidrolisis en la leche

2.5.1 Hidrolisis acido- base

En la hidrólisis ácido-base el agua se divide en el ion hidroxilo OH^- y un ion H^+ (el cual es inmediatamente hidratado para formar el ion hidronio H_3O^+). Esta reacción sucede espontáneamente en agua pura, y en el equilibrio la concentración de iones hidronio en agua es $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1 \times 10^{-7} \text{ M}$. Esta es también la concentración de iones hidroxilo puesto que cada molécula de agua que se divide genera un hidroxilo y un hidronio. Dicho equilibrio se denomina auto protolisis.

La adición de algunas sustancias al agua, por ejemplo una sal, modifica el equilibrio.¹ Al ser disueltos en agua, los iones constituyentes de una sal se combinan con los iones hidronio, hidroxilo, o ambos, procedentes de la disociación del agua. Al consumirse estos iones se modifican su concentración y, como consecuencia, se modifica el valor del pH.

Los iones A^- , BH^+ procedentes de ácidos débiles AH , bases débiles B o sales AB se hidrolizan por acción del agua, dependiendo el grado de la reacción de la debilidad del ácido o de la base, y la solubilidad de la sal; los iones procedentes de ácidos o bases fuertes no se hidrolizan apreciablemente. Tanto la reacción como su constante de equilibrio se pueden obtener por combinación de la reacción ácido-base con la reacción de auto protolisis del agua. Así, las sales obtenidas a partir de ácidos y bases fuertes no se hidrolizan, las obtenidas a partir de ácidos y bases débiles se hidrolizan de forma que el pH depende de las dos constantes, y en las obtenidas a partir de una combinación de ácido y base en las que solo uno es fuerte, será el fuerte el que determine el pH.

2.5.2 Hidrolisis en química orgánica

En química orgánica, la hidrólisis se presenta como la reacción opuesta a la condensación. En este contexto una molécula orgánica y el agua reaccionan rompiendo un enlace covalente para formar dos moléculas orgánicas con grupos funcionales que incluyen los átomos de la molécula de agua. En general se requiere añadir ácidos o bases fuertes para catalizar la hidrólisis.

2.5.3 Hidrólisis de amidas y ésteres

La hidrólisis de amidas y ésteres ocurre cuando un nucleófilo, el agua o el ion hidróxido, ataca al carbono del grupo carbonilo del éster o la amida. En una base acuosa, los iones hidróxido son mejores nucleófilos que las moléculas polares como el agua. En un ácido, el grupo carbonilo se protona, facilitando el ataque nucleofílico. Dado que una amida resulta de la condensación de una amina y un ácido carboxílico, la hidrólisis de la amida genera dicha amina y dicho ácido. Para los ésteres, resultado de la condensación de un ácido carboxílico y un alcohol, se obtiene igual el ácido y el alcohol:

Uno de los ejemplos más antiguos de hidrólisis es la saponificación, en la que la hidrólisis básica de un triglicérido (una molécula con grupos éster) genera glicerol (un alcohol) y ácidos grasos (carboxílicos). Estos ácidos reaccionan a su vez con la base de la disolución generando sales orgánicas conocidas como jabones.

2.6 Cuantificación de proteínas, por el método de Biuret.

Determinar la concentración de proteínas en una muestra biológica es una técnica de rutina básica cuando se aborda un esquema de purificación de una proteína concreta, cuando se quiere conocer la actividad específica de una preparación enzimática, para el diagnóstico de enfermedades, así como para muchos otros propósitos. Existen diferentes métodos para la cuantificación de proteínas. Muchos de estos métodos se basan en: a) la propiedad intrínseca de las proteínas para absorber luz en el UV, b) para la formación de derivados químicos, o c) la capacidad que tienen las proteínas de unir ciertos colorantes (Segal, 2005).

La reacción de Biuret es una reacción coloreada (violeta) debida a la formación de un complejo de Cu en un medio alcalino en compuestos que poseen más de un enlace peptídico, como las proteínas (Cambell et al, 2006):

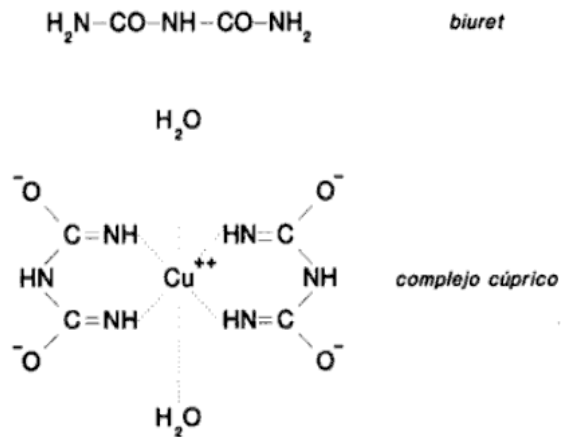


Figura 3: Reacción de Biuret

La curva de patrón es un método de química analítica empleado para medir la concentración de una sustancia en una muestra por comparación con una serie de elementos de concentración conocida. Se basa en la existencia de una relación en principio lineal entre un carácter medible (por ejemplo la absorbancia en los enfoques de espectrofotometría) y la variable a determinar (la concentración). Para ello, se efectúan diluciones de unas muestras de contenido conocido y se produce su lectura y el consiguiente establecimiento de una función matemática que relacione ambas; después, se lee el mismo carácter en la muestra problema y, mediante la sustitución de la variable independiente de esa función, se obtiene la concentración de esta. Se dice pues que la

respuesta de la muestra puede cuantificarse y, empleando la curva patrón, se puede interpolar el dato de la muestra problema hasta encontrar la concentración (Harris, 2003)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Animales y ubicación

Se utilizaron 5 vacas lecheras de la raza Holstein (pertenecientes al establo lechero en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro), clínicamente sanas, manejadas en un establo, con uso de cercos de metal. Las cuales contaban con una alimentación principalmente constituidas por alfalfa y presencia de otras gramíneas.

Además se emplearon cabras resultado de la cruce entre la raza Saanen-Alpina, clínicamente sanas, manejadas en un corral, utilizando barrotes de madera como cerca (ubicadas ejido la Encantada) con una alimentación a base de concentrado para caprinos, y algunos granos.

Los hatos muestreados se localizaron en dos áreas geográficas del altiplano mexicano, en el Estado de Saltillo Coahuila. En la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro se muestrearon los hatos de producción de leche de vaca. En el ejido la Encantada se muestreó el hato de producción de leche caprina. En ambos sistemas de producción se muestrearon distintos animales; vacas (*Holstein*) y (*cabras Saanen – Alpina*) El número de animales de cada genotipo en cada uno de los hatos se presenta en el (Cuadro 6).

Cuadro 6. Número y genotipo de Animales empleados en el estudio.

GRUPO GENÉTICO	ESTABULADO UAAAN	ESTABULADO LA ENCANTADA
Vaca Holstein	180 (5)	0 (0)
Cabra	0 (0)	12 (5)
Total	180	12

¹ Entre paréntesis el número de muestras de leche colectadas para análisis durante el periodo de estudio. Cuadro 6. Número y genotipo de Animales empleados en el estudio.

Las unidades de producción de leche de vaca en estabulación en el Estado de Saltillo se ubican dentro del complejo de la Granja Experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Estado de Coahuila, y cuyas coordenadas geográficas son 25° 21' 20" de latitud norte y 101° 01' 30" de longitud oeste. El clima, en el invierno existe frío seco y puede llegar a nevar.

El verano, históricamente era de calor moderado; recientemente se ha incrementado hasta alcanzar temperaturas de 38°C. Las precipitaciones son escasas. El clima en el municipio es del subtipo seco semicálido, con una temperatura media anual de 14 a 18°C.

La producción de leche de cabra en estabulación en el ejido la Encantada, se encuentra ubicado en el libramiento norponiente de Saltillo, con unas coordenadas de 25°42" - 25°48" latitud norte y 99° 14" -99°10" longitud oeste, cuyas coordenadas geográficas son 25° 21' 20" de latitud norte y 101° 01' 30" de longitud oeste. El clima, en el invierno existe frío seco y puede llegar a nevar. El verano, ha incrementado hasta alcanzar temperaturas de 40°C. Las precipitaciones son escasas. El clima en el municipio es del subtipo seco semicálido, con una temperatura media anual de 12 a 20°C.

3.2 Toma de muestras de leche

En cada uno de los hatos analizados, se colectaron muestras de leche de vacas (*Holstein*) individuales durante los ordeños de la mañana. Cada dos días, durante una semana, en los horarios de 6:00 am y 15:00 pm. Mientras que para el hato en estabulación de leche de cabra fue a las 8:00 am y a las 11:00 pm. Las muestras de leche se colectaron en viales de plástico de 500 mL sin contenido de conservadores. Los viales se llenaron directamente de los medidores de leche (tipo Waikato) en el caso de las vacas UAAAN; en cuestión de

cabras (*Saanen – Alpina*) la toma de muestra fue concisamente de la ubre del rumiante, cada 48 horas, y fue contenida en botellas de plástico sin refrigeración.

3.3 Método de hidrolisis

Se evaluaron tres métodos de hidrolisis proteica en la leche, los cuales se describe a continuación:

3.3.1 Hidrolisis Química

Utilizando 10ml de los dos distintos tipos de leche, se dio inicio a la hidrolisis química; fueron agregados 4 gramos de ácido cítrico, posteriormente se homogenizaron las muestras y se mantuvieron a temperatura ambiente por 30 minutos, para luego determinar su análisis posterior.

3.3.2 Hidrolisis Física (proceso térmico)

3.3.2.1 Esterilización:

Se recolectaron 10ml de leche (cabra y vaca) en un matraz de 100ml, y se sometieron a un proceso térmico, utilizando una autoclave, a 121°C, con una atmosfera y 15lbs de presión. Finalmente las muestras se refrigeraron para siguientes investigaciones.

3.3.2.2 Microondas:

En un microondas (Samsung Microondas de convección MWF600G con sensor IR, 32 l) con la tecnología Slim Fry de Samsung, que combina la función del grill con circulación de aire caliente; se calentaron 10 ml de leche (ambas muestras) de manera individual, por 2 minutos, al momento de precipitar se mantuvieron a temperatura ambiente, para análisis posteriores.

3.4 Análisis Microbiológico

Se evaluó la calidad e inocuidad de la leche cruda, de ambas muestras, identificando los riesgos microbiológicos. La metodología consistió en recolectar muestras en dos etapas: en la primera, leche de vacas (*Bos Taurus*) en el máximo nivel de producción; en la segunda, cabras (*Saanen – Alpina*)

Cada una de las muestras de leche fueron homogenizadas. Posteriormente se tomaron 10 ml de leche y cada una de las muestras se mezcló con 90ml de agua destilada estéril; seguido de esto se realizaron diluciones decuples seriadas, transfiriendo 1 ml de la dilución inicial a 9 ml de agua destilada estéril hasta la dilución 10^{-8} .

Una vez terminadas las diluciones, se utilizó la técnica de siembra por barrido en la cual se depositaron 100 μ l de cada dilución en la superficie de una placa de agar Nutritivo para cuenta en placa. Permanecieron en incubación durante 24 horas a 32 °C. Transcurrido este tiempo se revisó el crecimiento de colonias bacterianas en cada una de las diluciones (con distintos tratamientos).

Los cultivos fueron examinados para identificar la morfología macroscópica de las colonias desarrolladas y estimar su número relativo, de acuerdo con el número de cuadrantes del agar donde se observó crecimiento bacteriano. Se obtuvo un promedio de las colonias, y se realizó el cálculo para obtener el número de colonias bacterianas presentes por ml de muestra.



Figura 4. Materiales utilizados para el análisis microbiológico

3.5 Análisis de determinación de proteína por el método de Kjeldahl

Se pesaron .05ml de muestra de leche, (se colocaron en un matraz kjeldahl de 100ml), fueron agregados 4ml de solución digestora

El matraz fue dejado en el digestor micro – kjeldahl y se calentó hasta que hubo un viraje claro, e inmediatamente seguido de este, “un color azul” después de esto la muestra digerida se dejó enfriar. Posteriormente se adicionaron 30ml de solución de H_3BO_3 y 3 gotas de indicador en un vaso de 100 ml.

Fue colocado el Erlenmeyer en el destilador con un extremo sumergido en la solución. El contenido fue vaciado en un matraz kjeldahl dentro del destilador, se enjuago con agua destilada. Fueron añadidos 15ml aproximadamente de una solución concentrada de NaOH (o una cantidad suficiente para hacer alcalino el contenido). Se destilo el amoniaco hasta que se pudo observar al viraje del indicador, el contenido del matraz se tituló con una solución valorada de H_2SO_4 0.255 N. Por último se calculó el porcentaje del contenido de N de la muestra.

3.6 Análisis de determinación de proteína por el método de Biuret.

Fueron colocados 10ml de leche en un vaso de precipitado, posteriormente fueron titulados con hidróxido de sodio, utilizando fenolftaleína, como indicador. Se obtuvo un viraje ligero a un tono rosado. Finalmente se calculó el porcentaje e proteínas utilizando la formula correspondiente.

Además del contenido proteico, seguido de este procedimiento; se analizaron factores como el Ph (utilizando un potenciómetro).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Métodos de Hidrolisis

4.1.1 Efectos del tratamiento térmico sobre la leche (Hidrolisis Física)

Mediante la aplicación de dos métodos distintos (esterilizado y microondas) se observó que no existe una diferencia significativa en el contenido de proteína hidrolizada; sin embargo, la aplicación de calor en la leche implica numerosas consecuencias, como modificaciones de la estabilidad de la solución coloidal y de la emulsión grasa, color y sabor, además de sus correspondientes repercusiones nutricionales.

El comportamiento de la leche sometida a calentamiento es función no solamente de la temperatura alcanzada sino también de la duración del calentamiento. Cuando la leche se calienta tienen lugar una serie de reacciones importantes: Las caseínas se disocian de las micelas (Kudo, 1980; Aoki y Kako, 1983; Dalgleish y *col.* 1987), además se producen interacciones entre las proteínas séricas y la ic-caseína de la superficie de las micelas (Sawyer, 1969). Este conjunto de reacciones pueden afectar al comportamiento del fosfato cálcico micelar y precipitar el suero (Dalgleish, 1989).

4.1.2 Efectos del tratamiento químico sobre la leche (Hidrolisis Química)

El resultado que se obtuvo del hidrolizado químico, utilizando ácido cítrico no tuvo diferencias significativas con respecto al control, en comparación con los hidrolizados físicos. Se utilizó ácido cítrico ya que el pH disminuye como consecuencia de la ruptura de la lactosa dando lugar a formas ácidas (Gould, 1948). Las caseínas se desfosforilan parcial o totalmente (Belec y Jenness, 1962). El ácido cítrico es muy apreciado por su sabor amargo, se le atribuye la capacidad de actuar como un amortiguador del pH. Se encuentra presente como uno de los aditivos más utilizados por la industria alimentaria, buen conservante y antioxidante natural; en el organismo humano el ácido cítrico ingerido se incorpora

al metabolismo normal, degradándose totalmente y produciendo energía en una proporción comparable a los azúcares. Es perfectamente inocuo a cualquier dosis concebiblemente presente en un alimento

4.2 Microbiológico

En el análisis bacteriológico general de leche se realizó un conteo de bacterias y el resultado obtenido fueron cantidades por encima del límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010. En la figura 5 y 6 se puede observar que el número de microorganismos fue variando conforme pasaba el tiempo. Los datos obtenidos en este trabajo son mayores que lo que reporta la norma oficial mexicana lo cual puede ser debido al mal manejo de las muestras desde el ordeño (ya que los pastores no están capacitados) hasta el almacenaje y distribución de la leche. Además se puede apreciar claramente que resulto ser más efectivo el tratamiento térmico por microondas, reduciendo un ciclo logarítmico la carga microbiana nativa de la leche de cabra.

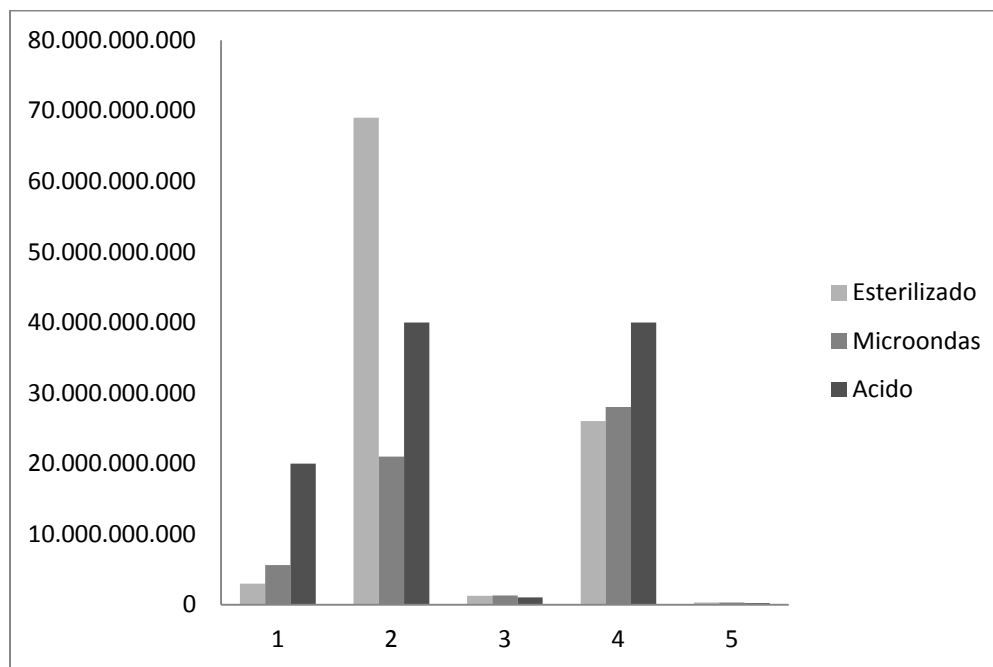


Figura 5. Estudio microbiológico comparativo de 3 métodos de hidrólisis en leche de cabra.

En la figura 6 se puede observar que el proceso térmico por esterilización resultó ser menos efectivo para eliminar a los microorganismos ácido-lácticos presentes, ya que empleando ácido cítrico se observa una reducción de hasta 1 ciclo logarítmico. Haciendo comparación final de cada uno de los tres tratamientos utilizados, se puede decir que resultó ser más efectivo para muestras de leche de vaca, la adición de ácido cítrico, reduciendo un ciclo logarítmico la carga microbiana.

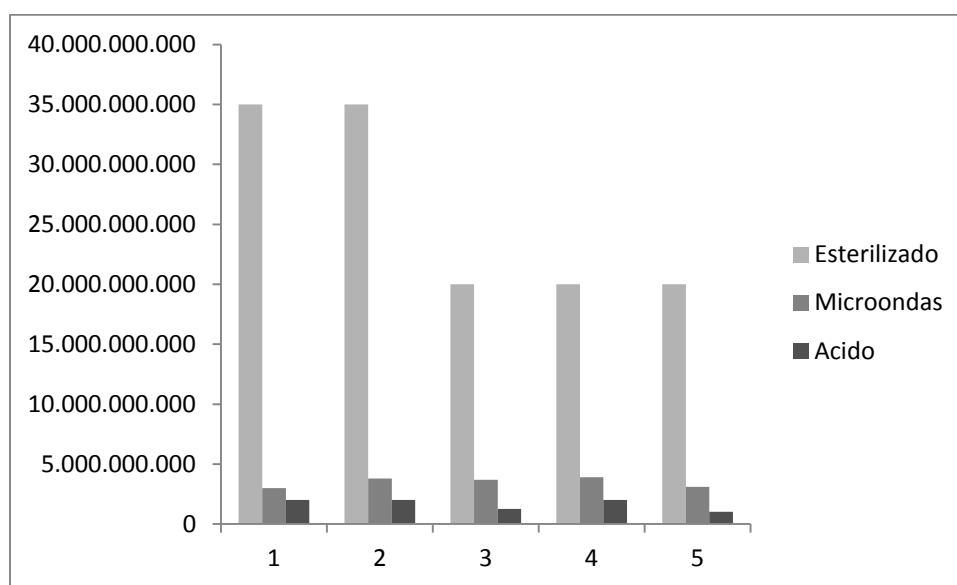


Figura 6. Estudio microbiológico comparativo de 3 métodos de hidrólisis en leche de vaca.

Haciendo una comparación de los dos tipos de leche, observamos que en el caso de la leche de cabra tuvo mejores resultados la aplicación de un tratamiento térmico (esterilizado), ya que al igual a las muestras de leche de vaca, se logró reducir un ciclo logarítmico en el crecimiento bacteriano.

En los cuadros 7 y 8 se presentan los datos obtenidos del crecimiento microbiano empleando los 3 métodos de hidrolisis; donde se observa que la carga microbiana es menor en la leche de cabra lo cual puede ser debido a las malas prácticas de manejo e higiene que se tiene tanto en el producto, así como con el animal. Haciendo énfasis en cuanto a los resultados ya mencionados se puede decir claramente que menor crecimiento microbiano la leche de cabra en comparación a la leche de vaca, haciendo resaltar que las cabras muestreadas mostraron mejor calidad a pesar que se encuentran estabuladas en condiciones deplorables e incluso llegan ser alimentadas en medio extensivo. Las vacas por otra parte mostraron índices bacteriológicos más altos, se encuentran estabuladas en el establo universitario, nos muestra claramente que se están desarrollando malas prácticas de higiene tanto en el animal como en la toma e muestra, incluso con la higiene del humano, como por ejemplo, mala ordeña, ubres sucias e infectadas, llenas de excremento y tierra.

Cuadro 7. Microorganismos presentes en leche de cabra en UFC/ml

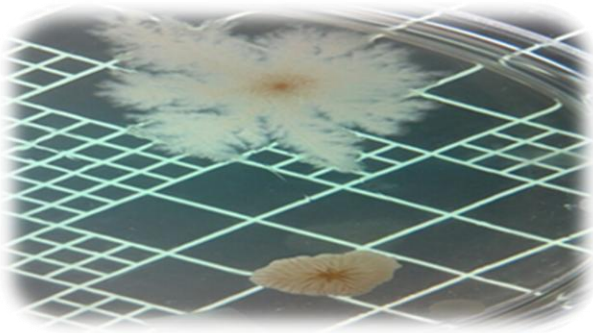
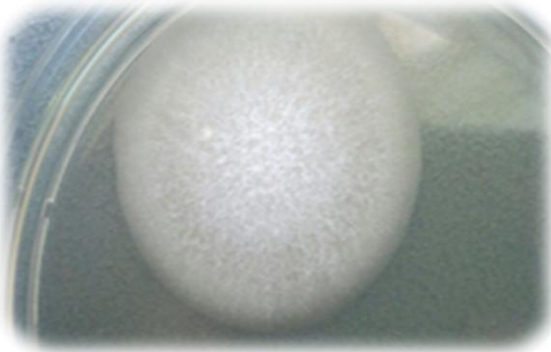
		UFC/ml		
		TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TRATAMIENTO 3
	Tiempo	Esterilizado	Microondas	Acido
Muestreo 1	0	3,000,000,000	5,600,000,000	20,000,000,000
Muestreo 2	48	69,000,000,000	21,000,000,000	40,000,000,000
Muestreo 3	72	1,270,000,000	1,320,000,000	1,030,000,000
Muestreo 4	96	26,000,000,000	28,000,000,000	40,000,000,000
Muestreo 5	120	300,000,000	330,000,000	200,000,000

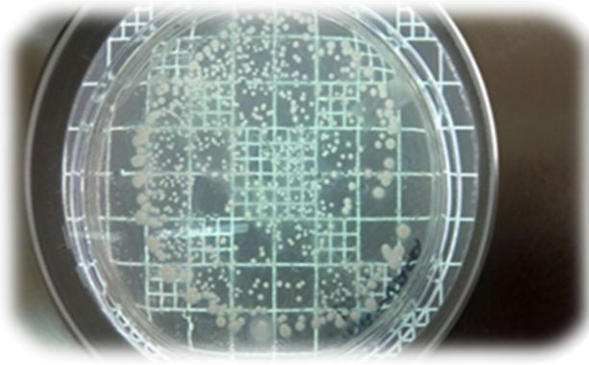
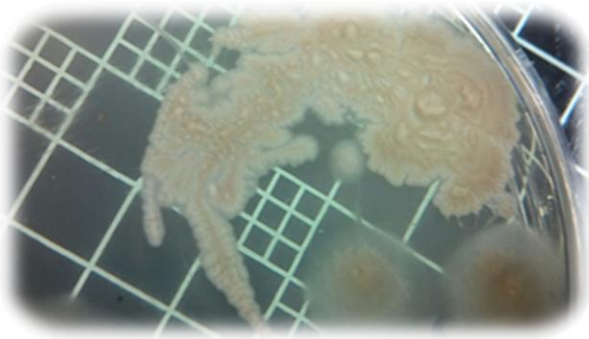
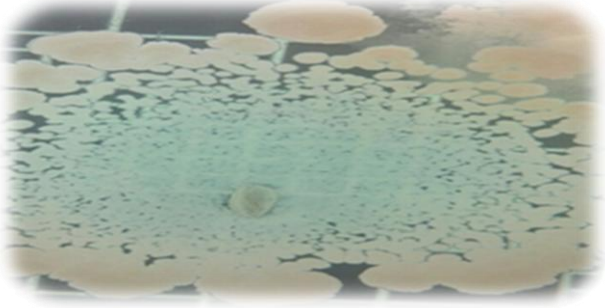
Cuadro 8. Microorganismos presentes en leche de cabra en UFC/ml

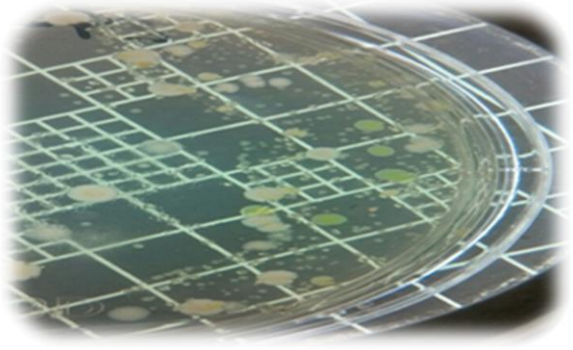

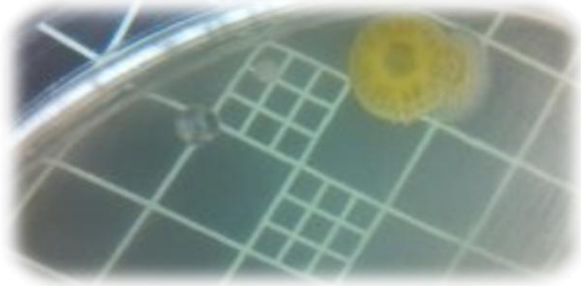
		UFC/ml		
		TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TRATAMIENTO 3
	Tiempo	Esterilizado	Microondas	Acido
Muestreo 1	0	35,000,000,000	3,000,000,000	2,000,000,000
Muestreo 2	48	35,000,000,000	3,800,000,000	2,000,000,000
Muestreo 3	72	20,000,000,000	3,700,000,000	1,270,000,000
Muestreo 4	96	20,000,000,000	3,900,000,000	2,000,000,000
Muestreo 5	120	20,000,000,000	3,100,000,000	1,020,000,000

En el cuadro 9 se presentan las morfologías de los microorganismos cultivados, observando que se obtuvieron 8 cepas diferentes en cuanto a sus características macroscópicas. De las cuales 4 fueron bacterias y 4 hongos (incluyendo filamentosos y mohos algodonosos). Los hongos cultivados sugieren una contaminación en la leche por la manipulación, almacenaje, malas prácticas de manufactura, etc.

Cuadro 9 .Morfología macroscópica de microorganismos cultivados en leche de cabra y vaca.

Colonia	Color	Forma	Margen y/o Borde	Elevación
1 Hongos filamentosos	Blanquecino	Rizoide	lobulado y estriados	Umbilicada
				
2 Hongo filamentosos	Blanco	Circular	Liso	Plana
				

3 Bacterias	Blanco-mate	Circular o Puntiformes	Liso	Plana
				
4 Mohos algodonosos	Blanco con beige	Granular	Lobulado y arrizado	Plana
				
5 Bacterias	Beige con tonos rosados	Irregular	Dentado	Plana
				

6 Bacterias	Amarillo, rosa, verde y beige	Puntiforme	Bordes redondeados	Convexa
				
7 Hongo filamentoso	Blanco	Rizoide	Lobulado y filamentoso	Plana
				
8 Bacteria	Amarillo brillante	Plana	Dentado	Plana
				

4.3 Determinación de proteína por el método de kjeldahl

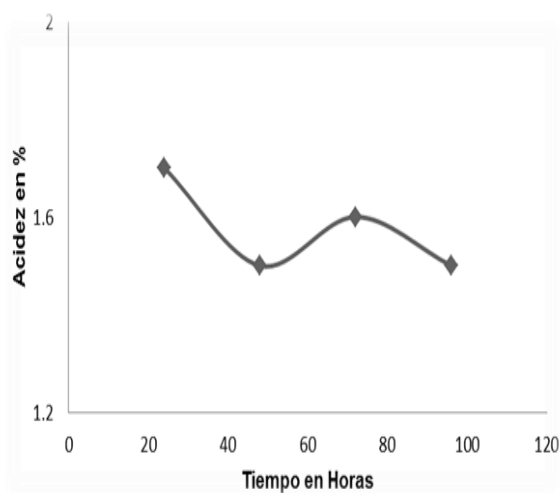
Los resultados que se obtuvieron tras haber finalizado con el método de kjeldahl, fueron calculados utilizando la fórmula: factor de conversión para pasar de contenido de nitrógeno a contenido de proteína cruda, utilizando como factor (6.38).

El análisis de proteínas mostró que no existe diferencia significativa en cuanto al contenido de proteína, en muestras de leche de vaca y cabra, ya que en ambas muestras se obtuvieron valores de 29.029%.

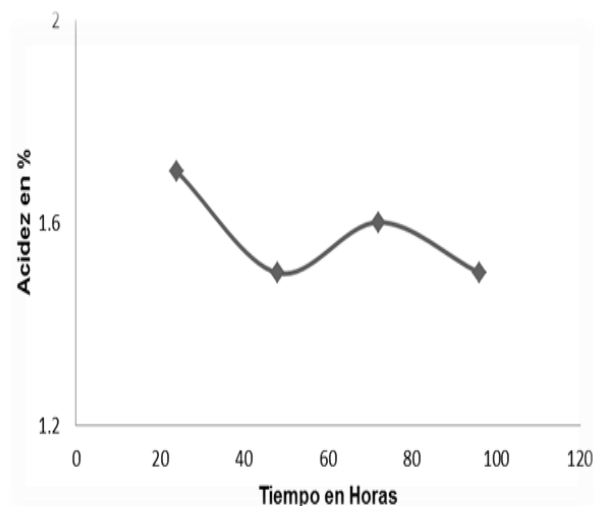
Algunos estudios han observado un aumento significativo en las concentraciones de proteína total y caseína con el incremento en el nivel de forraje ofrecido, mientras que, con una alimentación restringida se ha presentado una reducción en el contenido de proteína cruda y proteína total, así como de caseína, en vacas en lactancia temprana y media (Barber et al., 2005). Cuando se comparan sistemas de producción (e.g. estabulado vs pastoreo) se ha encontrado que animales en pastoreo presentan una menor producción de leche, así como menor producción de grasa y proteína (Bargo *et al.*, 2002).

4.3.1 Determinación de proteína por el método de Biuret.

Con el método Biuret se determinó la concentración de proteína en distintas muestras de leche, haciendo a la vez una serie de aspectos analíticos, sencillos como la determinación de Acidez la cual no muestra una diferencia significativa, si es del mismo origen; sin embargo al comparar el grado de acidez de leche de vaca contra leche de cabra, se nota una leve diferencia, teniendo menos acidez la leche de cabra, de acuerdo a el procedimiento realizado (figura 7).



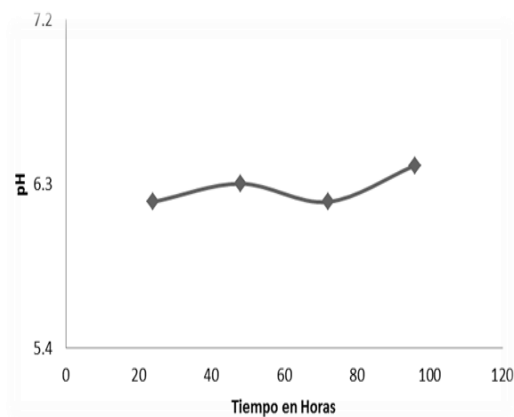
Leche de vaca



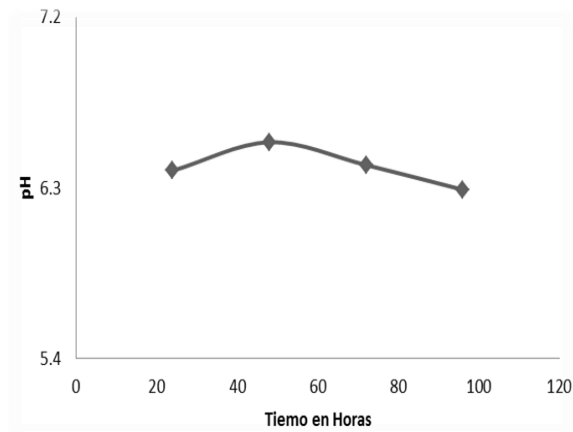
Leche de cabra

Figura 7. Comparación grafica de porcentaje de acidez en ambas muestras

En cuanto al pH se obtuvieron resultados muy similares en los dos tipos de leche ya que las muestras se tomaban directamente de la ordeña. En cuanto a la leche de vaca se refiere, después de la ordeña se refrigeraba de inmediato y en el caso de la leche de cabra no recibía ningún tratamiento alternativo como medida preventiva (Figura 8).



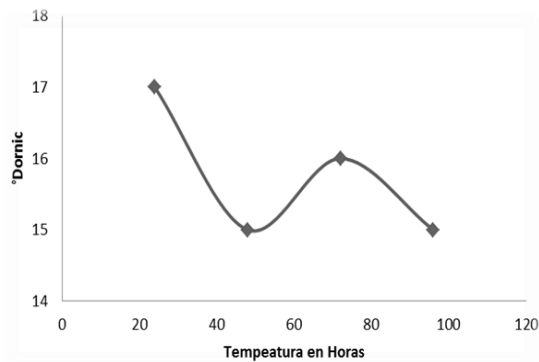
Leche de vaca



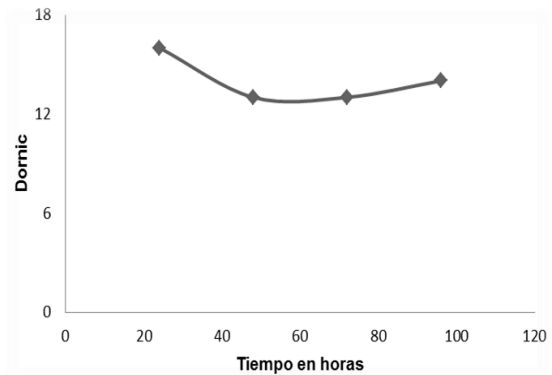
Leche de cabra

Figura 8. Comparación grafica de pH obtenido en amabas muestras

Los Grados Dornic “grados Dornic” ($^{\circ}$ D) que corresponde al volumen de solución de hidróxido de sodio N/9 utilizada para titular 10 ml de leche en presencia de fenolftaleína. Este resultado expresa el contenido en ácido láctico. Un grado Dornic equivale a 0,1 g/l de ácido láctico ó 0,01% en gramos de ácido láctico por litro o por kilogramo. Si se utiliza hidróxido de sodio N/9 con 10 ml de leche, el volumen de reactivo en ml da directamente el resultado, calculado a partir de 2 tipos diferentes de leche; se puede apreciar claramente en el gráfico que los grados Dornic dependen básicamente del grado de acidez contenido en la muestra. Es por eso que no se muestran cambios significativos por lo contrario dependientes y muy similares al porcentaje de acidez, lo cual indica que no hay proliferación de bacterias acido-lácticas, debido a que como es bien conocido los métodos de hidrólisis son métodos de conservación en alimentos (figura 9).



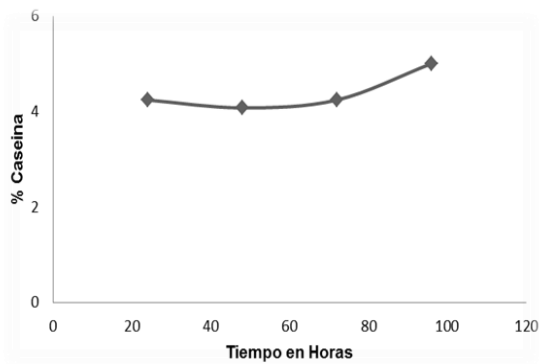
Leche de vaca



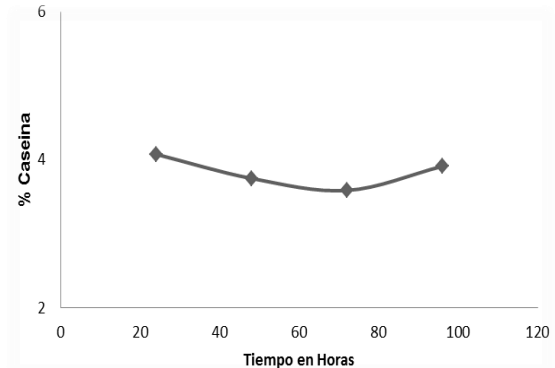
Leche de cabra

Figura 9. Comparación grafica de °Dornic, presentes en ambas muestras

Gráfico de porcentaje en caseína encontrado en la leche; determinado a través de la prueba de Biuret donde nos muestra que el contenido de caseínas presentes en la leche tiene una variación insignificante, manteniéndose dentro de un margen que va desde un 4 hasta un 6%. Esto indica que se encuentran dentro del rango establecido, pues estudios anteriores demuestran que el contenido de caseína presente en mamíferos rumiantes es de un 5% teniendo en cuenta las distintas variantes (figura 10).



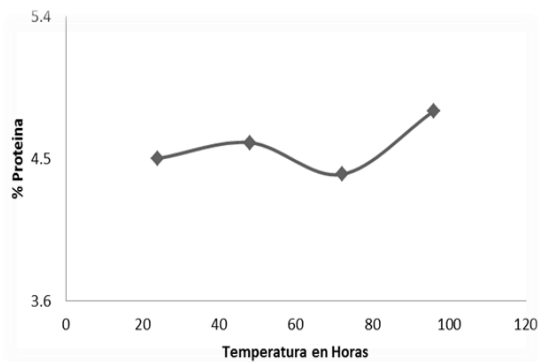
Leche de vaca



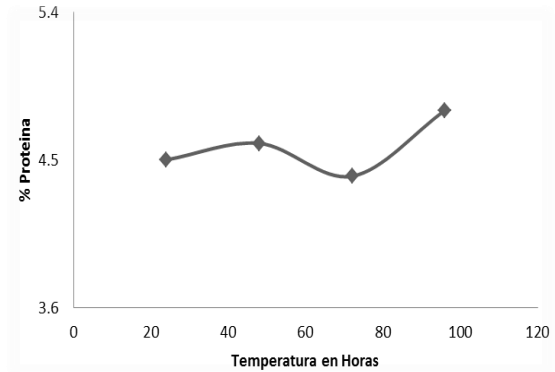
Leche de cabra

Figura 10. Comparación gráfica del contenido en porcentaje de caseína

En los datos obtenidos del contenido total proteico, se puede apreciar que la leche de vaca tiene un contenido proteico más alto, en comparación de la leche de cabra, mostrando la curva, siempre constante (figura 11).



Leche de vaca



Leche de cabra

Figura 11. Comparación grafica de contenido proteico en los dos tipos de leche evaluados

Se puede apreciar que los porcentajes de proteína obtenidos en ambas muestras de leche, no presentan una diferencia significativa.

5. CONCLUSIONES

Se logró realizar un estudio comparativo de la composición química en dos tipos de leche (Cabra y Vaca) empleando 3 métodos de hidrolisis proteica-

La estimación del porcentaje de proteínas presentes en leche de cabra resulto funcionar mejor con un método de hidrolisis física (microondas).

Comparando los análisis de determinación proteica utilizados en esta investigación, se puede decir que es más confiable el método de kjeldahl, que el de Biuret, este último tiende a ser menos preciso en cuanto a sus resultados.

En cuanto al estudio microbiológico se obtuvieron niveles encima de lo permitido por la NOM-243-SSA1-2010 -

A pesar de la fama ya existente que habla de buenas prácticas de higiene y manufactura, en la leche producida dentro del establo universitario UAAAN, se demostró que tiene altos contenido microbiano en comparación con la leche producida en un establo externo y con menor infraestructura.

.Es necesario encaminar al personal que labora en todo el proceso lácteo hacia las buenas prácticas de higiene y manufactura para disminuir las cargas microbianas, cumplir con las normas establecidas y asegurar la salud del consumidor.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aydelo y Bedoya 2005: Composition of milk. *Milchwissenschaft* Pag 42 (2005) 368-371

Barth, C.A: Schlimme, E. (Hrsg.): *Milk Proteins Nutritional, Clinical, Functional and Technological aspects*, steinkopff verlag. New York 1988.

Bloomfield, V, A.: Association of casein. *J. Dairy Res.* Pag. 46 (1979) 241-252

Clawin Radacker I Schlimme, E.: Bestimmung vn Furosin aus pasteurisierter Milch mittels Ionenpaar- Umkehrphasen- Flüssigchromatographie. *Kieler Milchwirtschf.Forsch. Ber.* Pag 47 (1995) 169-175

Fox 2002.: Inter- species comparison of milk proteins. In: *Developments in Dairy Chemistry-1 (proteins)* (Fox, P.,Hrsg.) Applied Science Publishers, London 1982, Pag 87-114

FAO. 2005 FAOSTAT data. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma,Italia. <http://faostat.external.fao.org/default.jsp> (abrilde 2005).

Jenkins y Mc Guire 2006. La composicion de la leche en varias especies. *Dairy Sci* Pag. 45 (1962) 735-741

Meisel H.: Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopolymers* (1997) Pag 119-128

Oshima.: Peptide inhibitors of angiotensin I- converting enzyme in digests of gelatin by collagenase. Pag. 566 (1979) 128-137. Nagasawa, K.

Sherbon 1999 Bioactive peptides of milk proteins: structural, physiological and analytical aspects. *Nahrung- Food* Pag. 39 (1999) 5-36.

Simopoulos 200e nu0, Guzman et al 2003;, Lebenthal 1983 Gilbere y Hom 2002; Darnton et al 1987; Thompson et al 2009; Wattiaux 2011 Augdelo y Bedoya 2005 Medna Sanchez F.: Fluid- Soluble nucleotides of cow goat and sheeps milks at different stages of lactation J. Dairy Res Pag. 48 (1981) 35-44.

- Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A. y Grinari, J.M. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American Society of Animal
- <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>
- Bauman, D.E., Corl, B.A. y Peterson, D.G. (2003). The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. En: Sebedio, J.L., Christie, W.W. y Adlof, R.O. (Eds.), Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, vol. 2. (pp. 146–173). Champaign, Illinois, EEUU:
- Bencini, R. y Pulina, G. (1997). The quality of sheep milk: A review. Australian Journal of Experimental Agriculture, 37, 485–504.
- Alaiz, M., et al. 1992. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. (Journal of Chromatography 591:181-186).
- Greenfield, H. and Southgate, D.A.T. 1992. Food Composition Data. London, Elsevier Applied Science.
- King. 1978. Developments in Food Analysis Techniques. London, Applied Science Publishers.
- Pomeranz, C. and Meloan. 1971. Food Analysis; Theory and Practice. Westport, Connecticut, The AVI Publishing.
- Neville 1995 Walstra et al 2006; Sherbon 1999; Fox 2002, Sherbon 1999
- Jenkins y Mc Guire 2006; Miller et al 2007 Characteristics and potential uses of casein macropeptide. Int Dairy J Pag. 6 (2006-2007) 368-371
- La leche y sus componentes, propiedades físicas y químicas; Eckhard Schlimme.: Wolfgang buchheim, editorial acribia Paag.33-47

-
- Martinez KD, Baeza RI, Millán NF, Pilosof AMR. Effect of limited hydrolysis of sunflower protein on the interactions with polysaccharides in foams. *Food Hydrocolloids* 2005; 19 (3): 361-9.
 - Páez R., R. Gallino & R. Álvarez. 1996. Composición química y fracción nitrogenada de leche de cabra durante un ciclo de producción. Congreso Nacional de Calidad de Leche y Mastitis, Río Cuarto, Córdoba, Argentina pp. 80-81 pp.
 - Paz, R.; Togo, J. & Lopez, C. 2007. Evaluación de parámetros de producción de leche en caprinos (Santiago del Estero, Argentina). *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVII, Nº 2, 161 – 165 pp.*
 - Paz, R.; Togo, J.; Usandivaras, P.; Castel, J.M. & Mena, Y. 2005. Análisis de la diversidad en los sistemas lecheros caprinos y evaluación de los parámetros productivos en la principal cuenca lechera de Argentina. *Livestock Research for Rural Development. Vol. 17, Art. #8. February 18.*
 - <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/959/95917209.pdf>
 - Wang JS, Zhao MM, Yang XQ, Jiang YM. Improvement of emulsifying properties of wheat gluten hydrolysate/lcarrageenan conjugates. *Food Technol Biotechnol* 2006; 44 (1): 25-32.
 - Zeng, S.S.; Escobar E.N.; Popham T. 1997. Daily variations in somatic cell count, composition, and production of Alpine goat milk. *Small Rumin. Res.*, 26:253-260.

