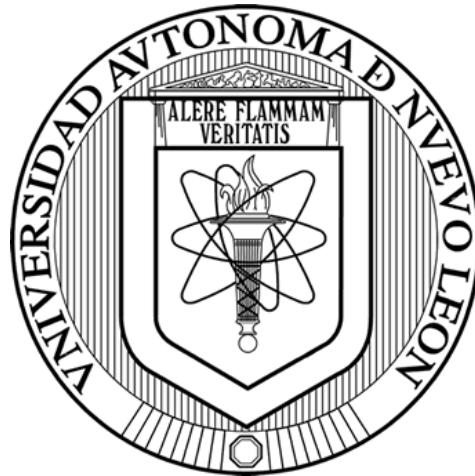


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**PRODUCCIÓN, PARÁMETROS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE
LA LECHE Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y RECuentOS
MICROBIANOS DEL QUESO DE VACAS ALIMENTADAS CON
MANZARINA**

Por

M. C. Francisco Javier Gutiérrez Piña

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Alimentos

Junio, 2011

**PRODUCCIÓN, PARÁMETROS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA
LECHE Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y RECUENTOS MICROBIANOS
DEL QUESO DE VACAS ALIMENTADAS CON MANZARINA**

Comité de Tesis

DR. CARLOS ABEL AMAYA GUERRA
Director

DR. CARLOS RODRÍGUEZ MUELA
Director Externo

DRA. MARIA ADRIANA NUÑEZ GONZÁLEZ
Asesor

DR. JUAN GABRIEL BÁEZ GONZÁLEZ
Asesor

DR. CARLOS JAVIER AGUILERA GONZÁLEZ
Asesor

**PRODUCCIÓN, PARÁMETROS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE
LA LECHE Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y RECuentOS
MICROBIANOS DEL QUESO DE VACAS ALIMENTADAS CON
MANZARINA**

Comité Académico de Doctorado

Subdirector de Estudios de Postgrado

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

A DIOS por prestarme vida y salud todo este tiempo, al igual que por haberme puesto en el camino a las personas e instrumentos adecuados para concluir una etapa más en mi vida, gracias por ser tan bondadoso y complaciente con migo.

Le agradezco y dedico el presente trabajo a mi familia, ya que sin su apoyo el doctorado hubiera sido más difícil o simplemente no hubiera sido posible.

A mis gordas Hanna y Liliana por motivarme de manera directa o indirecta a seguir estudiando y por ser dos grandes niñas, gracias por ser mis hijas.

A Claudia agradezco y dedico este trabajo por su apoyo incondicional en todo momento, por sus palabras de tranquilidad cada vez que las necesitaba y por compartir su vida con migo.

A mis papás Fco. Javier y Alicia por haberme impulsado de manera económica y moral para realizar los estudios de doctorado.

A mi hermana Gloria por demostrarme con el ejemplo que las cosas siempre se pueden hacer mejor.

Gracias a la Universidad Autónoma de Zacatecas y a la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por su apoyo económico por medio de PROMEP.

Gracias a mi asesor principal al doctor Carlos Abel por compartir sus conocimientos, orientarme en el experimento y por facilitarme las cosas durante la realización del doctorado.

Gracias al doctor Carlos Rodríguez por permitirme trabajar con el ingrediente manzarina para mi doctorado, por su sencillez y aporte al experimento.

Gracias a mi comité de tesis, a los doctores Adriana Núñez, Carlos Aguilera y Juan Gabriel Báez por compartir sus comentarios, aportes y correcciones durante las tutorías, seminarios y examen predoctoral.

Gracias a mis compañeros de trabajo, a los maestros Carlos Aurelio, Alberto y Héctor, por su aporte a la realización de este trabajo y gracias por su apoyo moral a la maestra Adriana y al maestro Luis Manuel.

Gracias al PhD José Manuel Silva director de UAMVZ-UAZ por su amistad y apoyo para la realización del doctorado.

Gracias a los alumnos Luis Octavio, Ana Celia, Octavio y Adrián por su ayuda en el trabajo de campo.

Gracias a todas aquellas personas que durante alguna etapa del doctorado me brindaron su apoyo de diversas formas.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
1. RESUMEN	1
1.1 ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1 HIPÓTESIS	6
2.2 OBJETIVOS	7
2.2.1 Objetivo General	7
2.2.2 Objetivos Específicos	7
3. ANTECEDENTES	8
3.1 Definición de Leche	8
3.2 Composición de la Leche	8
3.2.1 Proteína de la Leche	10
3.2.2 Grasa de la Leche	10
3.2.3 Lactosa	11
3.2.4 Minerales	12
3.2.5 Agua	13
3.3 Definición y Origen del Queso	13
3.4 Importancia de la Leche de Vaca en la Dieta Humana y sus Derivados	13
3.5 Calidad de la Leche	14
3.6 Factores que afectan la Composición y Producción de Leche	15
3.7 Principales Microorganismos que Afectan la Calidad de la Leche	16
3.7.1 Salmonella	17
3.7.2 Streptococos	18
3.7.3 Estafilococos	19
3.7.4 Coliformes Totales	19
3.8 Importancia de la Nutrición en los Bovinos Productores de Leche	20

3.8.1 Efecto de la Nutrición sobre la Producción y Composición de la Leche.....	23
3.8.2 Importancia de la Proteína de la dieta en Bovinos Productores de Leche.....	24
3.8.3 Empleo de Levaduras en la Dieta en Bovinos Productores de Leche.....	26
3.9 Antioxidantes e la Nutrición Animal y en el Queso.....	26
3.10 Bagazo de Manzana en la Alimentación Animal.....	30
3.11 Manzarina.....	33
4. MATERIALES Y METODOS	35
4.1 Descripción del Área de Estudio.....	35
4.2 Descripción de la Población.....	35
4.3 Descripción de Tratamientos y Alimentación.....	35
4.4 Variables Evaluadas.....	36
4.5 Toma de Muestras.....	38
4.6 Cuantificación de la Producción de Leche.....	39
4.7 Cuantificación Físicoquímicas.....	39
4.8 Cuantificación Microbiológica de la Leche.....	39
4.9 Cuantificación de la Producción de Queso.....	40
4.10 Cuantificación Microbiológica del Queso.....	40
4.11 Determinación de Variables Sensoriales.....	40
4.12 Cuantificación de Ácidos Grasos Volátiles.....	40
4.13 Cuantificación de Amoníaco.....	41
4.14 Cuantificación de Protozoarios.....	42
4.15 Análisis Estadístico.....	42
5. RESULTADOS	44
5.1 Producción y Variables Físicoquímicas de la Leche.....	44
5.2 Variables Microbiológicas en Leche.....	45
5.3 Variables Microbiológicas en el Queso.....	47
5.4 Variables del Análisis Sensorial del Queso y Rendimiento	49
5.5 Ácidos Grasos Volátiles del Rumen.....	51
5.6 Amoníaco Protozoarios y pH Ruminal.....	52

6. DISCUSIÓN	54
6.1 Producción y Variables Fisicoquímicas de la Leche.....	54
6.1.1 Proteína Láctea.....	55
6.1.2 Grasa Láctea.....	56
6.1.3 Lactosa.....	57
6.2 Variables Microbiológicas en Leche.....	57
6.3 Variables Microbiológicas en el Queso.....	59
6.4 Variables del Análisis Sensorial del Queso y Rendimiento	60
6.5 Ácidos Grasos Volátiles del Rumen.....	61
6.6 Amoníaco Protozoarios y pH Ruminal.....	62
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
8. LITERATURA CITADA	67

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición de la leche de vaca en base a sus principales cinco componentes.....	9
2	Contenido de ingredientes de las dietas empleadas en el experimento.....	37
3	Análisis bromatológico de las dietas empleadas.....	38
4	Variables fisicoquímicas y producción láctea por tratamiento..	44
5	Variables microbiológicas en leche por tratamientos.....	47
6	Variables microbiológicas en queso.....	49
7	Variables del análisis sensorial del queso y rendimiento.....	51
8	Producción de los ácidos grasos volátiles.....	52
9	Producción de las variables protozoarios amoniaco y nivel de pH ruminal.....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Comparación de los componentes fisicoquímicos de la leche...	45
2	Comparación de microorganismos en leche.....	46
3	Comparación de variables microbiológicas en queso.....	48
4	Comparación de las variables del análisis sensorial.....	50
5	Comparación de la producción de los ácidos grasos volátiles..	52
6	Comparación de tratamientos en la variable pH ruminal.....	53

1. RESUMEN

Se determinó el efecto en la leche obtenida de vacas alimentadas con inclusión de manzarina sobre el porcentaje de proteína, grasa, lactosa y producción de leche, de igual forma se midió el efecto sobre las cuentas de *Salmonella sp*, *Estreptococos sp*, *Estafilococos sp* y coliformes totales. Se elaboró queso tipo chihuahua con leche producida con manzarina y se determinó su efecto sobre el rendimiento, apariencia, sabor, textura, calificación numérica con escala de 1 a 10 y los mismos microorganismos que se determinaron en leche. También se midió el efecto de la manzarina sobre parámetros ruminales como ácidos grasos volátiles (AGV), propiónico, acético y butírico, otras variables evaluadas fueron pH ruminal, amoniaco y protozoarios. Para la determinación de todas las variables antes mencionadas tanto de queso como de leche se emplearon 20 vacas Holstein, las cuales tenían de 2 a 4 lactancias y un promedio de 89 días en leche, se formaron dos grupos con 10 vacas cada uno para conformar un cuadro latino 2 X 2, con periodos de tiempo comunes. Las dietas del experimento fueron formuladas con ingredientes tradicionales y a una de ellas se le añadió manzarina, las raciones se incorporaron gradualmente dando un periodo de 10 días de adaptación, seguido por otros 20 de toma de muestras, para que al término de este análisis hacer el cambio de dietas a los grupos y repetir la misma secuencia de adaptación y toma de muestras. En las variables lactosa y producción no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$), en la proteína y grasa existió diferencia ($P<0.05$) en el primer componente a favor del tratamiento testigo y en el segundo hacia el tratamiento manzarina debido a que se logró aumentar el porcentaje de grasa láctea. *Estafilococos sp*, *Estreptococos sp* y Coliformes Totales existió diferencia ($P<0.05$) a favor del tratamiento manzarina ya que se logró disminuir las UFC/ml en tanto para *Salmonella sp* no existió diferencia ($P>0.05$). En todas las variables que comprendieron el análisis sensorial del queso tipo chihuahua se encontró diferencia significativa ($P<0.05$) a favor del tratamiento manzarina, la variable rendimiento de queso no mostro diferencia ($P>0.05$) entre tratamientos. Para las variables microbiológicas que se midieron en queso no existió diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. En lo correspondiente a AGV existió diferencia estadística ($P<0.05$) para Acético, Propionico y Butírico a favor del tratamiento manzarina, el resto de los parámetros ruminales pH, Protozoarios y

Amoniaco no mostraron diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. Se concluyó que es posible incorporar la manzarina como un ingrediente proteico más en dietas de vacas lecheras en etapa temprana de lactancia, ya que la manzarina no mostro efectos negativos en las variables evaluadas.

1.1 ABSTRACT

The effect on milk from cows fed manzarina on the percentage of protein, fat, lactose and milk production, similarly measured the effect on the accounts of *Salmonella sp*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp* and total coliforms. Chihuahua cheese was prepared with milk produced by manzarina and determined its effect on performance, appearance, flavor, texture, numerical rating scale of 1 to 10 and the same organisms that were identified in milk. We also measured the effect on ruminal parameters manzarina as volatile fatty acids (VFA), propionic, acetic and butyric acids, other variables were rumen pH, ammonia and protozoa. For the determination of all the above variables as cheese and milk 20 Holstein cows were used, which were 2 to 4 lactations and an average of 89 days in milk, were divided into two groups with 10 cows each to form a 2 X 2 Latin square with common time periods. The experimental diets were formulated with traditional ingredients and one was added manzarina, rations were gradually incorporated giving a period of 10 days of adaptation, followed by another 20 sampling, so that at the end of this analysis do changing diets of the groups and repeat the same sequence of adaptation and sampling. In the lactose and production variables, no difference was statistically significant ($P > 0.05$) in protein and fat differences ($P < 0.05$) in the first component for the control treatment and the second to treatment because manzarina succeeded in increasing the percentage of milk fat. *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp* and Total Coliform significant differences ($P < 0.05$) in favor of treatment and manzarina It decreased the CFU / ml for *Salmonella sp* while there was no difference ($P > 0.05$). In all the variables included sensory analysis chihuahua cheese significant difference ($P < 0.05$) in favor of treatment manzarina, the cheese yield variable showed no difference ($P > 0.05$) between treatments. For microbiological variables were measured in cheese statistically significant difference ($P > 0.05$) between treatments. As for AGV statistical difference existed ($P < 0.05$) for acetic, propionic and butyric manzarina treatment for the rest of the parameters rumen pH, protozoa and ammonia showed no significant difference ($P > 0.05$) between treatments. Concluded that it is possible to incorporate as an ingredient manzarina more protein diets of dairy cows in early lactation, as manzarina showed no negative effects on the variables.

2. INTRODUCCIÓN

La industria láctea es uno de las ramas más dinámicas en el sector pecuario, ésto debido al aumento en la demanda de leche en el mundo estimulada por la sobrepoblación que existe en el planeta. Otro aspecto importante en el dinamismo de esta industria es que cada vez los consumidores exigen productos lácteos de mejor calidad, lo cual ha llevado a la industria láctea por diversas opciones para tratar de cubrir, tanto la demanda de leche, así como su calidad y la de los subproductos de ésta. Se han llevado a cabo una serie de trabajos de investigación para encontrar la forma de variar las concentraciones de una manera constante de los principales componentes lácteos, poniendo un énfasis particular en la grasa, proteína y lactosa; debido a que estos componentes tienen efecto tanto en el sabor como en el rendimiento de la leche y también en el rendimiento y características sensoriales de los subproductos lácteos, entre ellos el queso (Hettinga, 1989).

Se ha intentado la modificación de componentes y aumento de producción láctea por diferentes medios, principalmente por la selección genética de animales cada vez más especializados en producir una mayor cantidad de cierto componente. Las tecnologías genéticas han sido fundamentales para llegar a los parámetros lácteos actuales, sin embargo tienen un gran costo económico implícito y sus cambios o modificaciones son paulatinos. Otra gran herramienta para intentar inducir estos cambios es la nutrición que se ha utilizado de manera constante para alterar la composición y producción láctea, con efectos inmediatos y a un menor costo. Así pues por medio de los ingredientes de la dieta se puede tener impacto positivo sobre diferentes parámetros digestivos y en bovinos, específicamente en parámetros ruminales, como son: pH, protozoarios, ácidos graso volátiles (AGV) y amoníaco; los cuales al modificarse pueden tener como consecuencia modificaciones tanto en la producción de leche así como en los componentes y sus derivados.

Cada nuevo ingrediente que se quiera incorporar a las dietas de ganado lechero necesita ser evaluado y la manzarina no es la excepción. La manzarina es un producto obtenido por la fermentación del bagazo de la manzana con urea gracias a las levaduras presentes en el mismo bagazo obteniendo un producto final

(manzarina) con valor proteico y con un potencial poder antioxidante, lo cual le puede dar un valor agregado a la manzarina, ya que podría actuar no sólo como un ingrediente nutritivo sino como nutracéutico, pudiendo tener beneficio sobre el control de los principales microorganismo patógenos de la glándula mamaria como son los *Estafilococos sp*, *Streptococos sp* y coliformes, ésto debido al contenido de polifenoles de la manzarina, sin embargo existen pocos datos publicados sobre el efecto de la manzarina en bovinos productores de leche, por lo cual resulta importante determinar su efecto.

2.1 HIPÓTESIS

La inclusión de manzarina en las dietas de vacas lecheras mejora la producción, componentes principales (grasa y proteína), recuentos microbiológicos de la leche y propiedades sensoriales del queso elaborado con esta leche.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la Manzarina sobre la calidad de leche y del queso tipo chihuahua.

2.2.2 Objetivos Específicos

Evaluar el efecto de la manzarina sobre la producción de leche.

Evaluar el efecto de la manzarina sobre microorganismos patógenos en leche.

Evaluar el efecto de la manzarina sobre la grasa, lactosa y proteína de la leche.

Evaluar el efecto de la manzarina sobre las propiedades sensoriales del queso.

Evaluar el efecto de la manzarina sobre la calidad microbiológica del queso.

Evaluar el efecto de la manzarina sobre parámetros ruminales.

3. ANTECEDENTES

3.1 Definición de Leche

Acuñar una sola definición de leche en la actualidad es sumamente complejo, pues existen infinidad de definiciones por diversos autores, sin embargo todas coinciden en lo general. Estos conceptos se pueden dividir en dos grandes categorías: las definiciones biológicas y las definiciones legales.

Entre las definiciones biológicas se encuentran algunas como: la leche es la secreción mamaria normal de animales obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción (Codex Alimentarius, 2000).

La leche es el producto secretado por los mamíferos hembras a través de la ubre, para la alimentación de sus crías durante las primeras etapas de crecimiento (Villegas, 2004).

Dentro de los términos legales las definiciones para leche son diversas, variando un poco de un país a otro, encontrando dentro de las más representativas la siguiente: la leche se le considera como el producto íntegro y fresco de la ordeña completa que procede de una o más vacas bien alimentadas, sanas y en reposo, exenta de calostro y que cumpla con las características físicas, químicas y bacteriológicas establecidas por la legislación de cada país (Villegas, 2004).

3.2 Composición de la Leche

La leche se encuentra constituida por más de 100 diferentes componentes que se encuentran ya sea en solución, suspensión o emulsión en agua y cada una de estas sustancias posee un papel diferente como proporcionar energía, proteína, grasa, minerales, vitaminas o protección inmune. Originalmente el balance de nutrientes que se encuentra en la leche de vaca tiene como objetivo biológico el alcanzar o cubrir las necesidades de la cría y aunque esta mezcla de nutrientes no está

originalmente destinada a las necesidades del ser humano, se ha adoptado como un alimento esencial y básico con gran consumo prácticamente en todas las culturas del mundo (Homan y Wattiaux, 2000). Las más de 100 sustancias se encuentran distribuidas en cinco grandes grupos: agua, proteína, grasa, lactosa y minerales (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de la leche de vaca en base a sus principales cinco componentes

Componentes	Porcentaje Aproximado
Agua	87.00 - 88.00
Proteína	3.00 - 3.50
Grasa	2.80 - 3.50
Lactosa	4.50 - 5.00
Minerales	0.70 - 1.00

Villegas, 2004

3.2.1 Proteína de la Leche

Del total de nitrógeno en la leche aproximadamente el 95 % son proteínas, de las cuales alrededor del 80 % son caseínas, dentro de las cuales se encuentran la α – caseína, β – caseína y κ - caseína, estas sustancias se caracterizan por un elevado peso molecular, comprendido entre 15,000 y 200,000 daltons.

Dichas proteínas se encuentran en la leche en forma de agregados llamados micelas. La micela de caseína es una partícula casi esférica formada por la asociación de las caseínas y de componentes salinos, principalmente calcio, magnesio y fósforo (Santos, 2003), constituyendo la parte nitrogenada más importante de la leche por su cantidad y por sus funciones esenciales y específicas para la fabricación de productos lácteos, principalmente en los quesos donde existe relación directa entre caseína y rendimiento (Veisseyre, 1988 y Alais, 2003).

El 20 % restante de proteínas lácteas lo constituyen las proteínas séricas, las cuales se encuentran en solución en la fracción acuosa de la leche. Dentro de las principales seroproteínas y con funciones determinantes se encuentran la β -lactoglobulina la cual se considera la más importante ponderalmente con alrededor de 3 gramos/litro, siendo una fuente importante de aminoácidos. Por otro lado la α -lactoalbúmina se encuentra en una concentración de 0.7 gramos/litro, al igual que la proteína anterior, también provee de aminoácidos esenciales, sin embargo su mayor importancia se da en que es un precursor importante de la enzima lactosa-sintetasa, que a su vez interviene en la biosíntesis de la lactosa y ésta determina el grado de producción láctea (Wattiaux, 2000a y Villegas, 2004).

3.2.2 Grasa de la Leche

Este componente está presente en la leche como una emulsión de glóbulos con un diámetro de 2 a 4 μm , 98 % o más de la grasa está constituida por triglicéridos, representando los fosfolípidos el 0.5 a 1 % y los esteroides 0.2 a 0.5 % del total de lípidos (Jensen *et al.*, 1991; Veisseyre, 1988).

Cada glóbulo se encuentra formado por un núcleo, que en su mayoría están constituido por triglicéridos, los cuales son sintetizados por la enzima ácido graso transferasa (Bauman *et al.*, 2006), los cuales están formados a su vez por un éster de alcohol trivalente. La parte externa del núcleo se encuentra cubierta por una capa de fosfolípidos la cual se le conoce como membrana (Spreer, 1991). La función principal de la membrana es evitar que los glóbulos se aglutinen, repeliéndose entre sí y atrayendo agua. Mientras que dichas características no se modifique la leche permanecerá como emulsión, manteniendo sus características físicas (Amiot, 1991).

La grasa es uno de los principales componentes que por las propiedades antes mencionadas cobra suma importancia, tanto por su calidad como cantidad en la leche y en la elaboración de subproductos, ya que impacta en las propiedades organolépticas de la leche y algunas bebidas derivadas de ésta, reflejándose su efecto principalmente en el sabor, de igual forma está relacionada con la consistencia de la mantequilla y el rendimiento de crema (Jensen, 1995).

Con respecto al efecto que tiene la grasa sobre la producción y propiedades sensoriales del queso, se ha reportado que cobra importancia sobre diferentes propiedades físicas, características de fabricación y cualidades organolépticas del queso (Bauman *et al.*, 2006). Algunos de estos efectos son atribuidos a los aldehídos y cetonas producidos por el metabolismo de los triglicéridos (Lucey *et al.*, 2003).

3.2.3 Lactosa

Después del agua, éste es el componente más abundante de la leche de vaca. Es un carbohidrato que sólo se encuentra en la leche a concentraciones que van de 4.5 a 5 %. La lactosa se clasifica como un glúcido, el cual está formado por dos moléculas: una de α o β glucosa y otra de β galactosa (Villegas, 2004). A pesar que es un azúcar, no demuestra un sabor dulce; asimismo es el compuesto más estable de la leche y difícilmente se puede alterar por prácticas de alimentación. En el aspecto tecnológico alimentario, juega un papel importante en todos los procesos de acidificación de la leche como en la elaboración de los productos de la leche ácida y maduración de productos, ya que representa el substrato nutritivo para las bacterias lácticas (Spreer, 1991). La fermentación de la lactosa durante el proceso de

elaboración del yogurt y queso baja su concentración, sin embargo la más importante de las funciones de la lactosa es la regulación de la cantidad de agua que se absorbe del torrente sanguíneo hacia la ubre y que a su vez determina la cantidad de producción de leche (Homan y Wattiaux, 2000).

La lactosa no sólo tiene un papel importante dentro de la industria alimenticia, también tiene un papel importante en la industria farmacéutica, ya que se puede usar de diversas formas aprovechando que es prácticamente inerte y por lo tanto compatible con diversa sustancias, usándose como diluyente de los principios activos en la fabricación de comprimidos y capsulas. De igual forma se utiliza en la producción de penicilina, ya que en la primeras etapas del proceso de obtención de este antibiótico aumenta la eficiencia de producción debido a que los hongos productores de penicilina metabolizan la lactosa más lentamente que otros carbohidratos (Backhouse, 2004).

3.2.4 Minerales

Los minerales presentes en la leche se encuentran constituidos en dos grandes grupos: los macroelementos y los oligoelementos. El primer grupo está conformado principalmente por cloruros, fosfatos, citratos de potasio, calcio, sodio y magnesio. En el segundo grupo se encuentran el aluminio, bromo, zinc, manganeso, hierro y cobre.

Cabe mencionar que los oligoelementos presentes en la leche se pueden modificar de manera relativamente fácil por medio de la alimentación de los bovinos. Este grupo de metales están en su mayoría formando complejos con las proteínas de la membrana del glóbulo graso. Gran parte del interés de los minerales de la leche reside en su estado fisicoquímico que mantiene o gobierna la estabilidad de la leche, ésto debido a que un aumento en el contenido de los iones de calcio favorece la desestabilización provocada por el cuajo o el calentamiento y por el contrario, una disminución del contenido de iones de calcio por la adición de quelantes (fosfato o citrato) aumenta la estabilidad de la caseína nativa cuando se somete la leche a un calentamiento prolongado (Veisseyre, 1988).

3.2.5 Agua

De modo esquemático se puede considerar la leche como una emulsión de materia grasa en una solución acuosa que contiene numerosas sustancias, que como ya se mencionó anteriormente, unas se encuentran en disolución y otras en solución coloidal. Cuantitativamente el agua es el elemento más importante ya que representa aproximadamente entre el 88 y 90 % de la leche (Villegas, 2004).

3.3 Definición y Origen del Queso

La palabra queso deriva del latín *caseus*, el queso es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada. La leche es inducida a cuajarse usando un producto llamado cuajo, el cual solía ser obtenido del estómago del ganado lactante, pero actualmente la cuajada se produce por medio de sustitutos microbiológicos o acidificación. Las bacterias en el proceso de elaboración del queso son fundamentales ya que se encargan de acidificar la leche, jugando también un papel importante en la definición de la textura y el sabor de la mayoría de los quesos. El origen del queso es controversial, sin embargo se estima que el primer queso que se elaboró fue en el año 3000 a. C. y se piensa que el descubrimiento del queso fue un evento fortuito, debido a que se cree que en algún lugar del medio oriente alguien guardo leche en el estómago de un becerro y al beberla se percató que se había cuajado (del Castillo y Mestres, 2004).

3.4 Importancia de la Leche de Vaca en la Dieta Humana y sus Derivados

Históricamente la leche y sus derivados han sido una fuente importante de nutrientes para el ser humano, proporcionando energía, proteína de alta calidad, minerales y vitaminas esenciales, por lo que siempre se ha intentado mejorar la eficiencia reproductiva, sin embargo más recientemente la calidad nutricional de la leche y sus subproductos ha aumentado considerablemente su importancia debido al gran interés de los consumidores sobre la dieta y la salud.

El interés y reconocimiento de diversos alimentos que contienen componentes que afectan la salud favorablemente se ha desarrollado debido a las

experimentaciones en las que se han demostrado que la composición de algunos alimentos pueden mantener la salud y prevenir algunos tipos de enfermedades (Bauman *et al.*, 2006). Tradicionalmente los alimentos funcionales estaban relacionados con frutas y las verduras, pero en tiempos relativamente recientes se ha establecido que existen componentes bioactivos en alimentos derivados de los productos de origen animal.

La leche y sus derivados no han sido la excepción, estudiando sus componentes, pero haciendo énfasis especial en proteínas específicas, péptidos y ácidos grasos que son componentes bioactivos y la producción de derivados fermentados, se ha demostrado que tienen potencial benéfico en diferentes aspectos de salud como: enfermedades crónicas de tipo cáncer y arterosclerosis, siendo los componentes bioactivos más estudiados la grasa de la leche y sus ácidos grasos, ya que por medio de ellos se han obtenido algunos de los avances más significativos relacionados con la salud humana (Caja y Medrano, 2006).

Regularmente las grasas saturadas son asociadas con problemas coronarios del corazón y aproximadamente 60 % de los ácidos grasos en la grasa láctea son saturados, sin embargo los ácidos grasos de la grasa láctea varían en su estructura y algunos son neutrales o no tiene efectos en el colesterol del plasma (Bauman *et al.*, 2006). Uno de los mayores avances en esta área ha sido el descubrimiento de los potenciales beneficios que los isómeros del ácido linoleico conjugado pueden tener sobre la salud humana.

Por lo antes mencionado se tiene la gran oportunidad de modificar la composición de la leche enfocándose en componentes específicos asociados con beneficios en la salud y prevención de enfermedades, es decir la manipulación de los componentes lácteos puede ser usada como una estrategia o herramienta dentro de una gran campaña para mejorar la nutrición y salud del humano.

3.5 Calidad de la Leche

La calidad de la leche se puede definir como la suma de sus características nutritivas, composicionales, higiénicas, microbiológicas, sensoriales y tecnológicas,

todas las características antes mencionadas proporcionan una mayor o menor satisfacción a la industria láctea y al consumidor final (Villegas y Santos, 2010).

Los recuentos bacteriológicos y de células somáticas son parámetros que se emplean para determinar la calidad microbiológica de la leche cruda y pasteurizada (Costello *et al.*, 2003), estos parámetros resultan importantes debido a que cuando la leche cruda tiene un nivel bajo o adecuado de bacterias total $<100,000$ cfu/ml y células somáticas en tanque frío $<750,000$ ml, ya que el proceso de pasteurización resulta ser más eficiente en la destrucción de microorganismos patógenos que pueden afectar la salud humana (Boor and Murphy, 2002), de igual forma dentro de los criterios de calidad de leche para la industria láctea se encuentran los aspectos de evitar los residuos de antibióticos en leche y adulteración con agua.

Otro de los aspectos más importantes que determinan la calidad de la leche es la composición, es decir los componentes de la leche se deben encontrar dentro de los rangos establecidos por cada país o raza de vaca, ya que estos son de suma importancia para aportar los nutrientes necesarios que se espera, al igual que para poder obtener la calidad y cantidad de los subproductos de la leche, debido a que los componentes lácteos están altamente asociados con los procesos de los productos lácteos (Badui, 2006).

3.6 Factores que afectan la Composición y Producción de Leche

Son diversos los factores que afectan la composición y producción de la leche, los cuales se dividen en dos grandes grupos, el primero es el que abarca los factores inherentes exclusivamente al animal, de éstos los más importantes son, el grado de desarrollo de la ubre (número de células excretoras), la etapa de la lactación, el número de lactancias, la edad, el tamaño del animal, peso corporal y gestación, todos estos factores están controlados por la genética animal.

El segundo grupo abarca todos los factores de manejo que se les proporciona a las vacas, como temperatura, humedad, disponibilidad de agua, adecuada higiene en la ordeña, eficiente retiro de la leche, número de ordeños, cuidado de la salud de los animales, finalmente y como el más importante instrumento de aplicación a nivel

de productores de manera práctica para modificar los componentes y mejorar la producción de leche, se encuentra la nutrición (Gorewit, 2003).

3.7 Principales Microorganismos que Afectan la Calidad de la Leche

La microbiología está estrechamente relacionada con todos los sectores de la industria láctea, ya que los principios microbiológicos son la base de las técnicas de producción higiénica de la leche, al igual que la calidad depende en gran parte de la microbiología que contenga.

En la industria láctea se aplican los conocimientos microbiológicos con tres finalidades: la primera, prevenir e impedir la transmisión de bacterias patógenas que pueden ser transportadas por la leche y los productos lácteos para proteger la salud de los consumidores. La segunda, prevenir y reducir el desarrollo de las bacterias indeseables en la leche y los productos lácteos para impedir su alteración. La tercera, favorecer y dirigir el desarrollo de las bacterias útiles en el proceso de elaboración de algunos productos lácteos fermentados (Robinson, 2002).

Dentro de los principales microorganismos no deseados en la leche se encuentran *Estafilococos aureus*, *Micrococos*, *Streptococos*, *Pediococos*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* y *Xanthomonas* (Amiot, 1991). La procedencia de estos microorganismos está asociada a diversos factores:

- a) Microorganismos procedentes del animal; aunque teóricamente la leche debe salir estéril del pezón siempre contiene bacterias en concentraciones muy variadas que pueden ir de 100 a 10000/ml. Durante el ordeño generalmente las primeras porciones de leche están más contaminadas que el resto, la leche del final del ordeño puede contener una población microbiana hasta cinco veces menor que la del inicio.
- b) Las vacas enfermas; son diversos los microorganismos que pueden afectar la ubre causando una mastitis, pudiéndose presentar en forma clínica o

subclínica, afectando de cualquier manera la producción y componentes de la leche.

- c) El medio; en este factor se encierran una serie de subfactores que pueden transmitir o contaminar la leche con diversos microorganismos como el aire que puede transportar partículas que contengan bacterias o esporas, estando dentro de los componentes más importantes el estiércol, que es una fuente rica en diferentes tipos de bacterias patógenas y no deseadas en la industria láctea.

Otro factor de transmisión asociado al ambiente es el ordeñador, en general el personal responsable del ordeño no constituye desde el punto de vista cuantitativo una fuente importante de contaminación de la leche, sin embargo cualitativamente esta posibilidad de contaminación puede tener importancia ya que pueden ser portadores y contaminar la leche con microorganismos patógenos que afectan directamente en la salud pública. El equipo de ordeño, la conducción realizada por las tuberías y almacenamiento en el tanque frío aumentan las posibilidades de microorganismos en la leche por un factor de 2 a 50 según la limpieza de las superficies.

3.7.1 *Salmonella*

Es una bacteria gram negativa, facultativa y usualmente con motilidad en el flagelo, es fácilmente cultivada en medios lácteos, crece en un rango de temperatura de 5.5 a 45° C, produciendo normalmente colonias de 2 a 3 mm de diámetro, pudiéndose confundir con bacterias coliformes, sin embargo las cepas de *salmonella* producen colonias redondas, brillantes y tienen textura más suave, del igual manera es capaz de producir ácido de glucosa, maltosa y sorbitol, generalmente la lactosa no es atacada (Marth, 1969).

El interés de la frecuencia de salmonella en leche y sus derivados ha existido aproximadamente desde el año 1856, cuando se determinó que la leche podía ser contaminada por este microorganismo y posteriormente ser fuente de transporte e

infección para el ser humano., esto debido a dos factores como la falta generalizada de la práctica de pasteurización de la leche, sobre todo en países en vías de desarrollo, con respecto a países de primer mundo se podría pensar que este microorganismo no representa problemas sin embargo no es así, ya que en Estado Unidos se encuentra en la lista de los 28 microorganismos que causan más infecciones en humanos (Tauxe, 2002), esto a pesar del alto nivel tecnológico con que cuenta la industria láctea de ese país, la explicación a la presencia de *salmonella* en la leche y sus derivados se debe a la contaminación después del proceso de elaboración.

Son diversos los productos lácteos que se pueden contaminar como mantequilla, yogurt, pero el más importante de todos es el queso sobre todo en países subdesarrollados, ya que gran parte de la producción de queso se realiza con leche no pasteurizada aumentando así la posibilidad de la presencia *salmonella* en los quesos (Baylis, 2009).

3.7.2 *Streptococos*

Son cocos grampositivos, normalmente se disponen en parejas o cadenas, sus exigencias nutricionales son complejas, se distribuyen extensamente en la naturaleza y como comensales en animales, hablando específicamente de la industria lechera *Streptococos agalactiae* son de los microorganismos que con más frecuencia causan mastitis en bovinos, otro microorganismo importante en infecciones de la glándula mamaria perteneciente al grupo de los es *Streptococos dysgalactiae* (Carter y chengapa, 1994).

Streptococos agalactiae, una bacteria presente en la glándula mamaria, que depende de esta para subsistir, su transmisión es de las vacas contaminadas a otras, se multiplica en la leche y en la cisterna y conductos galactóforos, produciendo una sustancia irritante que causara una reacción inflamatoria al tejido, el producto de esa inflamación podrá bloquear los conductos ocasionando la retención de leche e involución de los alveolos, el tejido inflamado será reemplazado posteriormente por tejidos cicatriciales, siendo el resultado final atrofia marcada y pérdida de producción o agalactia (Rebhun, 1995).

3.7.3 Estafilococos

Son cocos grampositivos que se presentan en pares, cadenas cortas y racimos, tiene la capacidad de invadir tejidos, producir abscesos, pústulas y septicemia, en bovinos puede causar mastitis aguda, pero con mayor frecuencia es crónica y subclínica, se puede presentar de igual forma mastitis gangrenosa por toxina alfa (Rebhun, 1995).

3.7.4 Coliformes Totales

Este grupo se compone de todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener ciertas propiedades bioquímicas como ser aerobias o anaerobias facultativas, bacilos gramnegativos, no ser esporógenas, y fermentar la lactosa a 35° C en 48 horas produciendo ácido láctico y gas.

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelo.

La contaminación de las bacterias coliformes se produce en gran medida por medio de las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de las coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal.

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, sin embargo no todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme, de cualquier forma incluyendo o no a al último microorganismo mencionado, este grupo de coliformes es responsable de los casos de mastitis clínica más severos (Hogan *et al.*, 1989).

En la higiene de alimentos las bacterias coliformes no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad, específicamente en la industria láctea, los recuentos de coliformes totales se usan para evaluar la calidad de la leche pasteurizada, leche en polvo, helados y fórmulas

para lactantes. Por último, la *E. coli* se usa como indicador en quesos frescos, quesillos, alimentos infantiles y verduras frescas (Robinson, 2002).

3.8. Importancia de la Nutrición en los Bovinos Productores de Leche

Tan necesario es contar con vacas de alta calidad genética, para producir grandes cantidades de leche, así como para mantener los porcentajes aceptables de los principales componentes, resulta igualmente importante ofrecer raciones adecuadas y eficaces, para lograr los parámetros deseados (Morrison, 1980). Otra ventaja de la nutrición es que se considera la opción más barata para modificar componentes lácteos y la producción de leche (Ferris y Vasavada, 1989).

La proporción, tipo y calidad de los ingredientes de la dieta como proteínas, grasas y fibra tienen una influencia directa ya sea positiva o negativa sobre la producción, porcentaje de proteína y grasa láctea, principalmente (Kennelly *et al.*, 2005). Por lo que se han desarrollado decenas de formulaciones o raciones, con diversos ingredientes, hasta llegar a alimentar a las vacas de una manera más específica, gracias a la construcción de sistemas de alimentación por fases, dependiendo de la etapa de lactación de los animales (Hristov *et al.*, 2004).

Los rumiantes tienen una capacidad única de aprovechamiento de alimentos fibrosos, como las pasturas y los subproductos de la industria y del procesamiento de granos como harina de algodón y cascara de soya por solo mencionar algunos. Todo alimento que entra en el rumen necesita pasar por una reducción del tamaño de partícula hasta 1.18 mm (Poppi *et al.*, 1985), para lograr cambiar de compartimento gástrico, este proceso se lleva a cabo gracias a la microflora del rumen los cuales se estima que se encuentran en concentraciones de hasta 2 billones de protozoarios/ml y más de 10 billones de bacterias/ml, siendo estos últimos los más importantes en la digestión de la fibra. Los diversos microorganismos del rumen pueden variar en función de la dieta recibida, los cambios se dan sobre todo ante modificaciones bruscas de la dieta, además de la función fermentativa de la población microbiana del rumen, cuando esta muere, son digeridos, siendo una fuente de proteína muy importante para el animal.

En el rumen por medio de las bacterias se lleva a cabo la fermentación de los carbohidratos para producir los ácidos grasos volátiles (AGV), siendo los principales el ácido acético 65 %, ácido propiónico 20 % y ácido butírico 15 %, conformando alrededor del 95 % del total de AGV producidos en el rumen. Estos ácidos son la principal fuente de energía para los rumiantes, son absorbidos a través de la pared del rumen, la mayor parte del acetato y todo el propionato son transportados al hígado para ser transformados en glucosa y la mayor parte del butirato se convierte en la pared ruminal en una cetona que se llama β -hidroxibutirato.

Como se mencionó anteriormente todo el propionato se convierte a glucosa en el hígado, este es un proceso importante porque la mayor parte de los azúcares encontrados en leche deben ser producidos por el hígado, la concentración de lactosa en la leche es constante, agregándose agua a la cantidad de leche producida por la células secretoras hasta lograr una concentración de lactosa de aproximadamente 4.5 %.

El acetato y β -hidroxibutirato se utilizan para la formación de ácidos grasos encontrados en la grasa de la leche, casi la mitad de la grasa total es sintetizada en la glándula mamaria, el resto que es rica en ácidos grasos no saturados, los cuales vienen de los lípidos de la dieta, la energía para la síntesis de grasa y lactosa proviene de la combustión de cetonas.

En el rumen también se produce amoníaco (NH_3), siendo el principal compuesto nitrogenado que utilizan los microorganismos para la síntesis de aminoácidos y proteínas que se emplean además para la formación de diversos componentes nitrogenados de la pared celular y ácidos nucleicos (Nava y Díaz, 2001).

La concentración óptima de NH_3 en el rumen, es aquella que resulta de la máxima tasa de fermentación o de producción de proteína microbiana por unidad de sustrato fermentado (Mehrez *et al.*, 1977), en estudios realizados *in vitro*, se encontró que la concentración por unidad de sustrato fermentado, es de 5 a 6 mg/dl en rumen; sin embargo, en estudios *in vivo* se encontró una variación de 8.8 a 28.9 mg/dl. Las

bacterias tienen crecimiento satisfactorio cuando la concentración de NH_3 es de 5 mg/dl, ésta es la cantidad mínima de amoníaco necesario para soportar el crecimiento microbiano máximo (Satter y Roffler, 1977), sin embargo Rogers *et al.*, (1986) mencionan que la concentración de amoníaco en rumen más adecuada para el crecimiento y la síntesis de proteína microbiana es de 9.0 mg/dl.

El suministro de aminoácidos, así como una cantidad adecuada de NH_3 y ácidos grasos de cadena ramificada, estimulan el crecimiento de las bacterias celulolíticas (Hoover, 1991).

Otro ingrediente de suma importancia en la ración para bovinos productores de leche, es el contenido y calidad de la proteína, ya que esta provee los aminoácidos requeridos para el mantenimiento de funciones vitales como reproducción, crecimiento y lactancia, los bovinos tienen la habilidad de sintetizar aminoácidos y formar proteína a partir de nitrógeno no proteico, esta habilidad depende los microorganismos del rumen.

Las concentración de proteína cruda en las raciones de vacas lecheras varían entre 12 % durante el periodo seco hasta 18 % en la etapa inicial del periodo de lactancia, sin embargo uno de los grandes retos en los últimos 30 años ha sido que el potencial genético de las vacas especializadas en producción de leche ha aumentado de manera exponencial, por lo que uno de los grandes objetivos de la nutrición en la actualidad es lograr cubrir las necesidades proteicas de las vacas ya que la proteína microbiana puede resultar insuficiente, por lo que han surgido fuentes de proteína resistentes a la degradación ruminal, dichas fuentes proteicas pueden llegar a ser necesarias para proveer la cantidad requerida de aminoácidos. Algunas fuentes de proteína resistente a la degradación microbiana del rumen incluyen granos de la industria cervecera, granos de destilería y proteínas de origen animal encontrándose entre las más comunes la harina de pescado y la harina de plumas.

El nitrógeno no-proteico puede ser especialmente utilizado cuando la ración contiene menos de un 12-13 % de proteína cruda, la urea es probablemente la fuente más empleada de nitrógeno no-proteico en las raciones para bovinos productores de leche, se recomiendan de 150 a 200 g por vaca por día, ofreciéndola con alimentos

altos en energía, bajos en proteína como por ejemplo granos de cereales, melaza, pulpa de remolacha de caña de azúcar, heno de pasto maduro y silo de maíz.

3.8.1 Efecto de la Nutrición Sobre la Producción y Composición de la Leche

En el caso de la nutrición los cambios en la composición de la leche son realizados mediante la incorporación de uno o más nutrientes en la dieta de los bovinos productores de leche. El control nutricional de los ácidos grasos de la leche ha cobrado gran importancia, debido al beneficio que tienen los ácidos grasos insaturados presentes en la leche.

Los mayores avances empleando compuestos grasos en la dieta por la modificación y aumento de los ácidos grasos de la leche, han tenido el objetivo de disminuir la destrucción de los ácidos grasos por los microorganismos ruminales y capacitar a la glándula mamaria en el uso de los ácidos grasos insaturados.

Los granos son de empleados en las dietas de manera muy común debido a que el costo-efecto está justificado ya que muchos de los granos proporcionan la energía necesaria para mantener niveles altos de producción de leche, sin embargo niveles altos de granos pueden llegar a deprimir el porcentaje de grasa de la leche y alterar los ácidos grasos, aumentando la proporción de ácidos grasos insaturados los cuales son benéficos para la salud humana. La cuestión es que diferentes estudios han demostrado que existe una relación negativa entre los ácidos grasos trans y el porcentaje de grasa láctea, por lo que se sigue en busca de regular este proceso por medio de la alimentación, es decir aumentar los ácidos grasos insaturados y aumentar el porcentaje de grasa o por lo menos mantenerlo en sus rangos aceptables.

Los suplementos grasos empleados en la ración de bovinos productores de leche también ha sido una herramienta empleada para tratar de modificar los ácidos grasos de la leche, dentro de los primeros trabajos que se realizaron al respecto se encuentran las grasas de sobre paso las cuales tenían como propósito fundamental evitar la fermentación ruminal y así evitar problemas digestivos, ácidos grasos insaturados se le adicionaban a las sales de calcio obteniendo resultados donde los ácidos grasos de la leche se lograban modificar, el evitar que los ácidos grasos

insaturados se sometan en el rumen a un proceso llamado biohidrogenación ya que en este se adiciona hidrógeno por medio de los microorganismos y las enzimas remueven los doble puentes transformando a los ácidos grasos en saturados, en trabajos experimentales donde se empleó en la alimentación grasas de sobre paso, el ácido oleico aumentó un 20 % con respecto a dietas que no empleaban grasas de sobrepaso, los resultados obtenidos para el ácido linoleico demostraron un aumento en un rango que de 2.5 a 5 %.

En la mayoría de los casos reducir la proporción de forraje en la dieta incrementa el contenido de proteína y la producción de leche, el contenido de proteína puede incrementar 0.4 % o más si la proporción de forraje de la dieta es reducido a 10 % o menos de la dieta en base seca, sin embargo el realizar este procedimiento y aumentar el concentrado no es un método constante para incrementar el porcentaje de proteína de la leche. La cantidad y fuente de proteína de la dieta y su efecto sobre la proteína de la leche ha sido ampliamente investigada, encontrándose que los cambios radicales de la cantidad de proteína de la dieta, causa solo cambios modestos en el porcentaje de proteína láctea, encontrándose cambios de 2.85 a 3.27 5 cuando el contenido de la proteína de la dieta iba de 15 a 19.5 %.

De los factores que afectan en mayor medida la cantidad de proteína láctea es la baja eficiencia en la transferencia de la proteína de la dieta (25 a 30 %) a la leche, ya que una adecuada captura de aminoácidos por parte de la glándula mamaria es fundamental para poder alterar la proteína láctea, estando relacionado el flujo sanguíneo y la extracción de aminoácidos, sugiriendo que la glándula mamaria tiene la capacidad de ajustarse a la concentración de aminoácidos y a la actividad metabólica para mejorar la concentración de proteína de la leche (Jenkins y McGuire, 2006).

3.8.2 Importancia de la Proteína de la Dieta en Bovinos Productores de Leche

Las proteínas juegan un papel fundamental en la dieta de las vacas lecheras, ya que estas proveen de los aminoácidos requeridos para el mantenimiento de funciones muy importantes o vitales como reproducción, crecimiento y lactancia.

Aproximadamente 60 a 70% de la proteína de la dieta es degradada por los microbios a péptidos, aminoácidos o amoníaco, que son usados por los microbios ruminales como fuentes de nitrógeno, estos microorganismos incorporan el amoníaco a la proteína microbiana. El amoníaco no incorporado es absorbido a través de la pared ruminal hacia la sangre y es convertido en urea en el hígado, siendo reciclado en la saliva o excretado en la orina y leche. (Hutjens, 2003). Como se mencionó anteriormente la proteína se degrada en rumen y este proceso es necesario para aportar N a los microorganismos para su crecimiento y desarrollo (Wallace y Cotta, 1988). Sin embargo, el exceso de degradación conduce a la acumulación de NH_3 que se absorbe, se transforma en urea en el hígado y se pierde por la orina, esta pérdida de N resulta de un aumento de los costos de producción y en la contaminación del medio (Tamminga, 1996; Weimer, 1998). Una ventaja de los rumiantes es que pueden sintetizar aminoácidos y formar proteínas desde nitrógeno no-proteico (Wattiaux, 2000b). La proteína cruda (PC), es un nutriente limitante en lactancia temprana (Kalscheur *et al.*, 1999), por lo que para vacas en esta etapa se recomienda alrededor del 18 % de PC en la ración. Dicho nutriente para su estudio se clasifica en dos grandes grupos, el primero de ellos es la proteína degradada en rumen (RDP), siendo este el segundo mayor requerimiento de los microorganismos del rumen, ya que una deficiencia de esta tendrá como resultado proporciones bajas de leche/alimento y en casos extremos bajos porcentajes de grasa y proteína láctea (Schwab *et al.*, 2003).

El modelo NRC (2001) establece los requerimientos de RDP de 10 a 11% de materia seca de la dieta. El otro grupo de clasificación es la proteína no degradada en rumen (RUP), esta es la porción que escapa o resiste la degradación ruminal, los requerimientos de esta proteína según el NRC (2001) son de 5 a 9 % de materia seca de la dieta, algunas de las proteínas de sobrepeso empleadas más comúnmente, para animales altos productores son los granos de la industria cervecera, granos de destilería, subproductos de la industria cárnica, harina de plumas y harina de pescado (Wattiaux, 2000b). Ya que una deficiencia de este tipo de proteínas tendrá como consecuencia y respuesta inmediata una disminución en la producción de leche (Schwab *et al.*, 2003).

3.8.3 Empleo de Levaduras en la Dieta en Bovinos Productores de Leche

La alimentación de vacas productoras de leche con la inclusión de levaduras en la dieta afectan positivamente el metabolismo ruminal y puede incrementar la cantidad total de bacterias en el rumen (Lascano y Heinrich, 2008 y Miller *et al.*, 2002). De igual forma las levaduras mejoran la degradación de la fibra de la dieta y la producción de ácidos grasos volátiles (Arambel *et al.*, 1987; Martin y Nisbet 1990 y Wiedmeier *et al.*, 1987). Las levadura también puede proporcionar factores de crecimiento a las bacterias ruminales que utilizan lactato y estas a su vez puede producir cambios moderados positivos en el pH ruminal (Nisbet y Martin. 1991).

3.9 Antioxidantes en la Nutrición Animal y en el Queso

El termino de reacciones de oxidación (ROM) ha sido aplicada para los radicales libres del oxígeno y sus metabolitos, la deficiencia de sustancias protectoras naturales o el de exceso de producción de radicales libres pueden resultar en estrés oxidativo, el cual ocurre cuando los prooxidantes exceden la capacidad de antioxidantes, esta reacción sino es controlada puede causar daño tisular extenso, el cual puede afectar la permeabilidad de la membrana, la función de enzimas e incluso el tono muscular (Miller *et al.*, 1993).

Existen diversos conceptos y definiciones sobre antioxidantes, para esta ocasión los antioxidantes se consideran todas aquellas sustancias que retrasan o previenen el deterioro, daño o destrucción provocados por una oxidación (Youngson, 2003). Por lo que este tipo de compuestos han cobrado gran importancia en los últimos 30 años, los reportes encontrados hasta fechas recientes mencionan y sugieren que la vitamina A, C, y E tienen funciones de antioxidantes, incrementando o mejorando las funciones inmunitarias y retardando la oxidación tanto en alimentos como en los organismos vivos (Bendich, 1993).

Los alimentos no son la excepción y pueden deteriorarse por la oxidación, uno de los compuestos de los alimentos más susceptibles a este proceso es la grasa de la leche, cambiando su composición y adquiriendo un sabor desagradable, dicho proceso está altamente relacionado con infecciones de la glándula mamaria que

pueden reducir la producción láctea y la vida productiva de la vaca, de manera que todo lo que pueda evitar este proceso tendrá evidentemente una gran importancia económica. Por la razón antes expuesta en los últimos 40 años se ha estado trabajando en la alimentación de bovinos productores de leche y la incorporación de antioxidantes en la dieta, entre los compuestos más empleados de este tipo, se encuentran la vitamina C, vitamina E, estos antioxidantes actúan cediendo átomos de hidrogeno al radical hidroxilo (Miller *et al.*, 1993).

Suplementando ácido ascórbico a razón de 30g/día a vacas en producción que mantuvo los parámetros de producción y componentes de la leche, encontrándose un aumento del 25 % aumentado la concentración del ácido ascórbico en plasma pero la concentración en leche no aumento por lo que no se pudo reducir el sabor a oxidado de la leche con siete días de almacenamiento (Weiss, 2001).

Con respecto al papel que juega la nutrición con antioxidantes en la prevención o tratamiento de mastitis provocadas por microorganismos coliformes, ha resultado importante ya que estos micronutrientes tienen una función crítica en la resistencia de la glándula mamaria hacia los microorganismos antes mencionados (Bowers. 1997; Erskine, 1993; Smith, 1984). Algunos de los compuestos asociados estudiados por su efecto contra mastitis debido a la actividad antioxidante que presentan son β -caroteno, vitamina A, selenio, zinc, cobre y vitamina E (Chew, 1996). Los resultados demostraron que la suplementación con antioxidantes pudo disminuir la duración, incidencia y severidad de la mastitis clínica (Erskine *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1985; Chew, 1993 y Goff, 2006), esto debido al aumento de la actividad bactericida de los neutrofilos, dicho resultado se obtuvieron de experimentación en bovinos (Hogan *et al.*, 1993). En otro estudio con antioxidante deferoxamina (un quelante de hierro), no tuvo efecto sobre la habilidad fagocítica de los neutrófilos de bovinos sobre la bacteria *Escherichia coli*, pero si logro inhibir el crecimiento de dicho microorganismo, sugiriendo que los antioxidantes pueden ser herramientas para proteger el tejido mamario en caso de infecciones (Lauzon *et al.*, 2005).

Se ha comprobado que vacas alimentadas con dietas con altos niveles de carotenoides y vitamina E, pueden excretar estos compuestos en la leche en niveles

considerables, manteniendo los parámetros de producción láctea, grasa y proteína de la leche dentro de los rangos aceptables en vacas Montebéliarde (Calderón *et al.*, 2007). La vitamina E y Se aumentan la resistencia contra infecciones por medio de la mejora de las funciones de las células fagocíticas, protegiendo a los macrófagos y neutrófilos del ataque oxidativo de los radicales libres por medio de la desintoxicación de peróxidos del citosol, que se lleva a cabo por medio de la glutatión peroxidasa, por lo que en dietas deficientes en Se y vitamina E se encontró que se redujo el ataque efectivo de las células fagocíticas hacia las bacterias *Estafilococo aureus* y *Escherichia coli* (Hogan *et al.*, 1990). Datos similares se reportaron con la suplementación con vitamina E, encontrando la reducción de la incidencia de infecciones producidas por *Escherichia coli* y Clamidia (Heinzerling *et al.*, 1974).

En corderos que recibieron 60 mg de vitamina E por Kg de alimento tuvieron títulos de anticuerpos más altos contra el virus de parainfluenza 3 (Reffett *et al.*, 1988). En un estudio similar pero en esta ocasión en becerros se encontró títulos más elevados de anticuerpos contra herpes virus en los animales suplementados con 125 UI de vitamina E por día, estos resultados pueden estar relacionados a un grado más alto de activación de linfocitos (Reddy *et al.*, 1987).

Datos similares se obtuvieron con experimentación in vitro, con células de bovinos productores de leche donde con la adición de vitamina E dio como resultado un aumento de la producción de anticuerpos específicamente de inmunoglobulina M (Stabel *et al.*, 1992).

De igual forma empleando vitamina E pero en esta ocasión vía subcutánea a razón de 3000 UI, una semana antes del parto encontrándose una reducción en el riesgo de retención de placenta y de presentación de mastitis en lactancia temprana (LeBlanc *et al.*, 2002), los resultados anteriores sugieren que son debidos a que la vitamina E es un antioxidante que mejora la eficiencia funcional de los neutrófilos los cuales juegan un papel importante en la defensa de la glándula mamaria (Mallard *et al.*, 1998).

Un estudio con ácido ascórbico, aunque en este caso administrado vía endovenosa reporto beneficio en la recuperación del tejido inflamado de la glándula mamaria provocado por mastitis y una recuperación del 9 % de la producción (Chaiyotwittayakun *et al.*, 2002).

La leche y los subproductos se prefieren con una alta capacidad antioxidante para lograr una alta calidad en los productos para el consumidor, los procesos oxidativos tienen serias implicaciones en leche y los subproductos, como una reducción en la vida de anaquel, desarrollo de sabor desagradable y pérdida de calidad nutricional (Havemose *et al.*, 2006). La oxidación lipídica de la leche es altamente influenciada por los cambios en los ácidos grasos insaturados, los cuales son particularmente susceptibles a la oxidación y pueden dar lugar al desarrollo como ya se mencionó anteriormente de un mal sabor de los alimentos (Bandings, 1970; Ullrich y Grosch, 1987; Timmons *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2004). En mayor o menor grado los componentes de la leche son el reflejo de los componentes de la dieta (AbuGhazleh *et al.*, 2002; Collomb *et al.*, 2002; Stockdale *et al.*, 2003), con respecto a los antioxidantes ha sido demostrado que pueden ser transferidos directamente del alimento a la leche (Nalecz-Tarwacka *et al.*, 2003; Havemose *et al.*, 2004; Schingoethe *et al.*, 1979; Nicholson and St-Laurent, 1991).

Los altos niveles de α -tocoferol, β -caroteno y luteína en la leche, retrasan la oxidación de la proteína láctea (Havemose *et al.*, 2004). La estabilidad oxidativa de la leche y el efecto de α -tocoferol sobre este fenómeno no está completamente claro debido a que los resultados de diversos estudios son contradictorios, encontrándose que α -tocoferol no previene la oxidación inducida por la luz, pero sí retarda el sabor a oxidado (Havemose *et al.*, 2006). Vázquez-Añón *et al.* (2007) reportó que en bovinos productores de leche en lactancia media incorporándoles un antioxidante comercial llamado AOX el cual mejoró el consumo de materia seca, aumento el porcentaje de grasa, pero redujo el porcentaje de proteína, demostrando también el incremento de enzimas antioxidantes en plasma. La presencia de antioxidantes en la dieta de bovinos productores de leche han sido reportados con efectos positivos sobre algunos parámetros ruminales, sobre todo mejorando la digestibilidad de la fibra y de los carbohidratos y una modesta mejora en la producción de nitrógeno, de AGV y pH, la suplementación de antioxidantes sugiere cambios en el metabolismo

microbiano que favorecen la actividad celolítica y eficientizando del nitrógeno de la dieta para producir nitrógeno microbiano (Vázquez-Añón y Jenkins, 2007).

Las caseínas de la leche presentan actividad antioxidante contra la hidrólisis enzimática y la peroxidación de los ácidos grasos (Lim and Shipe, 1972), es decir algunos péptidos tienen gran potencial como antioxidantes en productos alimenticios como el queso, ya que tienen propiedades quelantes siendo capaces de capturar iones de metal (Marcuse, 1960; Karel *et al.*, 1966). De igual forma proteínas hidrolizadas del suero de la leche tienen el potencial de aumentar la estabilidad del queso a través de prevenir o reducir la deterioración oxidativa (Peña-Ramos y Xiong, 2001).

3.10 Bagazo de Manzana en la Alimentación Animal

El bagazo de manzana se define como el residuo generado en el proceso de extracción de jugo de manzana y representa entre 15 y 25 % de la fruta procesada (Manterola, 1999; Givens y Barber, 1987), caracterizándose por su relativo alto contenido de carbohidratos solubles (29.73 %), un bajo contenido proteico (5.93 %), de 14 a 26 % de materia seca y altos niveles de taninos y pectinas (Ferreiro *et al.*, 1983; Givens y Barber, 1987). El contenido de carbohidratos del bagazo de manzana es comparable con los granos de cebada y avena, siendo por lo tanto una excelente fuente de energía (Sharma y Bakalkar, 1989) y la degradabilidad de la proteína reportada por el NRC (2001) fue de 68.4 %. Otro aspecto importante de la composición del bagazo de manzana es el contenido de polifenoles, estos compuestos han cobrado interés debido a su potencial de actuar como capturadores de radicales libres, el daño oxidativo en componentes celulares como lípidos y membranas celulares inducido por radicales libres ha sido asociado con el inicio y desarrollo de enfermedades degenerativas (Amens, 1983; Steinberg 1988; Kinsella *et al.*, 1993). Los polifenoles en el bagazo de manzana se han reportado en una concentración que va de 7 a 24 mg/gr de los cuales más de la mitad son glucósidos de quercitina (Lu y Foo, 1997; Cetkovic *et al.*, 2008; Guyot *et al.*, 2007; Shudha *et al.*, 2007; Diñeiro-García *et al.*, 2009; Cao *et al.*, 2009). Los polifenoles del bagazo manzana han demostrado tener efecto preventivo contra virus (de Bruyne *et al.*, 1999 y Khan *et al.*, 2005) los Herpes virus simple tipo 1 y 2, evitando alteraciones

morfológicas de células Vero infectadas, dicho efecto benéfico se logró con una concentración de 1000 µg/mL (Suarez *et al.*, 2010).

El valor nutricional del bagazo de manzana llega a tener un rango de variación relativamente amplio, ya que depende de las condiciones y variaciones propias de la fruta, de las prácticas agrícolas que se le realicen al cultivo, de la madurez de la manzana y del proceso de extracción que se realiza para obtener el jugo (Kennedy *et al.*, 1999).

La digestibilidad del bagazo de manzana es muy variable encontrándose niveles bajos hasta niveles aceptables de digestibilidad, dependiendo en gran parte de las muestras y país de origen de la manzana. Givens y Barber (1987) reportaron bajos niveles de digestibilidad, sin embargo mejores valores de digestibilidad se han obtenido (Alibes *et al.*, 1984), los resultados anteriores pueden estar relacionados a los niveles de lignina presentes en el bagazo de manzana, debido a que existe una relación negativa entre la lignina y la digestibilidad (Van Soest, 1982).

El bagazo de manzana ha sido empleado como alimento en rumiantes, principalmente bovinos y borregos (Kiviat, 1982; Alibes *et al.*, 1984; Givens and Barber, 1987; Singhat *et al.*, 1991; Garrity, 1994). Este subproducto de la manzana se reportó que se puede incorporar en la dieta de bovinos en desarrollo hasta en un nivel del 80 %, complementándose con una fuente de proteína, donde se obtuvieron ganancias de 500 gramos diarios (Castellanos, 1986), esto posiblemente debido a que presenta características similares al silo de maíz debido a que se asemeja al total de nutrientes digestibles (Toyokawa *et al.*, 1977; Fontenot *et al.*, 1977), de igual forma el bagazo de manzana se puede administrar en fresco, ensilado o seco. Barber (1983) obtuvo resultados satisfactorios empleando bagazo de manzana deshidratado en raciones de bovinos productores de leche.

En vacas con producción de 12 a 15 litros/día se recomienda suministrar bagazo de manzana hasta en un 40 % de la materia seca de la ración (Edwards y Parker, 1995). Anrique y Dossow (2003) llevaron a cabo un estudio donde proporcionaron 0, 20 y 30 % de bagazo ensilado de manzana a vacas Frisón Negro, reportando mayor producción (5.9%) en los grupos donde se adicionó bagazo, con

respecto a la composición de la leche reportaron aumentos tanto en grasa (0.31%) así como en proteína (0.14%), con la inclusión del nivel más alto, de igual manera mejoro el consumo de materia seca.

Singh y Narang (1992) realizaron un experimento donde alimentaron becerros con una dieta en base a bagazo de manzana agregándole urea la cual era previamente disuelta en agua, para posteriormente incorporar esa mezcla al bagazo, el otro ingrediente que contenía esta dieta era únicamente la paja de avena, concluyendo que el bagazo de manzana es una buena fuente de energía para rumiantes. Sin embargo existen datos no claros donde se reportan efectos adversos en dietas de bagazo de manzana con urea, aunque en este caso en vacas gestantes (Oltjen *et al.*, 1977), la única explicación o sustento a estos datos es que la suplementación de nitrógeno no proteico y bagazo de manzana puede reducir la síntesis de proteína microbiana sin concluir nada claro con respecto a problemas reproductivos (Rumsey *et al.*, 1979).

Sin embargo el bagazo de manzana tiene dos desventajas importantes, la primera de ellas es el bajo porcentaje de proteína y la segunda y la más limitante en su utilización es lo altamente perecedero. Para mejorar la última característica en mención se ha llevado acabo su desecación, encontrándose en el mercado como pulpa de manzana deshidratada, la cual tiene una presentación en forma de churros (pellets), sin embargo aun con este producto todavía se tiene que suplementar con algún ingrediente proteico en ganado de leche (Poballe, 2007). Otra forma de conservación de este subproducto es el ensilado (Anrique y Paz, 2002; Pirmohammadi *et al.*, 2006).

Joshi y Sandhu (1996) Sometieron el bagazo de manzana a fermentación en estado sólido (FES) con la inclusión de diferentes levaduras, los productos obtenidos de dicho proceso fueron etanol y un potencial alimento deshidratado para animales, dicho potencial nutricional es debido a los restos de azucares que tiene el producto al final del proceso y debido a que la proteína cruda se aumenta tres veces, este trabajo es lo más parecido a la manzarina.

3.11 Manzarina

La manzarina es un producto clasificado como proteico, obtenido a partir del bagazo de manzana que es sometido a un proceso de fermentación en estado sólido (FES), con el objetivo es obtener un producto de mayor calidad, por el nivel y tipo de proteínas que se producen durante este proceso, dichas cualidades se obtienen gracias a las levaduras y carbohidratos que posee el bagazo, los dos componentes antes mencionados son fundamentales para llevar a cabo el proceso de fermentación aerobia (Elías *et al.*, 1990), la FES del bagazo de manzana es un proceso sencillo y barato, ya que sólo se necesita incorporar al bagazo nitrógeno no proteico (NNP) en forma de urea la cual se añade en 1.5 %, sulfato de amonio en 0.4 % y sales minerales en 0.5 % (Becerra, 2006).

En lo que respecta al proceso físico de elaboración, el bagazo se extiende a lo largo de una plancha de concreto con una altura de 15 a 20 cm para incorporarle el NNP en las cantidades antes mencionadas (Carrasco *et al.*, 1997 y Gutiérrez 2007), donde al siguiente día después de mezclar los ingredientes, se le da vuelta dos veces por día hasta llegar al sexto u octavo día, de igual manera se toma la temperatura y altura de la cama del bagazo, dependiendo de la humedad que conserve, el siguiente paso es dejar que la materia pierda el resto de humedad que le queda hasta llegar a tener solamente un 12 o 13 %, lo cual toma un periodo de 4 a 6 días (Díaz, 2006 y Hernández, 2007). Una vez que termina el proceso de fermentación y pérdida de humedad se recolecta el producto, que tiene formas cilíndricas irregulares de diferentes tamaños, lo cual obliga a molerlo para evitar la selectividad del ganado, quedando en forma similar al sorgo rolado solo que con una coloración café oscuro.

En cuanto a las características nutricionales del producto final (Manzarina), en condiciones de piso (medioambientales) se ha logrado un rango de 18 a 25 % de proteína cruda, de la cual más del 60 % es proteína microbiana y una concentración de levaduras de 51.3×10^6 UFC/g (Hernández, 2006 y Hernández *et al.*, 2007), con lo cual se logran dos de los principales objetivos del proceso, que es mejorar el porcentaje proteico del bagazo de manzana y el aumento de levaduras, otros de los compuestos de interés de la manzarina es el contenido de polifenoles totales, los

cuales se han reportado en una concentración de 8.4 ± 2.1 mg/g, FDN 28.59 % y FDA 24.67 % (Rodríguez, 2009).

La manzarina se ha empleado en la alimentación de bovinos de engorda, incorporada como un ingrediente más de bloques nutricionales encontrando que los parámetros productivos se mantuvieron en rangos aceptables, obteniendo ganancias de 570 g/animal/día y a la vez se disminuyeron los costos de la ración (Rodríguez *et al.*, 2006). En bovinos productores de leche se incorporó formando un 5 % de la ración total y se obtuvo como resultado un incremento en la producción láctea de 780 g/vaca/día (Gutiérrez, 2007). De igual forma la manzarina ha sido evaluada como en la alimentación de ovinos de engorda obteniendo mayores rendimientos (2.7kg/animal) en los machos alimentados con manzarina (Hernández, 2008).

Gallegos (2007) encontró un aumento en monocitos en vaca productoras de leche alimentadas con manzarina, concluyendo que la segunda línea de defensa de los animales se reforzó y como consecuencia mejoró la respuesta inmune del organismo, debido a que las funciones que llevan a cabo las células antes mencionadas son presentar antígenos, fagocitar y reparar tejido dañado provocado por reacciones inflamatorias.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Descripción del Área de Estudio

El trabajo de investigación de campo se llevó acabo en el rancho el Pinar, ubicado en el municipio de Trancoso, Zacatecas. Encontrándose situado a 22' 44° latitud norte y 102' 22° longitud oeste, con una altitud de 2097 metros sobre el nivel del mar y un clima árido semidesértico con temperaturas extremas que alcanzan 35°C y mínimas de hasta -5°C (INEGI, 2007).

4.2 Descripción de la Población

Se seleccionaron 20 vacas de la raza Holstein de la segunda a cuarta lactancia, con un promedio de días en leche de 89, formándose aleatoriamente dos grupos de diez vacas cada uno al azar, ésto para lograr grupos homogéneos.

4.3 Descripción de Tratamientos y Alimentación

Las dietas fueron formuladas en base a los requerimientos nutricionales de vacas en producción con 30 l, una de las dietas se elaboró únicamente con ingredientes tradicionales (Tabla 2), en la otra dieta se emplearon igualmente ingredientes tradicionales más la inclusión de manzarina. Como se mencionó anteriormente se formaron dos grupos de diez vacas cada uno, asignándole una dieta a cada grupo, dando inicio a un periodo denominado de adaptación el cual tuvo una duración de diez días, posteriormente inició un periodo de veinte días de muestreo en el cual se tomaron y recolectaron las muestras para la determinación de las variables a evaluar en el experimento, una vez terminado este primer periodo de muestreo, se invirtieron las dietas, es decir el grupo tratamiento paso a ser testigo y el testigo paso a ser tratamiento, para dar inicio nuevamente a un período de adaptación y posteriormente a otro periodo de toma de muestras.

4.4 Variables Evaluadas

Se evaluaron la producción de leche, propiedades fisicoquímicas las cuales incluyeron, grasa, proteína, lactosa, también se determinó calidad microbiológica de la leche con la determinación de *estreptococos sp*, *estafilococos sp*, *coliformes totales* y *salmonella sp*.

De igual forma se formuló queso tipo chihuahua con los dos tratamientos y se registró rendimiento, se determinó calidad microbiológica la cual incluyó las mismas bacterias que en el aspecto de la leche, para los quesos también se realizó un análisis sensorial el cual incluía muestra preferida, mejor apariencia, mejor sabor, mejor textura y calificación.

Otra de las áreas que se evaluó en este experimento fueron los parámetros ruminales, los cuales incluyeron la determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) acético, propionico y butírico, también dentro de parámetros ruminales se determinó amoníaco y protozoarios.

Tabla 2. Contenido de ingredientes de las dietas empleadas en el experimento

Ingrediente	Testigo	Manzarina
Silo de Maíz %	43	43
Concentrado %	24	19
Grano de Maíz %	14	14
Heno de Alfalfa %	10	10
Heno de Maíz %	4	4
Heno de Avena %	4	4
Minerales y Vitaminas %	1	1
Manzarina %	0	5

Tabla 3. Análisis bromatológico de las dietas empleadas

Parámetro	Testigo	Manzarina
PC %	18.2	18.0
FC %	15.0	15.0
FDN %	34.7	34.5
FDA %	19.8	19.9
Ca %	1.2	1.2
P %	0.5	0.5

4.5 Toma de Muestras

La lectura de la producción se tomó por la mañana y tarde, registrándose inmediatamente en la hoja de control, con respecto a la recolección de leche para el análisis de propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, se tomó directamente de la jarra recolectora, una muestra de 60 ml por vaca, únicamente por las tardes, la cual era representativa de la ordeña completa, inmediatamente después se ponían en refrigeración a 4°C. Cada muestra fue identificada con el número de la vaca del tratamiento que le correspondía y la fecha.

Seis veces durante el periodo de muestreo se tomaron cada vez 50 l de leche de cada tratamiento por separado para la elaboración de queso tipo chihuahua, el día ocho de elaborado el queso se tomó muestra de cada uno, para realizar los cultivos microbiológicos y el día diez se realizó el análisis sensorial.

Con respecto a los parámetros ruminales se tomaron muestras de líquido ruminal, por medio de sonda de $\frac{3}{4}$ de pulgada introducida por medio de la boca pasando por esófago hasta llegar a rumen, después por medio de succión y vacío se realizó la extracción del líquido ruminal, inmediatamente después se filtraba para eliminar partículas de alimento, se ponían en refrigeración a 4°C y 4 horas después se congelaban a -20°C para el posterior análisis de AGV y amoniaco, este muestreo se realizó en el total de animales de los dos grupos, el día uno, diez y veinte del periodo de muestreo, para la determinación de protozoarios se obtenía un mililitro de

líquido ruminal correspondiente a cada vaca y se mezclaba con una solución de formalina al 10 %, una vez preparado se mantuvieron en refrigeración para el conteo posterior.

4.6 Cuantificación de la Producción de Leche

La sala de ordeño con que se contaba para el establo era semiautomática, por lo que era necesario al final de la ordeña de las vacas, pesar el recipiente contenedor para cuantificar la producción de leche, para inmediatamente después registrar la producción en la bitácora.

4.7 Cuantificación Físicoquímicas

Para medir las variables lactosa, proteína y grasa láctea se empleó el equipo Julie C2 ®, dicho aparato trabaja a base de ultrasonografía por lo cual tiene las virtudes de ver todo el espectro de componentes, combinado con la precisión y la estabilidad de las técnicas tradicionales pero en un tiempo mucho menor obteniendo resultados alrededor de 20 segundos, cabe mencionar que esta técnica está aprobada por la AOAC (2000).

Las muestras se analizaron 24 horas después de ser obtenidas, se sacaba la muestra del refrigerador, se colocaban 10 ml en el recipiente especial del analizador, se colocaba en el sensor del aparato analizador se le daba la función de iniciar análisis, a los 20 segundos empezaban a aparecer los resultados de los diferentes en la pantalla, y en ese momento se registraban los resultados en la bitácora según el tratamiento que correspondía.

4.8 Cuantificación Microbiológica de la Leche

Se tomaba una muestra de leche de 1ml y se diluía en una solución de buffer de fosfatos en una proporción de 10 a 1, posteriormente de la dilución se tomaba 1ml para sembrarlo con agar específico en plato (IDF., 1991; IDF., 2004) para cada una de las bacterias que entraron en el experimento (*Streptococcus sp*, *Estafilococcus sp*,

coliformes totales y *Salmonella sp*), posteriormente se sometían a incubación para su posterior conteo.

4.9 Cuantificación de la Producción de Queso

Al término de la elaboración de los quesos tipo chihuahua se sometían a pesarlos, en una báscula digital, registrando el rendimiento en kg por separado para cada tratamiento, este procedimiento se realizó en las 12 ocasiones que se elaboró queso, durante los periodos de muestreo.

4.10 Cuantificación Microbiológica del Queso

De la muestra de queso tomada (10gr), se maceraba y se hacía un puré, posteriormente de ahí se tomaba 1ml y se diluía en una solución de buffer de fosfatos en una proporción de 10 a 1, posteriormente de la dilución se sembró 1ml en agar específico en plato (IDF., 1991; IDF., 2004) para cada una de las bacterias que entraron en el experimento (*Streptococos sp*, *Estafilococos sp*, coliformes totales y *Salmonella sp*), posteriormente se sometían a incubación para su posterior conteo.

4.11 Determinación de Variables Sensoriales

El análisis sensorial se realizó empleando la técnica discriminante por parejas (Chamorro y Losada, 2002) por medio de una encuesta, en la que se incluía muestra preferida, mejor apariencia, mejor sabor, mejor textura y calificación anexo 1.

Se proporcionó una encuesta a cada persona hasta completar 100 individuos diferentes, realizando este procedimiento cada vez que se elaboró queso, encuestado al final del experimento a 1200 personas, es decir se encuestaron 600 personas en cada periodo de muestreo.

4.12 Cuantificación de Ácidos Grasos Volátiles

Para la determinación de estos compuestos se empleó la técnica de cromatografía de gases (Galyean, 1997).

1. Reactivos
 - a) Solución de ácido metafosfórico al 25% con 2g/L de ácido 2-Etíl butírico.
 - b) Estándar AGV
2. Preparado de muestras.
 - a) Filtrar el líquido ruminal.
 - b) Mezclar 5 ml del líquido ruminal con 1 ml de la solución del ácido metafosfórico con 2EB.
 - c) Mantener en frío por más de 30 min.
 - d) Centrifugar por 10 min. A 10,000xg.
 - e) Tomar fluido del sobrenadante para la inyección en el cromatógrafo de gases.
3. Equipo y condiciones de trabajo.
 - a) Cromatógrafo Buck Scientific modelo 910.
 - b) Integración manual del PeakSimple 3.20.
 - c) Columna, temperatura de inicio 95°C durante 14 min, temperatura final 150°C, Rampa de 10°C por min, detector 175°C.
 - d) Flujo de gases. Aire 13-14, Hidrógeno 14, acarreador 003.
 - e) Inyección de 2µl de muestra y estándar.

Posteriormente esperaba el resultado en forma de gráfico en el monitor de la computadora, para realizar la conversión de los datos y así en cada AGV de cada muestra.

4.13 Cuantificación de Amoniaco

Para la determinación de este compuesto se empleó la técnica fenol – hipoclorito, adaptado por Bruderick y Kang (1980).

Procedimiento:

1. Se agregó (50 microlitros) de muestra o estándar en un tubo test (blank 155 microlitros de H₂O) y mezcló con 2.5 ml de reactivo fenol.
2. Se agregó 2.0 ml de solución de hipoclorito de sodio y mezcló.
3. Se colocó a 95°C en un baño maría por 5 min.
4. El color fue usualmente estable (en gabinete oscuro) por una hora.
5. Se leyó atemperado en el espectrofotómetro a 630 nm y se determinó la concentración.

4.14 Cuantificación de Protozoarios

Para la determinación de estos compuestos se empleó la técnica de cromatografía de gases (Galyean, 1997).

1) Se recogió 20 ml de líquido ruminal, revolviendo el contenido y la recolección de la parte superior, media e inferior de la fase fluida.

2) Se empleó una pipeta de gran calibre (para protozoarios), se añadió 1 ml de líquido ruminal con una solución de formalina al 10 % diluida 1:10 y después se mantuvieron refrigeradas.

3) Para la cuenta protozoarios, se usó un chamber Sedgwick-Rafter, y se añadió un cubreobjetos y se colocó en el microscopio. Se contaron 25 cuadrados seleccionados al azar y se dividió el número de protozoarios contados entre 25.

4.15 Análisis Estadístico

Para las variables producción de leche y componentes químicos (lactosa, proteína, grasa), al igual que para las variables microbiológicas *Salmonella sp*, *Streptococo sp*, *Estafilococo sp* y coliformes totales se realizó un ANOVA, tomando como efectos principales periodo y tratamiento.

Con respecto a las variables de rendimiento de queso, microbiológicas (*Salmonella sp*, *Streptococo sp*, *Estafilococo sp* y coliformes totales) y sensoriales (muestra preferida, mejor apariencia, mejor sabor, mejor textura y calificación) se realizó un ANOVA, tomando como efectos principales periodo y tratamiento.

Para las variables de parámetros ruminales como ácido acético, propiónico, butírico, amoníaco y protozoarios de igual manera se realizó un ANOVA, tomando como efectos principales periodo y tratamiento.

Para el desarrollo de todos los análisis antes descritos, se empleó el paquete estadístico SAS, (2002).

5. RESULTADOS

5.1 Producción y Variables Fisicoquímicas de la Leche

La producción láctea se midió todos los días durante los periodos de muestreo (40 días), encontrando que no existió diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. Sin embargo el promedio de kg de leche en ambos casos fue de más de 30 kg como se puede ver en la tabla 3.

Con respecto a la proteína de la leche, existió diferencia estadísticamente significativa ($P<0.05$) entre tratamientos, encontrándose a favor del tratamiento testigo, siendo 0.5 % mayor con respecto al tratamiento manzarina figura 1. En la grasa láctea se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P<0.05$) a favor del tratamiento manzarina, con una diferencia de 0.3 %. Los resultados obtenidos en la variable lactosa muestran que no existió diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, sin embargo ambos tratamientos se encuentran dentro de los parámetros establecidos oficialmente.

Tabla 4. Variables fisicoquímicas y producción láctea por tratamiento

Variable	Manzarina	Testigo
Producción/kg/vaca/día	30.43 ± 0.23^a	30.16 ± 0.24^a
Proteína %	3.0 ± 0.01^a	3.5 ± 0.01^b
Grasa %	4.3 ± 0.05^a	4.0 ± 0.05^b
Lactosa%	4.4 ± 0.01^a	4.4 ± 0.01^a

ab Literales diferentes entre columnas indican diferencia ($P<0.05$).

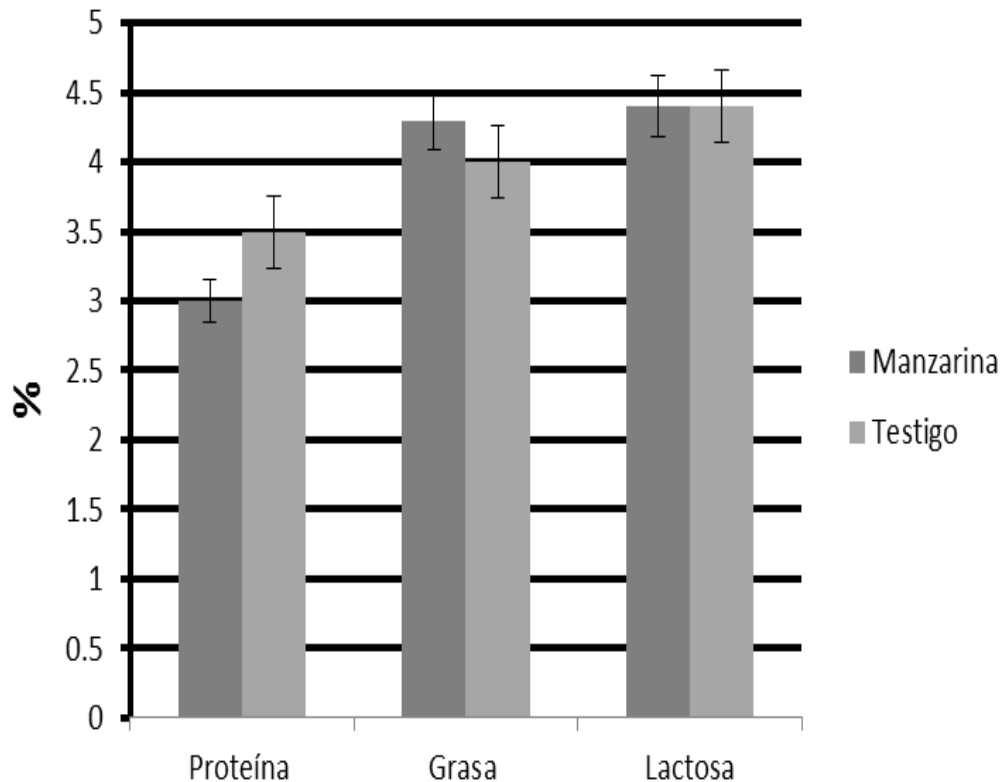


Figura 1. Comparación de los componentes fisicoquímicos de la leche

5.2 Variables Microbiológicas en Leche

Con respecto a los resultados obtenidos en la variable coliforme totales en leche, se encontró que existió diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina (figura 2).

En la bacteria *Salmonella* no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos, sin embargo se esperaba que este microorganismo no estuviera presente, lo cual se discutirá en la sección correspondiente.

Con respecto a la variable *Streptococo* se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina, con respecto a este microorganismo se esperaba estuviera presente pues es una de los principales patógenos involucrados con enfermedades infecciosas de la ubre.

Los resultados para *Estafilococo* mostraron que existió diferencia estadística ($P<0.05$) entre tratamientos a favor del tratamiento manzarina como se muestra en la tabla 4, al igual que el microorganismo anterior se esperaba que *Estafilococo* estuviera presente debido a que es uno de los principales causantes de enfermedades de la glándula mamaria.

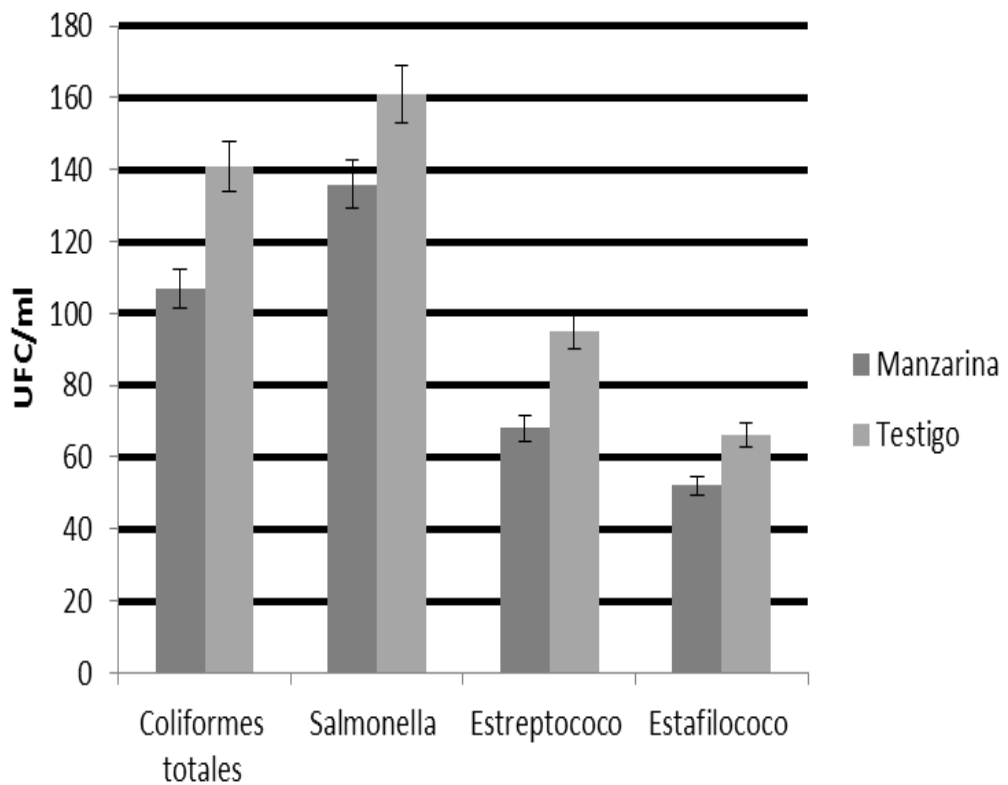


Figura 2. Comparación de microorganismos en leche

Tabla 5. Variables microbiológicas en leche por tratamientos

Variable	Manzarina	Testigo
Coliformes totales UFC/ml	107 ± 5 ^a	141 ± 6 ^b
<i>Salmonella sp</i> UFC/ml	136 ± 5 ^a	161 ± 4 ^a
<i>Estreptococo sp</i> UFC/ml	68 ± 3 ^a	95 ± 4 ^b
<i>Estafilococo sp</i> UFC/ml	52 ± 3 ^a	66 ± 3 ^b

ab Literales diferentes entre columnas indican diferencia (P<0.05).

5.3 Variables Microbiológicas en el Queso

Los resultados obtenidos para la variable *Salmonella sp* no mostró diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05), sin embargo el tratamiento manzarina numéricamente mostro 2 UFC/g menos que el tratamiento testigo.

Con respecto a coliformes totales estadísticamente no existió diferencia entre tratamientos (P>0.05), mostrando una gran similitud ambos tratamientos, ya que numéricamente solo se mostró 1 UFC/g menos de diferencia en el tratamiento manzarina.

Los *Estafilococos sp* presentes en el queso tipo chihuahua no mostraron diferencia entre tratamientos (P>0.05), sin embargo en el tratamiento manzarina se encontraron 5 UFC/g menos con respecto al tratamiento testigo como se muestra en la figura 3.

En la variable *Estreptococos sp* no se encontró diferencia entre tratamientos (P>0.05), como se muestra en la tabla 5, sin embargo la diferencia numérica entre tratamientos es muy notoria ya que el tratamiento manzarina presento 5 UFC/g menos.

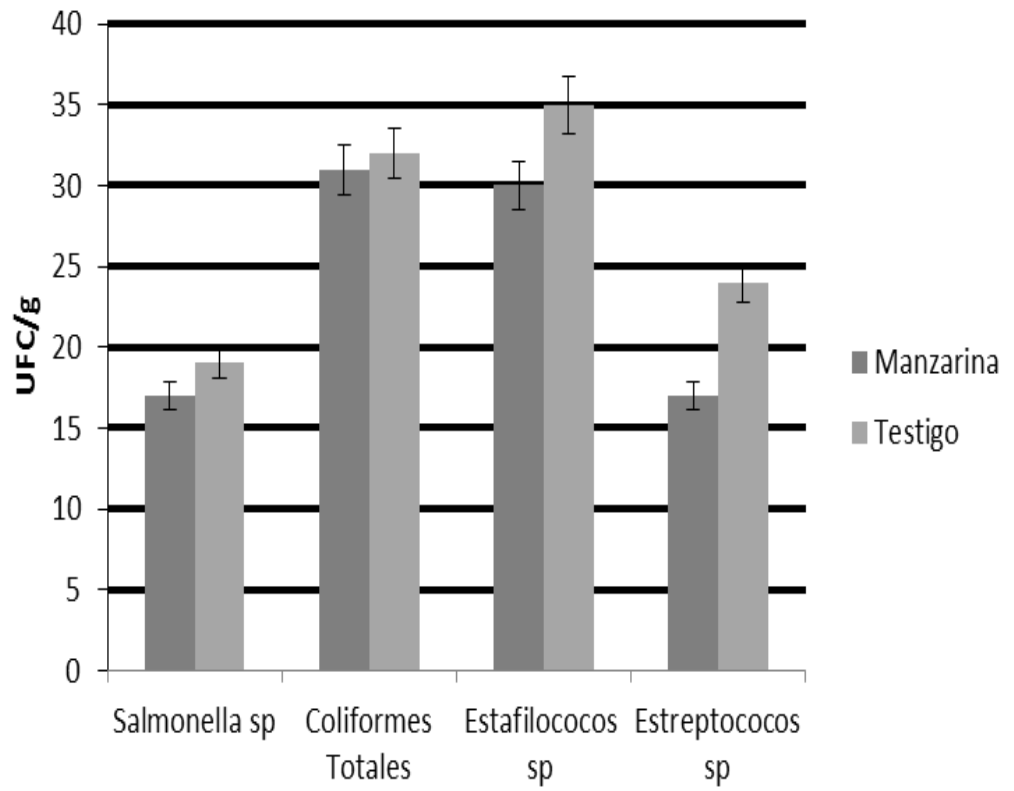


Figura 3. Comparación de variables microbiológicas en queso

Tabla 6. Variables microbiológicas en queso

Variable	Manzarina	Testigo
<i>Salmonella sp</i> , UFC/g	17±0.3 ^a	19±0.6 ^a
Coliformes Totales, UFC/g	31±0.4 ^a	32±0.7 ^a
<i>Estafilococos sp</i> , UFC/g	30±0.5 ^a	35±0.6 ^a
<i>Streptococos sp</i> , UFC/g	17±0.1 ^a	24±0.8 ^a

ab Literales diferentes entre columnas indican diferencia (P<0.05).

5.4 Variables del Análisis Sensorial del Queso y Rendimiento

Para realizar el análisis sensorial del queso, en ambos tratamientos se incluyeron 5 variables, donde se encuestaron 600 personas en cada periodo, para tener un total de encuestados de 1200 personas en los dos periodos.

Con respecto a la variable Muestra Preferida existió diferencia significativa (P<0.05) a favor del tratamiento manzarina. Se encontró diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos, en la variable Mejor Apariencia siendo a favor del tratamiento manzarina. Se encontró diferencia significativa (P<0.05) a favor del tratamiento manzarina en la variable Mejor Sabor, como se muestra en la figura 4. Con respecto al tratamiento manzarina este tuvo diferencia significativa (P<0.05) a favor en la variable Mejor Textura analizado contra el tratamiento testigo.

En la variable Calificación al igual que las variables antes mencionadas, correspondientes al análisis sensorial, existió diferencia estadísticamente significativa (P<0.05) a favor del tratamiento manzarina. La variable Rendimiento de queso no formó parte del análisis sensorial, sin embargo también se determinó en el presente trabajo, encontrándose que no existió diferencia entre tratamientos (P>0.05) como se muestra en la tabla 6.

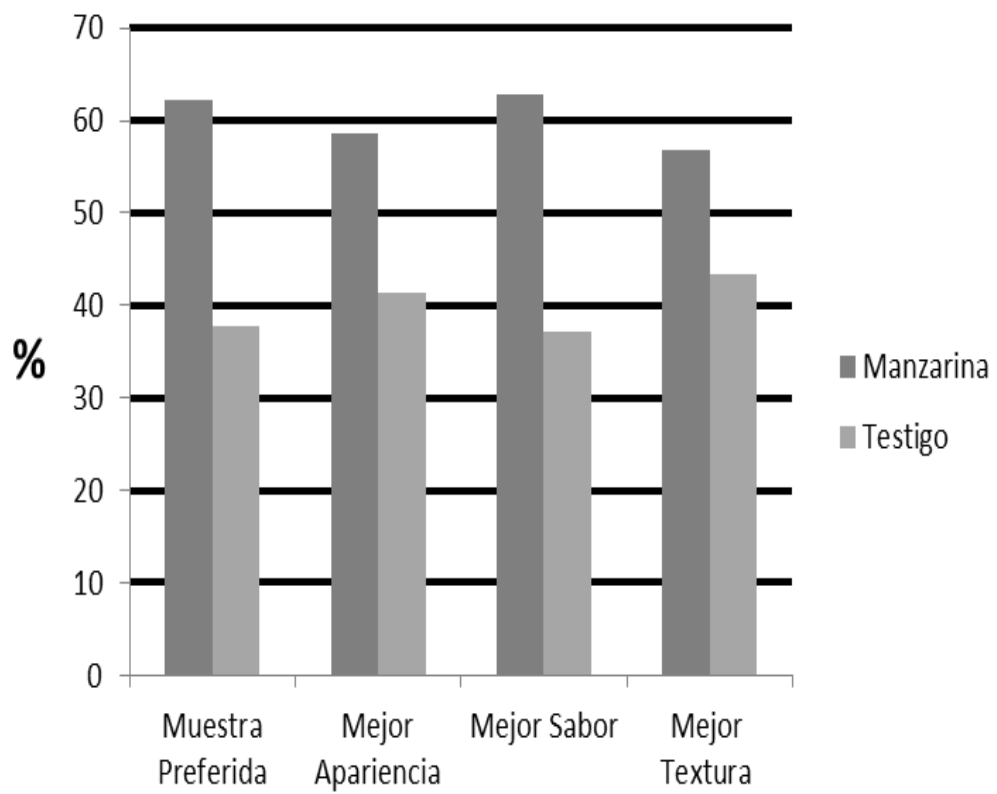


Figura 4. Comparación de las variables del análisis sensorial

Tabla 7. Variables del análisis sensorial del queso y rendimiento

Variable	Manzarina	Testigo
Muestra Preferida, %	62.3 ^a	37.7 ^b
Mejor Apariencia, %	58.7 ^a	41.3 ^b
Mejor Sabor, %	62.8 ^a	37.2 ^b
Mejor Textura, %	56.7 ^a	43.3 ^b
Calificación, 1- 10	8.19 ^a	7.38 ^b
Rendimiento Kg	5.32±0.4 ^a	5.14±0.5 ^a

Literales diferentes entre columnas indican diferencia ($P < 0.05$). La variable calificación se midió en una escala numérica de 1 a 10, siendo la primera la de menos aceptación y la segunda la de mayor aceptación,

5.5 Ácidos Grasos Volátiles del Rumen

Con respecto a la variable ácido acético los resultados mostraron que existió diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina figura 5. El ácido propiónico mostró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina. La variable ácido butírico mostró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos a favor de manzarina como se muestra en la tabla 7.

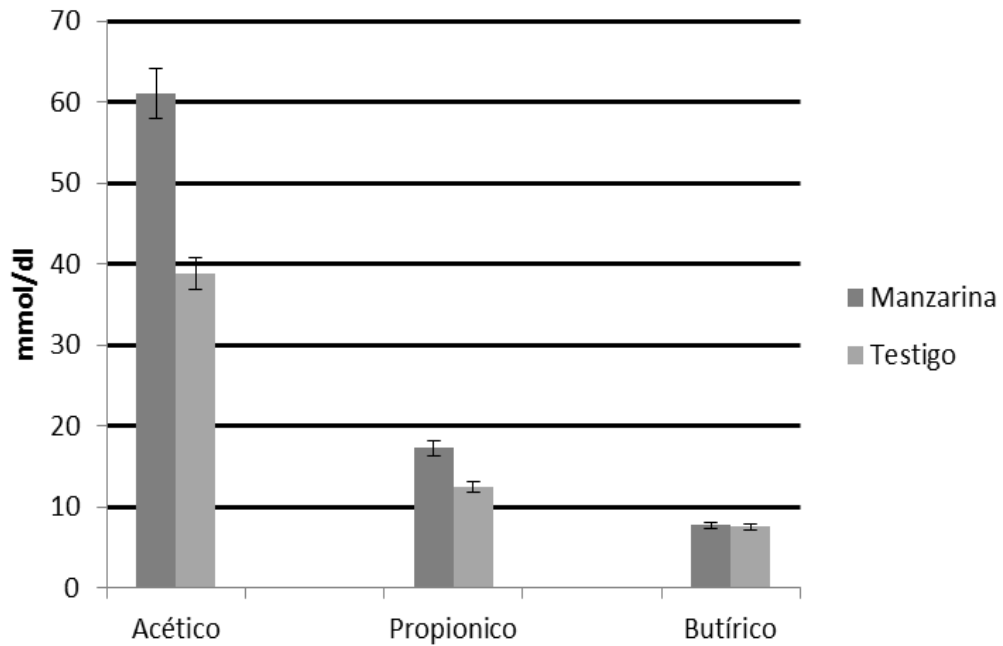


Figura 5. Comparación de la producción de los ácidos grasos volátiles.

Tabla 8. Producción de los ácidos grasos volátiles

Variable	Manzarina	Testigo
Acético mmol/dl	61.05±14.8 ^a	38.9±14.4 ^b
Propionico mmol/dl	17.25±6.5 ^a	12.48±5.9 ^b
Butírico mmol/dl	7.72±3.2 ^a	7.54±3.3 ^b

ab Literales diferentes entre columnas indican diferencia ($P < 0.05$).

5.6 Amoniaco Protozoarios y pH Ruminal

Con respecto a la variable amónico ruminal no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos como se muestra en la tabla 8. En la variable pH ruminal no existió diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos, los datos obtenidos se muestran en la figura 6. Los protozoarios son otra variable del líquido ruminal, la cual no mostró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Tabla 9. Producción de las variables protozoarios amoniaco y nivel de pH ruminal

Variable	Manzarina	Testigo
pH Ruminal	6.52 ± 0.07^a	6.6 ± 0.08^a
Protozoarios/ml	$7.7 \times 10^6 \pm 0.6^a$	$7.1 \times 10^6 \pm 0.7^a$
Amoniaco mg/l	87.04 ± 2.4^a	82.89 ± 2.2^a

ab Literales diferentes entre columnas indican diferencia ($P < 0.05$).

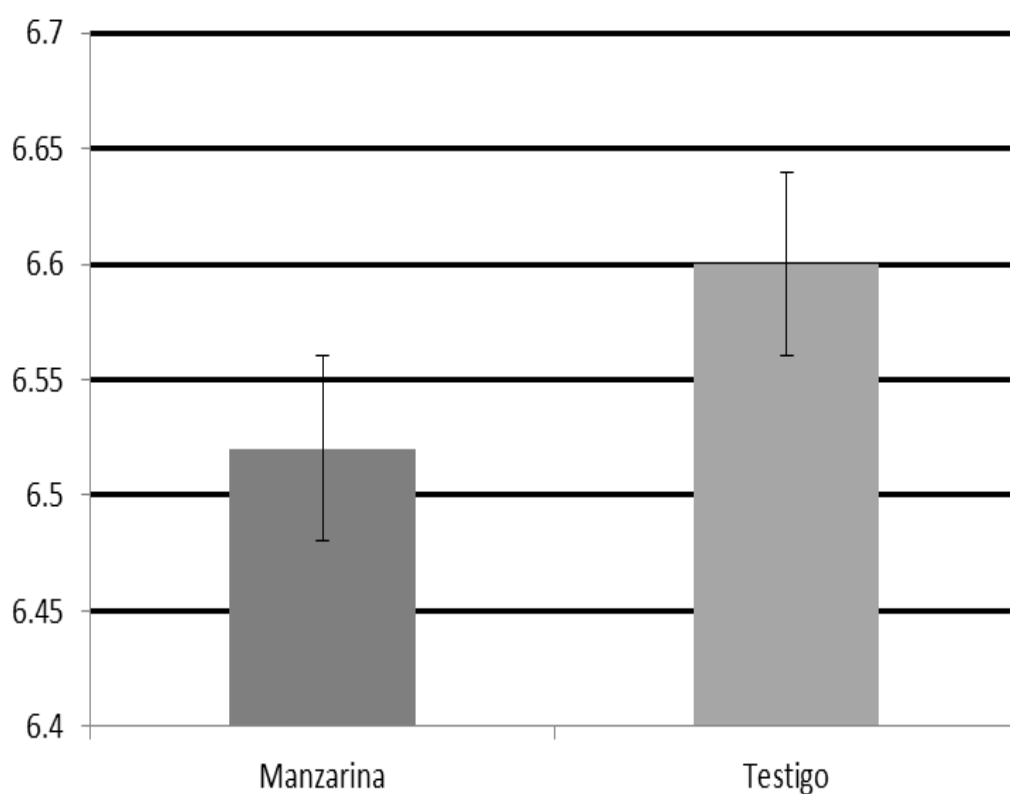


Figura 6. Comparación de tratamientos en la variable pH ruminal

6. DISCUSIÓN

6.1 Producción y Variables Físicoquímicas de la Leche

Con respecto a la producción de leche el promedio de las vacas tanto en el tratamiento manzarina como en el tratamiento testigo alcanzaron 30 l, siendo 275 gramos más de leche en el tratamiento manzarina, lo que nos demuestra que esta dieta cubrió las necesidades nutricionales de las vacas para producir dichas cantidades (Rodríguez, 2009). El efecto antes mencionado, se relaciona con la proteína de la manzarina ya que esta proteína es de origen microbiano gracias a que fue producida por las levaduras presentes en el bagazo de la manzana que transformaron el nitrógeno no proteico y las proteínas de origen microbiano son las que contienen el perfil de aminoácidos más parecido al perfil que necesitan los bovinos productores de leche (Stockdale *et al.*, 2003). Los resultados del presente trabajo coinciden con otros experimentos donde se empleó manzarina en bovinos productores de leche en el aspecto del mantenimiento de la producción. Gutiérrez (2007) empleó manzarina en un 5 % de la ración, obteniendo una mejora en la producción de leche en 780 g por vaca por día, sin embargo en el presente trabajo no se logró mejorar la producción de manera estadísticamente significativa ($P>0.05$), no obstante la producción promedio en nuestro trabajo fue de más de 30 l por vaca por día, en comparación con 22 l que se obtuvieron en el trabajo antes mencionado con manzarina, por lo que la diferencia fue 8 litros por vaca por día.

La manzarina contiene 18 % proteína de la cual 60 % es de sobrepaso (Hernández, 2007; Rodríguez, 2009), por lo que este aumento en la producción posiblemente está influenciado por la manzarina, ya que cubrió de una manera más completa las necesidades fisiológicas de las vacas debido a que su proteína es de origen microbiano (Stockdale *et al.*, 2003), aportando de esta manera el nitrógeno necesario para un buen crecimiento bacteriano en el rumen, que a su vez desdobló la fibra proporcionada en la ración y de esta manera se produjo una cantidad suficiente de ácidos grasos volátiles que permitieron cubrir la necesidad de energía metabolizable para lactación y como consecuencia se dio una mayor producción de leche.

Varios experimentos han reportado que mejorando los niveles o tipo de proteína de la dieta se obtienen mayores rendimientos en producción láctea (Cressman *et al.*, 1980; Foster *et al.*, 1983; McGuffey *et al.*, 1990; Zimmerman *et al.*, 1991; Reyes *et al.*, 1993; O'mara *et al.*, 1998 y Kalscheur *et al.*, 1999).

6.1.1 Proteína Láctea

Con respecto a experimentos que incluyeron ingredientes proteicos en la dieta de vacas lecheras y su efecto sobre la proteína láctea, Wright *et al.* (1998), evaluaron niveles de proteína no degradada en rumen (UPR), determinando una respuesta lineal en la producción de proteína láctea al aumentar la UPR de la dieta, pero no una mejora de la concentración de dicho componente por lo que coincidimos con ellos ya que obtuvimos resultados similares. Sin embargo no coincidimos con Depeters y Cant (1992) que reportaron una mejor respuesta ante restricciones de proteína previas en la dieta, al igual que Sutton (1989). En el presente trabajo no encontramos mejora en la proteína láctea a pesar que los animales tenían una menor calidad en la proteína de la dieta que estaban consumiendo antes de iniciar el experimento.

Reyes *et al* (1993) reportaron que con la inclusión del 70 % de saccharina del concentrado total, el mantenimiento de los niveles de proteína de la leche dentro de los rangos normales, dicho sea de paso el ingrediente antes mencionado es lo más parecido al ingrediente que se empleó en el presente trabajo (Manzarina).

Gutiérrez (2007) reportó el mantenimiento de la proteína de la leche dentro de los parámetros normales empleando manzarina, lo cual no coincide con los resultados del presente trabajo sin embargo en el primer experimento no se modificó la grasa láctea, la modificación de la grasa en el presente trabajo y su efecto sobre el porcentaje de proteína de la leche, se discutirá en el capítulo correspondiente.

En el presente trabajo el porcentaje de proteína en el tratamiento manzarina fue 0.5% menor con respecto al tratamiento testigo, siendo igualmente 0.2 % menor que los parámetros oficiales establecidos, sin embargo esa disminución no se considera como una depresión alarmante, ya que existen diversos factores que

pueden influenciar una disminución moderada de la proteína de la leche, para el presente trabajo dicha disminución se encuentra relacionada al aumento notable de la grasa láctea, la cual tiene una correlación negativa con la proteína láctea, es decir al aumento de uno de estos dos componentes disminuye el otro (Bauman *et al.*, 2006), lo cual justifica plenamente los resultados que se obtuvieron.

6.1.2 Grasa Láctea

La grasa es el componente lácteo que más se puede influenciar por medio de la nutrición (Chillard, 1993). La inclusión de grasa en la dieta de vacas lecheras, se da entre un 6 a 8 % de la dieta total en base seca, incrementando generalmente la producción pero la concentración de grasa de la leche varía en un rango relativamente amplio (Sutton, 1989). El NRC (2001) para ganado lechero recomienda que el contenido de grasa adicionada en la dieta se mantenga entre 3 y 4 %. Raciones con alto contenido de proteína cruda y con una adecuada cantidad de fibra (forrajes) han demostrado un incremento en la grasa láctea (Zimmerman *et al.*, 1991).

Con respecto al presente trabajo se logró aumentar la grasa láctea en 0.3 % en el tratamiento manzarina con respecto al testigo, lo cual coincide con Anrique y Dossow (2003), ya que reportaron que con la inclusión del 30 % de bagazo de manzana de la dieta total obtuvieron una mejora en la grasa de la leche de 0.31 %. El aumento que se obtuvo en el presente experimento se puede atribuir a varios factores que proporcionaron las condiciones necesarias para dicho aumento, el primero de ellos es una fuente de fibra de buena calidad, ya que el forraje es determinante para la formación de ácidos grasos volátiles y estos a su vez son fundamentales para la formación de grasa láctea, principalmente acetato y como segundo en importancia el butirato (McDonald *et al.*, 1999).

El efecto del ácido acético y butírico en el aumento de producción de grasa láctea en este trabajo fue determinante ya que se puede corroborar, debido a que existió una mayor producción de este ácido estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina y como se mencionó anteriormente estos compuestos son determinantes en la producción de grasa de la leche, ya que el

acetato y butirato fungen como unidades de construcción de los ácidos grasos de cadena corta que posteriormente son unidos por un glicerol formando así un triglicérido, siendo este compuesto participe de la mayor parte de la grasa láctea, lo cual hizo que aumentara el porcentaje de grasa de la leche en el tratamiento manzarina.

6.1.3 Lactosa

Los resultados del tratamiento testigo como el de manzarina se mantuvieron ligeramente por debajo (0.1 %) de los rangos normales (4.5 %), en ambos casos el no haber podido modificar la lactosa en el presente trabajo la podemos calificar hasta cierto punto como normal y esperada, ya que a pesar de que se conoce gran parte del proceso de síntesis (Bunting, 2004), hasta estos momentos alterar la lactosa por medio de la alimentación ha resultado poco práctico y aplicable según Jenkins y McGuire, (2006). La estabilidad que presenta la lactosa, frente al efecto de la alimentación se debe a la función osmótica que lleva acabo y que por lo tanto limita o regula la producción y dificulta modificarla, ya que se puede decir que este componente, es el que da el equilibrio a la glándula mamaria (Park y Jacobson, 1999).

Por los resultados obtenidos en este trabajo con el tratamiento manzarina, coincidimos con lo que reportó Anrique y Dossow (2003), donde no encontraron cambios en la lactosa a pesar de que los esperaban. Por otro lado también coincidimos con lo reportado por Reyes *et al.* (1993), donde igualmente no encontró cambios en la concentración del componente lactosa, por lo que podemos suponer que el ligero decremento de la lactosa en ambos tratamientos de nuestro experimento no se debió a la alimentación sino a otro tipo de factores, pudiendo influir principalmente la genética de los animales que formaron parte del estudio.

6.2 Variables Microbiológicas en Leche

En el presente trabajo, para la variable coliformes totales se dio un recuento menor estadísticamente significativo ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina, este efecto se relaciona al contenido de polifenoles de la manzarina ya que lograron

disminuir el crecimiento de estos microorganismos, lo cual coincide con Lauzon *et al.*, (2005) que logró inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* con un antioxidante llamado deferoxamina.

Con respecto a las bacterias *Estafilococos sp* y *Streptococos sp* existió diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento manzarina, ya que se obtuvo un menor conteo de UFC/ml en ambos microorganismos, como se mencionó anteriormente este resultado se dio probablemente debido al contenido de polifenoles de la manzarina, ya que se ha demostrado que la suplementación con antioxidantes disminuye la duración, incidencia y severidad de la mastitis clínica (Erskine, 1993; Smith *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1985; Chew, 1993 y Goff, 2006), ésto debido al aumento de la actividad bactericida de los neutrófilos. Gallegos (2007) encontró un aumento en los monocitos de vacas en producción alimentadas con manzarina, los monocitos se clasifican como macrófagos inmaduros los cuales tardan en maduran 72 horas, para después entrar al torrente sanguíneo para su transporte a cualquier parte del cuerpo, para realizar diversas funciones, entre las que se encuentran en caso de ser necesario, atacar infecciones bacterianas (Tizard, 1995), lo cual le da sustento a nuestra discusión sobre que los polifenoles de la manzarina tuvo efecto estimulante en el sistema inmunológico.

En otro experimento con vitamina E, Hogan *et al.* (1990) lograron el aumento de la resistencia contra infecciones por medio de la mejora de las funciones de las células fagocíticas, protegiendo a los macrófagos y neutrófilos del ataque oxidativo de los radicales libres por medio de la desintoxicación de peróxidos del citosol, que se lleva a cabo por medio de la glutatión peroxidasa, encontrando que en dietas deficientes en antioxidantes se reduce el ataque efectivo de las células fagocíticas hacia las bacterias *Estafilococo aureus* y *Escherichia coli*, dos de los principales microorganismos causantes de mastitis y por lo tanto de los más recurrentes en la leche. Por lo antes mencionado y los resultados obtenidos en el presente trabajo es probable que haya ocurrido un efecto similar debido o desencadenado por los polifenoles que contiene la manzarina, ya que la mayor parte de los antioxidantes trabajan de manera similar, en el presente experimento se logró disminuir la carga tanto de *Streptococos sp* como de coliformes totales en leche en el tratamiento

manzarina con respecto al testigo, lo cual coincide con lo reportado por Hogan *et al.*, (1990).

Para la variable microbiológica *Salmonella sp* no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, sin embargo si existió diferencia numérica ya que las UFC/ml de leche fue menor en el tratamiento manzarina, posiblemente el que este microorganismo no se viera afectado por los polifenoles de la manzarina estriba en que la contaminación de la leche por este microorganismo se dio inmediatamente o posterior al ordeño, ya que *salmonella sp* es una bacteria que no forma parte de la microflora patógena de la glándula mamaria, por lo que no se dio un ataque de los neutrófilos que teóricamente ya habían mejorado su capacidad de ataque gracias a los polifenoles de la manzarina, sin embargo ya que estos no tuvieron contacto con el microorganismo, por lo tanto no pudieron controlarlo y por tal motivo no existió un efecto positivo de la manzarina sobre esta bacteria.

6.3 Variables Microbiológicas en el Queso

Los antioxidantes que se proporcionan en raciones de bovinos son excretados en la leche ya que ha sido demostrado que pueden ser transferidos directamente del alimento a la leche (Nalecz-Tarwacka *et al.*, 2003; Havemose *et al.*, 2004; Schingoethe *et al.*, 1979; Nicholson and St-Laurent, 1991), más aun se ha demostrado que gran parte de esos antioxidantes secretados en la leche se mantiene en el queso (Pizzoferrato *et al.*, 2007).

Por los antecedentes antes mencionados de que es posible que los antioxidantes provenientes de la alimentación se transfieran a la leche y queso, lo cual dio sustento para que en el presente trabajo se intentara de que los polifenoles de la manzarina lograran disminuir los recuentos en el queso tipo chihuahua de *Salmonella sp*, *Estfilococos sp*, *Streptococos sp* y Coliformes totales, sin embargo no existió diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos a pesar de que como se mencionó anteriormente que los antioxidantes provenientes de la leche pueden mantenerse en el queso y en este caso los polifenoles de la manzarina pudieron tener la misma ruta, no obstante estos compuestos no mostraron actividad

antibacteriana en el queso contra los microorganismos antes mencionados. Es probable de que la razón de que no existiera efecto de los polifenoles de la manzarina sobre las bacterias de este experimento, se debió a que no se produjo la suficiente concentración de polifenoles en el queso como para causar un efecto de inhibición del crecimiento de los microorganismos. No obstante los *Streptococcus sp*, *Stafilococcus sp* y Coliformes totales se mantuvieron dentro de los rangos aceptables a excepción de *Salmonella sp* (IDF., 2004).

6.4 Variables del Análisis Sensorial del Queso y Rendimiento

La manzarina mejoró las propiedades sensoriales del queso tipo chihuahua, ya que los datos fueron estadísticamente significativos ($P < 0.05$) este resultado está altamente relacionado con la grasa láctea ya que se logró aumentar el porcentaje con el tratamiento manzarina como se mencionó en la sección de componentes fisicoquímicos de la leche. La mejora por parte del tratamiento manzarina en las variables muestra preferida, mejor apariencia, mejor sabor y mejor textura están relacionadas con la grasa de la leche ya que este componente es responsable de diferentes propiedades físicas, características de producción y cualidades organolépticas (Bauman *et al.*, 2006), de igual manera la mejora de las propiedades sensoriales en el tratamiento manzarina se pudo deber a una modificación en los ácidos grasos que componen la grasa láctea, debido a que esto es posible por medio de la alimentación de las vacas (Lock and Bauman, 2004).

Cabe agregar que los aldehídos y cetonas derivados del metabolismo de los ácidos grasos libres son los responsables del sabor y aroma del queso, por lo que un incremento de los ácidos grasos libres de los triglicéridos modifica las propiedades organolépticas del queso (Lucey *et al.*, 2003), lo cual pudo suceder en el tratamiento manzarina ya que aumentó la grasa láctea pero con ese aumento pudo haber existido modificación de los ácidos grasos que tuvo como consecuencia la mejora en las variables sensoriales del queso tipo chihuahua.

El rendimiento de queso fue otra de las variables que se midieron, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos, esto probablemente a que en la proteína láctea existió diferencia entre tratamientos a

favor del tratamiento testigo y el porcentaje de este componente está altamente relacionado con el rendimiento de queso, es decir entre más elevado sea la proteína se necesita una menor cantidad de leche (Bauman *et al.*, 2006), lo que explica el hecho de no haber podido aumentar el rendimiento de queso en el presente experimento. No obstante el rendimiento de queso obtenido en ambos tratamientos se encontró dentro de los parámetros aceptables establecidos de 1 kg de queso por 10 litros de leche (Banks., 1990; Villegas., 2004).

6.5 Ácidos Grasos Volátiles del Rumen

La población microbiana del rumen lleva a cabo procesos de fermentación que dan como resultado final la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), esto como consecuencia del proceso de fermentación de celulosa y hemicelulosa, por lo tanto las fuentes de carbohidratos (forrajes) y carbohidratos no fibrosos (concentrados) en la dieta influyen la cantidad y relación de AGV producidos en el rumen. En el presente trabajo el tratamiento manzarina tuvo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en ácidos acético, propionico y butírico, cabe mencionar que la manzarina se considera un ingrediente del concentrado que se le proporcionó a las vacas en la dieta, es probable que el aumento de AGV del tratamiento manzarina con respecto al testigo, este influenciado por una mayor digestibilidad de los carbohidratos de la manzarina que se modifican durante el proceso de obtención de la manzarina el cual se realiza mediante la técnica de fermentación en estado sólido (FES), debido a las levaduras y hongos que desgastan la pared celular (Rodríguez, 2009; García *et al.*, 2002; Valiño *et al.*, 2002), por lo cual este ingrediente pertenece al grupo de carbohidratos no fibrosos (concentrados) los cuales estimulan una mayor producción de AGV porque son fermentados más eficientemente gracias a una mayor digestibilidad de los mismos que va del 75 a 90 % (Leek, 2009; Wattiaux y Armentano 2000). Las levaduras presentes en la manzarina 51.3×10^6 (Hernández, 2007), posiblemente también tuvieron que ver en la mayor producción de AGV, ya que estos microorganismos producen compuestos que sirven de alimento para incrementar las bacterias celulolíticas en el rumen lo que estimula la digestibilidad de la fibra y por lo tanto la producción de AGV (Lascano y Heinrichs, 2008).

Otra posibilidad de explicar el aumento de la producción de AGV en el tratamiento manzarina es debido a que el 18 % de proteína que contiene la manzarina, la cual es de alta calidad, ya que es de origen microbiano, producida por las levaduras del bagazo de manzana durante el proceso de elaboración de manzarina, es decir se mejoró la calidad de la proteína de la dieta de las vacas con la incorporación de este ingrediente en la dieta, lo que tuvo probablemente como consecuencia un mayor crecimiento de la población de bacterias celulolíticas ruminales, debido a que se les proporcionó los aminoácidos esenciales para su crecimiento y como consecuencia una mayor población microbiana trae como resultado una mejor fermentación de los carbohidratos de la dieta tanto fibrosos como no fibrosos lo cual se refleja en una mayor producción de AGV (Hoover, 1991). Por otra parte también es posible que se haya fermentado parte de las proteínas de la manzarina para la producción de AGV, es decir esta proteína sirvió para la producción directa de AGV y no para el crecimiento microbiano ruminal (Leek, 2009).

6.6 Amoniaco Protozoarios y pH Ruminal

Los microorganismos del rumen hidrolizan las proteínas, los péptidos y los aminoácidos, los cuales posteriormente se degradan a amoniaco, este compuesto producido junto con los péptidos y los aminoácidos libres, son utilizados por los microorganismos del rumen para sintetizar proteínas. En el presente trabajo el amoniaco no mostró efecto en el tratamiento manzarina, no obstante se mantuvo dentro de los rangos aceptables (85 a 30 mg/l) lo que demostró que el 18 % de proteína que contenía la dieta manzarina cubrió las necesidades proteicas de la vacas en producción, ya que si hubiera existido una deficiencia en la proteína de la dieta se hubiera reflejado en una baja de amoniaco en el contenido ruminal, ya que esto sucede en dietas deficientes en proteína (Ramírez, 2009). Por otro lado, si la degradación de las proteínas del tratamiento manzarina hubiera sido más rápida que la síntesis de proteína bacteriana en el rumen, hubiera existido un aumento de amoniaco, sobrepasando las concentraciones óptimas en el líquido ruminal. Con respecto a la producción de amoniaco en el tratamiento manzarina se puede confirmar que no tuvo efectos negativos sobre la producción de amoniaco al cubrir

de manera justa las necesidades de proteína del animal y al no producir una degradación acelerada de las proteínas de la dieta.

En lo que respecta a los protozoarios no existió diferencia estadística entre tratamiento ($P>0.05$), dichos microorganismos tienen diferentes funciones entre las que se encuentran producción de amoníaco y ayudan a que el proceso de fermentación sea más eficiente, sin embargo su principal función es ingerir partículas de almidón, fibras y bacterias ruminales, en el presente trabajo la manzarina mantuvo dentro de los rangos aceptables la cantidad de protozoarios a pesar de que son microorganismos muy sensibles a los cambios de alimentación, sobre todo a dietas a base de concentrado, sin embargo dietas con contenido de azúcares solubles logran aumentar la población de estos microorganismos (Makkar., 2005), dichas características tiene la manzarina sin embargo este ingrediente no pudo aumentar la población de protozoarios, posiblemente debido a que la cantidad proporcionada de manzarina no aportó la cantidad suficiente de azúcares solubles.

El pH ruminal en bovinos es de suma importancia para el correcto funcionamiento del rumen, ya que para la mayoría de los microorganismos incluyendo a los protozoarios, sería imposible realizar su trabajo con un pH extremo, en el presente trabajo no existió diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre tratamientos, sin embargo tanto el tratamiento manzarina como el testigo se mantuvieron dentro de los rangos aceptables de 6.4 a 7 (Valdez *et al.*, 1997; Dehority, 2003).

La composición de la dieta y las prácticas de alimentación influyen sobre el pH ruminal, ya que a medida que se incrementan los ingredientes de fermentación rápida disminuye el pH y viceversa (Kaufmann, 1976), con respecto a la dieta con manzarina no existió efecto negativo de este ingrediente en el pH ruminal, posiblemente a que este no modificó la degradabilidad de la proteína sino que la mantuvo, ya que si hubiera disminuido la degradabilidad el pH hubiera descendido también, al contrario la dieta manzarina mantuvo en 6.5 el pH y aun cuando no puede definirse un pH óptimo se conoce que 6.5 es muy bueno para diferentes bacterias celulolíticas y excelente para el crecimiento de protozoarios (Rodríguez y Llamas,

1990), por lo tanto se puede sugerir que la dieta manzarina mantuvo las condiciones óptimas ruminales para el crecimiento y fermentación microbiana.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La incorporación de manzarina en las raciones de bovinos productores de leche mantuvo niveles de producción de 30 l/vaca/día en promedio. La manzarina incrementó el componente grasa de la leche en 0.8 % con respecto a los parámetros establecidos. Los microorganismos *Estafilococos sp*, *Streptococos sp* y coliformes totales reportaron recuentos microbianos menores en leche con el tratamiento manzarina. Los AGV acético, propionico y butírico mejoraron su concentración con la dieta que incluía manzarina. Los parámetros ruminales de pH, protozoarios y amoníaco se mantuvieron dentro de los niveles considerados aceptables.

Todas las variables del análisis sensorial del queso tipo chihuahua fueron mejoradas en el tratamiento manzarina y el rendimiento del mismo se mantuvo dentro de los parámetros aceptables de litros de leche por kg de queso. Todas las variables microbiológicas evaluadas en el queso tipo chihuahua no mostraron diferencia significativa.

Los datos obtenidos con la inclusión de manzarina en dieta de bovinos productores de leche sobre las diferentes variables de leche, parámetros ruminales y queso tipo chihuahua, son indicativos de que la manzarina puede mejorar o por lo menos mantener dentro de los rangos aceptables las diferentes variables del presente estudio. Considerando que no se encontraron efectos negativos injustificados en el experimento, se puede sugerir que es posible la incorporación de manzarina en dietas de bovinos productores de leche, de igual forma debido a la disminución en el recuento de microorganismos en leche, es posible que la manzarina no solo actúe como un ingrediente nutritivo sino probablemente también como un ingrediente nutracéutico.

Se recomienda realizar estudios sobre el efecto de la manzarina en la modificación de ácidos grasos de la leche, también se recomienda realizar estudios sobre el efecto de un extracto de polifenoles de la manzarina sobre microorganismos patógenos *in vitro*.

ANEXO 1

ENCUESTA ANALISIS SENSORILA DEL QUESO

Nombre: _____ Fecha: _____ Lugar de la encuesta: _____					
Pruebe las dos muestras y señale con un 2 si hay diferencia entre las muestras y cuál prefiere.					
MUESTRAS	¿Hay diferencia?	Muestra preferida	Naturaleza e intensidad de la diferencia		
A-B			A	B	
			Mejor apariencia		
			Mejor sabor		
			Mejor textura		
De una calificación para las muestras de 1 a 10					
Muestra A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10					
Muestra B 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10					

8. LITERATURA CITADA

- AbuGhazeleh, A. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, K. F. Kalscheur y L. A. Whitlock 2002. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci.* 85:2266-2276.
- Alais, C. 2003. *Ciencia de la Leche. Principios de Técnica Lechera. Décima Cuarta Edición.* CECSA. México.
- Alibes, X., Muñoz, F. y Rodríguez, J. 1984. Feeding value of Apple pomace silage for sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 11:189-197
- Amens, B. N. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science.* 221: 1256.
- Amiot, J. 1991. *Ciencia y Tecnología de la Leche. Principios y Aplicaciones. Primera Edición.* España.
- Anrique, G. R. y C. Dossow. 2003b. Efectos de la pulpa de manzana ensilada en la ración de vacas lecheras sobre el consumo, tasa de sustitución y producción de leche. *Arch. Med. Vet.* 35 n1.
- Anrique, G. R. y M. Paz. 2002a. Efecto del ensilado sobre la composición química y degradabilidad ruminal de la pomasa de manzana. *Arch. Med. Vet.* Vol. 34.
- Arambel, M. J., R. D. Weidmeier, y J. L. Walters. 1987. Influence of donor animal adaptation to added yeast culture and(or) *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Nutr. Rep. Int.* 35:433.
- Backhouse, E. N. 2004. Lactosa. Elixir de la Leche. <http://botikario.webcindario.com/apuntes/botanik2/lactosa.htm> Accesado Enero del 2010.
- Badui, S.D. 2006. *Química de los Alimentos. Cuarta Edición.* PEARSON. México.
- Bandings, H. T. 1970. Cold storage defects in butter and their relation to autoxidation of unsaturated fatty acids. *Nederland Milk Zuiveltijdschrift* 24:147-257.
- Banks, J., 1990. The quality of milk in relation to cheese manufacture. *Inter. J. of Dairy Techn.* 43: 35-39.
- Barber, W. P. 1983. Nutritional value of maize, sugar beet and fruit by-products. Paper presented at EEC Seminar, Feeding value of byproducts and their use by cattle. Melle Belgium.
- Bauman, D. E., I. H. Mather, R. J. Wall y A. L. Lock. 2006. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.* 89: 1235 – 1243.

- Becerra, B. A. 2006. Aprovechamiento de subproductos de manzana mediante la producción de proteína microbiana con fermentación en estado sólido para la alimentación animal. Tesis Doctoral. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. Mex.
- Bendich, A. 1993. Symposium: Antioxidants, Immune Response, and Animal Fuction. *J. Dairy Sci.* 76:2789-2794.
- Boor, K. J., y S. C. Murphy. 2002. The microbiology of raw milk. Pages 91-118 in *Dairy Microbiology Handbook*. 3rd ed. R. K. Robinson, ed. John Wiley and Sons, New York, NY.
- Bowers, T. L. 1997. Nutrition and immunity part 2: The role of selected micronutrients and clinical significance. *Vet. Clin. Nutr.* 4:96-101.
- Bunting, L. D. 2004. Estrategias Nutricionales para Cambiar Componentes de la Leche. *Rev. Entorno Ganadero*. Año 1 No. 6.
- Caja, G. y F, Medrano. 2006. Manipulación de la curva de lactación y de la composición de leche en rumiantes: de la nutri-fenómica a la nutri-genómica?. XXII curso de especialización de FEDNA. pp 191-201. Barcelona, España.
- Calderón, F., B. Chauveau-Duriot, P. Pradel, B. Matin, B. Graulet, M. Doreau y P. Nozière. 2007. Variation in Carotenoids, vitamins A and E, and Color in Cow's Plasma and Milk following a shift from Hay diet to Diets Containig Increasing Levels of Carotenoids and Vitamin E. *J. Dairy Sci.* 90:5651-5664.
- Cao, X., Wang, C., Pei, H., y B. Sun. 2009. Separation and identification of polyphenols in apple pomace by high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *J. Chroma.* 1216:4268-4274.
- Carrasco. E., R. Bocourt. A. Elías y I. Febles. 1997. Grosor de la capa y volteo en la fermentación de la caña de azúcar con excreta vacuna. *Rev. cubana de Cienc. Agric.* 31: 49.
- Carter, G.R. y M.M. Chengappa. 1994. *Bacteriología y Micología Veterinarias*. Segunda Edición. El Manual Moderno.México.
- Castellanos, A. 1986. *Subproductos Industriales*. Editores, Shimada, A.S., R. Rodríguez, J.A. Cuaron. Engorda de Ganado Bovino en Corrales. Consultores en Producción Animal, S.C. México.
- Cetkovic, G., Canadanovic-Brunet, J., Djilas, S., Savatovic, S., Mandic, A., y V. Tumbas. 2008. Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*. 109:340-347.

- Chaiyotwittayakun, A., R.J. Erkin, P.C. Bartlett, T.H. Herdt, P.M. Sears y R.J. Harmon. 2002. The Effect of Ascorbic Acid and L- Histidine Therapy on Acute Mammary Inflammation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 85:60-67.
- Chamorro, M.C. y M.M. Losada. 2002. *Tecnología de Alimentos. Análisis sensorial de los Quesos. Primera Edición.* Mundi Pesa. España.
- Chew, B. P. 1993. Role of Carotenoids in the Immune Response. *J. Dairy Sci.* 76:2804-2811.
- Chew, B. P. 1996. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health animals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59:103-114.
- Chillard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76: 3897 – 3931.
- Codex Alimentarius. 2000. *Leche y Productos Lácteos. Segunda Edición.* Secretaria del Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias. FAO. Roma. Italia.
- Costello, M., M.S. Rhee, M.P. Bates, S. Clark, L.O. Luedecke, y D.H. Kang. 2003. Eleven-year trends of microbiological quality in bulk tank milk. *Food Prot. Trends.* 23:393-400.
- Cressman, S. G., D. G. Grieve, G. K. Macleod, E. E. Wheeler y L. G. Young. 1980. Influence of dietary protein concentration on milk production by dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 63: 1839 – 1847.
- de Bruyne, T., L. Pieters, M. Witvrouw, E. De Clercq, D. Vanden Berghe y A. J. Vlietinck. 1999. Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *Journal of Natural Products.* 62(7):954-958.
- Dehority, B. A. 2003. *Rumen Microbiology.* Nottingham. University Press. First published. U. K.
- Del Castillo, R. R. y J.M. Lagarriga. 2004. *Productos Lácteos. Tecnología.* Ediciones UPC, primera edición.
- Depeters, E. y J. Cant. 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen Composition of bovine milk: a review. *J. Dairy Sci.* 75: 2043 – 2070.
- Díaz, P. D. 2006. Producción de proteína microbial a partir de manzana de desecho adicionado con urea y pasta de soya. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Chi. Mex.
- Diñeiro-García, Y., Suárez-Valles, B., y Picinelli-Lobo, A. 2009. Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry.* 117: 731-738.

- Edwards, J., y W. Parker. 1995. Apple pomace as a supplement to pasture for Dairy cows in late lactation. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 55: 67 – 69.
- Elías, A., O. Lezcano, P. Lezcano, J. Cordero y L. J. Quintana. 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico en la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido (Saccharina). *Rev. Cubana Ciencias Agrícolas.* Vol. 24 (1): 3-12.
- Erskine, R. J. 1993. Nutrition and Mastitis. Update on bovine mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9:551-556.
- Ferreiro, H. M., E. Sánchez y G. Ortiz. 1983. Efectos de Niveles de urea y acuamonia como aditivos al silo de bagazo de manzana y ganancia de peso en bovinos. *Resumen de investigación Pecuaria en México.* Nov-Dic., D.F. México.
- Ferris, T.A., y P.C. Vasavada. 1989. Symposium: Methods of Altering Milk Composition. *Altering Milk Composition-An Introduction.* *J. Dairy Sci.* 72: 2788-2789.
- Fontenot, J. P., Bovard, K. P., Oltjen, R.R., Rumsey, T. S., y B. M. Priode. 1977. Supplementation of apple pomace with non protein nitrogen for gestating beef cows. Feed intake and performance. *J. Anim. Sci.* 46: 513-522.
- Foster, R. J., D. G. Grieve, J. G. Buchanan-Smith, y G. K. Macleod. 1983. Effect of dietary protein degradability on cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 66: 1653 – 1662.
- Gallegos A., M. A. 2007. Conteo de Células Somáticas en Leche, Actividad Antioxidante del Plasma y Componentes Celulares Sanguíneos de Vacas Holstein en Producción Alimentadas con Manzarina en la Dieta. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua. México.
- Galyean, M. L. 1997. *Laboratory Procedures in Animal Nutrition Research.* Department of Animal and Food Sciences Texas Tech University, Lubbock. USA.
- Garcia, Y., A. Ibarra, E. C. Valiño, J. C. Dustet, A. Oramas y N. Albelo. 2002. Study on a Solid State Fermentation System Using Shaking for Sugarcane Bagasse Biotransformtion by the *Trichoderma viride* M5-2 Strain. *Cuban Journal of Agricultural Science.* 36(3):255-260.
- Garrity, B. 1994. Profitable feeding for high production. *Dairy Farm Annu.* 46:55-58.
- Givens, D. I. y Barber W. P. 1987. Nutritive Value of Apple Pomace for Ruminants. *Animal Feed Science and Technology.* 16: 311-315.

- Goff, J. P. 2006. Major Advances in Our Understanding of Nutritional influences on Bovine Health. *J. Dairy Sci.* 89:1292-1301.
- Gorewit, R.C. 2003. Factores que Afectan la Composición y el Rendimiento de la Leche. *Memorias V DIGAL*. Septiembre. Delicias, Chi. México.
- Gutiérrez P., F. J. 2007. Efecto de la manzarina sobre los componentes fisicoquímicos y producción de leche. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua. México.
- Guyot, S., Serrand, S., Le Queré, J. M., Sanoner, P., y C. M. G. C. Renard. 2007. Enzymatic synthesis and physicochemical characterisation of phloridzin oxidation products (POP), a new water-soluble yellow dye deriving from Apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8:443-450.
- Havemose, M. S., M. R. Weisbjerg, W. L. P. Bredie y J. H. Nielsen. 2006. Oxidative Stability of Milk influence by Fatty Acids, Antioxidants, and Copper Derived from Feed. *J. Dairy Sci.* 89:1970-1980.
- Havemose, M. S., M. R. Weisbjerg, W. L. P. Bredie y J. H. Nielsen. 2004. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *Int. Dairy J.* 14:563-570.
- Heinzerling, R. H., C. F. Nockels, C. L. Quarles, y R. P. Tengerdy. 1974. Protection of chicks against *E. coli* infection by dietary supplementation with vitamin E. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146:270.
- Hernández G., C. 2008. Cinética de Fermentación in Vitro, Comportamiento Productivo y Características de la Canal de Ovinos Engordados con y sin Manzarina. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. México.
- Hernández, G. C. 2006. Comportamiento de la temperatura, materia seca, PH, conteo de levaduras y proteína en la fermentación en estado sólido de bagazo de manzana. Trabajo especial de investigación. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chi. Mex.
- Hernández, G. C., H. E. Rodríguez-Ramírez, C. Rodríguez-Muela, A. Flores-Mariñelarena y C. Arzola-Álvarez. 2007. Temperature, dry matter, pH, yeast count and protein behavior on the solid state fermentation of Apple pomace. *Joint Annual Meeting*. San Antonio, Tx. USA. Pag 285.
- Hettinga, D. H. 1989 Why Alter Milk Composition?. *J. Dairy Sci.* 72: 2790-2800.
- Hogan, J. S., K. L. Smith, K. H. Hoblet, P. S. Schoenberger, D.A. Todhunter, W. D. Hueston, D. E. Printchard, G. L. Bowman, L.E. Heider, B. L. Brockett y H. R. Conrad. 1989. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *J. Dairy Sci.* 72:1547-1556.

- Hogan, J. S., K. L. Smith, W.P. Weiss, D. A. Todhunter y W.L. Schockey. 1990. Nutrition, Feeding and Calves: Relationships Among Vitamin E, Selenium, and Bovine Blood Neutrophils. *J. Dairy Sci* 73:2372-2378.
- Hogan, J. S., W. P. Weiss y K. L. Smith. 1993. Role of vitamin E and Selenium in Host Defense Against Mastitis. *J. Dairy Sci* 76:2795-2803.
- Homan, E. J. y M. A. Wattiaux. 2000 Composición de la Leche. El Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional para la Industria Lechera. Wisconsin, E.U.
- Hoover, W. H. y Miller, T. K. 1991. Rumen digestive physiology and microbial ecology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 7:3 1 1-325.
- Hristov, A.N., W.J. Price y B. Shafii. 2004. A Meta-Analysis Examining the Relationship Among Dietary Factors, Dry Matter Intake, and Milk and Milk protein yield in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 87: 2184 – 2196.
- Huang, R., E. Choe y D. B. Min. 2004. Kinetics for singlet oxygen formation by riboflavin photosensitization and the reaction between riboflavin and singlet oxygen. *Food Chem. Toxicol*. 69:726-732.
- Hutjens, M. 2003. Guía de Alimentación. Segunda edición. Hoard's Dairyman en Español.
- International Dairy Federation. 1991. Standard 100: Milk and Milk Products. Enumeration of Microorganisms. Brussels Belgium.
- International Dairy Federation. 2004. Standard 196: Milk-quantitative Determination of Bacteriological Quality. Guidance for Establishing and Verifying a Conversion Relationship between Routine Method Results and Anchor Method Results. Brussels, Belgium.
- Jenkins, T.C. y M.A. McGuire, 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk composition. *J. Dairy Sci*. 89: 1302-1310.
- Jensen, R. G. 1995. Handbook of Milk Composition, Academia Press, San Diego. E. U.A.
- Jensen, R.G., A.M. Ferris. y C.J. Lammi-Keefe. 1991. Symposium: Milk Fat-composition, Function, and Potential for change. The composition Milk Fat. *J. Dairy. Sci*. 74:3223-3243.
- Joshi, V. K. y D. K. Sandhu. 1996. Preparation and evaluation of an animal feed byproduct produced by solid-state fermentation of apple pomace. *Bioresource Technology* 56:251-255.

- Kalscheur, K. F., J. H. Vandersall, R. A. Erdman, R. A. Kohn, y E. Russek-Cohen. 1999. Effects of Dietary Crude Protein Concentration and Degradability on Milk Production Responses of Early, Mid and Late Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82: 545 – 554.
- Kalscheur, K. F., J. H. Vandersall, R. A. Erdman, R. A. Kohn, y E. Russek-Cohen. 1999. Effects of Dietary Crude Protein Concentration and Degradability on Milk Production Responses of Early, Mid and Late Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82: 545 – 554.
- Karel, M., S. R. Tannenbaum, D. H. Wallace y H, Maloney. 1966. Antioxidation of methyl linoleate in freeze-dried model systems. III. Effects of added amino acids. *J. Food Sci.* 31:892-896.
- Kaufmann, W. 1976. Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH regulation in the rumen and feed in take in ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 3:103-114.
- Kennedy, M., List, D., Lu, Y., Newman, R. H., Sims, I. M., y P.J.S. Bain. 1999. Apple pomace and products derived from apple pomace uses, composition and analysis In: *Analysis of Plant Waste Materials*. Vol. 20 Springer-Verlag, Berlin, pp. 75-119.
- Kennelly, J.J., J.A. Bell, A. F. Keating y L. Doepel. 2005. Nutrition as a Tool to Alter Milk Composition. *Advances in Dairy Tech.* 17: 255-275.
- Khan. M. T., A. Ather, K. D. Thompson y R. Gambari. 2005. Extracts and molecules from medical plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research.* 67(2):107-119.
- Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B. y J. Kanner. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in win and plant foods. *Food Technol.* 4:85.
- Kiviat, E. 1982. *Apple Pomace Characteristic and Uses*. Hudsinia Bard College, Annandle, New York.
- Lascano, G. J. y A. J. Heinrichs. 2008. The Use of Cytometry to Asses Rumen Bacteria in Dairy Heifers Limit Fed Different Forage to Concentrate Rations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Animal Science.* 86 (E-Suppl.2). *Journal of Dairy Science.* 91 (E-Suppl. 1). P 90.
- Lauzon, K., X, Zhao., A, Bouetard., L, Dlbecchi., B. Paquette. y P. Lacasse. 2005. Antioxidants to Prevent Bovine Neutrophil-Induce Mammary Epithelial Cell Damage. *J. Dairy Sci.* 88:4295-4303.

- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, J. TenHang, J. S. Walton, y W. H. Johnson. 2002. The Effect of Prepartum Injection of Vitamin E on Health in Transition Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 85:1416-1426.
- Leek, B. F. 2009. Digestión en el Estómago de los Rumiantes. En Swenson, M. J. y W. O. Reece. *Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes*. Tomo 1. Segunda edición. Limusa. D.F. México.
- Lim, D. y W. F. Shipe. 1972. Propose mechanism for the antioxygenic action of trypsin in milk. *J. Dairy Sci.* 55:753-758.
- Lock, A. L., y D. E. Bauman. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39:1197–1206.
- Lu, Y. y Y. Foo. 1997. Identification and quantification of Major Polyphenols in Apple Pomace. *Food Chem.* 59:187.194.
- Lucey, J.A., M.E. Johnson. y D.S. Horne. 2003. Invited Review: Perspectives of the basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *J. Dairy Sci.* 86:2725-2743.
- Makkar, H. P. S. y McSwiney, C. S. *Methods in Gut Microbiology Ecology for ruminants*, Springer, 2005. pp 23-67.
- Mallard, B. A., J. C. Dekkers, M. J. Ireland, K. E. Leslie, S. Sharif, C. L. Vankampen, L. Wagter, y B. N. Wilkie. 1998. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *J. Dairy Sci.* 81:585-595.
- Manterola, H. D. 1999. Los residuos agrícolas y su uso en la alimentación de Rumiantes. Ministerio de Agricultura y Fundación para la Innovación Agraria. Santiago, Chile.
- Marcuse, R. 1960. Antioxidative effect of amino acids. *Nature.* 186:886-887.
- Marth, E.H. 1969. Salmonellae and Salmonellosis Associated with Milk and Milk Products. A Review. *J. Dairy Sci.* 52:283-315.
- Martin, S. A., y D. J. Nisbet. 1990. Effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on fermentation of amino acids, bermudagrass, and starch by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 68:2142.
- McDonald, P., R. Edwards, J. Greenhalgh, y C. Morgan, 1999. *Nutrición Animal*. Quinta edición. Acribia. Zaragoza, España.
- McGuffey, R. K., H. B. Green, y R. P. Basson. 1990. Lactation response of Dairy cows receiving bovine somatotropin and fed rations varying in Crude protein and indegradable intake protein. *J. Dairy Sci.* 73: 2437-2443.

- Mehrez, A. Z., E. R. Orskov y Y. Mcdonal. 1977. Rates of rumen fermentation inrelation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.* 38:437-443.
- Miller, J. K., E. Brzezinska-Slebodzinska., y F. C., Madsen. 1993. Oxidative Stresss, Antioxidants and Animal Fuction. *J. Dairy Sci.* 76:2812-2823.
- Miller-Webster, T., W. H. Hoover, M Holt y J. E: Nocek. 2002. Influence of Yeast Culture on Ruminal Microbial Metabolism in Continuous Culture. *J. Dairy Sci.* 85: 2009-2014.
- Morrison, F.B. 1980. Alimentos y Alimentación del Ganado 2. Hispano-América.
- Nalecz-Tarwacka, T., A. Karaszewska y K. Zdziarski. 2003. The influence of carrot addition to cow's ration on the level of vitamins and fatty acids in cow milk. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 12:53-56.
- Nava, C. C. y C. A. Díaz. 2001. Introducción a la Digestión Ruminal. Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar/.../79-introduccion_a_la_diges on_ruminal.htm. Accesado agosto de 2010.
- Nicholson, J. W. G. y A. M. St-Laurent. 1991. Effect of forage type and supplemental dietary vitamin E on milk oxidative stability. *Can. J. Anim. Sci.* 71:1181-1186.
- Nisbet, D. J., y S. A. Martin. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 69:4628.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC. E.U.
- O'mara, F. P., J. J. Murphy y M. Rath. 1998. Effect of Amount of Dietary Supplement and Source of Protein on Milk Production, Ruminal Fermentation and Ntutrient Flows. *J. Dairy Sci.* 81: 2430 – 2439.
- Oltjen, R. R., Rumsey, T. S., Fontenot, J. P., Bovard, K. P. y B. M. Priode. 1977. Supplementation of apple pomace with non protein nitrogen for gestating beef cows . III. Metabolic parameters. *J. Anim. Sci.* 46:532-542.
- Park, C. S. y N. L. Jacobson. 1999. Glándula Mamaria y Lactación. Compiladores. Swenson, M. J. y W.O. Reece. Fisiología de los animales Domésticos de Dukes. Quinta edición. Noriega Editores, México.
- Peña-Ramos, E. A. y Xiong, Y. L. 2001. Antioxidative Activity of Whey Protein Hydrolysates in a Liposomal System. *J. Dairy Sci.* 84:2577-2583.

- Pirmohammadi, R., Rouzbehan, Y., Rezayazdi, K., y M. Zahedifar. 2006. Chemical composition, digestibility and in situ degradability of dried and ensiled apple pomace and maize silage. *Small Ruminant Research*. 66:150-155.
- Pizzoferrato, L., P. Manzi, S. Marconi, V. Fedele, S Claps y R. Rubino. 2007. Degree of antioxidant Protection: A Parameter to Trace the Origin and Quality of Goat's Milk and cheese. *J. Dairy Sci*. 90:4569-4574.
- Poballe S. A. 2007 Catálogo de productos. Pulpa de Manzana Deshidratada Madrid, España http://www.agroterra.com/noticias/alimentacion_animal.asp accesado febrero del 2007.
- Poppi, D.P., R.E. Hendrickson y D.J. Minson. 1985. The relative resistance to escape of leaf and stem particles from the rumen of cattle. *J. Agric. Sci*. 105:9-14.
- Ramírez, L. R. G. 2009. Nutrición de Rumiantes; Sistemas Extensivos. Segunda edición Trillas, México.
- Rebhun, W.C. 1995. Diseases of Dairy Cattle. 2ª ed. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- Reddy, P. G., J. L. Morrill, H. C. Minocha, y J. S. Stevenson. 1987. Vitamin E is immunostimulatory in calves. *J. Dairy Sci*. 70:993.
- Reffett, J. K., J. W. Spears y T. T. Broen, Jr. 1988. Effect of dietary selenium and vitamin E on the primary and secondary immune response in lambs challenged with parainfluenza3 virus. *J. Anim Sci*. 66:1520.
- Reyes, J., R. García-López, J. Capdevila, P. Ponce, A. Elías y D. Mora. 1993. Utilización de pienso de saccharina en vacas en pastoreo. *Rev. Cubana Ciencias Agrícolas*. Vol 27: 261.
- Robinson, R. K. 2002. Dairy Microbiology Handbook. Third Edition. Wiley-Interscience. John Wiley and Sons. Inc. New York. USA.
- Rodríguez M., C., J. F. Lucero A., A. Meléndez N., H. E. Rodríguez R., C. Hernández G. y O. Ruiz B. 2006. Consumo de Forraje y Ganancia de Peso de Becerros Comerciales para Exportación, Suplementados con Bloques Multinutricionales Elaborados con Manzarina. Memorias XXXIV Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal y X Reunión Bienal del Grupo Norte Mexicano de Nutrición Animal. Pp. 195-198.
- Rodríguez R., H. E. 2009. Producción y Evaluación de Alimentos Fermentados a Partir de Bagazo y Desecho de Manzana y su Efecto Sobre el Desarrollo Ruminal y Parámetros Sanguíneos. Tesis de Doctorado. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. México.

- Rodríguez, G. F. y L. G. Llamas. 1990. Digestibilidad, balance de nutrimentos y patrones de fermentación ruminal. In: R.A. Castellanos, L. G. Llamas y S. A. Shiman, Eds. Manual de técnicas de investigación en rumiología. Sistemas de Educación Continua en Producción Animal en México, A. C. México, D. F. pp 95-126.
- Rodríguez, M. C. 2009. Programa UACH-FORMULACIÓN, Comunicación personal.
- Rogers, J. A., H. R. Conrad., B. A. Dehority y J. A. Grubb. 1986. Microbial numbers rumen fermentation and nitrogen utilization of steers using wet and dried brewers grains. *J. Dairy Sci.* 59:745-753.
- Rumsey, T. S., Kern, D. L. y Slyter, L. L. 1979. Rumen microbial population, movement of ingesta from the rumen and water intakes of steers fed apple pomace diets. *J. Anim. Sci.* 48:1202-1208.
- Santos, M.A. 2003. Leche y sus Derivados. Quinta Edición. Trillas. México.
- Satter, L. D. y R. E. Roffler. 1977. Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation. In: H. Williams y L. Dyfed Eds. Recent advances in animal nutrition. Butterworths. London-Boston. p 25-49.
- Schingoethe, D. J., J. G. Parsons, F. C. Ludens, L. V. Schaffer y H. J. Shave. 1979. Response of lactating cows to 300mg of supplemental vitamin E daily. *J. Dairy Sci.* 62:333-338.
- Schwab, C. G., R. S. Ordway y P. J. Kononoff 2003. Alimentando para Componentes de la Leche. Memorias V DIGAL. Septiembre. Delicias, Chi. México.
- Sharma, D. D. y R. K. Balkarka. 1989. Utility of Apple pomace for animal productivity. In *Animal Productivity*. Ed. P. N. Bhat, H. K. G. Menon & H. C. Srivastva. Oxford and IBH, New Delhi.
- Singh, B. y M. P. Narang. 1992. Studies on the Rumen Degradation Kinetics and Utilization of Apple Pomace. *Bioresource Technology* 39:233-240.
- Singhal, K.K., Thakur, S. S. y D.D. Sharma. 1991. Nutritive value of dried and stored apple pomace and its further processing for improved utilization. *Int. J. Anim. Nutr.* 8:213-216.
- Smith, K. L., H. R. Conrad, B. A. Amiet, P. S. Schoenberger, y D. A. Todhunter. 1985. Effect of vitamin E and selenium dietary supplementation on mastitis in first lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68:190.

- Smith, K. L., J. H. Harrison, D.D. Hancock, D.A., Todhunter y H.R. Conrad. 1984. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67:1293-1300.
- Spreer, E. 1991. *Lactologia Industrial. Leche, Preparación, Elaboración, Máquinas, Instalaciones, Aparatos y Productos Lácteos. Segunda Edición.* Acribia. España.
- Stabel., J. R., T. A. Reinhardt, M. A. Stevens, M. E. Kehli, y B. J. Nonnecke. 1992. Vitamin E Effects on *in Vitro* Immunoglobulin M and Interleukin-1 β Production and Transcription in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 75:2190-2198.
- Steinberg, D. 1988. Antioxidants in the prevention of human atherosclerosis. *Circulation.* 85:2338.
- Stockdale, C. R., G. P. Walker, W. J. Wales, D. E. Dalley, A. Birkett, Z. Shen y P.T. Doyle. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *J. Dairy Res.* 70:267-276.
- Suárez, B., A. L. Álvarez, Y. Direño-García, G. del Barrio, A. Picinelli-Lobo y F. Parra. Phenolic profiles, antioxidant activity and *in vitro* antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry.* 120:339-342.
- Sudha, M. L., Baskaran, V., y K. Leelavathi. 2007. Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effects on rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry.* 104:686-692.
- Sutton, J. D. 1989. Altering Milk Composition by Feeding. *J. Dairy Sci.* 72:2801-2814.
- Tamminga, S. 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J. Anim Sci.* 74: 3112-3124.
- Tauxe, R.V. 2002. Emerging foodborne Pathogens. *Int. J. of Food Microb.* 78:31-41.
- Timmons, J. S., W. P. Weiss, D. L. Palmquist y W. J. Harper. 2001. Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk. *J. Dairy Sci.* 84:2440-2449.
- Tizard. I. 1995. *Inmunología Veterinaria. Cuarta edición.* McGraw-Hill Interamericana. D.F. México.
- Toyokawa, K., Yamada, K., Takayasu, I. y K. Tsubmatsu. 1977. Studies on the utilization of rice Straw. VII. The effect of rice straw on making silage of apple pomace as addition and its rearing effect for lambs as roughage. *Bull. Fac. Agric. Hirosaki Univ.* 28:10-24.

- Ullrich, F. y W. Grosch. 1987. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebens. Forsch.* 184:277-282.
- Valdez, R. E., F. J. Alvarez., H. M. Ferreiro., F. Guerra., J. Lopez., A. Priego., T. H. Blackburn., R. A. Leng y T. R. Preston. 1997. Rumen function in cattle given sugar cane. *Trop. Anim. Prod.* 2:260-272.
- Valiño, E. A. Elías, V. Torres y N. Albelo. 2002. Study of the Microbial Content on Fresh Sugar Cane Bagasse as Substrate for animal Feeding by Solid State Fermentation. *Cuban Journal of Agricultural Science.* 36(4): 359-364.
- Van Soest, P. J. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, O and B Inc., Corvallis, Oregon, USA.
- Vázquez-Añón, M. y T. Jenkins. 2007. Effects of Feeding Oxidized Fat With or Without Dietary Antioxidants on Nutrient Digestibility, Microbial Nitrogen and Fatty Acid Metabolism. *J. Dairy Sci.* 90:4361-4867.
- Vázquez-Añón, M., J. Nocek, T. Hampton, C. Atwell, P. Vázquez y T. Jenkins. 2008. Effects of Feeding a Dietary Antioxidant in Diets with Oxidized Fat on Lactation Performance and Antioxidant Status of the Cow. *J. Dairy Sci.* 91:3165-3172.
- Veisseyre, G. R 1988. *Lactología Técnica. Composición, Recogida, Tratamiento y Transformación de la Leche.* Segunda Edición. Acribia. España.
- Villegas, de G. A. 2004. *Tecnología Quesera.* Primer Edición. Trillas. México.
- Villegas, de G.A. y M.A. Santos.. 2010. *Calidad de Leche Cruda.* Primera Edición. Trillas. México.
- Wallace, R. J., y M. A. Cotta. 1988. *The Rumen Microbial Ecosystem.* P.N. Hobson (Ed.). Elsevier Applied Science. London, UK. pp: 217-249.
- Wattiaux, M. A. 2000a. *Composición de la Leche y Valor Nutricional.* El instituto Babcock para la investigación y Desarrollo Internacional para la Industria Lechera. Wisconsin, E.U.
- Wattiaux, M. A. 2000b. *Metabolismo de Proteínas en las Vacas Lecheras.* El Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Wisconsin, E.U.
- Wattiaux, M. A. y L. E. Armentato. 2000c. *Metabolismo de Carbohidratos en Vacas Lecheras.* El Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Wisconsin, E.U.
- Weimer P. J. 1998. Manipulating Ruminant Fermentation: A Microbial Ecological Perspective. *J Anim Sci.* 76:3114-3122.

- Weiss, W.P. 2001. Effect of Dietary Vitamin C on Concentrations of Ascorbic Acid in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 84:2320-2307.
- Wiedmeier, R. D., M. J. Arambel, y J. L. Walters. 1987. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* 70:2063.
- Wright, T., S. Moscardini, P. Luimes, P. Susmel y B. McBride. 1998. Effects of Rumen-Undegradable Protein and Feed Intake on Nitrogen Balance and Milk Protein Production in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81: 784 – 793.
- Zimmerman, C. A., A. H. Rakes, R. D. Jaquette, B. A. Hopkins y J. Croom Jr. 1991. Effects of Protein Level and Forage Source on Milk Production and Composition in Early Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 74: 980-990.