

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS



INFLUENCIA DEL CONSUMO POR VACAS
LECHERAS, DE SILAJES DE DIFERENTES
FORRAJES EN LA CALIDAD DE LA LECHE Y SU
POSTERIOR APTITUD PARA LA ELABORACIÓN DE
QUESOS

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Ing. Agr. Francisco Ramón Etchevers Gutierrez

Dirigida por:

Dra. Nuria Martínez Navarrete

Concordia, 19 de Julio de 2011.

**INFLUENCIA DEL CONSUMO POR
VACAS LECHERAS, DE SILAJES DE
DIFERENTES FORRAJES EN LA
CALIDAD DE LA LECHE Y SU
POSTERIOR APTITUD PARA LA
ELABORACIÓN DE QUESOS**

Trabajo realizado por el Ingeniero Agrónomo Francisco Ramón Etchevers Gutierrez en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Entre Ríos – Argentina) en colaboración con la Escuela Agrotécnica Las Delicias, Departamento Paraná, dependiente del Consejo General de Educación de la Provincia de Entre Ríos (Argentina), para optar al grado de Doctor en Tecnología de Alimentos.

Directora de tesis: Dra. Nuria Martínez Navarrete, Departamento de Tecnología de Alimentos, de la Universidad Politécnica de Valencia. (UPV).

Fdo: Francisco Ramón Etchevers Gutierrez

Concordia, 19 de Julio de 20

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar cómo influye en la calidad de la leche y de los quesos de pasta dura, el consumo por vacas lecheras de silajes de diferentes forrajes. Los dos insumos utilizados en el proceso de ensilado fueron plantas completas de maíz, de cultivos realizados para tal fin, y pulpa de citrus residual proveniente de la industria citrícola del Departamento Concordia, Provincia de Entre Ríos, Argentina. Se construyeron y analizaron cinco silajes diferentes en dos ensayos: a) Silos de maíz en estado de corte óptimo, b) Silos de maíz pasados del tiempo de corte óptimo, c) Silos de maíz pasados con el agregado de bacterias lácticas, d) Silos de maíz pasados con el agregado de pulpa de citrus y e) Silos de pulpa de citrus. Se alimentaron a ocho vacas de raza Holstein con el 60 % de forraje ensilado y el 40% restante de la dieta a base de complementos ricos en proteínas, durante períodos de 14 días, para cada uno de los diez tratamientos. Se estudiaron las propiedades fisicoquímicas y bacteriológicas de la leche obtenida en cada caso. Con la leche obtenida a partir de cada tipo de alimentación suministrado se elaboraron quesos Reggianito Argentino empleando la tecnología convencional, obteniéndose dos quesos de un peso aproximado de 6,0 kg cada uno, que fueron caracterizados mediante un análisis descriptivo cuantitativo de sus caracteres organolépticos. Los resultados obtenidos permiten concluir que el agregado de pulpa de citrus a los silos de maíces pasados, mejoraron la energía metabolizable y la digestibilidad de la materia orgánica. La adición de pulpa de citrus mejoró además enormemente la calidad microbiológica de los silos de maíz pasados. En los tratamientos con silos de pulpa de citrus, se obtuvo leche con un punto crioscópico más cercano a 0 °C, con menor acidez Dornic y mayor pH. La calidad de los quesos elaborados con leche proveniente de los tratamientos con silo de pulpa de citrus no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a los otros tratamientos. Solo se observó una coloración más tenue, que no comprometía la calidad de los mismos. El uso de los silos de pulpa de citrus es una alternativa válida en épocas de déficit de reservas de forrajes.

Resum

L'objectiu d'aquest treball és determinar com influeix en la qualitat de la llet i dels formatges de pasta dura el consum per part de vaques lleteres de sitges de

diferents farratges. Les dues entrades utilitzades en el procés d'ensitjament van ser plantes completes de dacsa, de conreus realitzats per a aquest fi, i polpa de citrus residual provinent de la indústria citrícola del departament Concordia, província d'Entre Ríos, a l'Argentina. Es van construir i analitzar cinc sitges diferents, en dos assajos: a) sitges de dacsa en estat de tall òptim, b) sitges de dacsa passada del temps de tall òptim, c) sitges de dacsa passada amb l'agregat de bacteris làctics, d) sitges de dacsa passada amb l'agregat de polpa de citrus, i e) sitges de polpa de citrus. Es van alimentar 8 vaques de raça Holstein amb el 60% de farratge ensitjat i el 40% restant de la dieta a base de complements rics en proteïnes, durant períodes de 14 dies, per a cadascun dels 10 tractaments. Es van estudiar les propietats fisicoquímiques i bacteriològiques de la llet obtinguda en cada cas. Amb la llet obtinguda a partir de cada tipus d'alimentació subministrada es van elaborar formatges reggianito argentino emprant la tecnologia convencional, i s'obtingueren dos formatges d'un pes aproximat de 6,0 kg cadascun, que es van caracteritzar mitjançant una anàlisi descriptiva quantitativa dels caràcters organolèptics corresponents. Els resultats obtinguts permeten concloure que l'agregat de polpa de citrus a les sitges de dacsa passada va millorar l'energia metabolitzable i la digestibilitat de la matèria orgànica. L'addició de polpa de citrus va millorar a més enormement la qualitat microbiològica de les sitges de dacsa passada. En els tractaments amb sitges de polpa de citrus es va obtenir llet amb un punt crioscòpic més pròxim a 0°C, amb menor acidesa Dornic i major pH. La qualitat dels formatges elaborats amb llet provinent dels tractaments amb sitja de polpa de citrus no va mostrar diferències estadísticament significatives respecte als altres tractaments. Només s'hi va observar una coloració més tènue, que no en comprometia la qualitat. L'ús de les sitges de polpa de citrus és una alternativa vàlida en èpoques de dèficit de reserves de farratges.

Summary

The aim of this work was to determine how milk cow silage consumption of different forages can influence milk and hard paste cheeses. Both inputs used in the process of ensilage were complete corn plants, from crops cultivated with that purpose and residual citrus pulp provided by the citric industry in the Department of Concordia, in the province of Entre Ríos, Argentina. Five different silages in two assays were constructed and analyzed: a) silos of corn in optimum cut state, b) silos of corn having passed the optimum cut time, c) silos of corn having passed the optimum cut time with the adding of lactic bacteria, d) silos of corn having passed the optimum cut time with the adding of citrus pulp, and e) silos with citrus pulp. Eight Holstein cows were fed with 60% of ensilaged forage and the remaining 40% part of the diet with

complements rich in proteins, during periods of 14 days for each of 10 treatments. The chemical-physical and bacteriologic properties of milk obtained were studied for each treatment. Argentine Reggianito cheeses were elaborated with milk supplied by each treatment using the conventional technology, thus obtaining two cheeses of 6.00 kg each one respectively. Each treatment was characterized through a quantitative and descriptive analysis of organoleptic characters of cheeses. Results: Adding citrus pulp and lactic bacteria to silos of passed corn improved the metabolizable energy and digestibility of organic matter. Besides, adding citrus pulp greatly ameliorates the microbiological quality of passed corn silos. In treatments with silos formulated on citrus pulp, milk with a cryoscopic point closer to 0°C was obtained, presenting lower Dornic acidity and with less protein content. From the analysis of cheeses obtained, it is concluded that cheese granular cut and residual flavour are not affected significantly by cow feeding. Those cheeses elaborated with milk from citrus pulp silos did not presented differences in the flavour attribute with those produced with milk from silos of optimum corn. Finally, it was observed that silos containing citrus pulp altered the colour of elaborated cheeses.

Índice Temático

<i>I. Justificación del Trabajo</i>	4
<i>II. Marco Teórico</i>	10
2.1. <i>INSUMO: MAÍZ</i>	11
2.2. <i>ENSILADO DE MAÍZ</i>	15
2.3. <i>INSUMO: PULPA DE CITRUS</i>	28
2.4. <i>ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS</i>	30
2.4.1. <i>Constituyentes de los alimentos</i>	32
2.4.2. <i>Formulación de raciones</i>	34
2.4.3. <i>Calidad nutritiva del ensilado de maíz</i>	39
2.4.4. <i>Calidad nutritiva del ensilado de pulpa de citrus</i>	43
2.5. <i>LECHE</i>	44
2.5.1. <i>Propiedades físicas</i>	44
2.5.2. <i>Composición química</i>	45
2.5.3 <i>Componentes biológicos de la leche. Calidad bacteriológica.</i>	50
2.5.4. <i>Sustancias extrañas</i>	55
2.5.5. <i>Requisitos comerciales y adulteraciones</i>	55
2.5.6. <i>Ciclo de lactación</i>	57
2.5.7. <i>Factores que influyen en la producción y composición de la leche</i>	62
2.6. <i>QUESO</i>	66
2.6.1. <i>Clasificación de quesos</i>	67
2.6.2. <i>Proceso de elaboración</i>	67
2.6.3. <i>Operaciones permitidas en la elaboración de quesos</i>	80
2.6.4. <i>Defectos en quesos: “soplado tardío”</i>	81
<i>III. CAPÍTULO: ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SILAJES DE MAÍZ Y PULPA DE CITRUS</i>	83
3.1. <i>Metodología</i>	84
3.1.1. <i>Construcción de los Silos</i>	85

3.1.2. Evaluación de los Silos.....	87
3.2. Resultados y discusión	89
3.2.1. Aspectos fermentativos.....	89
3.2.2. Aspectos Nutricionales.....	92
3.2.3. Aspectos Microbiológicos	96
IV. CAPÍTULO : INFLUENCIA DE LOS SILAJES DE MAÍZ Y PULPA DE CITRUS EN LA CALIDAD DE LA LECHE	99
4.1. Metodología.....	100
4.2. Resultados.....	103
4.2.1 Análisis de la variación del pH de la leche en función de la alimentación.	103
4.2.2 Análisis de la variación del descenso crioscópico de la leche en función de la alimentación.	105
4.2.3 Análisis de la variación de la acidez Dornic de la leche en función de la alimentación.....	107
4.2.4. Análisis de la variación del contenido proteico de la leche en función de la alimentación.....	109
4.2.5. Análisis de la variación del contenido de grasa butirosa de la leche en función de la alimentación.....	111
4.2.6. Análisis de la variación de los sólidos totales de la leche en función de la alimentación.....	113
4.2.7. Análisis de la variación de los sólidos no grasos de la leche en función de la alimentación.	115
4.2.8 Calidad Bacteriológica de la leche producida	117
4.2.9 Consideraciones globales.....	118
V.CAPÍTULO: INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y BACTERIOLÓGICAS DE LA LECHE EN LA CALIDAD DE LOS QUESOS	119
5.1. Metodología.....	120

5.1.1. <i>Elaboración de quesos de pasta dura</i>	120
5.2.2. <i>Evaluación sensorial</i>	121
5.2. <i>Resultados y discusión</i>	121
VI. <i>CONCLUSIONES</i>	125
<i>Características de los silos de maíz y/o pulpa de citrus</i>	126
<i>Características de la leche</i>	127
<i>Características de los Quesos Reggianito</i>	127
<i>Conclusión final</i>	127
VII. <i>Índice Bibliográfico</i>	128

I. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

I. Justificación del Trabajo

En diferentes países productores de leche del hemisferio norte, donde se elaboran quesos de pasta dura (o de maduración prolongada) con leche proveniente de vacas que son alimentadas con una importante proporción de forrajes ensilados en su dieta, se han detectado distintos problemas o deterioros en la calidad de los mismos.

Ello ha motivado la realización de numerosos estudios sobre la microflora que se desarrolla durante la elaboración y conservación del silaje. Se sabe que existen bacterias lácticas que en el medio anaerobio que se procura lograr al confeccionar el silo, transforman los azúcares de los forrajes (maíz, sorgos, alfalfa, etc.) en ácido láctico, que hace bajar el pH del conjunto hasta un óptimo de 3,8 a 4,0. Estas bacterias han sido aisladas y bien estudiadas por Bianchi (1987) y Degano (1987) en Italia. También en Francia se han obtenido preparados comerciales de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici*, que se agregan a los forrajes en el momento del ensilado, para lograr una más rápida proliferación de estas bacterias, una mayor producción de ácido láctico, una bajada más rápida del pH y, consecuentemente, la inhibición de otras bacterias anaerobias esporuladas, como por ejemplo del género *Clostridium*, ó microaerófilas, como cierta clase de *Bacillus*, que actúan descomponiendo el silaje (putrefacción). También, en la parte externa de los silos tipo "puente", "trinchera" o "torta", que queda expuesta al aire, o al abrir las bolsas de polietileno para extraer el silaje a distribuir a los animales, proliferan una serie de bacterias aeróbicas que oxidan el forraje, disminuyendo ó cambiando el atractivo color verde aceitunado y aroma dulzón atabacado del silo que ha tenido una correcta fermentación láctica, por un color marrón oscuro y olor desagradable, lo cual produce un rechazo o disminución en el consumo por parte de las vacas lecheras.

Todas las bacterias mencionadas anteriormente, llegan a la leche por contacto de la vaca (boca, patas, cola, pezones, etc.) con el forraje ensilado en el momento de su distribución y consumo, en los comederos, en el suelo o en el propio silo (autoconsumo), que son prácticas, estas dos últimas, habituales en muchos tambos de nuestro país. Se ha estudiado, sobre todo en Italia, por Camaschella (1987) y

Lodi et al. (1987), la presencia de bacterias esporuladas o saprófitas, en la leche producida por vacas alimentadas con forrajes ensilados y sus consecuencias en la calidad de quesos de pasta dura, cuyo tiempo de maduración es prolongado (de tres a doce meses). Se han detectado deterioros o defectos en dichos quesos, como la aparición de “ojos” anormales, grietas, sabores extraños, zonas putrefactas, etc., atribuibles al suministro de forrajes ensilados a los rodeos de vacas lecheras en producción.

En la Republica Argentina, desde hace 45 ó 50 años, es común el uso en la alimentación de vacas lecheras, de forrajes ensilados de diferentes especies (maíz, sorgos, alfalfas, praderas polifíticas permanentes, etc.) principalmente en la zona de “Abasto” de Capital Federal y Gran Buenos Aires. El silaje de forrajes ha sido y es una importante herramienta alimenticia para suplementar la dieta de los rodeos lecheros en los meses invernales, de baja oferta de pastos naturales o de praderas permanentes a base de alfalfas con latencia.

En esta cuenca lechera, la producción se destina tradicionalmente a tratamientos o elaboraciones de subproductos de rápido consumo (leche fluida pasteurizada o estéril, yogures, dulce de leche, quesos cremosos untables, etc.) y, normalmente, no se mencionan por parte de los industriales problemas de calidad derivados del suministro de forrajes ensilados a los rodeos.

Desde hace aproximadamente 15 a 20 años, con la irrupción en el mercado de maquinarias agrícolas de las corta-picadoras de forrajes de “picado fino”, que permiten una mejor compactación y por ende una más eficiente fermentación anaeróbica del forraje y también una mayor facilidad de extracción del silaje para su distribución, se difunde en las principales cuencas lecheras de Santa Fe y Córdoba el uso del silo de maíz como suplemento estratégico, indispensable en los tambos que se manejan con mínimas pautas tecnológicas.

Esto último se complementa con la aparición de las máquinas “embudidoras” de forraje picado (o granos húmedos) en los conocidos “silos bolsas blancos”, que posibilitan reducir las pérdidas de elaboración casi a cero y asegurar una calidad inalterable por varios años. Esta técnica de fabricación de silos se ha expandido en forma explosiva desde hace 9 a 10 años, en las provincias de Santa Fe y Córdoba y también en la provincia de Entre Ríos.

Dada la comprobada bondad del silaje de forrajes como recurso alimenticio, hoy ya son muchos los tambos que lo utilizan no sólo como suplemento o reserva de uso estratégico, sino que ha sido incorporado como parte fundamental de la dieta, en planteos de producción intensiva o semi-intensiva, con rodeos de vacas estabulados en forma permanente, total o estacional y/o alternativa.

Los estudios en nuestro país sobre la influencia del consumo de forrajes ensilados en la calidad de la leche y sus subproductos son incipientes. La Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Paraná (Díaz, 1996) realiza ensayos comparativos de rendimientos de diferentes cultivares de maíz y sorgo usados para ensilar, determinando además su calidad composicional y nutritiva. La EEA de INTA Rafaela (Romero et al, 1996) ha realizado investigaciones sobre calidad nutritiva de diferentes especies forrajeras ensiladas, maíz, sorgo, avena, trigo, etc, según momento de corte y cultivares. En la misma estación experimental (Taverna, Gaggiotti, et al., 2001) han detectado esporas de clostridios gasógenos en silajes. En la Unidad Integrada de Balcarce, de Facultad de Ciencias Agropecuarias – Universidad Nacional de Mar del Plata y EEA Balcarce-INTA, (Viviani Rossi, E. y Gutierrez, L., 2001) , han investigado sobre silajes de raigras y otras especies forrajeras utilizadas en tambos. También las EEA de Manfredi y EEA Pergamino han realizado numerosas experiencias con utilización de distintos paquetes tecnológicos (fechas y densidades de siembra, fertilización, riego, siembra directa, etc.) para el ensilado de maíz y pasturas destinadas a la producción lechera.

Un capítulo aparte es la utilización de pulpa de citrus, residuo de la industria de jugos, en la alimentación de vacas lecheras. Este es un recurso alimenticio abundante en la provincia de Entre Ríos, que es susceptible de ser usado en los tambos, a pesar de su elevado contenido de agua, que encarece el transporte, debido a la relativa cercanía a la zona de producción del mismo. La pulpa de citrus residual es utilizada hoy por numerosos productores de la cuenca tampera de Paraná, en forma directa o ensilada, sola o mezclada con silos de maíz o granos.

Diferentes autores investigaron el impacto de suplementar la dieta de rumiantes con subproductos de la agroindustria. Volanis et al, (2004, 2006), estudiaron los efectos en el rendimiento y en la composición de la leche de oveja cuando son alimentadas con ensilados de pulpa de citrus. Ayman Nunneer Abdallah Hejazy, (2008), evalúa la influencia de

alimentar cabras Anglo-Nubian con subproductos de semillas de sésamo en la calidad de la leche y los quesos obtenidos, determinando la proporción del suplemento en la ración económicamente óptimo. Vasta et al, (2008), analizan el efectos de usar subproductos de la agroindustria en la alimentación de cabras y ovejas, analizando la calidad de la carne y la leche producida. Sin embargo, no se registran en nuestro país antecedentes de trabajos de investigación, sobre la influencia del consumo por vacas lecheras, de forrajes ensilados en la calidad de la leche cruda y las posibles consecuencias en la elaboración y posterior maduración de los quesos fabricados con dicha leche.

Es intención de este trabajo, evaluar los efectos de la alimentación de las vacas lecheras con forraje ensilado sobre la calidad de la leche, al mismo tiempo que medir la influencia del agregado de la pulpa húmeda de citrus, sobre un forraje como el maíz, que se haya pasado de su momento óptimo de corte. Así mismo, se pretende evaluar la aptitud de esta leche para la elaboración de queso.

El planteamiento del trabajo realizado se basó en las siguientes **hipótesis** de partida.

- La proliferación de bacterias anaeróbicas y microaerófilas, no específicas de la fermentación láctica, en la elaboración del silo reducen su calidad composicional y nutritiva.
- El suministro de silos de forrajes de mala calidad a rodeos de vacas lecheras y/o el suministro de silajes de buena calidad pero en condiciones inadecuadas, aumenta la presencia de bacterias en la leche, perjudiciales para la obtención de quesos de calidad dentro de los estándares normales para cada variedad, siendo más manifiestos los defectos en los quesos de largo periodo de maduración.
- Por el contrario, la obtención de silos de forrajes de óptima calidad, suministrados en comederos adecuados, asegura la producción de leche con baja presencia de esporas u otras formas de bacterias perniciosas, lo cual redundará a su vez en el logro de quesos con correctas condiciones organolépticas, según tipo y variedad.
- Cuando un forraje se ha pasado de su momento óptimo de corte, se puede acelerar y mejorar el proceso de fermentación con el agregado de bacterias lácticas seleccionadas en el momento del ensilado.

- El agregado de pulpa de citrus húmeda a un forraje pasado de su estado óptimo de corte en el momento del ensilado, por su aporte de jugos ricos en azúcares y pectinas, también mejoraría las condiciones de anaerobiosis y rápida reducción del pH y por ende, la calidad nutricional del conjunto.

II. MARCO TEÓRICO

II. Marco Teórico

La preservación de forrajes por medio del ensilaje es una técnica conocida desde hace mucho tiempo. El uso de esta tecnología demanda de disponibilidad de máquinas, un plan de trabajo estricto y bien coordinado durante las diversas fases del ensilado y un conocimiento del proceso de ensilaje.

Cuando el destino final del ensilado es la alimentación de vacas lecheras, se deben tener recaudos especiales para evitar la contaminación de la leche con esporas. La utilización de la leche contaminada con esporas en la producción de quesos puede llegar a producir el efecto de “soplado tardío”, efecto que disminuye la calidad de los quesos.

El análisis del proceso de producción de quesos con leche proveniente de animales alimentados parcialmente con silos de diferentes insumos (maíz, pulpa de citrus, mezcla de ambos), puede abordarse desde las cinco etapas que lo caracterizarían: selección del insumo, ensilado, alimentación de las vacas, obtención de la leche y elaboración del queso. Algunos aspectos de interés en relación con todo ello se abordan en los apartados siguientes de este marco teórico.

2.1 Insumo: Maíz

El forraje fresco de cultivos de gramíneas como maíz, sorgo o trigo y de leguminosas como alfalfa y tréboles, puede ser conservado por medio del ensilaje. La utilización del maíz en la construcción de silos está basada en un buen contenido de materia seca, elevado contenido de azúcares, baja capacidad neutralizante, alto contenido de granos y temporada de cosecha predecible.

Entre las variables vinculadas a la producción de forrajes destinados a la construcción de silos se pueden mencionar las siguientes:

Selección del híbrido:

El rendimiento puede estar influenciado en gran medida por el híbrido elegido, que debe seleccionarse teniendo en cuenta el ciclo más apropiado para la zona. Hay híbridos de ciclos cortos, donde el

rendimiento total de materia seca del maíz ensilado se verá reducido, pero tendrá mayor relación grano / tallo del material cosechado. Los híbridos de ciclos largos tienen un mejor rendimiento en materia seca, aunque la proporción de granos puede ser menor. El contenido de grano puede variar significativamente por la genética del híbrido, a igualdad de ciclo.

El valor nutritivo del material a ensilar mejora a medida que aumenta el contenido de grano, hasta que éste representa un 30 % de la materia seca total. Luego, a mayor madurez, una mayor lignificación del tallo puede reducir el beneficio de mayor nivel de grano de la planta.

Relación espiga / tallo en distintos híbridos: la mayor parte de los híbridos presenta un buen rendimiento de materia seca y de espiga cuando se dan las condiciones adecuadas de humedad y fertilización. No obstante, la relación espiga / tallo es muy variable como se muestra en la Figura 1. Demás está decir que, cuanto mayor es esta relación, mejor serán las características del cultivo para ensilar.

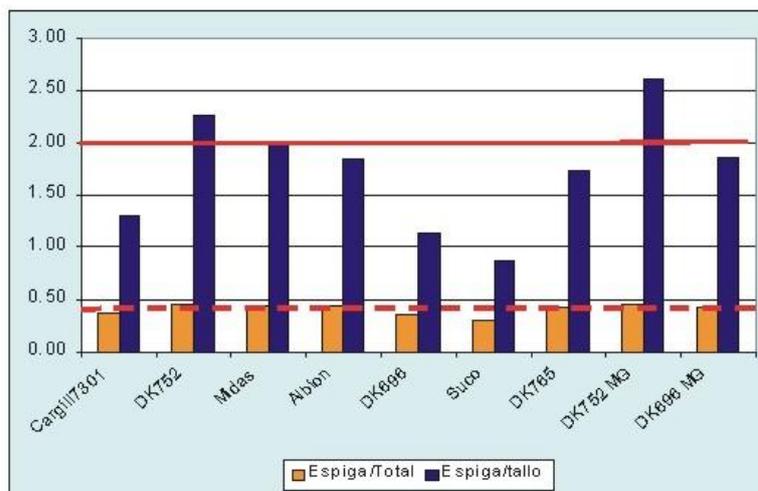


Figura 1: Relación espiga / peso total de la planta y relación espiga / tallo de distintos híbridos de maíz (Di Marco et al., 2003)

Hay que seleccionar los híbridos y prácticas de manejo que den una alta proporción de espiga en la planta, lo cual no significa estrictamente mayor producción de granos por hectárea, porque ello también se puede lograr con plantas muy desarrolladas y mediana proporción de espigas (Di Marco et al., 2003).

Fecha de siembra

En algunas zonas del país (Córdoba, centro y sur de Santa Fe, Entre Ríos, norte de Buenos Aires) existen dos momentos de siembra posibles para el maíz. Las siembras que se realizan en el mes de septiembre son las que dan lugar al maíz de primera. Los maíces de segunda son aquellos que se siembran en el mes de diciembre.

La decisión de sembrar en un momento u otro del año puede estar definida, por ejemplo, por el tipo de rotación o por problemas climáticos que no permitan la siembra en el mes de septiembre. En aquellos casos que se siembre una gran superficie, es recomendable la estrategia de siembra en las dos épocas del año. De esta forma se disminuirá el riesgo de rendimientos bajos frente a adversidades climáticas

Densidad de plantas

Para el caso de silaje de maíz, la población de plantas puede incrementarse entre un 10-15% sobre la recomendada para la cosecha de grano. No obstante, un adecuado espaciamiento entre plantas es crucial para poder alcanzar el pico en rendimiento y calidad y esto maximizará la producción potencial (Romero et al., 2003). Además, parece existir un efecto negativo entre la densidad de plantas y el valor nutritivo en aquellas densidades de siembra superiores a 10 plantas/m². Al incrementarse el número de plantas por área, se reduce el contenido de materia seca (MS) del ensilado, aumentando en consecuencia la pérdida de nutrientes durante el proceso de fermentación y reduciéndose así el valor nutritivo del ensilado.

Fertilización

Una adecuada fertilización es esencial para obtener el máximo rendimiento y valor nutritivo del silaje de maíz. El nivel de fertilización debe ser determinado teniendo en cuenta el rendimiento que se desea obtener, ajustado por factores como la época de aplicación, el tipo de suelo, los abonos que han sido incorporados al suelo y la densidad de siembra.

Control de malezas

Las malezas inciden no sólo en el rendimiento, sino también en la calidad del material almacenado. De nada vale elegir el mejor híbrido del mercado si no se va a efectuar un adecuado control de las malezas.

Las malezas que más inciden sobre el rendimiento y la posterior calidad del cultivo son las gramíneas anuales como el “Sorgo de Alepo”. En la actualidad, con la siembra directa y con la aparición de una serie de herbicidas gramínicidas selectivos para el maíz, el obtener cultivos limpios, libres de malezas, es una situación que se logra fácilmente.

Madurez en el momento de la cosecha

Depende de las condiciones climáticas. En las zonas cálidas, el tiempo necesario para llegar a la madurez puede ser mucho más corto, pues los cambios ocurren más rápidamente que en climas templados. En tales casos es más difícil poder controlar el momento óptimo para la cosecha, lo cual es un momento crítico en los cultivos de cereales en los últimos estadios de madurez (Ashbell, 2000).

La madurez afecta la calidad del silaje de maíz, dado que influye sobre el contenido de humedad y sobre la digestibilidad del resto de la planta.

El estado de madurez del maíz para silaje puede ser determinado por medio de la localización de la línea de leche (interfase entre la porción líquida y sólida del grano), siendo el idóneo cuando el grano se encuentra en $\frac{2}{3}$ de la línea de leche (Romero et al., 2003). En la Figura 2 este valor sería intermedio a $\frac{1}{3}$ línea de leche y $\frac{3}{4}$ de la línea de leche.

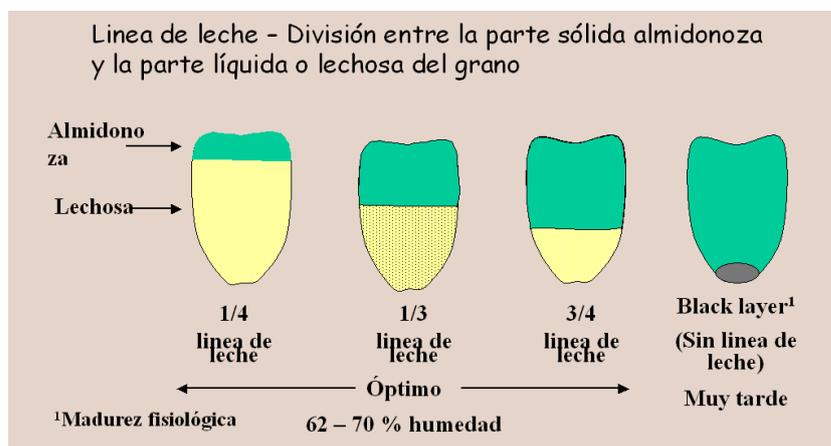


Figura 2: Estadios de madurez del grano de maíz (Gómez et al., 2003)

A medida que el maíz madura, la línea de leche se mueve hacia la parte inferior del grano y, por lo tanto, la composición y los valores de energía

varían cuando se lo cosecha en estados diferentes de madurez. Así, la evolución temporal de la maduración del grano es la siguiente (Bragachini et al, 1997):



También un contenido correcto de MS de la planta antes del ensilado es un factor importante para el éxito de la fermentación. Los imprevistos climáticos como sequías, lluvias o altas temperaturas pueden dañar el cultivo y aumentar las pérdidas (Ashbell, 2000). Las variaciones climáticas bruscas, por ejemplo altas temperaturas, tienen efecto sobre la evolución temporal de la maduración y el rendimiento del grano, influyendo sobre la relación grano-planta. Esto determina que no siempre sea conveniente utilizar el criterio de la línea de leche del grano para elegir el momento de ensilaje. El estado ideal sería aquel que permita al híbrido acumular la máxima cantidad de MS digestible, considerando la planta total.

En base a lo anterior, si el porcentaje de grano es bajo (menor al 25-30%, como consecuencia de una sequía, suelos de baja fertilidad, malezas, etc.) no sería aconsejable utilizar el concepto de estado de línea de leche (o sea basarse exclusivamente en el estado de la espiga). En este caso debería ensilarse cuando la planta todavía está verde, porque es un indicador de que aún mantiene la calidad o por lo menos no ha disminuido sustancialmente. Así, el criterio de línea de leche debería ser utilizado sólo cuando el rendimiento en grano es elevado (35-40% o más). En consecuencia, el momento óptimo de corte del maíz sería con 30 a 35 % de MS y cuando el grano se encuentre entre ½ y ¼ de línea de leche (Ashbell, 2000).

Altura de corte

Estudios realizados en la EEA Rafaela determinaron que, por cada centímetro de aumento en la altura de corte por encima de 15 cm del suelo, se pierden 130 kg de MS/Ha, pero se incrementa la calidad (Romero et al., 2003).

2.2 Ensilado de maíz

Los orígenes del ensilado como método de conservación de forrajes se remontan a la antigüedad. Hay evidencias de que el procedimiento se usó en Egipto alrededor de los años 1500 a 1000 A.C. Goffart, en el año

1877, publicó trabajos sobre la utilización y el conocimiento del ensilado del maíz y otros cultivos verdes en Francia en el año 1800 (Thomas et al., 1981).

Los problemas prácticos en la producción de ensilaje se redujeron durante la década del 50 y 60 con el uso de cosechadoras de forrajes de precisión, que mejoraban los tratamientos de pre-ensilado y colección del forraje, y con silos mejor diseñados y construidos, con capas de polietileno para excluir el aire (Thomas et al., 1981).

El forraje fresco de cultivos como maíz y trigo (gramíneas) y alfalfa (leguminosa), puede ser conservado por medio del ensilado. En muchos países los forrajes ensilados son muy apreciados como alimento animal. En Europa, los agricultores de países como Holanda, Alemania y Dinamarca almacenan más del 90 por ciento de sus forrajes como ensilaje. Aún en países con buenas condiciones climáticas para la henificación, como Francia e Italia, cerca de la mitad del forraje es ensilado (Ashbell, 2000).

Ensilaje es un término general para describir cualquier procedimiento que considere el almacenamiento de forraje verde bajo condiciones anaeróbicas, que permite que los microorganismos presentes fermenten los carbohidratos de las plantas a ácidos orgánicos, reduciendo el pH dentro del silo e inhibiendo la fermentación posterior y, de esa forma, preservando el cultivo como ensilaje (Thomas et al, 1981).

Las características de un ensilado las dan los parámetros organolépticos, que son una prueba subjetiva basada en la apreciación del olor, color, estructura y presencia o ausencia de moho y hongos (Hiriart Le-Bert, 1998).

El ensilaje es una técnica de preservación de forraje, que se logra por medio de una fermentación láctica espontánea bajo condiciones anaeróbicas. Las bacterias epífíticas ácido lácticas (BAC) fermentan los carbohidratos hidrosolubles (CHS) del forraje, produciendo ácido láctico y, en menor cantidad, ácido acético. Al generarse estos ácidos, el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la presencia de microorganismos que inducen la putrefacción.

La biomasa de un forraje en estado verde se encierra en un recipiente o lugar en donde, libre de aire, sufre una acidificación y se transforma en ensilaje. Existen diferentes tipos de silos y la elección de cualquiera de ellos dependerá de los aspectos relacionados con cada explotación

como: el tamaño de la misma, la disponibilidad o la facilidad en la mecanización, los niveles de pérdida durante la conservación y la capacidad de inversión. Algunos **tipos de silos** son:

1. Silo “torre”: se construye con diferentes materiales como ladrillo, bloques de cemento, cemento armado, piedra, láminas metálicas, entre otros. Tienen techo que proporciona una buena protección contra la lluvia. Con relación a otros silos, presenta una mejor compactación del forraje y menores pérdidas superficiales del ensilaje pero produce mayores pérdidas por jugos exprimidos. Estos silos son más costosos y requieren maquinaria complicada para llenarlos y vaciarlos.

2. Silo “trinchera ó bunker”: su construcción resulta más barata que la de los silos de torre. Se cargan y descargan fácilmente usando maquinaria más variada. Hay menos pérdidas por jugos exprimidos pero, por la mayor superficie expuesta a las condiciones ambientales, pueden aumentar las pérdidas. Se necesita de buena experiencia para llenarlo y lograr una buena expulsión del aire, la cual depende de la distribución del forraje, de la compactación y del tapado o sellado. En general, son longitudinales, construidos sobre el piso, abiertos en uno o ambos extremos. Las paredes en ladrillo, piedra o bloques de cemento deben ser ligeramente inclinadas para facilitar el apisonamiento.

3. Silo “bolsa”: consiste en colocar el material que se va a ensilar dentro de bolsas de plástico y después de extraer la mayor cantidad posible de aire mediante una adecuada compactación, se deben cerrar herméticamente. Con este sistema, se facilita el manejo del material, especialmente lo relacionado con el llenado, apisonamiento y sellado.

4. Silo “montón o torta”: son hechos directamente sobre la tierra, no poseen paredes, el forraje se acumula en forma circular o trapezoidal. El piso puede ser la misma tierra, estar cementado o cubierto por un plástico. En la medida que el forraje se va acumulando se compacta mediante pisoteo o se utiliza un pisón, las ruedas de tractor, etc. Una vez finalizado el proceso, se cubre con una lámina plástica y se colocan materiales pesados encima para ayudar a la compactación e inmovilizar la cubierta de plástico.

Hay diferentes **etapas en el ensilado**. Para el ensilado, el material fresco ha de ser cortado ó picado. El tamaño de las partículas debe ser lo suficientemente pequeño para favorecer la compactación y, a su vez, lo suficientemente grande para proveer de fibra detergente neutro efectiva (FDNef) a los animales. Las dimensiones ideales serían: 30 %

menores a 0,8 cm, 60 % entre 0,8-2 cm y 10 % restantes mayores a 2 cm (Gregoret et al., 2003).

Una vez que el material fresco ha sido almacenado, cortado, compactado y cubierto para excluir el aire, ocurre la fermentación, que se puede dividir en cuatro etapas, según se muestra en la Figura 3.

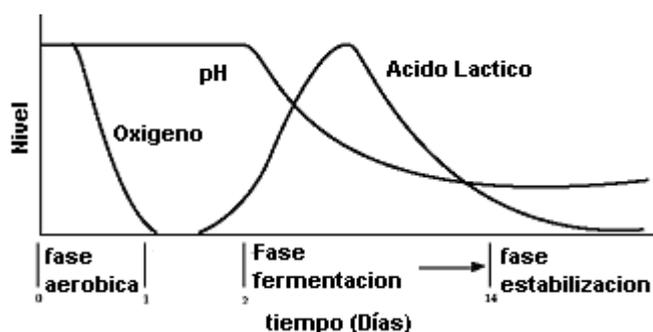


Figura 3: Fases del ensilado (Pitt y Shaver, 1990).

En la fase aeróbica, que dura sólo pocas horas, el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las enterobacterias. Además hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el intervalo normal para el jugo del forraje fresco (pH 6,5-6,0).

La fase de fermentación comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAL proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0.

Durante un cierto periodo de tiempo, mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas y microorganismos especializados como *Lactobacillus*

buchneri, que toleran ambientes ácidos, continúan activos pero a menor ritmo. Más adelante se discutirá la actividad de *L. buchneri*.

La fase de extracción comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el ensilaje, pero puede ocurrir antes de iniciar la explotación por daño de la cobertura del silo (por ejemplo, roedores o pájaros). El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje por acción de levaduras y, ocasionalmente, por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos. La última etapa incluye la actividad de otros microorganismos aeróbicos - también facultativos- como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, la tasa de deterioro depende de la concentración y de la actividad de los organismos que causan este deterioro en el ensilaje.

El proceso de conservación del forraje dependerá de la presencia de microorganismos en el mismo. La microflora del ensilaje puede ser dividida en dos grupos principales: los microorganismos benéficos y los microorganismos indeseables (Tabla 1) (Oude Elferink et al., 2001).

Tabla 1. Microflora beneficiosa y perjudicial del ensilaje.

Organismos		
Benéficos	Bacterias BAL	Todos los miembros del BAL son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaeróbica. Pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un intervalo de temperaturas que oscila entre 5° y 50°C, con un óptimo entre 25° y 40°C. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores entre 4 y 5, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. En la Tabla 2 se muestra la clasificación de bacterias BAL.

Tabla 1. Microflora beneficiosa y perjudicial del ensilaje (cont.).

Perjudiciales	Clostridios	<p>Anaeróbicos. Forman endoesporas. Muchas de ellas pueden degradar carbohidratos como proteínas, bajando el poder nutritivo del ensilaje. La presencia de clostridios altera la calidad de la leche ya que sus esporas sobreviven después de pasar por el tracto digestivo y se encuentran en las heces. La especie de mayor importancia en las lecherías es <i>Clostridium tyrobutyricum</i>, un organismo ácido tolerante. Además de poder fermentar carbohidratos, <i>C. tyrobutyricum</i> también puede degradar el ácido láctico en ácido butírico, H₂ y CO₂.</p> <p>La fermentación butírica no sólo interfiere con la fermentación láctica del ensilaje y de los quesos, sino que también es responsable de una abundante producción de gas, lo que causa en los quesos duros y semiduros el defecto conocido como "soplado tardío".</p> <p>Las técnicas de ensilaje que permiten una caída rápida y significativa del pH evitarán el problema, puesto que tanto el desarrollo de enterobacterias como de clostridios se inhibe con valores bajos de pH.</p>
	Enterobacterias	<p>Anaeróbicos facultativos. Son competidoras de las bacterias BAL por los azúcares disponibles. Degradan proteínas, bajando el poder nutritivo del ensilaje y generando compuestos tóxicos como aminas biogénicas y ácidos grasos de cadenas múltiples. Las aminas biogénicas tienen un efecto negativo sobre la palatabilidad del ensilaje. El amoníaco generado por la proteólisis aumenta el poder tampón del forraje ensilado, lo cual se opone a la tendencia para un descenso rápido del pH del ensilaje. Las enterobacterias no proliferan en ambientes con valores bajos de pH.</p>
	Levaduras	<p>Anaeróbicos facultativos, eucarióticos y heterotróficos. Bajo condiciones anaeróbicas las levaduras fermentan azúcares produciendo etanol y CO₂. La producción de etanol no sólo disminuye el azúcar disponible para producir ácido láctico, sino que también produce un mal gusto en la leche. En condiciones aeróbicas, muchas especies de levaduras degradan el ácido láctico en CO₂ y H₂O. La supervivencia de las levaduras durante el almacenaje depende de la severidad de la anaerobiosis y la concentración de ácidos orgánicos.</p>

Tabla 1. Microflora beneficiosa y perjudicial del ensilaje (cont.).

Bacilos	<p>Aeróbicos facultativos. Los bacilos se asemejan a los clostridios: son bacterias cilíndricas que forman esporas, mientras que los clostridios son todos anaeróbicos obligatorios. Fermentan un amplio rango de carbohidratos generando compuestos tales como ácidos orgánicos (p. ej.: acetatos, lactatos y butiratos) o etanol, 2,3-butanodiol y glicerol. Algunos <i>Bacillus</i> sp. son capaces de producir sustancias fungicidas y se los ha usado para inhibir el proceso de deterioro aeróbico en ensilajes. Con la excepción de estas estirpes, el desarrollo de los bacilos en el ensilaje es en general considerado como indeseable. Esto se debe a que los bacilos no sólo son menos eficaces como productores de ácido láctico y acético comparado con el grupo BAL, si no que en las etapas finales, incrementan el deterioro aeróbico.</p> <p>Parece muy posible que, tal como ocurre en el caso de esporas de los clostridios, las esporas de <i>Bacillus</i> sean transferidas del ensilaje a la leche vía las heces. Las esporas psicrotóxicas de <i>Bacillus cereus</i> son consideradas como los organismos más importantes del deterioro de la leche pasteurizada. Altas concentraciones de esporas psicrotóxicas de <i>B. cereus</i> han sido detectadas en ensilajes.</p> <p>Para disminuir el desarrollo de <i>Bacillus</i> en el ensilaje, la temperatura de almacenaje no debería ser muy alta y se deberá minimizar el ingreso de aire. Además se debe reducir toda contaminación inicial del ensilaje con tierra o estiércol.</p>
Listeria sp.	<p>El desarrollo y supervivencia de <i>Listeria</i> sp. (aeróbicos o anaeróbicos) en el ensilaje, está determinado por fallos en asegurar un ambiente anaeróbico y por el valor de pH del ensilaje. <i>L. monocytogenes</i> (anaeróbico facultativo) puede tolerar bajos niveles de pH, entre 3,8 a 4,2 por largos períodos, siempre que exista oxígeno, aún a exiguas concentraciones. Generalmente <i>L. monocytogenes</i> no se desarrolla en ensilajes bien fermentados que tienen un nivel bajo de pH. Hasta el momento, el mejor método para prevenir el desarrollo de <i>L. monocytogenes</i> es mantener un ámbito anaeróbico.</p>

Tabla 1. Microflora beneficiosa y perjudicial del ensilaje (cont.).

	Mohos	<p>Los mohos son organismos eucarióticos. Es fácil identificar un ensilaje infestado por mohos debido a los filamentos de diversos colores y de gran tamaño que producen muchas especies. Los mohos se desarrollan en cualquier sitio del ensilaje donde encuentren oxígeno, inclusive solo trazas. Los que se han identificado más frecuentemente en el ensilaje pertenecen a los géneros <i>Penicillium</i>, <i>Fusarium</i>, <i>Aspergillus</i>, <i>Mucor</i>, <i>Byssochlamys</i>, <i>Absidia</i>, <i>Arthrinium</i>, <i>Geotrichum</i>, <i>Monascus</i>, <i>Scopulariopsis</i> y <i>Trichoderma</i>.</p> <p>No solo disminuyen el valor nutritivo y la palatabilidad del ensilaje, sino que también son un riesgo para la salud de los animales y las personas por la producción de micotoxinas. Algunas especies de hongos que producen micotoxinas son: <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Penicillium roqueforti</i> y <i>Byssochlamys nivea</i>. <i>P. roqueforti</i> es una especie ácido tolerante que puede desarrollarse aún en ambientes con muy poco oxígeno y alta concentración de CO₂ y ha sido detectada como una especie predominante en diversos tipos de ensilajes. Está confirmado que la aflatoxina B1, una micotoxina de <i>Aspergillus flavus</i>, puede ser transferida del ensilaje a la leche. A pesar de esto, no se sabe si esto mismo puede ocurrir con micotoxinas de <i>P. roqueforti</i> o <i>A. fumigatus</i>.</p> <p>Las técnicas de ensilaje que minimizan el ingreso de aire (p. ej. buena compactación y cierre hermético del ensilaje), y la inclusión de aditivos que inhiben el deterioro aeróbico, podrán prevenir o limitar el desarrollo de mohos.</p>
	Bacterias productoras de Ácido Acético	<p>Aeróbicas. La actividad de <i>Acetobacter</i> spp. en el ensilaje puede iniciar una deterioración aeróbica, ya que puede oxidar el lactato y el acetato produciendo CO₂ y agua. Los responsables principales del inicio del deterioro aeróbico son levaduras; las bacterias acéticas se encuentran ausentes o juegan un papel poco importante en este problema. No obstante, existe evidencia que estas bacterias pueden iniciar un deterioro aeróbico en el ensilaje de maíz cuando incluye toda la planta, grano y forraje.</p>

Tabla 2. Clasificación de las bacterias BAL según el metabolismo de azúcares

			Especies
BAL	Homofermentadores obligatorios	Producen más de 85 por ciento de ácido láctico a partir de hexosas (azúcares C ₆) como la glucosa, pero no pueden degradar las pentosas (azúcares C ₅) como la xilosa.	<i>Pediococcus damnosus</i> <i>Lactobacillus ruminis</i>
	Heterofermentadores facultativos o Heterofermentadores obligatorios.	Producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>L. pentosus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>Enterococcus faecium</i> Genero <i>Leuconostoc</i> Algunos <i>Lactobacillus</i> como <i>L. brevis</i> y <i>L. Buchneri</i>

El **agregado de aditivos** en el momento de la construcción del silo permite actuar sobre la evolución de la microflora del silo, teniendo como objetivo estimular a los organismos beneficiosos o inhibir a los organismos perjudiciales para la conservación del ensilaje, mejorar la fermentación láctica, evitar el deterioro aeróbico y, en algunos casos, mejorar el contenido nutricional del silo. Los aditivos más usados son los siguientes:

1. Aditivos para mejorar la fermentación del ensilaje

Los forrajes que contienen cantidades insuficientes de sustrato para fermentar o un bajo contenido de materia seca, para inducir una buena fermentación es preciso aumentar el contenido de azúcares, ya sea agregándolos directamente (p. ej. usando melaza) o introduciendo enzimas que puedan liberar otro tipo de azúcares presentes en el forraje.

En ensilajes con alto contenido de materia seca y poca disponibilidad de agua, la presencia de BAL que sean tolerantes a la presión osmótica,

pasa a ser el factor crítico para una buena fermentación. Los forrajes que contengan más de 50 por ciento de materia seca se consideran muy difíciles de ensilar. La menor concentración de BAL que se precisa para inhibir la actividad de Clostridios, es como mínimo, 100.000 unidades formadoras de colonias por gramo de forraje fresco (Oude Elferink et al., 2001).

2. Aditivos para inhibir la fermentación del ensilaje

Este tipo de aditivos podrían, en teoría, usarse para todo tipo de forraje. Pero, en la práctica se usan generalmente sólo para cultivos con bajo contenido de carbohidratos hidrosolubles (CHS) y/o alta capacidad tampón. En Holanda, los inhibidores más difundidos son diversas sales. Una ventaja del uso de estas sales es la mayor facilidad y seguridad en su manipulación comparadas con los correspondientes ácidos.

Los aditivos que inhiben la fermentación en el ensilaje pueden reducir la cantidad de esporas de clostridios. Empleados en ensilaje de forraje marchito de gramíneas, se ha constatado una disminución de esporas de cinco a 20 veces. Resultados similares pueden lograrse también al agregar melaza, como un estimulante de la fermentación. Los aditivos más efectivos para inhibir el desarrollo de clostridios parecen ser aquellos relacionados con el ácido fórmico, el hexametileno y los nitritos (Oude Elferink et al., 2001).

3. Aditivos que inhiben el proceso de deterioro aeróbico

Es obvio que para impedir el deterioro aeróbico será preciso inhibir la actividad y desarrollo de los organismos responsables de este deterioro y muy especialmente de aquellos que dan comienzo a este proceso (p. ej. levaduras y bacterias que generan una fermentación acética). Algunos aditivos útiles para este propósito incluyen varios ácidos grasos volátiles, como el propiónico y el acético, y otros de tipo biológico, provenientes de microorganismos, como lactobacilos y bacilos que son capaces de producir bacteriocinas.

Los ácidos sórbico y benzoico también muestran una fuerte actividad antibiótica. Recientemente se ha descubierto que *Lactobacillus buchneri* es un inhibidor muy eficaz del proceso de deterioro aeróbico. Esto parece explicarse principalmente por la capacidad de *L. buchneri* para degradar, bajo condiciones anaeróbicas, el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol, lo cual causa, a su vez, una disminución muy significativa del número de levaduras presentes. Este resultado concuerda con el hecho de que los ácidos grasos volátiles, como propiónico y acético, son mejores inhibidores de levaduras que el ácido

láctico y que mezclas de ácidos láctico y propiónico o acético, muestran efectos sinérgicos en su poder inhibidor (Oude Elferink et al., 2001) .

La inoculación de bacterias que producen propionatos no parece ser apropiado para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje. Esto se debe al hecho que este tipo de bacterias sólo puede proliferar y producir propionato siempre que el nivel del pH en el ensilaje permanezca relativamente alto (Oude Elferink et al., 2001).

4. Aditivos usados como nutrientes o como absorbentes

Ciertos cultivos muestran deficiencias en algunos componentes nutritivos esenciales en una buena dieta para rumiantes. Al suplir los elementos deficitarios con un aditivo en el momento de ensilar se mejora el valor nutritivo del forraje. Los aditivos empleados con este propósito incluyen el amoníaco y la urea que permiten aumentar el contenido en proteína, bruta y verdadera, del ensilaje, y la cal y el $MgSO_4$ que aumentan el contenido de calcio y magnesio. Si bien estos últimos aditivos no tienen efecto benéfico alguno en la fermentación, la urea y el amoníaco pueden mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje (Oude Elferink et al., 2001).

Los absorbentes son empleados para forrajes con bajo contenido en materia seca para evitar pérdidas de nutrientes provocadas por un escurrimiento excesivo del ensilaje. La pulpa seca de remolacha azucarera y la pulpa de cítricos han dado buenos resultados. El uso de paja también es útil pero tiene el efecto negativo de bajar el tenor nutritivo del ensilaje.

5. Combinaciones de aditivos

La mayoría de los aditivos comerciales contienen más de un ingrediente activo con lo cual se logra incrementar la eficacia y abarcar un intervalo más amplio de funciones. Algunas combinaciones muy usadas incluyen inoculantes que estimulan la fermentación láctica homofermentativa, junto con enzimas que permiten liberar ciertos azúcares, o combinaciones que permiten la fermentación y deterioro de sustancias inhibitoras como el ácido fórmico, sulfitos y ácido propiónico. Actualmente se trabaja en la obtención de nuevos aditivos que disminuyen el efecto negativo de la fermentación láctica homofermentativa sobre la estabilidad aeróbica. Ya se han obtenido resultados promisorios que combinan productos homofermentativos y heterofermentativos facultativos del grupo BAL con reactivos como el

amoníaco y el benzoato de sodio, o combinando BAL heterofermentativos facultativos con *L. buchneri* heterofermentativo obligatorio.

Las **pérdidas en el ensilaje** se pueden clasificar en evitables e inevitables (Tabla 3). Dentro de las evitables se encuentran aquellas relacionadas con la construcción de silo, el grado de anaerobiosis que se logre durante el almacenamiento y el consumo del silo. Las inevitables son aquellas relacionadas con la respiración inicial de la biomasa hasta lograr un ambiente anaeróbico y la fermentación láctica que consume los hidratos de carbono, produciendo la disminución del pH (Hiriart, 1998 y Bragachini, 1997). En la tabla 4 se presenta los distintos porcentajes de azúcares consumidas en función del tipo de fermentación.

Tabla 3: Pérdidas de Materia Seca en el proceso del ensilado.

Inevitables	
Respiración	1 - > 5%
Fermentación	2 - > 5%
Evitables	
Fermentación secundaria	0 - > 10%
Deterioro aeróbico (almacenamiento)	1 - > 10%
Deterioro aeróbico (alimentación)	1 - > 10%
Total	5 - > 40

Ashbell y Lisker (1988) estudiaron el problema del deterioro aeróbico del ensilaje de maíz, almacenado en silos trincheras comerciales en Israel, en un clima subtropical. Las pérdidas de MS fluctuaron entre 4 y 7,5 por ciento en sitios de los silos que permanecían bien sellados, pero llegaron hasta 36 por ciento donde era difícil impedir el ingreso del aire como la parte superior del silo y a lo largo de sus paredes.

Tabla 4: Consumo de azúcar en los distintos procesos fermentativos

Proceso de Fermentación	% de Azúcar consumida
Acética	38 %
Butírica	24 %
Láctica	3,8 a 4 %

En relación con la **calidad del silo**, el perfil típico de un ensilaje bien fermentado es el que se muestra en la Tabla 5 (Bragachini et al., 1997).

Tabla 5: Perfil típico de un silo de maíz bien fermentado.

Parámetro	Valor
pH	3,6 a 4
Ácido Láctico	4 a 6 %
Ácido Acético	< 2%
Ácido Butírico	< 0,1%
Ácido Propionico	< 0,5 %
Etanol	< 0,5 %
N-amonio	< 5% del total de N
Población microbiana	
Levaduras	< 100.000 UFC/g
Hongos	< 100.000 UFC/g
Organismos aeróbicos	< 100.000 UFC/g

Desde el punto de vista organoléptico, existen varios indicadores para calificar la calidad del ensilaje y por lo general, se asocian con algunas características como olor, color, textura y naturaleza de la cosecha ensilada. En general, un ensilaje de buena calidad debe estar libre de hongos y malos olores (a amoníaco, ácido butírico, a caramelo o tabaco) y mostrar una textura firme. En forma práctica puede tenerse una buena idea sobre la calidad por el aspecto, el olor y el color que presenta. En relación con el color, éste puede ser (Hiriart, 1998):

Color verde olivo: característico de ensilajes que se han obtenido con una buena respiración de los trozos verdes de las plantas utilizadas, e implica que la temperatura máxima no pasó los 30°C. Este color se encuentra en ensilajes realizados con plantas tiernas. Su olor es generalmente agradable, ligera o definitivamente alcohólico. Comúnmente se trata de ensilajes de buena a excelente calidad.

Color amarillento: el pasaje del color verde hacia el amarillo o marrón claro es indicativo de que en la masa del silo se produjo una elevación perjudicial de la temperatura, hasta alcanzar los 40°C. El olor suele no ser acentuado, sino indefinido, sin ser agradable ni desagradable. Ensilajes de color amarillo a marrón claro, sin ser definitivamente malos, son indicativos de una pérdida de su valor nutritivo, por lo que pueden clasificarse como de una calidad intermedia o regular.

Color marrón oscuro: ensilajes obtenidos con una elevada temperatura, como consecuencia de una compactación insuficiente o de cosechado de plantas en forma tardía. Este color siempre va acompañado de un olor a tabaco, a veces dulzón, indicio de una elevada temperatura (más

de 60°C) que produjo una caramelización de azúcares de la planta. Su valor como forraje es malo, con una gran pérdida de valor nutritivo, que afecta principalmente la digestibilidad de la proteína.

Color negro: es característico de ensilajes elaborados en muy deficientes condiciones técnicas. La mayoría de las veces se trata de forrajes sin picar o cosechado en forma muy tardía.

2.3 Insumo: Pulpa de citrus

La producción total de cítricos del mundo registró un promedio de 69.4 millones de toneladas / año en el periodo de los años 2000 hasta 2003. El género citrus, incluye varias frutas importantes, siendo la de mayor relevancia a nivel mundial la naranja dulce (*C. sinensis*: el 67,8% de la producción global de cítricos), le siguen la mandarina (*C. reticulata*: 17,9%), el limón (*C. limon*: 6,3%) y pomelo (*C. paradisi*: 5,0%), y luego géneros menores (total restante 3,00%) donde el grueso está constituido por la producción de naranja agria (*C. quarantium*), Shaddock (*C. grandis*), limón (*C. medica*) y cal (*C. aurantifolia*). Alrededor de un 24% de la producción mundial de cítricos se concentra en los países del Mediterraneo: España, Italia, Grecia, Egipto, Turquía y Marruecos, siendo los principales países productores de cítricos individuales, Brasil (24%) y EE.UU. (21%) s. (Bampidis et al, 2006)

En Argentina, en la zona de Concordia, provincia de Entre Ríos, se calcula una producción anual de 60 mil a 70 mil toneladas de desechos cítricos que sería altamente conveniente derivar a un uso con valor económico, tanto para incorporar valor agregado a la producción como para facilitar el reciclaje de un desecho que, de otra forma, podría llegar a generar problemas de contaminación ambiental, una característica cada día más preocupante en la calidad de procesos. La adopción de una estrategia de reciclaje a nivel regional o nacional puede mover importantes sumas de dinero.

El principal subproducto de la industria de jugos es la pulpa de citrus, la cual es considerada como un residuo cuando se le quita el jugo. Ésta representa entre 492 y 692 g por cada kg de la fruta fresca, 600-650 g / kg de materia seca, también 300-350 g / kg de fruta fresca es pulpa y entre 0-100 g / kg es semilla. La pulpa de citrus es una valiosa fuente de energía con la cual se puede remplazar los granos en la ración sin afectar el rendimiento y la composición de la leche. (Arbabi S et al,2008)

En California, por ejemplo, nueve subproductos de la agroindustria, entre los que se cuentan la pulpa de citrus húmeda y deshidratada, representan el 27 por ciento del total de concentrados utilizados en alimentación animal en el año 1992, con un movimiento de dos millones y medio de toneladas y un importe de 250 millones de dólares. Todos estos subproductos resultaron más valiosos por su aporte energético que proteico. Se calculó que la cantidad de leche producida en función de la proteína y energía neta, suministrada por estos subproductos, fue más del 31 por ciento de la leche producida en California ese año (Grasser et al., 1995).

La pulpa de citrus posee un alto contenido de agua (80-75 %). La materia seca tiene un gran valor nutricional, pues contiene carbohidratos solubles y estructurales. Estos últimos presentan altas tasas de digestión por los microorganismos ruminales. El contenido de proteínas es limitado (Garciaarena, 1996). La corteza deshidratada presenta un contenido proteico de 6 – 7 %, su palatabilidad es muy buena y es aceptada muy fácilmente por los animales (Gonzales Moles, 1974).

La pulpa de citrus es un subproducto común en diversos países del mundo y su costo es relativamente bajo comparado con su valor nutritivo. Este subproducto contiene un porcentaje relativamente alto de pectina y carbohidratos solubles y por esas razones, la pulpa de citrus húmeda ha sido utilizada para reemplazar a los cereales en las dietas de rumiantes. En la Tabla 6 se presenta la composición química de la pulpa de citrus.

Tabla 6: Composición química de la pulpa de citrus (Castillo, 1989)

Materia Seca (MS)	18 - 25 %
Fibra detergente neutro (FDN):	20 - 40 %
Proteína Bruta (PB)	7 - 12 %
Digestibilidad in Vitro Materia Seca (DIVMS)	75 - 80 %
Energía Metabólica (EM) [Megacalorias / kg MS]	2, 7 - 2, 9

La pulpa de citrus, por su concentración de EM, se considera un concentrado energético. Debido a su olor y gusto especial debe introducirse en forma gradual en la dieta de los animales. Por ser considerados alimentos ácidos, se recomienda no suministrar más de 15 kg de pulpa fresca/vaca/día. Es un alimento con alto contenido de Ca y bajo en P. Combinado con pasturas de alfalfa es necesario equilibrar

la relación Ca:P con un suplemento mineral. No se aconseja su uso en alimentación de vacas antes del parto (Castillo, 1989).

Aunque la pulpa de naranja deshidratada se emplea en la alimentación de los animales en general, su mayor consumo lo efectúa el ganado lechero, siendo excelentes los resultados obtenidos en cuanto se refiere a alimentación de ganado bovino dedicado a la producción de leche. Las ventajas que ofrece la pulpa de naranja deshidratada para las vacas productoras de leche se basan en su buen sabor, digestibilidad, valor energético y propiedades laxantes. La pulpa de naranja (cáscara, bagazo y semillas) se puede utilizar en fresco, ensilada o deshidratada. La pulpa de naranja es la más usada, neutralizándose los ácidos orgánicos con cal. Se ha utilizado como principal fuente de energía para rumiantes en crecimiento, constituyendo hasta un 45% de la ración.

Estudios realizados en ovejas, muestran que inclusiones de hasta 300 g /kg como sustituto de granos, no afectan el rendimiento y la concentración de la leche (Vasta et al, 2008).

Una de las formas de ofrecer la pulpa es el ensilaje, que es frecuente en las producciones tamberas. Con el silo de pulpa de citrus se logra una administración continua de este material, sin estar dependiendo de la estacionalidad del producto, pudiendo de tal forma planificar la alimentación del rodeo lechero durante todo el año. Hoffer (1991) sugiere la factibilidad de conservación de la pulpa de citrus como ensilaje, sin alteraciones significativas de su calidad.

Otras alternativas consisten en ensilar la pulpa de citrus con otros materiales absorbentes como bagazo de caña. La tecnología de construcción se basa en superponer capas de absorbente y pulpa de citrus en capas de diez centímetros (Montejo 2008).

2.4 Alimentación de vacas lecheras

Un alimento puede ser definido como cualquier componente de una dieta o ración que aporta los nutrientes necesarios para el organismo animal. Los nutrientes son compuestos orgánicos y/o inorgánicos esenciales para los procesos metabólicos (carbohidratos, compuestos nitrogenados, lípidos, vitaminas y minerales). El principal objetivo de la alimentación es la conversión eficiente de los nutrientes en proteínas y lípidos (carne y leche), lo que se logra a través de la población microbiana del rumen, capaz de metabolizarlos con beneficios para su huésped.

Los alimentos para animales pueden ser clasificados en dos grandes grupos: forrajes y concentrados (Tabla 7). El criterio para la caracterización de ambos grupos es el contenido de fibra bruta. En general los forrajes contienen más del 18% de fibra bruta y los concentrados menos del 18%. No obstante, autores como Gaggiotti (2003) consideran esta clasificación imperfecta y arbitraria. En la Tabla 8 se presentan algunos alimentos clasificados en forrajes y concentrados con los criterios antes mencionados (Gaggiotti, 2003).

Tabla 7: Principales características de los forrajes y los concentrados

	Materia Seca %	Nivel de nutriente por unidad de peso	Fibra Bruta %
Forrajes	< 60	Bajo	> 18
Concentrados	> 60	Alto	< 18

Tabla 8: Clasificación de alimentos en Forrajes y Concentrados

Forrajes		Verdes
		Conservados
		Residuos de cosecha y forrajes diferidos
Concentrados	Energéticos > 2,5 MegaCalorias / kg	Granos de cereales
		Subproductos de la molinería
		Grasas y aceites de origen animal y vegetal
		Subproductos de la industria del azúcar
		Subproductos hortícolas y frutícolas
	Nitrogenados > 20% PB	Proteicos
		No proteicos
Suplementos minerales y vitamínicos		

Teniendo en cuenta el contenido de fibra detergente neutro de los alimentos rumiantes (fdn), los forrajes se podrían caracterizar de la siguiente forma:

Forrajes verdes > 25% FDN
 Forrajes conservados > 40% FDN
 Residuos de cosecha y forrajes diferidos > 70% FDN

2.4.1. Constituyentes de los alimentos

Los constituyentes de los alimentos son el agua y la materia seca. El contenido en agua es muy variable, de 8% en alimentos secos (granos, rastrojo) hasta un 80-90% en los alimentos como forrajes muy tiernos, raíces y tubérculos. El contenido de agua está en relación con el grado de desarrollo, siendo mayor en plantas jóvenes. La materia seca incluye compuestos orgánicos como carbohidratos, compuestos nitrogenados, lípidos, vitaminas e inorgánicos (minerales), cada uno con una diferente biodisponibilidad (Tabla 9, Gaggiotti, 2003).

Las plantas contienen carbohidratos en diferentes estados de polimerización, que van desde monosacáridos hasta polímeros de alto peso molecular, como el almidón, la pectina hidrosoluble y no hidrosoluble, la celulosa y la hemicelulosa. Los últimos tres están integrados en la matriz de la pared celular y por lo tanto se los ha denominado carbohidratos estructurales. Son causantes de la fibrosidad del alimento, no son solubles en agua y poseen una fermentabilidad potencial lenta y limitada. La pectina es una excepción debido a que es completamente fermentable en el rúmen. El resto de los carbohidratos se denominan carbohidratos no estructurales. Son los compuestos activos en el metabolismo de la planta, se almacenan en órganos de reserva y están constituidos principalmente por azúcares libres, almidón y fructosanos. Este grupo de carbohidratos posee un potencial de fermentación rápida y total en el rúmen.

El contenido de fibra de las dietas de vacas lecheras está en relación inversa al contenido de energía metabolizable. Sin embargo, en producción de leche se requiere un mínimo de fibra de adecuada calidad y propiedades físicas, para mantener las condiciones normales de fermentación y evitar desórdenes metabólicos.

Tabla 9: Biodisponibilidad de los componentes celulares (Gaggiotti M, 2003)

Componente	Digestibilidad (%)	Factor limitante
Clase 1		
Carbohidratos solubles	100	Consumo
Almidón	90	Pérdida fecal
Ácidos orgánicos	100	Consumo/toxicidad
Proteínas	90	Fermentación
Pectina	100	Fermentación
Clase 2 (pared celular)		
Celulosa	Variable	Lignificación, silificación y cutinificación.
Hemicelulosa	Variable	
Clase 3		
Lignina	indigestible	Limitan la utilización de la pared celular.
Cutina	Indigestible	
Sílice	Indigestible	
Taninos, aceites esenciales y polifenoles	Compuestos de bajo peso molecular que pueden ser absorbidos pero son excretados en la orina sin utilizarse.	Inhibidores de proteasas y celulasas

El nitrógeno de los alimentos puede dividirse en 2 grupos: proteína verdadera (PV) y nitrógeno no proteico (NNP) soluble, obviando los ácidos nucleicos en cantidad insignificante. No obstante, los productos fermentados, ricos en microorganismos, pueden tener una cantidad apreciable de estos componentes. Las plantas contienen cerca del 80% de PV, compuesta por las proteínas de las hojas y tallos, y las de reserva de las semillas. Las proteínas de las hojas se encuentran en el citoplasma y cloroplastos. Las proteínas citoplasmáticas están en forma soluble en el contenido celular y son muy sensibles al calor y al cambio de pH. En forrajes verdes la fracción de NNP soluble está compuesta básicamente de aminoácidos no esenciales, pero en ensilajes y henos estos pueden ser constituidos por amoníaco y aminos. En forrajes fertilizados con N, el contenido de NNP aumenta debido al incremento de los aminoácidos libres y nitratos.

El contenido de lípidos en forrajes es muy bajo: de 1 a 4 %. Los lípidos de los forrajes son alterados durante la digestión en los pre-estómagos, en virtud del proceso de hidrogenación de ciertas especies microbianas,

de manera que los lípidos que el animal absorbe son diferentes a los que ingiere.

Desde el punto de vista cuantitativo, los lípidos pueden ser agrupados en:

- Compuestos de reserva en las semilla (triglicéridos)
- Lípidos de las hojas (galactolípidos)
- Un grupo menor que incluyen los aceites esenciales.

Los ácidos grasos asociados a los galactolípidos y muchos triglicéridos de las semillas de oleaginosas, son relativamente insaturados y contienen altas cantidades de ácidos linoleico y linolénico. La composición de los galactolípidos es menos variable que la de los triglicéridos.

El contenido mineral de una planta depende de la especie y la disponibilidad en el suelo. Se han identificado como mínimo 15 minerales considerados esenciales para los rumiantes. De ellos, siete son macroelementos (Ca, Na, K, P, Cl, S y Mg), y ocho microelementos (Co, Cu, I, Fe, Mn, Mo, Se y Zn). Un elemento mineral es considerado esencial si su deficiencia en la dieta es capaz de producir daño funcional y/o estructural.

Las vitaminas son nutrientes orgánicos requeridos en cantidades pequeñas para numerosas funciones bioquímicas diferentes y, en general, no pueden sintetizarse en el organismo. Las vitaminas pueden ser hidrosolubles (complejo B, ácido ascórbico) o liposolubles (A, D, E, K). Las necesidades vitamínicas de los rumiantes son a nivel del metabolismo general y celular.

2.4.2. Formulación de raciones

2.4.2.1 Energía de los alimentos

La energía total contenida en un alimento constituye la Energía Bruta (EB) del mismo, correspondiendo a la energía o calor liberado cuando un alimento es oxidado completamente a dióxido de carbono y agua. Sin embargo, no toda ella se aprovecha (Figura 4).

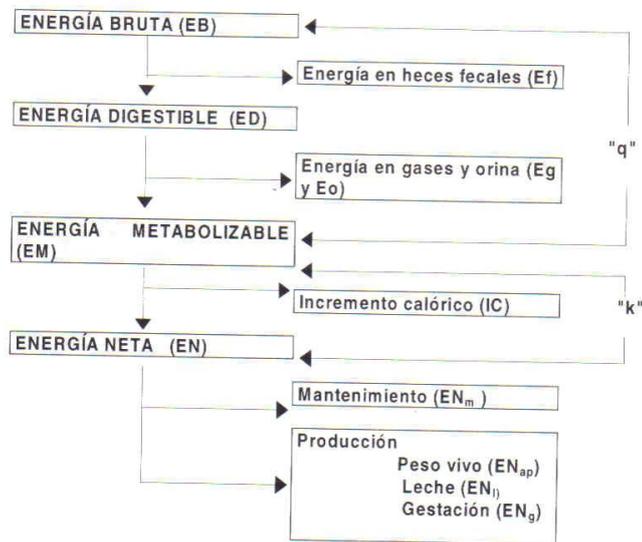


Figura 4: Partición de la energía

La variación de la EB de los alimentos se debe principalmente al contenido de grasas y cenizas. Debido a que los alimentos consumidos por los rumiantes son escasos y la proporción de minerales es muy poco variable, se puede estimar según la ec. (1).

$$EB \text{ [Mcal]} = 4,4 \text{ [Mcal /kg]} * MS \text{ [kg]} \quad (\text{ec. 1})$$

Energía Digestible (ED), es la fracción de la EB que es digerida a través del tracto gastrointestinal y se define como la fracción de la energía que no aparece en la materia seca de las heces como Energía fecal (Ef).

La energía digestible puede ser estimada a partir de la digestibilidad de la materia seca (DMS) aplicando la ec. (2). La DMS siempre resulta algo inferior a la digestibilidad de la materia orgánica (DMO), como consecuencia de una mayor concentración de cenizas en las heces respecto de los alimentos.

$$ED \text{ [Mcal]} = DMS \text{ [KgS]} \times 4,4 \text{ [Mcal/KgMS]} \quad (\text{ec. 2})$$

La Energía Metabolizable (EM) representa la fracción de la ED que está disponible para ser utilizada por el animal para los procesos productivos, luego de ser descontadas las pérdidas de energía en orina

(Eo) y en gases (Eg), principalmente metano. Puede calcularse según la ec. (3). Experimentalmente, se determinó en vacas lecheras, que EM constituye entre un 81 y 86 % de la ED.

$$EM \text{ [Mcal]} = DMS \text{ [KgS]} \times 4,4 \text{ [Mcal/KgMS]} \times 0,82 \text{ (ec. 3)}$$

La ecuación 3, es de gran utilidad práctica, ya que a partir de la DMS obtenida en cualquier laboratorio, se pueden hacer buenas estimaciones de la EM de los alimentos.

Se define como “metabolicidad de la energía” (ec. 4) a la relación entre la energía metabolizable (EM) y la energía bruta (EB).

$$q = EM \text{ [Mcal]} / EB \text{ [Mcal]} \text{ (ec. 4)}$$

Se define como energía neta (EN) a la energía disponible para transformarse en energía animal, que se la puede agrupar en las siguientes formas:

1. Energía Neta de mantenimiento (EN_m), energía efectivamente gastada en el metabolismo de ayuno y la actividad física.
2. Energía Neta aumento de peso (EN_{ap}), energía retenida en forma de tejido corporal.
3. Energía Neta de lactación (EN_l), energía bruta de la leche producida.
4. Energía Neta gestación (EN_g), energía retenida en los contenidos uterinos.

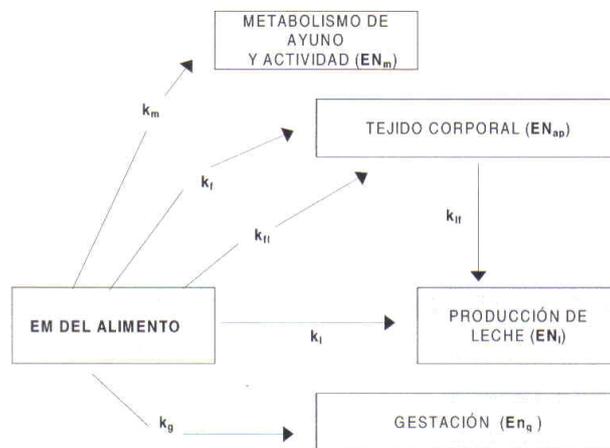
La energía neta (EN) es la diferencia entre la energía metabólica (EM) y las pérdidas en forma de calor, que se denominan Incremento Calórico (IC).

$$EN \text{ [Mcal]} = EM \text{ [Mcal]} - IC \text{ [Mcal]} \text{ (ec. 5)}$$

La relación entre la EN y la EM marca la eficiencia con que es utilizada esta última y se la denomina “Eficiencia de utilización de la Energía Metabolizable” (k)

$$k = EN \text{ [Mcal]} / EM \text{ [Mcal]} \text{ (ec. 6)}$$

En la figura 5 se observan los valores de k, que representan entonces la proporción o porcentaje de EM que se transforma en EN:



- K_m : eficiencia de utilización de la EM para mantenimiento = $0,35 \times q + 0,503$
- K_f : eficiencia de utilización de la EM para deposición corporal para vacas secas = $0,80 \times q$
- K_{fl} : eficiencia de utilización de la EM para deposición de tejido corporal para vacas durante la lactancia = $0,85 \times K_f$
- K_l : eficiencia de utilización de la EM para producción de leche = $0,35 \times q + 0,420$
- K_{lf} : eficiencia de utilización de los tejidos corporales para producción de leche = $0,84$
- K_g : eficiencia de utilización de la EM para gestación = $0,133$

Figura 5: Factores de eficiencia en la conversión energética

4.2.2 Requerimientos Energéticos

Los requerimientos diarios de energía metabolizable para vacas lecheras son calculados a partir de la ecuación (7), teniendo en cuenta el cálculo de los diferentes EN según las ec. (8) a (16).

$$EM \text{ [Mcal/día]} = (EN_m / k_m + EN_l / k_l + EN_g / k_g + EN_{ap} / k_{fl}) \quad (\text{ec. 7})$$

$$EN_m = MA + A \quad (\text{ec. 8})$$

$$MA: \text{ Metabolismo de ayuno [Mcal/día]} = 0,127 \times (PV / 1,08)^{0,67} \quad (\text{ec. 9})$$

PV: Peso vivo [kg]

A: Gasto por actividad [Mcal/día], se lo estima como un 30% del MA.

$$EN_l = VCL \times L \quad (\text{ec. 10})$$

VCL: valor calórico de la leche [Mcal / kg] = 0,09 x % GB + 0,05 x % Pt + 0,23 (ec. 11)

GB: contenido graso

Pt: contenido proteico

L: Producción diaria de leche [kg / día]

$$EN_g = 0,005975 \times PT (Et \times 0,0201 \times e^{-0,0000576 t}) \quad (\text{ec. 12})$$

$$\text{Log Et} = (151,665 - 151,64 \times e^{-0,0000576 t}) \quad (\text{ec. 13})$$

Et : Retención total de energía a tiempo t (Et, MJ)

PT: Peso al nacimiento (kg) = $(PM^{0,73} - 28,89) / 2,064$ (ec. 14)

PM : Peso de la madre (kg)

$$EN_{ap} = Vc \times ap \quad (\text{ec. 15})$$

Vc: valor calórico del aumento de peso [Mcal/kg aumento de peso] = $(4,1 + 0,0332 PV + 0,000009 PV^2) / (1 - 0,035 ap)$ (ec. 16)

ap (kg/día) = Aumento de peso

4.2.3 Calculo del consumo de alimentos

Para el calculo del suministro de materia seca en vacas en lactancia, se aplica la ecuación 17, aplicable durante todas las etapas de la lactancia, en primeras lactancias o superiores (Linn, 2003).

$$DMI \text{ (kg/día)} = (0,372 \times LCG4\% + 0,0968 \times PV^{0,75}) \times (1 - e^{-(0,192 \times (SL + 3,67))}) \quad (\text{ec. 17})$$

LCG 4% = leche corregida 4% grasa [kg/día]

PV = peso vivo (kg)

e = 2,71828

SL = semana de lactación

La Figura 6 muestra un ejemplo de evolución del suministro de materia seca en función de la semana de lactación, tanto para la primera lactación como para las posteriores.

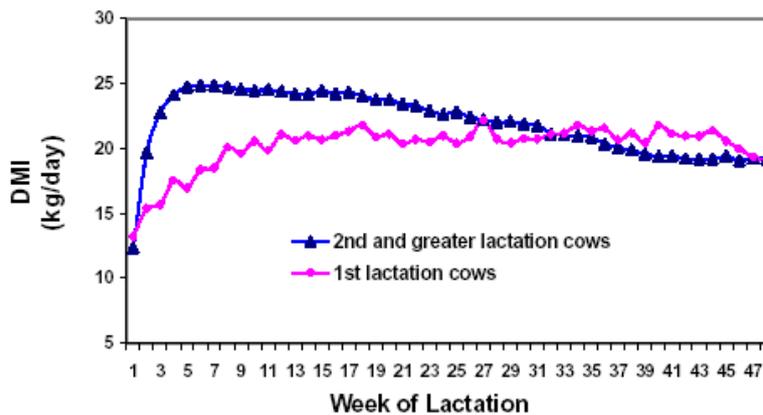


Figura 6: Evolución del suministro de Materia Seca (Linn, 2003).

4.3. Calidad nutritiva del ensilado de maíz

La calidad nutritiva de la planta se puede definir en términos de cuanto sustrato degradable en el rúmen aportan sus componentes. La espiga de maíz contiene el grano, el cual es de alto valor nutritivo para los animales, mientras que el resto de la planta puede asimilarse al de un forraje de mediana a baja calidad.

La degradabilidad de una planta de maíz antes de ensilar y luego de ensilada son similares (Figura 7), pero difieren en la cantidad de fracción soluble, la cual en el ensilaje es menor debido a la pérdida de hidratos de carbono solubles y proteínas. Esto hace que la degradabilidad del ensilaje sea al menos un 10 a 15% menor que el de la planta antes de ser ensilada, dependiendo del contenido de materia seca (MS) del cultivo al momento de ensilar (Di Marco, 2003).

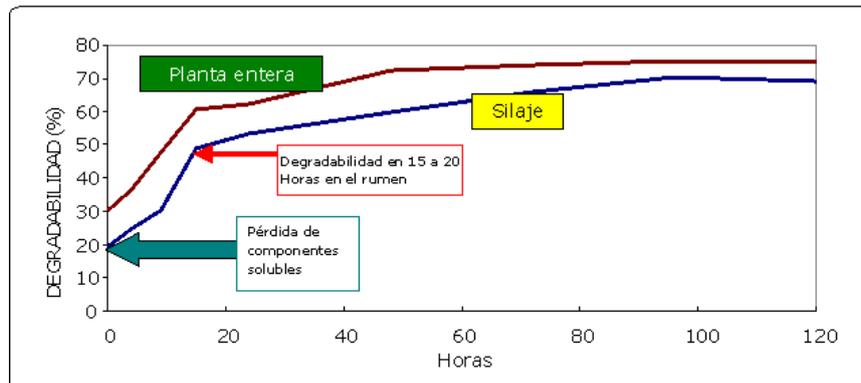


Figura 7: Degradabilidad ruminal de la planta verde y el ensilaje de maíz (Di Marco, 2003).

Cuando se cosecha un cultivo muy "pasado", la digestibilidad cae y pierde su potencial de alimento energético.

La concentración de energía metabolizable depende de la digestibilidad in vivo. Se ha observado experimentalmente que dicho parámetro está entre 52-55%, independientemente del estado de madurez, debido a que al madurar la planta, el aumento del contenido de almidón compensa la disminución de la digestibilidad de hojas y tallos. Sin embargo, a un mismo estado de madurez, por ejemplo de mitad de línea de leche a pastoso, la digestibilidad aumenta con el contenido de almidón como se muestra en la Figura 8.

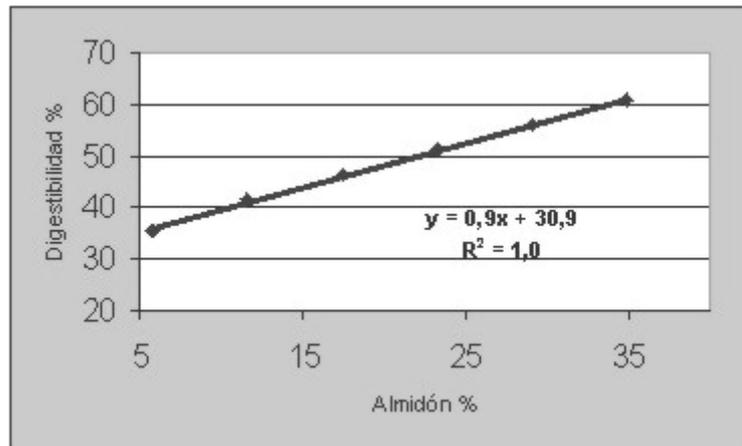


Figura 8: Relación almidón y digestibilidad de la MS (Di Marco, 2003).

Para un silaje de maíz con 25% de almidón es de esperar una concentración de EM/kgMS de 1,8 a 2,0 MegaCalorías, la cual es un 30% inferior a la que contiene una pastura de alta calidad con 70-75% de digestibilidad que alcanza a 2,6 MegaCalorías de EM/kgMS. Esto indica que el silaje de maíz no es un recurso de alta concentración energética.

Las partículas de silaje no son retenidas en el rúmen más de 20 a 24 horas lo cual, si bien hace que se pierdan en heces las partes de menor degradabilidad disminuyendo la digestibilidad del silaje, también produce el vaciado rápido del rúmen que ocasiona un mayor consumo. El alimento consumido es un material con el doble o triple de calidad en términos de degradabilidad que el que se pierde por pasaje. En otras palabras, la fibra menos degradable es reemplazada por almidón, carbohidratos solubles y fibra de mayor degradabilidad. Por esta razón se han medido consumos de MS entre el 3 al 4% del peso vivo en animales consumiendo dietas en base a silaje de maíz, cuando el consumo en forrajes de la misma digestibilidad (50 a 55%) raramente puede ser mayor al 2% del peso del animal, debido al efecto del llenado.

El silaje de maíz constituye un recurso forrajero rico en energía, pero pobre en proteínas y minerales, lo que lo hace poco recomendable para ser usado como único alimento. Aún así se ha observado que aumenta el consumo de materia seca y producción de leche en los animales (Klein et al., 1993).

En la tabla 11, se puede observar como cambia el FDN y la digestibilidad de la MS para cada fracción de la planta de maíz y el ensilado de maíz.

Tabla 11: Materia Seca, Composición de la planta y Digestibilidad in vitro promedio de tres híbridos de maíz (Kuehn et al, 1999)

Fracción de la Planta	% de la Planta (seca)	Proteína	FDN	Diges. M.S
		%		
Otros	7,2	3,7	75,4	53,6
Tallo, vaina y panoja	28,2	2,2	71,1	46,0
Hojas	11,7	10,3	57,1	60,5
Mazorca	9,3	1,7	83,9	45,5
Grano	43,6	8,9	12,4	89,6
Ensilaje	-	7,1	44,8	67,6

En vacas lecheras, la concentración de FDN ha sido relacionada a la regulación del consumo, digestibilidad, tasa de pasaje y actividad masticatoria. Si el contenido de fibra es bajo, la salud ruminal y la respuesta del animal pueden verse afectadas. Para mantener una función ruminal saludable, el Consejo Nacional de Estados Unidos (National Research Council (NRC)) recomienda un mínimo entre 25 y 28% de fibra medida como FDN, con un 75% del total proveniente del forraje. En muchos casos, particularmente en inicios de lactancia, el consumo todavía es limitado físicamente por el efecto de llenado, pudiendo ser los altos tiempos de permanencia de la fibra en el rúmen, una de las causas principales. Aún si el consumo no es incrementado; el consumo de forrajes con mayor digestibilidad de la FDN podría incrementar el consumo de energía y la cantidad de nutrientes aportados al animal a lo largo del día. Ambos incrementarían la producción de leche. Una constante absorción de nutrientes es muy importante para maximizar la producción por vaca. La FDN es retenida en el rúmen mucho más tiempo que los granos. Por lo tanto, los silos de maíz de planta entera con FDN más digestible no sólo incrementarían el umbral del consumo, sino que también el patrón de aporte de energía, siendo este último más uniforme en el tiempo (Gregorini, 2006).

La relación entre la digestibilidad de la FDN y la respuesta de vacas lecheras ha sido evaluada por diversos autores. El análisis de diferentes tratamientos experimentales, publicados en la literatura, indica que la

digestibilidad de la FDN se relaciona positivamente al consumo total de MS, producción de leche y aumento de peso en vacas lecheras a inicios de lactancia y a producción de leche pero no al consumo, en vacas en lactancia media y tardía. A inicios de lactancia un aumento de un punto en el porcentaje de digestibilidad de la FDN fue asociado a un incremento de 0,23 kg por día en el consumo de MS, lo que resultó en un incremento por día, de 0,24 kg de leche (0,13 kg de leche grasa corregida al 3,5%) y 50 g más de ganancia de peso. Esta ganancia de peso podría ser usada para producir un adicional de 0,36 kg de leche grasa corregida al 3,5%. La mayor digestibilidad de la FDN fue asociada con el incremento en producción de leche, de vacas en lactancia media, que producían 0,15 kg más de leche grasa corregida al 3,5%, por unidad de incremento en la digestibilidad de la FDN. Llevando este tipo de respuesta, a mayores escalas, se percibe el gran impacto de una mejora en la parte vegetativa, la cual posee la mayor parte de la FDN (Gregorini, 2006).

2.4.4. Calidad nutritiva del ensilado de pulpa de citrus

Garciarena y Hofer (1996) evaluaron la dinámica de digestión y ambiente ruminal de animales que reciben dietas con altos contenidos de pulpa de citrus fresca. Los distintos tratamientos fueron asignados por la proporción de pulpa de citrus presentes en las dietas: A= 0 % pulpa de citrus y 100% de heno de moha, B =30 % pulpa de citrus y 70 % de heno de moha y C = 60% pulpa de citrus y 40% de heno de moha. Comprobaron que la degradabilidad de la materia seca de la pulpa de citrus fresca y del heno de moha no mostró diferencias entre los distintos tratamientos. El ambiente ruminal mostró valores normales de pH y reducidas concentraciones de amonio en el líquido ruminal.

La suplementación con pulpa de citrus fresca, ensilada, adquiere especial importancia en los sistemas tamberos, dado que está constituida en buena parte por pared celular altamente digestible, la que al degradarse en el rúmen produce adecuadas cantidades de ácido acético, el cual es precursor de grasa butirosa en la glándula mamaria (Hofer, 1996).

No se encontraron diferencias en la producción y composición de la leche al comparar vacas que eran suplementadas con pulpa de citrus y granos de cereales.

A medida que aumenta la digestibilidad del silaje de pulpa de citrus, tiende a disminuir el contenido graso en la leche, con un aumento en su

tenor proteico por una mayor producción en litros (Rearte, 1992). Esto podría estar asociado a un mayor consumo de energía y bajo contenido de fibras, principalmente fibra detergente neutro. Varios autores indican que la pulpa de citrus posee de un 20 a 25% de FDN (Hofer, 1991, Ammerman y Henry, 1968).

Las fibras de alta digestibilidad que posee el silo de pulpa de citrus hacen que sea rápidamente degradable en el rúmen. Los silos de pulpa de citrus aportan suficiente cantidad de carbohidratos solubles y estructurales, como son las amilo pectinas, constituyentes del jugo y la pared celular de los cítricos (Garciaarena, 1996). La pulpa de citrus tiene la característica particular de producir relativamente altos niveles de pH y elevar los niveles de ácido acético en rúmen.

2.5 Leche

Es la secreción láctea de las glándulas mamarias de los mamíferos. Su propósito natural es la alimentación de la cría durante sus primeros meses de vida. Desde un punto de vista legal en el artículo 554 del código alimentario argentino se define de la siguiente manera: “Con la denominación de Leche, sin calificativo alguno, se entiende el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie.

La leche es un líquido de composición y estructura compleja. La materia grasa se encuentra en emulsión, las proteínas constituyen una suspensión coloidal, mientras que los restantes componentes (lactosa, otras sustancias nitrogenadas, minerales, etc.) están disueltos.

5.1. Propiedades físicas

La leche es de color blanco opaco por la reflexión de la luz sobre las partículas de proteína y grasa, más o menos amarillento según el contenido de β -carotenos de la materia grasa, de sabor dulce debido a lactosa, olor característico y con un pH cercano a la neutralidad. Tiene un olor poco marcado, pero característico.

Los valores esenciales de las constantes físicas más utilizadas para determinar la calidad de la leche y que indican grado de frescura o adulteración son los que se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Propiedades físicas de la leche.

Variable	Intervalo
pH (20°C)	6,5 a 6,7
Acidez valorable	18 °D
Densidad	1,028 a 1,036 g/mL
Temperatura de congelación	-0,51 a -0,55 °C

El pH da una información precisa del estado de frescura de la leche. Una leche fresca normal es neutra o ligeramente ácida. Si han actuado las bacterias lácticas, una parte de la lactosa de la leche se degrada a ácido láctico, lo que hace que el pH disminuya ($\text{pH} < 6,5$ indica que la leche es ácida). Una leche proveniente de vacas con mastitis tiene un $\text{pH} > 7$, el calostro un pH próximo a 6. La acidez valorable viene expresada convencionalmente en grados Dornic (°D): 1°D corresponde a 0,1 gramo de ácido láctico por litro de leche.

La densidad de la leche está relacionada con su riqueza en materia seca. Una leche aguada tendrá una baja densidad. Se debe tener en cuenta que la materia grasa tiene una densidad menor a 1 (0,93 a 20°C). Una leche rica en materia grasa tiene una densidad más baja y por el contrario una leche descremada tiene una densidad superior.

La temperatura de congelación o punto crioscópico indica la temperatura a la cual se congela la leche y es de $-0,53$ a $-0,54$ °C, inferior al agua (0°C), porque en ella se encuentra disueltos entre otras, lactosa y sales minerales. A partir de este valor se puede determinar el agua añadida.

2.5.2. Composición química

En la Tabla 13, se presentan varios perfiles generales de la composición química de la leche producida en la Cuenca Lechera Central de la Argentina.

Tabla 13. Promedios de la composición química de la leche de vaca según diferentes autores.

Componentes	Promedios generales (g/kg)				
	Jerrige, 1980	Alais, 1985	Etchevers et al., 1987	Taverna y Coulon, 2000	Taverna et al., 2001
Agua	871	872	885	880,5	881,5
Materia Seca	129	127,3	115	118,5	119,5
Lactosa	48	47,5	43,8	45,7	46,1
Grasa	40	38,1	33,2	34,8	35,1
Proteína total	33,5	33	30,2	31,7	31,7
Cenizas	7,5	8,7	7,68	6,3	6,6
Calcio	1,25	0,87-1,26	1,34	1,17	1,24
Fósforo	0,95	0,72-1,65		0,86	0,94
Magnesio	0,12	0,10-0,13		0,12	0,12
Potasio	1,5	1,16-1,45	1,29	1,4	1,5
Sodio	0,5	0,34-0,45	0,46	0,58	0,6
Cloro	1,1	0,67-1,06	1,1	1,37	1,44

El **agua** es el componente más abundante (88% del peso) y es en ella donde encontramos los otros componentes en estados diferentes. Es así que el cloro, sodio y potasio están en dispersión iónica, la lactosa y parte de la albúmina en dispersión molecular, la caseína y fosfatos en dispersión coloidal y la materia grasa en emulsión.

La **lactosa** es el componente más abundante entre los sólidos de la leche. Es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa. Su contenido es muy poco variable. Es sintetizada en la ubre a partir de la glucosa sanguínea. Los carbohidratos constituyen la mayor fracción de la materia seca de la leche y la más lábil frente a la acción microbiana. Las bacterias lácticas (lactobacilos y estreptococos), responsables de la fermentación láctica, transforman la lactosa en ácido láctico. Con ello se origina una disminución del pH de la leche, lo que es indispensable para lograr la coagulación en los procesos de elaboración de quesos frescos.

La **materia grasa** está compuesta de una mezcla de triglicéridos que contienen más de diez y siete ácidos grasos y substancias asociadas tales como las vitaminas A, D, E y K y fosfolípidos como la cefalina y lecitina.

La materia grasa de la leche se presenta en forma de glóbulos, cuyo diámetro promedio varía entre 2,5 y 5 micrones. La mayor parte de la grasa (98%) está constituida por triglicéridos (éster de glicerol y ácidos

grasos). La presencia en la leche de los ácidos linoleico y linolénico es particularmente interesante, puesto que el organismo humano es incapaz de sintetizarlos y por lo tanto son constituyentes irremplazables de la dieta.

Según la longitud de cadena, a los ácidos grasos se los clasifica en ácidos grasos de cadena corta (4-12 átomos de carbono), los de cadena media (14-16 átomos de carbono) y los de cadena larga (18 a 22 átomos de carbono). Estos, a su vez, pueden ser saturados o insaturados (con uno a 4 doble enlaces). Los ácidos grasos de cadena corta y una parte de los de cadena media se sintetizan en la ubre a partir del ácido acético y del hidroxibutírico existentes en la sangre y provenientes de la fermentación de los alimentos en el rumen. Esta síntesis representa alrededor del 40% en peso de los ácidos grasos secretados en la leche. Los de cadena larga y el resto de los de cadena media, son captados directamente de la sangre y, en parte, desaturados en la ubre.

Los cambios de la composición relativa de ácidos grasos de la leche provocan modificaciones tecnológicas y sensoriales en los productos lácteos. Por ejemplo, el punto de fusión de la materia grasa es más alto cuando la cadena carbonada es más larga y el grado de saturación de los mismos es más elevado. Ciertos compuestos asociados a la materia grasa presentes en cantidades mínimas (esterol, carotenos, etc) también tienen influencia sobre las características de los productos lácteos.

En el Tabla 14 se presenta, a título ilustrativo, el perfil de ácidos grasos de leches producidas en la Cuenca Lechera Central.

Tabla 14. Perfil de ácidos grasos de la leche producida en la Cuenca Lechera Central de la Argentina (Taverna y Castillo, 2001).

Perfil de ácidos grasos	Concentración (g/100g de ácidos grasos totales)
Cadena corta saturados (C ₄ -C ₁₂)	9,41
Cadena media y larga saturados (C ₁₄ -C ₁₈)	51,75
Insaturados (un doble enlace)	28,08
Poliinsaturados (más de un doble enlace)	4,17

La concentración de la materia grasa de la leche y su composición están sujetas a importantes variaciones, explicadas, en gran medida, por factores alimenticios, fisiológicos, sanitarios y genéticos.

La **fracción nitrogenada** de la leche está compuesta por dos grandes grupos: las proteínas verdaderas y el nitrógeno no proteico (Tabla 15). Es importante aclarar que en nuestro país, tanto los sistemas de calificación de la leche para su pago, como los resultados del control lechero, informan el valor de la fracción nitrogenada (proteínas + nitrógeno no proteico) como proteína total (nitrógeno total por 6,38).

La proteína verdadera representa alrededor del 95% de la fracción nitrogenada. Las proteínas de la leche están conformadas por tres grupos: la caseína en un 3%, la lactoalbúmina en un 0,5% y la lactoglobulina en un 0,05%, estas dos últimas solubles. En ellas se encuentran presentes más de veinte aminoácidos dentro de los cuales están todos los esenciales. La caseína a su vez está compuesta por tres tipos de caseína, la κ -caseína (13%), que participa activamente durante el proceso de coagulación de la leche, la β -caseína y la α -caseína. En leches producidas por vacas sanas (fundamentalmente sin mastitis) las caseínas representan el 80% de las proteínas verdaderas, valor relativamente constante a lo largo de la lactancia y entre razas lecheras. Sólo existe una reducción de este porcentaje durante los primeros días de la lactancia debido al contenido elevado en inmunoglobulinas en el calostro.

Tabla 15. Fracción nitrogenada de la leche (según Alais, 1985).

	Promedio (g/kg)	Valor relativo (%)
FRACCIÓN NITROGENADA	32,0	100
PROTEÍNA VERDADERA		
A. Caseína	25,0	78,2
a. Caseína Alfa s1	9	36
b. Caseína Alfa s2	2,5	10
c. Caseína Beta	8,5	34
d. Caseína Kapa	3,2	13
e. Caseína Gama 1,2,3	1,75	7
B. Proteínas lactosuero	5,4	16,8
B1. Albúminas		
a. Beta lactoglobulina	2,70	50
b. Alfa-lactoalbúmina	1,20	22
c. Suero-albúmina	0,25	5
B2. Globulinas inmunes	0,65	12
B3. Proteosa-peptona	0,60	10
NITRÓGENO NO PROTEICO	1,6	5

Como un ejemplo, en la Tabla 16 se muestran diferentes relaciones de la fracción nitrogenada para el caso de las leches producidas en la Cuenca Lechera Central de la Argentina (Taverna et al, 2001).

Tabla 16: Fracción nitrogenada de leches producidas en la cuenca central de la Argentina.

Proteína verdadera/proteína total (%):	93,2
Caseína/proteína total (%):	75,5
Caseína/proteína verdadera (%):	80,6
Nitrógeno no proteico/proteína total (%):	6,4
Nitrógeno ureico/proteína total (%):	3,1

Las proteínas de la leche, son esencialmente sintetizadas en la ubre a partir de los aminoácidos provenientes de la sangre. Sólo una pequeña fracción de proteínas (5 al 10% constituidas por sueroalbúmina e inmunoglobulinas) son tomadas directamente de la sangre como tal. La síntesis de las proteínas, unión de aminoácidos formando largas cadenas, demanda una importante cantidad de energía.

El nitrógeno no proteico esta constituido mayoritariamente por la urea (25-75% del total de nitrógeno no proteico) siendo además, el de mayor variabilidad de esta fracción. El resto lo conforman compuestos residuales de los procesos de síntesis y aminoácidos libres.

Los **minerales** de la leche se determinan en sus cenizas. Los minerales representan una pequeña fracción de los sólidos de la leche. Su concentración es de aproximadamente 7 a 9 g/kg, es decir alrededor de un 0,7% de la materia seca de la leche. Esta fracción tiene una gran importancia nutricional y tecnológica, en particular por los aportes de calcio y fósforo.

Los minerales pasan de la sangre a la leche mediante sistemas de transporte activos, aspecto que explica las diferencias de concentración mineral entre la sangre y la leche.

Una parte de los minerales de la leche se encuentran asociados a otros componentes. En una leche sin alteraciones, el 65% del calcio, el 60% del magnesio y el 50% del fósforo se encuentran asociados a las caseínas (en forma coloidal). El sodio, el potasio y el cloruro están totalmente en solución. La leche contiene además oligoelementos (zinc, silicio, aluminio, hierro, etc.) cuyas variaciones están asociadas a cambios de alimentación y a aportes externos (contaminación atmosférica, por el material de ordeño).

En cuanto a las **vitaminas** presentes en la leche, además de las liposolubles A, D, E y K, encontramos el complejo B y la vitamina C, ambas hidrosolubles. La concentración es poco variable ya que provienen de la biosíntesis de las bacterias del rumen. En cuanto a las liposolubles (A, E y D) están asociadas a la materia grasa y varían, entre otros aspectos, según el tipo de alimentación.

La leche, contiene una gran cantidad de componentes en muy pequeñas concentraciones (gases disueltos, enzimas, etc.), muchos de los cuales tienen relevancia nutricional, en los procesos de transformación y/o de degradación de propiedades químicas y organolépticas, de la leche y productos. Las **enzimas** más conocidas de la leche, son la fosfatasa, lipasa, catalasa, galactasa y reductasa. Entre los **gases** se encuentran el CO₂, el oxígeno y el nitrógeno.

2.5.3. Componentes biológicos de la leche. Calidad bacteriológica.

Cuando se valora la calidad de la leche es necesario tener en cuenta sus componentes biológicos: las células somáticas y las células bacterianas. Las primeras tienen su origen en la descamación de la glándula mamaria y en células de la sangre. No proliferan en la leche y su actividad degradativa es mínima. El significado de su recuento en la

leche está relacionado con el estado sanitario del rebaño (problema de mastitis). Las células bacterianas tienen su origen en la glándula mamaria (patógenos de mastitis) y en la contaminación durante la producción. Estas últimas si que proliferan en la leche y tienen actividad degradativa (acidificación, lipólisis, proteólisis), que da lugar a cambios en el sabor, olor, color y estabilidad de la leche. Su recuento en la leche está relacionado con la falta de higiene en el ordeño y/o conservación.

En relación con las células somáticas, la mastitis bovina es el proceso patológico que mayores pérdidas económicas origina en el ganado vacuno de leche, superando ampliamente las producidas por infertilidad y otros problemas reproductivos. La respuesta al proceso infeccioso se manifiesta por el paso de glóbulos blancos o leucocitos de la sangre a la leche y, como consecuencia, por el incremento del recuento normal de células de la leche conocido como Recuento de Células Somáticas (RCS). Por ello resulta necesario establecer un umbral de RCS que permita diferenciar los animales mastíticos de los sanos. Las normas exigen un número de células somáticas inferior a 400.000 células / ml. En condiciones normales, en cuanto al estado sanitario de la ubre, el número de células somáticas en leche mezclada no debe ser superior a 200.000 ml.

Una leche mastítica presenta un alto número de células somáticas y además de las alteraciones físico-químicas, una gran cantidad de enzimas (proteasas) que pueden alterar las características organolépticas del producto acabado. Otro problema ligado a las mastitis es la posible presencia en la leche de antibióticos o medicamentos asociados en el tratamiento, que también presentan un efecto negativo sobre la calidad de la leche.

El estado higiénico sanitario de la leche se refleja en el número de microorganismos totales o número total de microorganismos aerobios viables expresado en "unidades formadoras de colonia por mililitro" UFC/ml. Aunque el destino de la leche sea el tratamiento térmico, hay que tener en cuenta que la acción germicida del calor es proporcional al número de bacterias presentes, por lo que si se parte de leche con una carga bacteriana elevada no siempre se consigue reducirla a niveles satisfactorios.

Se puede considerar que la leche cruda tiene una alta calidad bacteriológica cuando:

- No contiene microorganismos patógenos

- El número de microorganismos banales es limitado.
- No hay gérmenes capaces de producir cambios bioquímicos indeseables en la leche y en los derivados.
- Se puede conservar durante un periodo limitado.
- Puede ser utilizada en la elaboración de productos lácteos.

La leche por su contenido en sustancias nutritivas, proteínas, grasas, azúcares, sales minerales y vitaminas, y otras propiedades físico-químicas constituye un medio de cultivo satisfactorio para un gran número de especies bacterianas. A lo largo de su producción la leche se contamina de bacterias. Para controlar los procesos de degradación y alteración de la leche que ocurren como consecuencia de la presencia de bacterias es necesario:

- Reducir la contaminación de bacterias durante el manejo de la leche en la explotación.
- Detener el crecimiento de bacterias durante el almacenamiento y transporte de la leche (refrigeración 4°C).
- Almacenarla en el tambo durante un tiempo limitado (no más de 48 horas)

La leche recién ordeñada procedente de vacas sanas y obtenida en condiciones higiénicas, contiene un número pequeño de microorganismos no patógenos, pero normalmente en la mayoría de los casos se contamina durante los procesos de ordeño y manipulación, llegando a la central con un mayor número de ellos.

La principal fuente de contaminación microbiana de la leche se encuentra no a nivel del establo o de los animales sino a nivel del material de ordeño insuficientemente lavado o desinfectado. Pero esto no quiere decir que no haya que prestar atención también a la suciedad de la ubre y de los pezones en el momento de ordeño, así como también a los gérmenes que se encuentran en el interior del conducto del pezón y en la glándula mamaria cuando la vaca padece de mastitis.

Las posibles causas de contaminación de la leche y las cifras de gérmenes mas frecuentes son las que se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17: Posibles focos de contaminación e impacto en la leche.

Foco de contaminación	Nº de bacterias por ml
Infecciones latentes de la ubre	300-400
Gérmenes en aire	100-1500

Contaminantes durante el ordeño	500-15000
Mastitis	Hasta 25000
Equipo de ordeño y almacenaje	Hasta 500000 *

* puede ser mayor si el equipo de ordeño y almacenaje no se limpian adecuadamente.

En el análisis bacteriológico de la leche se realiza un recuento de la microflora total y de los grupos microbianos más frecuentes. La presencia de determinados organismos es indicadora de la fuente de contaminación. Si predominan estreptococos en la leche, hay que sospechar de problemas de mastitis en las vacas. La presencia de coliformes en número elevado, indica una falta de higiene en el proceso de obtención de la leche y también es un índice de contaminación fecal. La presencia de termorresistentes se produce durante el ordeño, contribuyendo a esta contaminación la falta de limpieza y mala desinfección del tanque refrigerador. Para relacionar las condiciones higiénicas de ordeño con la contaminación microbiana, se pueden tener en cuenta estos criterios:

- Recuentos menores de 50.000: condiciones higiénicas satisfactorias
- Recuentos entre 50.000 y 200.000: condiciones higiénicas mejorables
- Recuentos mayores de 200.000: condiciones higiénicas muy deficientes

Junto a la flora mesófila y a las floras psicrótrofas, coliformes y termorresistentes, también puede existir una flora anaerobia contaminante, como los clostridium de tipo butírico. Esta flora es especialmente perjudicial en la fabricación de quesos. Los clostridios proceden del suelo, ya que se encuentran en él en cantidades de hasta varias decenas de millares por gramo de materia seca. Otra fuente de contaminación de clostridios proviene del ensilado. Se considera que un buen ensilado es el que contiene menos de 100 esporas/gramo o, como máximo, menos de 1000 esporas / gramo. En cuanto a las leches, la relación entre la contaminación butírica y la calidad es la siguiente:

Menos de 400 esporas por litro	excelente
De 400 a 1000 esporas por litro	poco contaminada
De 1000 a 4000 esporas por litro	contaminada
Más de 10000 esporas por litro	mala

Los microorganismos pueden encontrarse en todo lugar: en los animales, en la gente, en el aire, en la tierra, en el agua y en la leche. Una leche de buena calidad, segura para consumo humano, es el resultado de reconocidas prácticas sanitarias observadas a lo largo de todas las etapas del proceso, desde la extracción de la leche hasta su envasado.

El número de bacterias presentes en el producto final refleja las condiciones sanitarias bajo las cuales la leche ha sido procesada y permite determinar el periodo de preservación de ésta o de sus derivados. Las principales fuentes de contaminación en la leche cruda por presencia de microorganismos están constituidas por superficies tales como las ubres del animal y los utensilios. La leche, en el interior de una ubre saludable, contiene relativamente pocos microorganismos. Sin embargo, la superficie externa puede acoger a un gran número de éstos. La suciedad -como el barro seco o el estiércol en el forraje y en el pelo del animal - puede transmitir millones de bacterias a la leche. Si además el animal sufre de infecciones como la mastitis, la leche puede contener microorganismos patógenos realmente dañinos.

Durante la manipulación, las manos también aportan bacterias a la leche. Al pasar de un animal a otro, el ordeñador puede transmitir los microorganismos patógenos a todo el rebaño, lo que contaminaría toda la leche. Por ello, resulta sumamente importante lavar cuidadosamente las manos y las superficies con agua limpia. Las mejoras en las prácticas sanitarias durante el manipuleo y el procesamiento tradicional de la leche, pueden no ser bien recibidas por los operarios, debido a las creencias culturales, o simplemente, a la falta de tiempo. Se requiere desarrollar talleres de capacitación para demostrar en la práctica el efecto de las buenas técnicas sanitarias en la calidad del producto final.

El ambiente, en el interior y en los alrededores de las instalaciones donde se lleva a cabo el ordeño, afecta los niveles de contaminación que se registran en la leche. Si el ordeño se realiza en el interior del establo, como sucede normalmente en las granjas pequeñas, existe un alto riesgo de contaminación a través del aire y de los insectos que pululan en el lugar, particularmente las moscas. Resulta más adecuado realizar el ordeño en un ambiente especial, pero si ello no es factible, es preferible que esta tarea se realice en el pastizal y no en el establo. En la medida de lo posible, los recipientes que contengan la leche deben mantenerse cubiertos.

Por su parte, utilizar agua contaminada para lavar las ubres de los animales y los utensilios, entre otros factores, puede ser causa de contaminación. El suministro de agua limpia resulta esencial para disminuir los niveles de contaminación. Algunas bacterias presentes en el agua son peligrosas. Las bacterias coliformes que causan desórdenes estomacales en los seres humanos también pueden dar como resultado un producto de inferior calidad, como en el caso de los quesos, por ejemplo. El cólera es otra enfermedad que se transmite por el agua y que puede causar la muerte. Si no existe en la localidad un suministro de agua potable, la calidad del agua puede mejorarse en gran medida añadiéndole una pequeña cantidad de lejía casera o hirviéndola. Una vez que los microorganismos encuentran la forma de introducirse en la leche, se desarrollan con facilidad y se multiplican muy rápidamente. Los microorganismos se reproducen mejor a la temperatura del ambiente, de manera que mantener la leche fría disminuye sus posibilidades de crecimiento. Calentar la leche en un proceso conocido como pasteurización permite destruir un gran número de microorganismos. Del mismo modo, incrementando la acidez de la leche, ya sea por fermentación natural o por adición de un ácido, se inhibe el crecimiento de organismos patógenos.

2.5.4. Sustancias extrañas

La contaminación de la leche por sustancias extrañas puede ser indirecta, proviniendo del medio ambiente, por ejemplo de la alimentación de la vaca al consumir productos, forrajes o concentrados, con insecticidas u otros pesticidas, pero también pueden provenir de tratamientos que se dan en la lucha contra enfermedades infecciosas o parasitarias cuando no se respetan los márgenes de seguridad adecuados.

Los inhibidores son aquellas sustancias capaces de ralentizar el crecimiento bacteriano. Su presencia en leche retarda o bloquea las fermentaciones de los procesos de fabricación de productos lácteos, además puede plantear riesgos de toxicidad para el consumidor. Este grupo comprende, además de los inhibidores naturales de la leche, los residuos de medicamentos (antibióticos, sulfamidas, antiparasitarios...) y el grupo de los detergentes, antisépticos y desinfectantes.

2.5.5. Requisitos comerciales y adulteraciones

El Código alimentario argentino precisa con minuciosidad los requisitos que debe satisfacer la leche.

Densidad: como ya se ha indicado, estará comprendida entre un mínimo de 1,028 g/ml y un máximo de 1,033 g/ml, a 15°C. Con su medición se descubre la adulteración más simple: el aguado. La incorporación de agua, de densidad 1 g/ml, disminuye la densidad de la leche. En ocasiones, se disimula el aguado incorporando sustancias baratas, como el almidón, para compensar la disminución de la densidad. El almidón se detecta con yodo, que lo colorea de azul. La valoración del contenido de agua añadida a la leche puede realizarse a partir de la medición de la temperatura de congelación o punto crioscópico.

Grasa butirosa: el contenido mínimo de grasa es de 3% si bien en algunos períodos anormales (primaveras muy lluviosas) se tolera algo menos. Su determinación se efectúa por el método de Gerber, que consiste en el uso de un tubo con vástago graduado denominado butirómetro, que se llena con 11 ml de leche; 10 ml de ácido sulfúrico concentrado y 1 ml de alcohol amílico. En esas condiciones, el ácido sulfúrico carboniza las sustancias orgánicas, excepto las grasas. Centrifugado el butirómetro, las grasas se acumulan en el vástago. Una lectura en la escala suministra el porcentaje de grasa butirosa, considerado en las transacciones comerciales y en la fijación de precios. Igualmente, con este ensayo se comprueban aguados y descremados fraudulentos.

Extracto seco: los sólidos presentes en la leche se expresan mediante el extracto, para lo cual se evapora un volumen de leche a sequedad y se pesa luego el residuo obtenido, calculando el porcentaje correspondiente.

El extracto seco no graso, o extracto flaco, se establece restando la grasa butirosa del extracto seco: extracto seco total - grasa butirosa = extracto seco no graso. El extracto seco no graso debe superar el 8,25%. Su disminución es otro índice de adulteración por aguado o por descremado.

Acidez: la leche fresca es neutra al tornasol. Cuando envejece o está mal conservada aumenta su acidez. La valoración de la misma se consigue agregando, gota a gota, solución de hidróxido de sodio, de concentración conocida, dentro de 10 ml de leche hasta que la fenolftaleína adquiera color rojo. Con los ml gastados de la solución se

calculan los grados DORNIC. La acidez normal es de 14 a 18 °DORNIC. Leche con 25 °DORNIC o más es no apta para el consumo.

Contaminación: con la prueba de la reductasa se estima la cantidad de microorganismos, inoocuos o patógenos, que hay en un ml de leche. El reactivo es solución alcohólica de azul de metileno. Después de añadido, se calienta suavemente el líquido (a 37°C), midiendo con un cronómetro el tiempo necesario para su decoloración. Cuanto menor es el tiempo, mayor es la contaminación (Tabla 18).

Tabla 18: Estimación del número microorganismos en la leche, por la prueba de la reductasa.

Muestra ensayada	Tiempo de decoloración	Microorganismos en un mililitro de leche
Leche pasteurizada	más de 5 horas	menos de 200 000
Leche recién ordenada	2 horas	4 millones
Leche muy contaminada	20 minutos	más de 20 millones

Con la observación microscópica se establece si los gérmenes existentes son patógenos y pueden, por tal motivo, originar enfermedades.

Conservadores: está prohibido incorporar conservadores, como ácido bórico, ácido salicílico, formol o agua oxigenada. Estas sustancias aseguran la conservación ilícita debido a sus propiedades antisépticas.

2.5.6. Ciclo de lactación

La producción de leche es el resultado de dos procesos, por una parte la síntesis de la leche y su secreción a la luz alveolar de la glándula mamaria y por otra la extracción de la leche de dicha glándula. La lactación es la expresión en el tiempo de esta producción lechera y se puede estudiar tanto desde el punto cuantitativo como cualitativo.

La primera etapa de la lactación de un animal es el periodo o etapa calostrual. Algunos días antes y después del parto, la mama secreta un líquido cuya composición es diferente a la leche: calostro. El calostro es un líquido amarillo, viscoso, que da reacción ácida (25-30 °D) y contiene un gran número de células. En cuanto a la composición, lo que más se

destaca es la concentración de proteínas que es muy elevada, sobre todo por lo que respecta a inmunoglobulinas mientras que la proporción de caseínas es baja aunque superior a la de la leche. La secreción de proteínas comienza con el parto. Diez horas antes del alumbramiento se puede extraer ya de la mama un líquido similar al calostro, en el que existe de 0,8 a 1g/kg de nitrógeno, sobre todo en forma de inmunoglobulinas. La composición del calostro evoluciona muy rápidamente. La albúmina, las globulinas, las sales minerales y las vitaminas disminuyen, en cambio la lactosa aumenta.

Con respecto a la leche, las constantes físico-químicas del calostro varían en distintos sentidos. Por una parte aumentan la densidad, la acidez (coagulación por el calor), la viscosidad y la conductividad eléctrica, mientras que el índice de refracción disminuye. No cambia el punto de congelación.

La legislación de casi todos los países prohíbe la venta de leche de vaca antes de los siete días siguientes al parto porque además de no presentar la composición característica de la leche altera las transformaciones industriales.

La evolución a lo largo del tiempo de la producción diaria de leche, así como de las variaciones en su composición, es lo que se entiende por curva de lactación. Se considera la lactación tipo o estándar en ganado vacuno, aquella que presenta un periodo productivo de 305 días, con 60 días de secado (la vaca no se ordeña pues no produce leche), lo que implica un intervalo teórico de 365 días entre parto y parto o inicio de las respectivas lactancias.

En la Figura 9, se observa la curva de lactación (en color rojo), que muestra cómo la producción lechera aumenta durante las primeras semanas después del parto (fase ascendente), alcanzando un máximo de producción, para después decrecer progresivamente (fase descendente) hasta el secado.

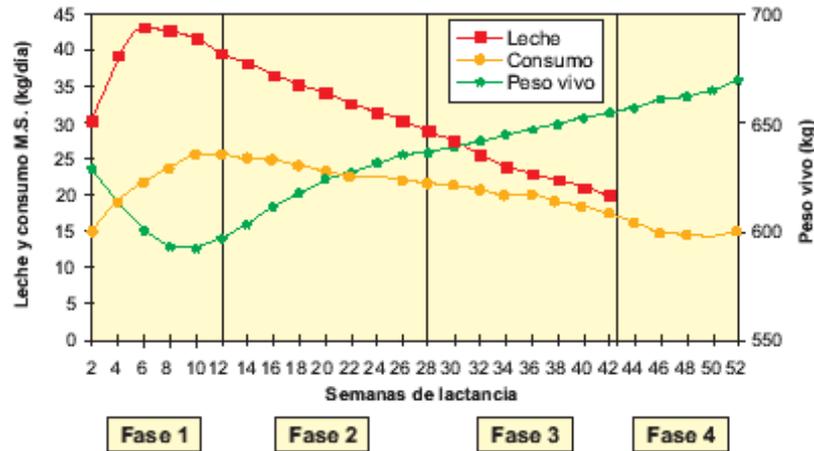


Figura 9: Producción de leche, consumo de materia seca y peso vivo en vacas Holstein.

La curva de lactación se puede caracterizar por una serie de parámetros:

- Duración de la lactación: definida por el intervalo parto-secado.
- Producción inicial: estimada por la media de producción de los días 4, 5 y 6 post-parto una vez finalizado el período calostrual.
- Producción máxima: es la producción de leche diaria en el momento del máximo de la curva. Suele presentarse hacia 3-6 semanas después del parto.
- Producción total: obtenida acumulando las producciones lecheras diarias. Corresponde a la integral de la curva de lactación. Dada la elevada correlación existente entre la producción máxima de leche total en el conjunto de la lactación, Wolter en 1971, propuso la siguiente ecuación:

$$\text{Producción total} = \text{Producción máxima} \times 200.$$

que puede aproximar la producción final de una vaca lechera conociendo los datos del primer mes.

- Crecimiento de la fase ascendente: corresponde a la pendiente de la fase ascendente. A veces se define mediante la diferencia entre producción máxima y producción inicial.

- f. Coeficiente de persistencia de la fase descendente: se define como una medida del descenso de producción en un intervalo de tiempo. Se suele calcular como el porcentaje de producción de leche diaria que se mantiene tras transcurrir un tiempo determinado. En el ganado vacuno es de 90 % mensual (o 10% de descenso). A partir del quinto mes de gestación de la vaca (que coinciden teóricamente con el 8° mes de lactación) se acelera la caída de producción, disminuyendo el coeficiente de persistencia.

Al mismo tiempo que varía la producción de leche, se producen cambios en la composición de la misma. Existe una relación inversa entre el rendimiento lechero y los porcentajes de proteína y grasa de la leche. Los porcentajes mínimos de grasa y proteína coinciden exactamente con el máximo de producción.

A excepción de la primera semana de lactación y del último mes, la proporción de caseína en la proteína total de la leche suele mantenerse constante en toda la lactación, con alrededor del 80%.

La composición de la grasa de la leche varía a lo largo de la lactación, aumentando la proporción de ácidos grasos de cadena corta (C_4 a C_{14}) durante los dos primeros meses, a costa del descenso de los ácidos grasos de cadena larga (C_{18} en adelante), que provienen en parte de la movilización de los lípidos de las reservas corporales. Al final de la lactación la actividad de la glándula mamaria disminuye, la síntesis de los ácidos grasos de cadena corta decrece rápidamente y la leche se hace más rica en ácido oleico.

También al final de la lactación, debido a la degradación de la glándula mamaria, las proporciones relativas entre los diferentes compuestos nitrogenados cambian, constatándose una disminución de las proteínas sintetizadas en la mama y un aumento de las infiltraciones de proteínas sanguíneas.

En cuanto a la composición mineral de la leche, el estado de lactación influye de la siguiente manera:

- El calcio y el fósforo presentan un ligero mínimo hacia el final de la lactación.
- El potasio disminuye rápidamente.
- El sodio aumenta sensiblemente al final de la lactación.

- El valor cociente Ca/P, que en el calostro vale 1, está comprendido entre 1,5 y 1,7 al final de la lactación.
- El potasio disminuye al final de la lactación mientras que el cloro y el sodio aumentan para mantener el equilibrio osmótico de la mama.
- El zinc y el yodo disminuyen progresivamente
- El hierro permanece constante o aumenta ligeramente.

La leche, al final de la lactación, se caracteriza por una composición similar a la leche secretada por los animales viejos observándose las siguientes modificaciones:

- Aumento de la concentración de leucocitos y de enzimas lipolíticas y proteolíticas.
- Aparición de gustos rancios y/o amargos.
- Disminución leve de la cantidad de caseína, y por lo tanto, disminución en los rendimientos en la industria quesera.
- Aumento de la concentración de cloruro de sodio, la que le confiere un gusto salado.
- Retraso en la acidificación.

Todos estos fenómenos pueden tener una gran influencia en las transformaciones industriales de la leche.

Al estudiar curvas reales de lactación se observan diferencias notables entre vacas en cuanto a su duración y composición de la leche. Esto ha obligado a estandarizar la producción de leche y a modelizar la curva de lactación, con el fin de que se puedan comparar distintos animales en situaciones productivas diferentes.

Para obtener la equivalencia entre producciones de leche con distintos contenidos en grasa bruta, uno de los sistemas más empleados desde hace algunos años es la fórmula de Gaines (ec. 18), según la cual estandariza la leche producida al 4% de Grasa Bruta:

$$\text{Producción estándar} = \text{Producción de leche} \times (\% \text{ grasa} + 0,4) \quad (\text{ec. 18})$$

También se han elaborado diversos modelos que permiten estimar la curva total de producción de leche a partir de un número limitado de controles, por ejemplo mensuales aplicando ajustes lineales, exponenciales simples, parabólicos, etc.

Wood en 1967, propuso ajustar la totalidad de la curva de lactación a una ecuación polivalente que puede usarse para estimar todos los tramos de la curva de lactación, así como la evolución de los componentes lácteos. Es la “función Gamma” (ec. 19):

$$Y = A \times t^b \times e^{-ct} \quad (\text{ec. 19})$$

En esta fórmula, Y es la producción del carácter medido en un momento determinado t, y a, b, c son coeficientes.

2.5.7. Factores que influyen en la producción y composición de la leche

La producción y composición de la leche de vaca pueden verse influidas por un amplio número de factores, que ejercen su acción, de una forma más o menos marcada, a lo largo de toda la curva de lactación. La mayor parte de estas diferencias se deben a la diversidad entre sistemas y condiciones de explotación.

Factores intrínsecos o relacionados con el animal

Genotipo

Existe una gran variabilidad en la cantidad y composición de la leche producida por las diferentes razas sometidas a ordeño (Tabla 19). Los factores genéticos tienen más influencia sobre la calidad y composición de la leche que sobre la cantidad. Por lo tanto, la producción de leche depende más de factores ligados al medio y su composición de los caracteres genéticos.

Hasta el momento la selección racial ha permitido acrecentar la producción de leche y su concentración en materias grasas y, aunque muy poco, la tasa de nitrógeno. También existen diferencias raciales en cuanto al contenido en minerales de la leche ya que las concentraciones de calcio, fósforo, potasio y sodio, así como la de algunos oligoelementos tienen un componente hereditario

Tabla 19. Producción y composición de la leche de diferentes razas bovinas.

COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE DIFERENTES RAZAS (PORCENTAJE)						
RAZA	GRASA	PROTEÍNA	LACTOSA	CENIZA	SNG*	ST**
Ayrshire	4,00	3,53	4,67	0,68	8,90	12,90
Brownswiss	4,01	3,61	5,04	0,73	9,40	12,41
Guernsey	4,95	3,91	4,93	0,74	9,66	14,61
Holstein F.	3,40	3,32	4,87	0,68	8,86	12,26
Jersey	5,37	3,92	4,93	0,71	9,54	14,91

* Sólidos No Grasos

** Sólidos Totales

Número de lactaciones

La producción de leche aumenta con el número de lactación, alcanzando un máximo entre el tercer y quinto parto. El incremento productivo hasta la madurez, es del orden de un 20-40 %, y donde existe un mayor aumento de producción es entre la primera y segunda lactancia (20 a 30%). A partir de los 8-9 años de edad (6ª o 7ª lactancia), las vacas experimentan una ligera reducción en el nivel de producción lechera.

Los constituyentes de la leche, en general, van disminuyendo de forma paulatina con la edad de los animales, sobre todo el porcentaje de grasa y lactosa (2-3 gramos/litro por lactancia), mientras que el porcentaje en proteína total lo hace en menor proporción, ya que el descenso en caseína se compensa con una elevación en el contenido en proteína del suero. A partir de la 5ª lactación, los cambios tienden a ser mínimos. Se observan variaciones en el contenido mineral con aumento de la concentración de sodio y disminución de fósforo mientras que el calcio permanece estable.

Gestación

Hacia el final de la gestación se produce una caída notable de la producción de leche. La mayor parte del descenso tiene lugar durante el 7º mes de gestación, que suele ser el último de lactación, con una reducción en la producción diaria de un 20% o más, respecto al mes precedente. El incremento de las necesidades fetales y, más

probablemente, un mecanismo hormonal (elevación de progesterona y estrógenos), está en el origen de este descenso. La gestación puede afectar de forma indirecta la composición de la leche, ya que acelera el fin de la lactación.

Estado de desarrollo y reservas corporales

Existe una relación general positiva entre el peso corporal de las vacas y el nivel de producción lechera, ya que las vacas de mayor tamaño poseen más tejido secretor en las ubres y aparatos digestivos más amplios. Las vacas deben hallarse en buena condición corporal en el momento del parto, para que la grasa corporal se pueda movilizar al inicio de la lactación.

Estado sanitario: mastitis

Se llama mastitis a la inflamación de uno o de varios de los cuartos de la mama, debido a la presencia de uno o varios tipos de microorganismos patógenos. La mastitis disminuye la secreción láctea en cantidad y calidad. La mastitis clínica y subclínica produce una disminución de la producción lechera dependiendo del grado de infección, entre un 5 a un 40% y modifica la composición de la leche.

La mastitis clínica, representa sólo un 2 a un 5% de los casos. Las vacas que padecen esta infección, se reconocen a simple vista y los síntomas indican una evolución grave de la misma. Al comienzo se observan grumos en los primeros chorros de leche, la leche tiene un aspecto anormal, grumosa, aceitosa, amarillenta, y más espesa. La mastitis subclínica es la más frecuente y peligrosa, ya que generalmente no se ve a simple vista, sino que se detecta por análisis.

Factores extrínsecos

Alimentación

La alimentación es uno de los factores extrínsecos más importantes de los que afectan la forma de la curva de lactación. En general, se puede decir que la ingesta de alimentos se incrementa durante las 8-12 primeras semanas de lactación y es gracias a la movilización de reservas corporales del animal, que la producción de leche no se ve afectada negativamente, a pesar del desfase entre el aumento de ésta y el de la ingesta.

La alimentación es también fuente de gran cantidad de variaciones en la composición química de la leche. Un nivel energético deficiente en la alimentación incrementa el porcentaje de grasa, mientras que disminuye la producción de leche y los porcentajes de proteína y lactosa. La sobrealimentación aumenta la producción lechera, las proteínas y el extracto seco magro, mientras que la grasa y la lactosa, pueden variar de forma no regular.

Los componentes de la ración modifican en gran medida la composición de la leche. El contenido en glúcidos y fibra bruta, así como su digestibilidad, influyen sobre la riqueza en grasa, al modificar los ácidos grasos volátiles en el rumen. En casos de carencia de proteínas en la dieta, la proteína láctea se ve afectada negativamente, aunque de forma débil.

Estados ambientales

La producción de leche cambia dependiendo de las condiciones climáticas. La estacionalidad afecta también la composición de la leche, sobre todo en el contenido de grasa. Los porcentajes en grasa y proteína, aumentan en periodos del año de días cortos.

Las temperaturas altas o bajas disminuyen la cantidad de leche y alteran su composición. La temperatura óptima es de 10°C (entre 4,5 y 24°C hay poco efecto). El contenido en grasa disminuye en sentido inverso a la temperatura entre 5 y 27°C y aumenta por encima de los 27°C y por debajo de los 5°C, al mismo tiempo que desciende el volumen de producción de leche.

La humedad afecta la producción de leche, comprobándose que en los climas secos disminuye el rendimiento lechero. La altitud parece influir en la producción lechera, tendiendo a disminuir la cantidad de leche y aumentar el contenido en grasa, en las zonas altas de montaña.

Ordeño

El ordeño puede modificar la producción y composición de la leche en un momento determinado. Durante el ordeño la composición de la leche varia, siendo al comienzo más rica en proteínas, sales y lactosa, pero más pobre en grasa.

El intervalo entre ordeños afecta la producción de leche y su composición. Con intervalos desiguales, el porcentaje de los

componentes lácteos son superiores en la leche ordeñada después del intervalo más corto, mientras que la producción es inferior. Sin embargo, intervalos inferiores a las 14 horas no influyen prácticamente sobre las cantidades finales obtenidas.

También, se ha comprobado que suprimir un ordeño por semana, repercute en una pérdida de producción de leche que alcanza un 5-10%, alterándose la composición en los días consecutivos. El incremento del número de ordeños diarios (3 por día) aumenta la producción de leche entre un 9 y 15 %.

Período seco

La duración del período seco, guarda una elevada relación con el estado de reservas corporales del animal en el momento del parto. Las vacas delgadas al final de la lactación, necesitan un período improductivo más prolongado, que les permita reponer sus reservas corporales y afrontar la siguiente lactación.

La ubre de la vaca, necesita de un período seco que le facilite la regeneración del tejido secretor. Se suele aconsejar periodos secos de 60 días, ya que se ha observado que los animales con periodos secos menores a 40-50 días o mayores de 70-80 días, presentan en la siguiente lactación producciones ligeramente inferiores (hasta 900 kg por lactancia).

2.6 Queso

Se define como queso a aquél producto fresco o madurado, que se obtiene por separación del suero de la leche o de la leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), coaguladas por acción del cuajo y/o enzimas específicas, complementada o no por bacterias específicas, o por ácidos orgánicos permitidos a este fin, con o sin el agregado de sustancias colorantes permitidas, especias o condimentos u otros productos alimentarios.

En la elaboración de quesos, según el Código Alimentario Argentino, son obligatorias las siguientes operaciones:

- Higiene de la leche, debiendo entenderse por tal, someter a procesos mecánicos a fin de eliminar las impurezas que puedan acompañarla.

- Pasteurización de la leche, por sistemas aprobados por la autoridad competente. Queda excluida de esta obligación, la leche higienizada que se destine a la elaboración de quesos que se sometan durante no menos de 60 días al proceso de maduración.

2.6.1. Clasificación de quesos

De acuerdo al contenido en materia grasa del extracto seco de la pasta, sobre muestras representativas que se obtengan por debajo de 1,0 cm de la corteza, los quesos se clasificarán en: (Código Alimentario Argentino, Art. 608, 1998)

- Doble crema: cuando contengan no menos de 60% de materia grasa.
- Grasos: cuando contengan más de 40 y hasta 59,9 % de materia grasa.
- Semi grasos: cuando contengan entre 25,0 y 39,9 % de materia grasa.
- Magros: cuando contengan más de 10 y hasta 24,9% de materia grasa.
- De leche descremada: cuando contengan menos de 10% de materia grasa.

De acuerdo al tiempo de maduración y al contenido de agua de la pasta, sobre muestras representativas que se obtengan por debajo de 1,0 cm de la corteza, los quesos se clasificarán en: (Código Alimentario Argentino, Art. 609, 1998)

- Quesos de pasta blanda o quesos frescos: los que contengan entre 45,0 y 55,0% de agua (con las excepciones que en cada caso particular se establecen)
- Quesos de pasta semidura: deberán contener entre 36 y 44% de agua.
- Quesos de pasta dura: deberán contener entre 27 y 35 % de agua.

2.6.2. Proceso de elaboración

El proceso de elaboración (Fig. 11) se caracteriza, básicamente, por una serie de reacciones bioquímicas en las que las caseínas de la leche son desestabilizadas de su situación coloidal, bien sea por acidificación del medio o por desnaturalización mediante enzimas proteolíticas, (quimosina, pepsinas, microorganismos, etc.), produciendo su floculación. El precipitado obtenido, denominado “cuajada”, es posteriormente sometido a una serie de manipulaciones que dan como resultado el producto conocido como queso.

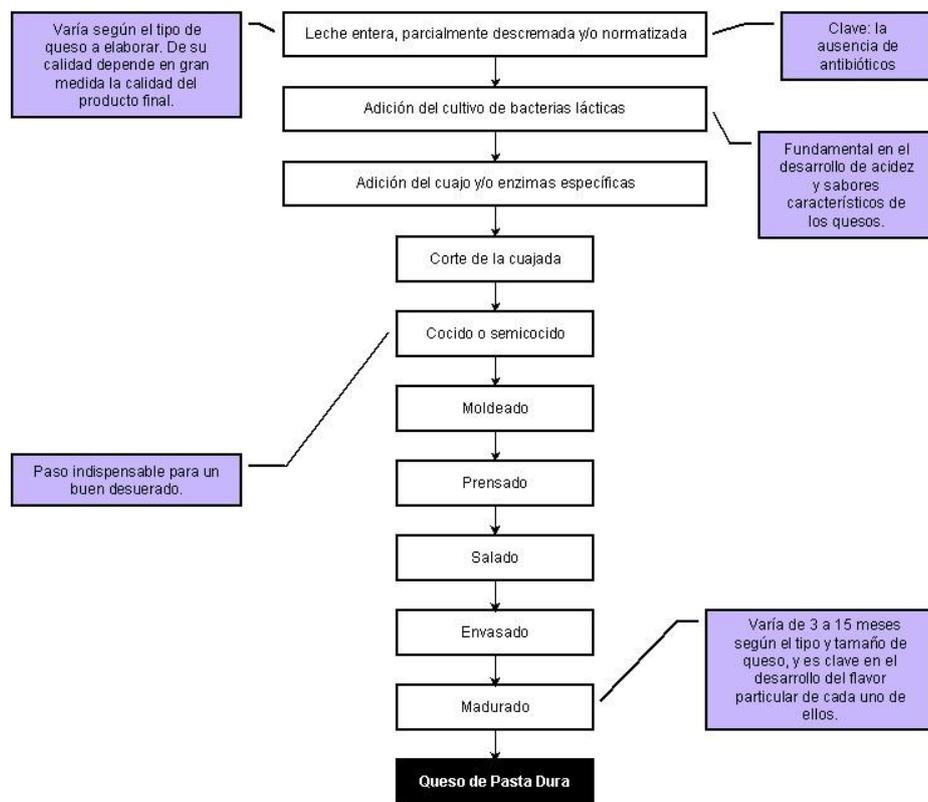


Figura 10: Procesos de elaboración de queso de pasta dura

Tratamientos previos o acondicionamiento de la leche

La leche se somete a tratamientos para obtener un producto homogéneo y con parámetros óptimos, para la obtención del queso que se fabricará. Estos tratamientos son:

- a) Filtrado
- b) Clarificación
- c) Desnatado o añadido de nata (obtener contenido graso óptimo)
- d) Homogenización de los glóbulos grasos en el seno de la leche.
- e) Pasteurización: 72°C / 15 s si es en sistema HTST (alta temperatura, corto tiempo) ó 63°C/ 30 min si es en cuba. Su objetivo es destruir microorganismos patógenos (92-99%), aunque se destruye flora beneficiosa y también enzimas.

El tratamiento térmico modifica algunos de los componentes de la leche. Disminuye la concentración de Ca^{++} y $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, por migración del calcio iónico de la fase soluble a la micela y por precipitación de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en el pasteurizador. Esto fuerza a que las leches pasteurizadas, antes de ser utilizadas en quesería, tengan que ser suplementadas con CaCl_2 , que precipita proteínas séricas desnaturalizadas por la acción térmica, lo cual se considera positivo porque aumenta el rendimiento quesero.

Adición de fermentos lácticos

Con la temperatura desaparece la flora microbiana y se desactivan la mayor parte de las enzimas endógenas de la leche, lo que impedirá el madurado del queso en su forma natural.

La función principal de las bacterias lácticas (fermentos), es la producción de ácido láctico a partir de la lactosa. El ácido láctico promueve la formación y desuerado de la cuajada, evita que crezcan en ésta microorganismos patógenos, debido a que disminuye el pH a 5,0-5,2 y le confiere sabor ácido. Además, las bacterias dan lugar a sustancias responsables del aroma y contribuyen a la maduración mediante la proteólisis (ruptura de proteínas) y la lipólisis (ruptura de las grasas).

Los fermentos se clasifican esencialmente por su temperatura óptima de crecimiento en dos grupos (Tabla 20). Con el fermento, se logra la proporción de ácido láctico requerido y proporciona el sabor buscado.

Tabla 20. Tipos de fermentos lácticos.

Fermentos Lácticos	
Mesofilos (20-30°C)	Termofilos (37-45°C)
<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
sbsp. Diacetylactis	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
leuconostoc. spp.	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>S. Cremoris</i>	<i>Lactobacillus Lactis</i>
<i>L. Cremoris</i>	<i>Lactobacillus Plantarum</i>

Preparación tradicional de fermentos:

- Mediante siembra diaria de cultivos sin contaminación de bacterias o bacteriófagos (virus que atacan las bacterias)
- Fermentos concentrados, congelados o liofilizados.

Para algunos quesos se utilizan, además, algunos complementos microbianos (Tabla 21).

Tabla 21 Complementos microbianos usados en la fabricación de quesos.

Complementos microbianos			
Fermentos Fúngicos		Fermentos microbianos	
Quesos Pasta Azul	Maduración Superficial	Bacterias Propiónicas	Fermentos del Rojo
Penicillium roqueforti	Penicillium camemberti P. caseiocolum	Propinebacterium shermanii	Brevibacterium linens,

En el caso de que la leche provenga de vacas alimentadas con forrajes ensilados, si se encuentra contaminación procedente de esporas de *Clostridium* sp., es conveniente añadir a la leche NO_3^- , que inhibe el crecimiento de este tipo de flora, tanto si es patógena (*Cl. botulinum*), como si es butirógena, en cuyo caso puede producir problemas por hinchazón de los quesos debida a la formación de ácido butírico.

Coagulación de la leche

La coagulación de la leche implica la gelificación de la caseína (proteína de la leche) para obtener un coágulo liso y uniforme, con una estructura tridimensional de retículas, en la que quedan atrapados los glóbulos grasos y retenida la totalidad del agua.

Las moléculas de caseína se encuentran asociadas formando submicelas. Las submicelas, a su vez, se asocian dando lugar a estructuras más complejas denominadas micelas. La unión entre submicelas está cimentada por la presencia de interacciones iónicas entre grupos ácidos, sobre todo fosfato y citrato, pero también glutamato, aspartato, e iones Ca^{++} . A pesar del carácter hidrófobo de las cadenas polipeptídicas, se mantienen en una dispersión estable en medio acuoso gracias al efecto “detergente” de la k-caseína, que se sitúan en la parte más externa de la micela, en contacto con el agua y le confieren el carácter hidrófilo responsable de la estabilidad coloidal.

Tipos de coagulación de la caseína

La **coagulación láctica o ácida** es realizada por las bacterias lácticas presentes en la leche cruda, o procedentes del fermento, que transforman la lactosa en ácido láctico haciendo descender el pH de la leche, lo que produce la alteración de la caseína hasta la formación de un coágulo. Cuando el pH desciende de 5 a 4.8 se produce un brusco incremento en la viscosidad. La tendencia de las micelas a la coagulación es máxima a pH 4.6. El coagulo así obtenido es el resultado de la formación de una red proteica insoluble englobando en sus mallas la totalidad de la fase acuosa. Los nudos de la red son las submicelas totalmente desmineralizadas y más o menos modificadas en su estructura. Las uniones intermoleculares que intervienen en la formación de la red son de naturaleza electrostáticas e hidrófobas.

La **coagulación enzimática** se produce cuando se añade cuajo a la leche. Durante siglos se ha utilizado en quesería cuajo animal, es decir la enzima renina, extraída del cuarto estómago de los rumiantes lactantes. Las dificultades de aprovisionamiento a nivel mundial de cuajo, junto con el aumento de precio de las preparaciones comerciales de la enzima, han favorecido el desarrollo de otras enzimas coagulantes, tanto de origen animal (pepsinas bovinas y porcinas), como de origen microbiano (proteasas fúngicas, etc.), o vegetal (flores de *Cynara cardunculus*, etc.). El cuajo es una enzima proteolítica que actúa desestabilizando a la caseína, lo que da lugar a la formación de un “gel” o coágulo que engloba al suero y los glóbulos grasos en su interior. Igualmente, su actividad proteolítica conduce a la formación de

compuestos que serán utilizados por las bacterias del fermento para su multiplicación.

La adición del cuajo a la leche es un punto de considerable importancia en la fabricación de queso. En los quesos frescos, de coagulación fundamentalmente láctica, se utilizan pequeñas cantidades de cuajo y se opera a temperaturas bajas (15-20°C) para evitar la actividad óptima de la enzima. En este caso, el cuajo se emplea más bien para facilitar el desuerado, que por su acción coagulante o por su capacidad proteolítica a lo largo de la maduración. La leche deberá contener los fermentos lácticos necesarios para asegurar la acidificación. En los quesos de coagulación fundamentalmente enzimática (P. Ej.: Gruyère) se añaden cantidades de cuajo muy superiores y se coagula a temperatura más elevada (30-35°C), para acelerar la formación de la cuajada. En estos quesos, los fermentos no deben desarrollarse de inmediato, a fin de que no se acidifique la leche sensiblemente durante la coagulación y durante las operaciones del desuerado. Finalmente, en los quesos de coagulación mixta (p.e. Camembert) se emplea una cantidad de cuajo considerable, a una temperatura que permita el desarrollo óptimo de los fermentos lácticos (28-32°C) y que al mismo tiempo garantice al cuajo condiciones de acción bastante favorables.

La firmeza del cuajo y la textura de la cuajada formada dependerán, fundamentalmente, de la cantidad de cuajo utilizado, de la temperatura (velocidad de coagulación máxima a 40-42°C) y de la acidez de la leche.

La **coagulación mixta**, supone la acción conjunta de la acidificación y la hidrólisis enzimática. Suele realizarse con concentraciones elevadas de fermentos lácticos, muy diluidas de cuajo, así como la temperatura baja (20°C), muy inferior a la óptima de crecimiento de los microorganismos y de la actividad enzimática. El tiempo de cuajado por esta vía es muy largo, 8 horas como mínimo, y en este tipo de cuajadas no se produce prácticamente desuerado. El producto así obtenido tiene unas características reológicas intermedias entre la cuajada ácida y la enzimática y se utiliza para la obtención de quesos de pasta blanda.

Desuerado

Consiste en la separación del suero que impregna el coágulo, obteniéndose entonces la parte sólida que constituye la cuajada. Para permitir la salida del suero retenido en el coágulo es preciso recurrir a acciones de tipo mecánico, como son el cortado y el removido, cuya acción se complementa mediante el calentamiento y la acidificación.

Cortado

Consiste en la división del coágulo en porciones, con objeto de aumentar la superficie de desuerado y, por lo tanto, de favorecer la evacuación del suero. Según el tipo de queso, el cortado es más o menos intenso (desde 2-3 mm a 2-3 cm), desde un simple cortado en los quesos de pasta blanda a un corte en pequeños cubos en los de pasta más dura. Por tanto, existe para cada tipo de queso una dimensión óptima del grano.

El cortado de la cuajada se efectúa utilizando unos instrumentos denominados liras, de las que existen distintos modelos manuales y mecánicos. Estas últimas se integran a las cubas de la elaboración del queso cuando son de volumen considerable. El cortado de la cuajada debe realizarse lentamente con el fin de no deshacer ó romper el coágulo, pues de lo contrario se formarían granos irregulares que desuerarían con dificultad.

Removido

Tiene por objeto acelerar el desuerado e impedir la adherencia de los granos, así como posibilitar un calentamiento uniforme. Se efectúa con ayuda de agitadores, que al igual que las liras, pueden ser manuales o mecánicos.

Calentamiento

La elevación de la temperatura permite disminuir el grado de hidratación de los granos de la cuajada favoreciendo su contracción. La subida de la temperatura ha de ser lenta y progresiva, ya que si se produce de forma brusca, se produce en la superficie de los granos la formación de una costra impermeable que detiene el desuerado. Las temperaturas de calentamiento bajas conducirán a cuajadas con mayor contenido de humedad y, por tanto, con más lactosa, que será utilizada por las bacterias lácticas para producir ácido en las primeras fases del período de maduración. Las temperaturas altas de cocción conducen a una cuajada seca y dura, adecuada para una maduración lenta y prolongada. Así, por ejemplo, en quesos de tipo Gruyère la cuajada se somete a temperaturas de 52-55°C. La masa de la cuajada debe calentarse poco a poco y con agitación, para evitar que se adhieran los granos formando grumos. El calentamiento y agitación suele durar de

20 a 60 min, a veces más. En general se da por acabado cuando están secos los granos.

Acidificación.

El cortado, la agitación e incluso el calentamiento, por sí solos, no permiten en la práctica la obtención de una cuajada adecuada a partir de un coágulo. Es necesaria la intervención de un proceso biológico, la acidificación. Las bacterias lácticas permanecen, en su mayoría, retenidas en los granos de cuajada, Su crecimiento y, por tanto, su actividad acidificante, favorece la expulsión de humedad de la cuajada. La acidificación influye de manera determinante en la composición química y en las características físicas de la cuajada.

El éxito de un proceso de fabricación de queso, depende de una combinación juiciosa de estos tres factores: acción mecánica, el calentamiento y la acidificación.

La fase final del desuerado, en numerosos procedimientos de fabricación consiste en la realización de otras dos operaciones que, además de completar el desuerado, confieren al queso su forma definitiva. Dichas operaciones son: el moldeado y el prensado.

Moldeado

Supone la colocación de la cuajada en moldes, cuya forma y tamaño varían con cada tipo de queso. El tamaño y la forma no sólo aportan una característica diferencial de la clase de queso, sino que determinan algunas modificaciones posteriores al moldeado.

Normalmente, los quesos cuya maduración va de afuera hacia adentro, son de pequeño tamaño, en ellos el afinado depende mayormente de la acción de mohos aerobios que crecen en la superficie y por ello tienen gran superficie en relación al volumen (125 gramos -1 kg). Los quesos de maduración uniforme, de pasta dura, son afinados por la acción de procesos anaerobios y por ello tienen gran tamaño y poca superficie (2-80 kg).

El moldeado puede hacerse con la totalidad de la cuajada en la cuba, después del cortado de la pasta, o en moldes individuales; éste es el sistema más utilizado incluso a nivel industrial. Cuando se utilizan

moldes individuales, es frecuente el uso de gasa o muselina, pero esto entorpece la marcha de la elaboración, por ello se tiende cada vez más, a moldear los quesos utilizando moldes perforados de acero o polietileno, que no necesitan malla.

Prensado

Se efectúa en prensas de queserías, con las que se ejerce sobre la cuajada determinada presión que puede aumentar progresivamente durante el curso de la operación. La finalidad del prensado es compactar la masa y completar el desuerado. Durante el prensado se produce la fermentación de la lactosa, de manera que al acabar éste, la cuajada debe tener un pH óptimo para iniciar los procesos de maduración.

Las condiciones del prensado son distintas para cada tipo de queso, variando la presión a aplicar, el desarrollo y duración de la operación, etc. Así, por ejemplo, en los quesos más intensamente desuerados (Gruyère), las presiones utilizadas alcanzan progresivamente 16 a 18 kg por kg de queso, con una duración de 24 horas como mínimo, mientras que en quesos menos desuerados, se aplican presiones inferiores durante unas pocas horas.

Salado

Es una operación que se efectúa en todos los quesos, con el fin de regular el desarrollo microbiano, tanto suprimiendo bacterias indeseables, como controlando el crecimiento de los agentes de la maduración. El salado contribuye también en la pérdida de suero, que continúa tras el desuerado y mejora el sabor del queso. Puede realizarse en seco o por inmersión en un baño de salmuera. En el primer caso, lo más frecuente es extender sal sobre la superficie del queso, o bien puede incorporarse directamente a la cuajada mezclándola con ésta. El salado en salmuera es empleado en la fabricación de numerosos quesos. Los quesos se mantienen sumergidos en un baño de salmuera durante un período variable (de seis a sesenta horas en algunos tipos), dándose la vuelta a los quesos periódicamente.

Maduración

Es la última fase de la fabricación del queso. La cuajada, antes de iniciarse la maduración, presenta una capacidad, volumen y forma ya

determinadas. Suele ser ácida en razón de la presencia de ácido láctico. En el caso de los quesos frescos la fabricación se interrumpe en esta fase. Los demás tipos de queso sufren una maduración más o menos pronunciada, que es un fenómeno complejo y más conocido.

La maduración comprende una serie de cambios de las propiedades físicas y químicas, adquiriendo el queso su aspecto, textura y consistencia, así como su aroma y sabor característicos.

Las reacciones que rigen la maduración son debidas a tres tipos de agentes:

1. Primero: las enzimas endógenas de la leche, proteasas alcalina y ácida, y lipasas.
2. Segundo: las enzimas del cuajo, es decir enzimas proteolíticas.
3. Tercero: las enzimas provenientes de la flora microbiana.

Los sustratos que intervienen en este proceso son todos los nutrientes de la cuajada: hidratos de carbono, proteínas y lípidos.

Los cambios químicos responsables de la maduración son:

-Glicólisis: consiste en la fermentación de la lactosa (hidrato de carbono mayoritario en el queso) a ácido láctico más pequeñas cantidades de ácidos acético y propiónico, CO₂ y diacetilo. Es realizada fundamentalmente por las bacterias lácticas. Comienza durante la coagulación y el desuerado y se prolonga hasta la desaparición casi completa de la lactosa. El ácido láctico procedente de la degradación de la lactosa no se acumula en la cuajada sino que sufre distintas transformaciones de naturaleza diversa.

Este proceso es de gran importancia en el desarrollo del gusto del queso, particularmente en los quesos frescos; la disminución del pH que supone esta fermentación, condiciona además el resultado de posteriores reacciones y el tipo de flora microbiana que se desarrollará durante este proceso. Es, además, un factor determinante para la inhibición de microorganismos patógenos en quesos fabricados con leche no sometida a tratamiento térmico.

El ácido láctico, por otra parte, es metabolizado por los microorganismos propionobacterium, que lo degradan a ácido propiónico y acético, con la producción de dióxido de carbono. Éste es el proceso responsable de la formación de los ojos en el queso.

En ocasiones la presencia de *Clostridium butyricum* es capaz de descomponer el ácido láctico dando ácido butírico, dióxido de carbono e

hidrógeno. Este proceso es causante de la hinchazón tardía de los quesos.

-Proteólisis: o degradación de aminoácidos, es uno de los procesos más importantes de la maduración que no sólo interviene en el sabor, sino también en el aspecto y la textura.

Las primeras reacciones de hidrólisis proteica que tendremos en cuenta son las debidas a la acción de las enzimas endógenas de la leche, proteasa alcalina o plasmita y proteasa ácida.

El segundo agente proteolítico de gran importancia es el cuajo; además de la conocida acción de la renina sobre la k-caseína, se producen otros cambios de actividad proteolítica. La actividad del cuajo sobre las distintas caseínas empieza a desarrollarse en los primeros momentos del afinado y continúa durante todo el periodo del mismo.

En cuanto se refiere a la acción de proteasas procedentes de microorganismos, se ha de distinguir entre aquellas que corresponden a los estárteres, fundamentalmente bacterias lácticas, flora contaminante, flora fúngica superficial y flora fúngica en quesos de vena azul.

-Lipólisis: o hidrólisis de las grasas, afecta a una pequeña proporción de éstas. Sin embargo, los ácidos grasos liberados y sus productos de transformación, aunque aparecen en pequeñas cantidades, influyen decididamente en el aroma y sabor del queso.

Los componentes lipídicos mayoritarios en la leche son triglicéridos, los cuales mediante la lipólisis dan lugar a la aparición de ácidos grasos libres y di- y monoglicéridos.

Los ácidos grasos libres contribuyen a la formación de aromas característicos del queso, especialmente los de cadena corta, y son a su vez precursores de otros productos aromáticos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres y lactonas.

Los principales agentes lipolíticos en el queso son: enzima nativa de la leche, estearasas añadidas a la leche con el cuajo y enzimas de origen microbiano.

Agentes que participan en la maduración

Los agentes responsables de la transformación de la cuajada en su producto final son las enzimas procedentes de:

- La leche: la leche contiene proteasas y lipasas, así como otros sistemas enzimáticos. Su papel en la maduración es limitado, ya que su concentración es baja y en algunos casos son termosensibles y presentan un pH óptimo de actividad alejado del pH de la cuajada.

- El cuajo o agente coagulante: el cuajo es una enzima proteolítica que no sólo interviene en la formación del coágulo, sino también en su evolución posterior. Su participación dependerá de la tecnología de elaboración de cada variedad, según las diferentes variedades de cuajo utilizadas y retenidas en la cuajada.

- La flora microbiana: los microorganismos intervienen en la maduración liberando a la cuajada sus enzimas exocelulares y, tras su lisis o ruptura, mediante sus enzimas intracelulares. La cuajada contendrá microorganismos procedentes de la leche, si se parte de la leche cruda, de los fermentos adicionados y otros que se desarrollen en la superficie y el interior. La flora microbiana se encuentra en constante evolución, sucediéndose distintos grupos microbianos a lo largo de la maduración del queso. La población microbiana de un queso es extremadamente densa, sobrepasando a menudo los mil microorganismos por gramo.

El período de maduración puede comprender desde una o dos semanas, hasta más de un año. Los quesos blandos, con un alto contenido en agua, sufren períodos cortos de maduración. Las condiciones físicas y químicas influirán sobre la actividad microbiana y enzimática, de la que depende esencialmente la maduración del queso.

Factores físico-químicos que participan en la maduración.

-Aireación: el oxígeno condiciona el desarrollo de la flora microbiana aerobia o anaerobia facultativa. La aireación asegurará las necesidades de oxígeno de la flora superficial de los quesos: mohos, levaduras, *Brevibacterium*, etc.

- Humedad: favorece el desarrollo microbiano. Las cuajadas con mayor contenido de humedad maduran rápidamente, mientras que en las muy desueradas el período de maduración se prolonga considerablemente.

- Temperatura: regula el desarrollo microbiano y la actividad de las enzimas. La temperatura óptima para el desarrollo de la flora superficial del queso es de 20-25°C; las bacterias lácticas mesófilas crecen más rápidamente a 30-35°C y las termófilas a 40-45°C. La producción máxima de enzimas tiene lugar generalmente a una temperatura inferior a la óptima de desarrollo y la actividad de las enzimas, generalmente es máxima a 35-45°C. En la práctica industrial, la maduración se efectúa a temperaturas muy inferiores a la óptima, generalmente comprendidas entre 4 y 20°C, según las variedades.

- Contenido de sal: regula la actividad de agua y, por lo tanto, la flora microbiana del queso. El contenido de cloruro sódico de los quesos

es generalmente de un 2-2,5 %, que referido a la fase acuosa en que está disuelto supone el 4-5%.

- pH: condiciona el desarrollo microbiano, siendo a su vez resultado de éste. Los valores del pH del queso oscilan entre 4,7 y 5,5 en la mayoría de los quesos y desde 4,9 hasta más de 7 en quesos madurados por mohos.

Las primeras fases de fabricación determinan la velocidad de producción de acidez, hasta la adición de cloruro sódico, que junto a la pérdida de lactosa, determina el pH más bajo del queso. Posteriormente, la actividad de bacterias y mohos origina la degradación de los componentes de la cuajada a compuestos neutros o alcalinos que elevan el pH, cuyos niveles máximos se registran cuando la actividad proteolítica es muy fuerte.

Sistemas de maduración del queso

Básicamente, pueden distinguirse dos sistemas de maduración:

- Los quesos duros: maduran en condiciones que evitan el crecimiento superficial de microorganismos y disminuyan la actividad de los microorganismos y enzimas del interior. La maduración ha de ser un proceso lento y uniforme en toda la masa del queso, no debe afectar el tamaño.

- Los quesos blandos: se mantienen en condiciones que favorezcan el crecimiento de microorganismos en su superficie, tanto mohos (*Penicillium camemberti* en queso Camembert), como bacterias (*Brevibacterium linens* en queso Limburger). Las enzimas producidas por estos microorganismos se difundirán hacia el interior del queso, progresando la maduración en esta dirección. La forma plana y el tamaño relativamente pequeño de estos quesos favorecerán dicho proceso.

- Un sistema intermedio sería el utilizado en los quesos madurados internamente por mohos (quesos azules). Al inicio, los microorganismos y sus enzimas son responsables de cambios en el interior del queso. Posteriormente se favorece la penetración de aire al interior del queso, introduciéndose, de forma natural o mediante inoculación, mohos como *Penicillium roqueforti*, responsable del sabor y aspecto característicos de estos quesos.

Generalmente, el tamaño y forma del queso están ligados al tipo de maduración que experimenta y a las condiciones de temperatura y humedad a las que se mantiene. Los quesos duros maduran lentamente, de varios meses hasta de un año, a temperaturas de 4-

14°C y humedad relativa baja (86-88%) para evitar el desarrollo de mohos, pero suficiente para impedir una evaporación excesiva. Algunas variedades se revisten de parafina, emulsiones plásticas o películas especiales que excluyan el aire, con lo que se impide el crecimiento de los mohos y la pérdida de humedad. Cuando se requiere el desarrollo superficial de microorganismos, se aumenta la superficie en relación con la masa del queso, se sala en seco con el fin de controlar la flora y se madura a 15-20°C y humedad relativa del 90-95%. En estas condiciones tiene lugar una sucesión de microorganismos idónea, consistente en levaduras y mohos halotolerantes, que utilizan el ácido láctico, neutralizando la pasta y permitiendo el desarrollo posterior de bacterias (por ejemplo, *Brevibacterium linens*) y mohos (por ejemplo, *Penicillium*).

2.6.3. Operaciones permitidas en la elaboración de quesos

En la elaboración de quesos quedan permitidas las siguientes operaciones: (Código Alimentario Argentino, Art. 607, 1998)

1. Neutralización parcial de la acidez propia de la leche por medio de sustancias alcalinas de uso permitido.
2. La normalización de la materia grasa de la leche.
3. La adición hasta 200 mg/kg de cloruro de calcio anhidro y hasta 200 mg/kg de nitrato de sodio o potasio, para reducir la formación de ojos cuando se considere necesario.
4. El agregado de cloruro de sodio en cantidad adecuada al tipo de queso a elaborar.
5. La adición a la leche de cultivos de bacterias apropiadas de acuerdo a la variedad de queso a elaborar.
6. La siembra en o sobre la cuajada de esporas de hongos pertenecientes al género *Penicillium* o cultivos de bacterias apropiadas para la clase de queso a que normalmente corresponda.
7. El agregado de ácido sórbico, o su equivalente en sorbato de potasio, en cantidad tal para que el producto terminado lo contenga en una cantidad no mayor de 1,0 g por kg.
8. El empleo de enzimas apropiadas al tipo de queso a elaborar.
9. La adición de especias o condimentos u otros productos alimenticios autorizados por el código alimentario argentino.
10. La coagulación de la leche por medio de ácidos: láctico, cítrico, tartárico, acético.
11. El empleo de materias colorantes de origen vegetal permitidas a los fines de coloración de la pasta.

12. La aplicación sobre la corteza, de féculas o almidón en los quesos de pasta blanda, y en los de pasta dura, aceite de lino u otros aceites vegetales solos o mezclados con negro de humo u otras sustancias colorantes autorizadas para tal fin.
13. El parafinado o el empleo de ceras para la corteza, con o sin sustancias colorantes permitidas a ese efecto, u otras previamente aprobadas por la autoridad sanitaria nacional, con la misma finalidad.
14. El agregado sobre la corteza formada, de sustancias inhibitorias del desarrollo de mohos o acaricidas, previamente aprobados.
15. La maduración (quesos sin corteza) en sacos de materia plástica autorizada.
16. El envasado de quesos en porciones, en continentes de material plástico adecuado, hojas de estaño o de aluminio u otros materiales que a ese fin apruebe la autoridad sanitaria nacional.

2.6.4. Defectos en quesos: “soplado tardío”

La “*hinchazón tardía*” se debe generalmente al *Clostridium tyrobutyricum*, que fermenta el lactato en el queso y conduce a la producción y acumulación de CO₂, H₂ y ácidos grasos volátiles (Devoyod, 1976; Moraes, 1981). La acumulación de gases genera “ojos” grandes e irregulares en el queso como se observan en la Figura 11 y también se pueden presentar rancidez y sabores extraños, causados por ácido butírico. Los quesos duros, con corteza, o los recubiertos con películas plásticas, pueden retener gases y cuando ocurre “hinchazón” sufren alteraciones estéticas, fisicoquímicas y sensoriales, que obstaculizan o impiden su comercialización normal (Furtado, 1990).

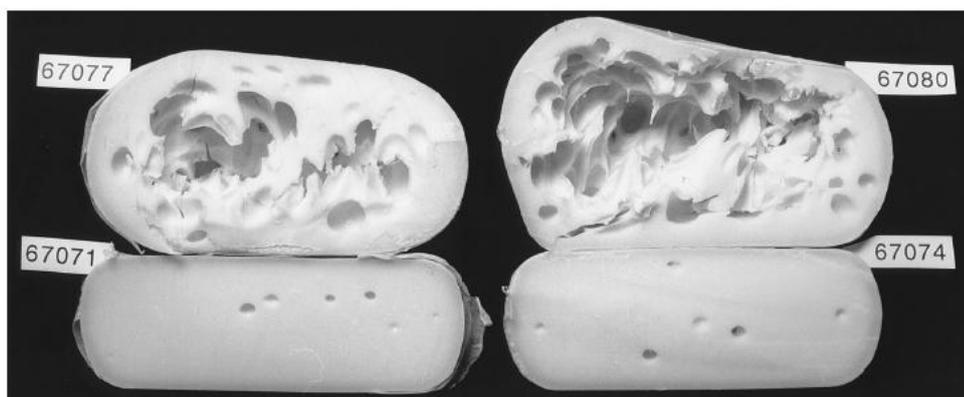


Figura 11: Quesos donde hubo fermentación butírica (67077 y 67080) y quesos sin fermentación butírica (67071 y 67074). Fuente: (Klijn et al, 1995).

No es de esperar que las bacterias coliformes causen problemas en quesos de leche pasteurizada, pues no sobreviven al tratamiento térmico. Sin embargo, en la práctica es probable que haya post-contaminación y por eso es indispensable cumplir con Buenas Prácticas de Fabricación para restringir su proliferación. De cualquier forma, si la cuajada está contaminada con coliformes, que son heterofermentadoras de lactosa, puede ocurrir formación excesiva de gas en el queso, lo que afecta su estructura, su sabor y su aroma. Dependiendo del grado de contaminación, del pH y de la temperatura, estas bacterias pueden proliferar con rapidez hasta alcanzar concentraciones considerables (Walstra et al., 1999a). La generación de gas por bacterias coliformes (y por levaduras), ocurre dentro de las primeras 24 a 48 horas después de la fabricación, y está caracterizada por la aparición de numerosos "ojos" pequeños (Fox et al., 2000). El gas es principalmente H₂, producido a partir de ácido fórmico, un producto del metabolismo de la lactosa (Fox et al., 2000).

III. Capítulo: Elaboración y Caracterización de silajes de maíz y pulpa de citrus

En este capítulo se presentan los insumos y técnicas empleadas en la construcción de los diez silajes de forrajes, en el transcurso de dos años de duración de la experiencia (dos ensayos). Se construyeron cinco silajes en cada ensayo, de los cuales, tres se realizaron en base a maíz, uno con maíz y residuos de pulpa de citrus y otro sólo a base de residuos de pulpa de citrus. Se describen, en los resultados de ambos ensayos, los parámetros del proceso fermentativo de cada silo, la calidad nutritiva de los mismos y el grado de contaminación bacteriológica alcanzado.

3.1. Metodología

Los dos insumos utilizados en el proceso de ensilado fueron plantas completas de maíz, de cultivos realizados para tal fin, y pulpa de citrus residual proveniente de la industria citrícola del Departamento Concordia, Provincia de Entre Ríos, Argentina.

Se realizaron dos cultivos de maíz. El híbrido seleccionado para el primer ensayo fue Morgan 507 y para el segundo Morgan Blanco 369. La preparación del terreno para la siembra de los cultivos fue realizada por métodos convencionales, comprendiendo las siguientes tareas:

1. pasada de rastra tipo Rome (discos dentados y de peso considerable)
2. pasada de rastra de dientes
3. pasada de rastra tipo Rome
4. pasada de rastra de dientes
5. pasada de disco de doble acción
6. pasada de rastra de dientes

La siembra se realizó con sembradora de grano grueso, del tipo convencional, a una profundidad aproximada de 5 centímetros y una distancia de 0,70 metros entre surcos. La densidad de siembra fue de 6 semillas por metro lineal.

Se observó la marcha del cultivo, la disponibilidad de humedad en el suelo, presencia de enfermedades, crecimiento de malezas y la determinación del estado de desarrollo fenológico, a fin de prever la fecha ideal de corte de las plantas de maíz. Las recorridas al lote fueron realizadas cada 15 ó 20 días.

En el Ensayo I se fertilizó con guano de gallina, treinta días previos a la siembra a razón de 4.000 kg por hectárea. En el Ensayo II se fertilizó con fosfato diamónico a razón de 50 kg por hectárea, colocando el mismo en el surco, al costado de la planta. Se pulverizó con herbicida pre-emergente, "Atrazina", en una dosis de 2 litros por hectárea, para control de malezas de hoja ancha. En la misma pulverización se incorporó herbicida pre-emergente específico para el control de gramíneas (Sorgo de Alepo y *Cynodon* sp.) utilizando una dosis de 3 litros por hectárea de Dual®.

Para cada uno de los ocho silajes realizados en base a maíz, se utilizaron 2 hectáreas de cultivo de maíz.

En el Ensayo II se observó un grado importante de enmalezamiento del cultivo con las siguientes especies: *Cynodon dactylon* (Gramilla rastrera), *Sorghum halepense* (Sorgo de Alepo), *Amarantus quitensi* (Yuyo Colorado), *Digitaria sanguinalis* (Digitaria), *Poligonum alviculare* (Sanguinaria), *Chenopodium album* (Quínoa Blanca), *Solanum sisymbriifolium* (Espina Colorada), *Lolium* sp y *Cyperus* sp. No obstante la existencia de las malezas mencionadas, éstas no dificultaron el desarrollo del cultivo, el cual se continuó hasta el momento de la cosecha del forraje (ensilado).

3.1.1. Construcción de los Silos

El picado del forraje se realizó con una cortadora-picadora de "picado fino", marca Mainero, modelo 4751, de dos líneas de descarga lateral. El acarreo del material se realizó con dos acoplados forrajeros.

Los silajes se construyeron con una arquitectura tipo puente. Aquellos que eran en base a maíz fueron compactados pisando con un tractor y cubiertos con una película de polietileno negro de 200 micrones de espesor, sostenida con contrapesos.

En la Tabla 22, se presentan las características de los insumos utilizados en la construcción de los cinco silos, en los dos ensayos.

Tabla 22: Características constructivas de los silos de maíz y de pulpa de citrus en el Ensayo I y II.

Denominación de los silos de forraje	SMO	SMP	SMP + BL	SMP + PC	SPC
Descripción	Silo de Maíz Óptimo	Silo de Maíz Pasado	Silo de Maíz Pasado + Bacterias Lácticas	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus	Silo de Pulpa de Citrus
Maíz (%)	100%	100%	100%	80%	---
Pulpa de Citrus (%)	---	---	---	20 %	100 %
Estado fenológico del maíz	Estado lechoso o pastoso. $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{3}$ de línea de leche.	Estado pastoso a duro.	Estado pastoso a duro.	Estado pastoso a duro.	---
Aditivos	---	---	<i>Lactobacillus plantarum</i>	---	---

Los silos de residuos de pulpa de citrus (SPC) de los Ensayos I y II se realizaron depositando la pulpa de citrus en el suelo, en un área de 3 x 9 metros, formando un montículo de una altura de 50 a 60 centímetros. Al quedar éste a la intemperie, sin cobertura, forma una capa de color marrón debido a procesos oxidativos, de 1-2 cm de espesor, que es impermeable al agua de lluvia y mantiene al resto del material prácticamente inalterado.

En el silo SMP + BL (maíz pasado con bacterias lácticas), se agregaron bacterias lácticas de la especie *Lactobacillus plantarum*, anaerobios facultativos, heterofermentantes, que fermentan las pentosas con producción de ácido láctico y ácido acético en relación 1:1. La temperatura óptima de desarrollo de estas bacterias está entre los 30 a 37°C.

La pulpa de citrus empleada en la construcción de los silos SMP +PC y SPC, del Ensayo I y Ensayo II, tenía un 83 % de agua y 17% de materia seca. En el silo SMP + PC se mezcló con el maíz en forma manual empleando palas y horquillas.

En los silos SMP, SMP + BL y SMP +PC, de ambos ensayos, las plantas de maíz tenían entre 20 a 30 % de su follaje seco.

El tiempo de estabilización del silo fue de cuarenta y cinco días. El grado de compactación de los silos de maíz pasados, SMP y SMP +BL,

fue bajo, comparado con el nivel de compactación alcanzado en los silos SMO (maíz en estado óptimo de corte) y SMP +PC (mezcla de maíz pasado con pulpa de citrus)

3.1.2. Evaluación de los Silos

Se evaluó el proceso de fermentación, la calidad nutritiva y el grado de contaminación microbiológica del ensilado logrado. Para la evaluación de los silos se realizaron los siguientes análisis:

- A. Organolépticos
 - 1. Color
 - 2. Aroma
- B. Físicoquímicos
 - 1. pH
 - 2. N-NH₃ / Nitrógeno Total
 - 3. Materia Seca (%) (MS)
 - 4. Proteína Bruta (%)
 - 5. Digestibilidad Materia Orgánica (%)
 - 6. Energía Metabólica [Mcal / kg MS]
- C. Microbiológicos
 - 1. Esporulados (gérmenes butíricos)
 - 2. Hongos y levaduras

A- Organolépticos

Para la realización de los análisis se tomaron cinco muestras representativas de cada silo, uniformemente distribuidas y a una profundidad de 25 cm por debajo de la interfase.

En los análisis organolépticos se utilizó la metodología propuesta por Hiriart (1998), descrita en el Marco Teórico, donde el color de los ensilados puede ser verde olivo, amarillento o atabacado, marrón oscuro y negro. El aroma del ensilado podrá ser: agradable o suavemente alcohólico, indefinido ó dulzón.

La evaluación sensorial fue realizada por 3 evaluadores pertenecientes a la cátedra Producción Animal III. Se le presentaron a los evaluadores 5 muestras por silo, con una repetición.

B- Físicoquímicos

Para la determinación del **valor de pH** de los ensilados, la muestra se preparó diluyendo 1g de MS en 10 ml de agua destilada. El instrumental

utilizado fue un equipo portátil, marca *Hanna Instruments*, modelo *HI 8314*. La sensibilidad del instrumento fue de 0,01.

N-NH₃ / Nitrógeno Total: La muestra, para la determinación de este parámetro, se preparó realizando una disolución de 300 g de silo en 500 ml de agua destilada. Luego, las mismas fueron incubadas por quince días en anaerobiosis. Del filtrado se realizó una destilación por arrastre de vapor, se alcalinizó con Mg(OH)₂ y se recogió el nitrógeno amoniacal con una solución de ácido bórico al 2% con indicador. Luego se valoró con ácido sulfúrico 0,05 N. Se expresó el nitrógeno amoniacal sobre el nitrógeno total.

Materia Seca (%): Las muestras, de 100 g de ensilado, fueron secadas a 105°C hasta peso constante.

Proteína Bruta (%): El método utilizado en la determinación fue el semi micro Kjeldall. Se partió del material ensilado, secado a una temperatura de 60°C por 48 h y molido.

Digestibilidad *in vitro* de Materia Orgánica (%) (DIVMO): Para su determinación se aplicó el método de Tilley y Terry (1963) modificado por Alexander (1986).

Energía Metabólica [Mcal / kg MS]: fue calculada utilizando la fórmula

$$EM = 3,608x DIVMO$$

C- Microbiológicos

En los análisis microbiológicos, para determinar la presencia de gérmenes esporulados butíricos, se utilizó la técnica del Número Más Probable (NMP), que consiste en cultivar en leche descremada (con reactivo de Annibaldi), durante 7 días, incubando a 37 °C. Se consideran tubos (+) los que tienen producción de gas. El número de esporas se calcula mediante el uso de la Tabla del NMP, por gramo de materia húmeda (NMP/g MH).

Para la preparación de las muestras a ser utilizadas en la técnica del Número Más Probable se utiliza un método destructivo y uno no destructivo.

Destructivo: se colocan 25 g de muestra en un homogenizador de muestras microbiológicas tipo "stomacher", por 2 minutos, agregando 225 ml del diluyente (agua de peptona al 0,1%).

No destructivo: agitado sobre plancha tipo “shaker”, de 100 g de muestra y 900 ml del diluyente por 5 minutos.

Para determinar la presencia de hongos y levaduras se utilizó el método de siembra y recuento en Placas de Petri, en un medio de cultivo YGC (Agar-extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol), con un tiempo de incubación de 7 días, a temperatura de 20 °C. Las mediciones se expresan en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ ml).

Estos análisis se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Entre Ríos.

3.2. Resultados y discusión

3.2.1. Aspectos fermentativos

En la Tabla 23 se presentan las características fisicoquímicas y organolépticas de cada uno de los silos realizados en los Ensayos I y II. Definimos como interfase la capa que está en contacto con la lámina de polietileno, en los silos realizados con base de maíz, y la capa de color marrón, en contacto con el medio ambiente, del silaje de pulpa de citrus. La calidad fermentativa de los silos se estudió evaluando el pH, el nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$ /NT) y los parámetros organolépticos, color y aroma.

Los valores de pH de referencia para silos de maíz, varían entre 3,6 a 4,0 según el estudio realizado por Bragachini (1998). Otros autores, como Hiriart Le-Bert (1998), indican intervalos de 4,5 a 4,8. Para los silos de pulpa de citrus Passadore (1997) obtiene valores de pH 3,6.

Todos los silos preparados estuvieron en estos intervalos de pH. Si se toma como referencia el pH de los silos de maíz óptimo en los Ensayos I y II, con valores de 4,00 y 4,02, respectivamente, se puede observar que el uso de maíz pasado sin agregado alguno y la adición de bacterias lácticas a los SMP, no produjeron mejoras en los niveles de pH alcanzados, que se consideran igualmente buenos. El agregado de residuos de pulpa de citrus a los silos de maíz pasados, mejoró el pH en forma notable en el Ensayo II (pH de 3,85).

En cuanto al nitrógeno amoniacal, es un buen indicador de fermentación. Su contenido aumenta debido al exceso de proteínas, humedad o aireación. El valor de referencia indica que debe ser menos del 5% $N-NH_3$ (Bragachini et al, 1998), aunque otro autor (Hiriart Le Bert, 1997) menciona que es aceptable hasta el 10%.

Se evaluó la relación N-NH₃ / NT (nitrógeno amoniacal sobre nitrógeno total) en el Ensayo I, obteniendo solamente en el silo de maíz con bacterias lácticas, un valor de 4,29%. En el resto se excedió el límite de referencia, dando un intervalo de variación entre 5,7-6, lo que hace suponer que hubo un proceso de fermentación lento, favoreciendo la proteólisis no deseada.

Tabla 23: Propiedades de los silos al finalizar el período de fermentación

Ensayo	Forrajes Ensilados	pH	NH ₃ -N/NT (%)	Color	Aroma	Interfase
I	Silo de maíz óptimo (SMO)	4.00	6.00	Verde oliva o aceitunado	Levemente ácido y agradable	10-12 cm, compacta, marrón oscuro.
	Silo de maíz pasado (SMP)	4.13	5.79	Tabaco	Agradable	25-30 cm blanquecino, presencia de filamentos de hongos. Consistencia floja.
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	4.09	4.29	Color atabacado	Agradable	25-30 cm color blanquecino presencia de filamentos de hongos. Consistencia floja.
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	4.10	s/d	Color atabacado en el maíz y aceitunado en los restos de pulpa de citrus.	Aroma alcohólico, de aspecto más agradable que los SMP y SMP + BL.	12-15 cm, compacta, marrón oscuro, olor y aspecto desagradable.
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	4.07	3.85	Amarillo-anaranjado	Suave dulzón, natural a citrus.	7-8 cm, color marrón, de consistencia dura.
II	Silo de maíz óptimo (SMO)	4.02	s/d	Verde amarillento o verde oliva o aceitunado	Levemente ácido, avinagrado agradable.	12-15 cm, compacta, marrón oscuro.

	Silo de maíz pasado (SMP)	4.16	s/d	Tabaco o marrón amarillento.	Sin aroma	25-30 cm color blanquecino, presencia de filamentos de hongos. Consistencia floja.
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	4.18	s/d	Tabaco	Aroma agradable	25-30 cm color blanquecino, presencia de filamentos de hongos. Consistencia floja.
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	3.85	s/d	Color atabacado en el maíz, y aceitunado en los restos de pulpa de citrus.	Aroma alcohólico, de aspecto más agradable que los SMP y SMP + BL.	12-15 cm, compacta, marrón oscuro, olor y aspecto desagradable.
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	4.07	s/d	Amarillo-anaranjado	Suave dulzón, natural a citrus	3-5 cm, color marrón, de consistencia dura.

En relación con los aspectos organolépticos analizados para evaluar el proceso fermentativo, puede comentarse lo siguiente.

Color: Los silos de maíz “óptimo” (SMO) de los Ensayos I y II presentaron el color verde-amarillento-oliva, que indica caracteres adecuados. Los silos de maíz pasados (SMP), con o sin adición de bacterias lácticas, mostraron un color marrón atabacado, indicando que el material estaba sobre-maduro. Los silos de residuos de pulpa de citrus (SPC) tuvieron el color “amarillento anaranjado” característico y los silos de maíz pasado con agregado de residuos de pulpa de citrus (SMP + PC), presentaron color marrón en el material de maíz y oliva en los restos de pulpa de citrus. Ningún silo presentó colores característicos de los silos elaborados con material inmaduro.

Aroma: En los seis silos “base maíz”, se observó un aroma, más o menos intenso, a vinagre, indicando condiciones adecuadas de fermentación. En los silos de maíz “pasado” con agregado de residuos

de pulpa de citrus, tanto en el Ensayo I como en el Ensayo II, el olor fue más fuerte, a vinagre y algo alcohólico, lo que indica una fermentación acética de material húmedo. Esto está dentro de lo esperado debido a que se elevó el nivel de humedad de la mezcla con la pulpa de citrus. Los silos de pulpa de citrus, de acuerdo al aroma, tuvieron una fermentación normal. Ninguno de los silajes presentó olor a rancio ni putrefacto.

3.2.2. Aspectos Nutricionales

En la Tabla 24 se presentan los valores promedio de los parámetros nutricionales medidos, en cada uno de los silos realizados. Con el fin de conocer la influencia de las condiciones climáticas en la calidad nutricional de los silos, se recogieron algunos datos como la temperatura, velocidad del viento, humedad relativa y precipitaciones tanto durante la cosecha del maíz como en diferentes momentos del ensilado. En la Tabla 25 se muestra la variabilidad de las condiciones climáticas en las cuales se desarrollaron los cultivos de maíz destinados a la construcción de los silos, en un período de 120 días previos a la cosecha del maíz. No hubo diferencias significativas entre los valores promedio de temperatura, humedad y velocidad del viento. Sin embargo, se observa que durante el desarrollo de los cultivos de maíz del Ensayo I hubo un mayor volumen de precipitaciones, lo que contribuye a un aumento de la materia seca, según se observa en la tabla 24.

En la Tabla 26 se observa que las condiciones climáticas durante el ensilado promovieron, en el Ensayo I, un mayor grado de secado del material a ensilar, debido a un aumento de la evaporación.

Para los silos de Pulpa de citrus de los Ensayos I y II, las características climáticas a los 45 días de construcción de los silos se resumen en la Tabla 27. En este caso, en el Ensayo I hubo temperaturas mayores y menor cantidad de precipitaciones, obteniéndose una mejor calidad del silo en los parámetros de MO / PB / DIVMO / EM (Tabla 24). En cuanto al contenido de MS, ésta parece que puede estar influida por aspectos mecánicos, en las plantas de producción de jugos, y aspectos relacionados al transporte.

Tabla 24: Resumen de parámetros nutricionales de los silos. Materia seca (MS), proteína bruta (PB), digestibilidad "in vitro" de materia orgánica (DIVMO) y energía metabolizable (EM).

Ensayo	Característica	MS (%)	MO (%)	PB (%)	DIVMO (%)	EM [Mcal/kgMS]
I	Silo de Maíz Óptimo (SMO)	31.55	92.72	6.20	54.59	1.97
	Silo de Maíz Pasado (SMP)	51.00	94.77	6.59	62.85	2.26
	Silo de Maíz Pasado + Bacterias Lácticas (SMP + BL)	50.25	94.80	7.18	63.10	2.27
	Silo de Maíz Pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	46.70	94.45	6.83	67.30	2.42
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	16.00	95.68	10.69	87.43	3.15
II	Silo de Maíz Óptimo (SMO)	26.00	92.40	7.18	60.70	2.19
	Silo de Maíz Pasado (SMP)	35.00	93.10	6.23	56.25	2.03
	Silo de Maíz Pasado + Bacterias Lácticas (SMP + BL)	45.15	94.30	6.24	61.90	2.23
	Silo de Maíz Pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	31.60	92.85	5.95	61.40	2.22
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	18.80	94.10	9.71	83.70	3.02

Tabla 25: Parámetros climáticos promedio, previos a la cosecha en un período de 120 días, de los cultivos de maíz destinados a la construcción de los silos en base a maíz, en los Ensayos I y II.

Cultivo de maíz destinado a	Temperatura media [°C]		Humedad relativa [%]		Velocidad viento [km/h]		Lluvia acumulada en 120 días [mm]	
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
SMO	22,31±3,8	22,66±3,3	70,62±13,0	67±12,3	6,45±2,8	6,28±2,3	500,9	449,3
SMP + BL	23,75±3,7	23,45±3,5	72,45±13,2	70,21±12,4	6,37±2,5	6,32±2,3	537,8	367,4
SMP	23,89±3,7	23,45±3,5	72,54±13,3	70,21±12,4	6,34±2,5	6,32±2,3	489	367,4
SMP + PC	23,96±3,6	23,43±3,6	72,41±13,3	70,11±12,3	6,32±2,5	6,33±2,3	489	360,9

Tabla 26: Condiciones climáticas del día en que se construyeron los silos en base maíz.

Silos	T media [°C]		Humedad relativa (%)		Velocidad viento (km/h)	
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
SMO	26,97	19,1	72	47	7,2	6,5
SMP + BL	27,5	18,7	81	74	8	6,6
SMP	25,1	18,7	78	74	7,2	6,6
SMP + PC	26	20,8	72	75	4,7	4,1

Tabla 27: Condiciones climáticas promedio para un período de 45 días posteriores a la construcción de los silos de pulpa de citrus.

45 días post ensilado			
T media (°C)	Humedad relativa (%)	Lluvia (mm)	Viento (km/h)
20,35 ± 3,82	80,96 ± 10,67	182,00	5,95 ± 2,55
17,90 ± 3,59	80,30 ± 12,92	242,60	6,69 ± 2,82

Para el análisis de la calidad nutricional de los silos se utilizaron como referencia los parámetros propuestos por Gallardo y colaboradores (2004), de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Rafaela.

Estos son, para los silos de maíz, MS % [28 - 35], PB % [8 - 9], DIVMO % [60 - 70] y EM > 2,35.

Proteína Bruta (PB)

Los silos con “base de maíz”, ocho en total, no llegaron a los valores de referencia para ser considerados de buena calidad nutricional según este parámetro (Bragachini et al, 1998). Los silajes de residuos de pulpa de citrus, mostraron muy buenos contenidos de PB, superiores a los valores de referencia. Sin embargo el agregado de este material a los silos de maíz “pasados”, no fue suficiente para compensar el déficit de PB de la mezcla. La adición de bacterias lácticas a los silos de maíz pasados mostró una mejora importante en el Ensayo I y sin cambios en el Ensayo II.

Materia Seca (MS)

Los silos de maíz “óptimo”, en ambos ensayos, tuvieron un buen comportamiento en relación a los valores de referencia.

En el Ensayo I, el silo de pulpa de citrus presentó un contenido de materia seca por debajo de los valores esperados de 18 - 25 % (Castillo, 1989). En el Ensayo II, los valores de materia seca obtenidos, estuvieron dentro del intervalo de valores esperados para este tipo de silos.

El agregado de pulpa de citrus al silo de maíz pasado mostró una notable mejora en MS (%) en el Ensayo I y en el Ensayo II, permitiendo obtener silos con mejores condiciones para la fermentación láctica.

El agregado de bacterias lácticas a los silos de maíz pasados, no mostró ningún cambio en cuanto al contenido de MS (%). Los SPC fueron los de menor contenido en materia seca.

Digestibilidad “in vitro” de materia orgánica (DIVMO).

El material con más alta digestibilidad es el silaje de residuos de pulpa de citrus, superando ampliamente a los materiales “base maíz”. En el Ensayo I, se observan valores de DIVMO más elevados en los silos de maíz pasados que en el silo de maíz óptimo, atribuyendo esta diferencia al mayor contenido de materia seca proveniente de los granos de maíz. En el Ensayo II, por el contrario, el silo de maíz pasado tuvo menor contenido de granos y mayor contenido de hojas y tallos, y presentó menor digestibilidad que el SMO. En ambos Ensayos, los silos de maíz pasados, mejoraron significativamente su digestibilidad con el agregado de pulpa de citrus (SMP +PC) y en menor grado con la adición de

bacterias lácticas, siempre en referencia al material de SMP sin agregado alguno.

Energía Metabolizable (EM).

Los silos a “base maíz” tuvieron valores bajos de EM, no llegando a los valores de referencia. Los residuos de pulpa de citrus ensilados, mostraron valores superiores a los valores de referencia. El agregado de residuos de pulpa de citrus a los silos de maíz pasados mostró, en el Ensayo I, una mejora evidente en el tenor de EM. En el Ensayo II también se observó mejora, pero no llegó a levantar el tenor de EM al nivel óptimo. En ambos casos, el tenor de EM fue mayor que en los silos de maíz óptimos. En cuanto a la adición de bacterias lácticas a los silos de maíz pasados, mostraron en los Ensayos I y II una mejora sobre los de maíces pasados (SMP) y también sobre los silos de maíz óptimo.

3.2.3. Aspectos Microbiológicos

En la Tabla 28 se exhiben los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de los diez silajes, realizados durante los Ensayos I y II.

Tabla 28: Resultado de los análisis microbiológicos de los silajes

Ensayo	Característica	Mohos y levaduras UFC/mL ⁽¹⁾	<i>Clostridium butyricum</i> NMP/g MH ⁽¹⁾
I	Silo de maíz óptimo (SMO)	-	83.000
	Silo de maíz pasado (SMP)	60.000.000	21.000
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	94.000.000	180.000
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	1.200.000	2.100.000
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	< 1000	< 300
II	Silo de maíz óptimo (SMO)	1.500.000	520.000
	Silo de maíz pasado (SMP)	770.000	5.300.000
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	26.000.000	3.800.000
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	78.000	1.180.000
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	130	6.4

⁽¹⁾ media aritmética de 5 repeticiones (n=5).

De acuerdo a la clasificación propuesta por Bottazi (1983) y Coussi (1988), todos los silos en base maíz obtuvieron una calificación

de pésima a muy mala calidad microbiológica. Por el contrario, los silos de pulpa de citrus resultaron de calidad óptima o muy buena calidad. Se presentan los resultados de las calificaciones en las Tabla 29.

Tabla 29: Clasificación de los silajes de acuerdo a Bottazi (1983) y Coussi (1988)

Ensayo	Silaje	Bottazi 1983	Coussi 1988	Valores hallados (NMP/g)
I	Silo de maíz óptimo (SMO)	Pésimo	Muy malo	67.000
	Silo de maíz pasado (SMP)	Pésimo	Muy malo	21.000
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	Pésimo	Muy malo	150.000
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	Pésimo	Muy malo	1.700.000
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	óptimo	Muy bueno	1.000
II	Silo de maíz óptimo (SMO)	Pésimo	Muy malo	520.000
	Silo de maíz pasado (SMP)	Pésimo	Muy malo	5.300.000
	Silo de maíz pasado + Bacterias lácticas (SMP + BL)	Pésimo	Muy malo	3.800.000
	Silo de maíz pasado + Pulpa de Citrus (SMP + PC)	Pésimo	Muy malo	180.000
	Silo de Pulpa de Citrus (SPC)	óptimo	Muy bueno	1.000

IV. Capítulo: Influencia de los silajes de maíz y pulpa de citrus en la calidad de la leche

En este capítulo se presenta la metodología empleada y los resultados obtenidos en dos ensayos de alimentación de vacas lecheras, con los forrajes ensilados descritos en el Capítulo II, en relación con su influencia en las características de la leche.

4.1. Metodología

Los ensayos se realizaron en el tambo de la Escuela Agrotécnica “Las Delicias”. Las instalaciones, el equipamiento y las rutinas de ordeño cumplen los estándares requeridos por los entes oficiales de control.

En ambos ensayos se seleccionó un grupo de ocho vacas de raza Holstein. El criterio de elección fue que se encontraran preferentemente entre el 2^o y 3^{er} mes post parto, con pesos semejantes, y entre la 2^a y 3^a lactancia.

En el Ensayo I se seleccionaron las ocho vacas que se presentan en la Tabla 30, las cuales estuvieron en condiciones de semiestabulación, sin acceso a pasturas o verdeos, confinadas en un pequeño potrero o piquete de media hectárea, con árboles para sombra, bebedero con agua corriente a voluntad y comederos de cemento para el suministro del forraje ensilado.

Tabla 30: Vacas de raza Holstein seleccionadas para el Ensayo I.

Num. Identificación	Fecha de parto	Num. Lactancia	Peso vivo (kg)	Producción diaria (l)
20	18/05/2001	4	610	33,2
37	13/06/2001	2	506	27,6
817	15/05/2001	4	599	24,4
879	16/06/2001	4	616	33,8
907	10/05/2001	4	564	26,2
1009	22/05/2001	3	501	28,9
1053	23/06/2001	2	540	32,7
1121	13/06/2001	2	636	29,3
Promedio		3,1	5720	30
Desviación estándar		0,9	48	3

La alimentación del rodeo en el Ensayo I estuvo constituida por 60 % de forraje ensilado y 40% de alimento balanceado a base de concentrado de granos. Se suministró por períodos de catorce días cada uno de los cinco forrajes ensilados, preparados según se ha descrito en el Capítulo II.

El Ensayo II, se realizó con el rodeo presentado en la Tabla 31 y la alimentación suministrada fue 60 % de forraje ensilado, 20 % de heno de buena calidad y 20 % de alimento balanceado a base de concentrado de granos. Igualmente se suministró, por periodos de catorce días, el forraje de cada uno de los cinco silos preparados. Después de 14 días consecutivos de alimentación con la dieta antes mencionada, estimando un aceptable acostumbramiento del rumen a la misma, se efectuó la extracción de muestras de leche.

Tabla 31: Vacas Holstein seleccionadas para el ensayo II.

Num. Identificación	Fecha de parto	Num. Lactancia	Peso vivo (kg)	Producción diaria (l)
20	20/06/2002	5	500	26,8
58	20/06/2002	1	483	17,7
906	15/06/2002	4	547	23,2
907	20/06/2002	4	487	28
954	18/06/2002	4	540	20,7
1147	01/08/2002	3	587	21,1
1216	21/07/2002	1	558	28,5
1259	16/06/2002	1	473	14,1
1366	30/06/2002	1	330	14,2
Promedio		2,7	501	22
Desvío		1,7	75	6

El volumen de alimento fue calculado de acuerdo al peso promedio de las vacas y al nivel de producción individual de las mismas. Se tuvo en cuenta, además, que fuera suficiente para cubrir las necesidades diarias y no quedara material sobrante para el día siguiente. En el caso de quedar material ensilado excedente en los comederos, al día siguiente se retiraba y se reformulaba la dieta para que no volviera a ocurrir. El alimento balanceado se suministró en la instalación de ordeño, durante el transcurso del mismo.

Las ocho vacas, en ambos ensayos, se ordeñaron separadas del resto del rodeo del tambo y la extracción de muestras se efectuó individualmente de cada vaca. De cada periodo se extrajeron dos muestras de leche por animal, una en la mañana y otra en la tarde del día 14, las que convenientemente acondicionadas en frascos estériles, fueron trasladadas en envases refrigerados hasta el laboratorio de Calidad de Leche de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNER.

Para la caracterización composicional de la leche, se realizaron inicialmente los controles de pH, acidez Dornic y descenso crioscópico, determinaciones de materia grasa, proteínas, caseínas, sólidos totales, sólidos no grasos y cenizas. Los métodos utilizados en la realización de las determinaciones fueron:

- A. Propiedades físicas
 - a. pH: método potenciométrico. Se utilizó un pHmetro marca Altronix Modelo TPXII.
 - b. Acidez Dornic, norma IRAM N°14005 (titulación con Na(OH) N/9)
 - c. Descenso crioscópico: se utilizó un crioscopio marca Advanced, Modelo 4L2
- B. Propiedades químicas
 - a. Proteína total y caseína: Norma IRAM N°14006 - FIL – IDF 20 Método Kjeldhal, realizado en equipo semiautomático Marca Buchi, Modelo 320.
 - b. Sólidos totales: Norma IRAM N°14004 - FIL – IDF 21. Por evaporación en estufa.
 - c. Materia grasa: Método de butirometría de Gerber
 - d. Sólidos no grasos. Por diferencia de los sólidos totales con la grasa.
 - e. Cenizas: Evaporación y posterior calcinación en mufla.

Los datos obtenidos en cada turno de ordeño en cada uno de los dos ensayos fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significación de 0,05. En los casos donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas de las medias se procedió a realizar una comparación entre pares utilizando el test de Tukey con un Intervalo de confianza de 95% para determinar los grupos homogéneos.

Se realizó un análisis de las características bacteriologías de la leche obtenida y con los resultados se realizó, de nuevo, un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significación de 0,05.

C. Análisis Bacteriológico:

- a. Recuento de gérmenes aerobios totales (UFC/ml): se efectuó el recuento en placas (profundidad), utilizando Agar Plate Count (PCA). Incubación: 48 h a 32 °C.

- b. Recuento de Clostridium sp (NMP/ml): (Método Weirzirl modificado por Annibaldi). Método de Número Más Probable (NMP).

4.2. Resultados

A continuación se exponen los resultados de los diferentes parámetros analizados y los grupos homogéneos establecidos por los ANOVAS realizados en los casos en que se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tablas 32 a 69). Estos resultados se comentan en conjunto en el último apartado de esta sección.

4.2.1 Análisis de la variación del pH de la leche en función de la alimentación.

Tabla 32: Valores de pH de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO	SMP	SMP + PC	SPC
6,75	6,9	6,85	6,72
6,77	6,88	6,95	6,72
6,75	6,84	6,88	6,95
6,73	6,7		6,79
6,6	6,6	6,67	6,78
6,65	6,64	6,74	6,87
6,69	6,73	6,75	6,74
6,7	6,64	6,75	6,85

Tabla 33: Valores de pH de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO	SMP	SMP + PC	SPC
6,66	6,63	6,7	6,76
6,65	6,81	6,69	6,77
6,68	6,65	6,79	6,95
6,63	6,66	6,76	6,73
6,55	6,56	6,57	6,71
6,6	6,6	6,63	6,76
6,64	6,6	6,64	6,72

6,65	6,61	6,6	6,79
------	------	-----	------

Tabla 34: Valores de pH de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO	SMP+PC	SMP + BL	SMP	SPC
6,78	6,88	6,86	6,76	6,79
6,8	6,85	6,86	6,73	6,8
6,9	6,9	6,74		6,83
6,83	6,8		6,82	6,76
		6,79	6,75	6,76
6,7	6,8	6,79	6,72	6,75
6,79	6,82	6,8	6,69	6,83
6,69	6,74	6,79	6,67	6,72

Tabla 35: Valores de pH de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO	SMP+PC	SMP + BL	SMP	SPC
6,73	6,74	6,83	6,86	6,84
6,75	6,72	6,84	6,76	6,75
6,78	6,8	6,88		6,84
6,71	6,73	6,83	6,78	6,83
		6,84	6,75	6,79
6,69	6,75	6,77	6,81	6,79
6,71	6,73	6,71	6,82	6,83
6,69	6,7	6,72	6,82	6,77

El ANOVA realizado con los valores de pH de la leche procedente de la 8 vacas con el factor tipo de alimentación, para cada Ensayo y turno de ordeño, mostró diferencias estadísticamente significativas ($\alpha > 0,05$) en el Ensayo I turno de tarde ($p=0,0011$), Ensayo II turno de mañana ($p=0,033$) y Ensayo II turno tarde ($p=0,0006$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el Ensayo I turno mañana ($p=0,125$).

La Tabla 36 muestra los grupos homogéneos resultantes del Test de comparaciones múltiples de Tukey realizado con los resultados de los Ensayos y turnos de ordeño donde hubo diferencias estadísticamente significativas en los valores de pH de la leche.

Tabla 36: Grupos homogéneos en cuanto al pH de la leche resultantes del test de comparaciones múltiples

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
I	Tarde	0,0011	A) SMO, SMP, SMP+PC B) SPC
II	Mañana	0,033	A) SMO, SMP+PC, SMP+BL, SPC B) SMO, SMP+BL, SMP, SPC C) SMO, SMP+PC, SMP+BL, SMP, SPC
II	Tarde	0,0006	A) SMO, SMP+PC B) SMO, SMP+PC, SMP C) SMP+BL, SMP+PC, SMP, SPC D) SMP+BL, SMP, SPC

4.2.2 Análisis de la variación del descenso crioscópico de la leche en función de la alimentación.

Tabla 37: Valores del descenso crioscópico de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
-0,525	-0,525	-0,522	-0,522	-0,511
-0,529	-0,519	-0,521	-0,599	-0,521
-0,518	-0,528	-0,53	-0,527	-0,505
-0,523	-0,522	-0,521	-0,497	-0,516
-0,511	-0,534	-0,506	-0,53	-0,521
-0,512	-0,5	-0,527	-0,522	-0,5
-0,521	-0,513	-0,531	-0,528	-0,513
-0,518		-0,527	-0,506	-0,504

Tabla 38: Valores del descenso crioscópico de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
-0,525	-0,514	-0,52	-0,524	-0,509
-0,526	-0,522	-0,517	-0,506	-0,517
-0,524	-0,515	-0,518	-0,505	-0,51
-0,525	-0,518	-0,536	-0,527	-0,514
-0,519	-0,525	-0,531	-0,537	-0,511
-0,522	-0,521	-0,515	-0,515	-0,507
-0,523	-0,518	-0,525	-0,526	-0,501
-0,526	-0,531	-0,515		-0,511

Tabla 39: Valores del descenso crioscópico de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
-0,509	-0,512	-0,521	-0,524	-0,526
-0,517	-0,523	-0,515	-0,519	-0,528
-0,516	-0,519	-0,519	-0,527	-0,528
-0,514	-0,511	-0,52	-0,521	-0,526
-0,517	-0,517	-0,521	-0,52	-0,528
-0,516	-0,519	-0,512	-0,527	-0,534
-0,523	-0,523	-0,515	-0,526	-0,534
			-0,53	-0,531

Tabla 40: Valores del descenso crioscópico de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
-0,516	-0,52	-0,513	-0,523	-0,533
-0,52	-0,513	-0,522	-0,517	-0,541
-0,521	-0,523	-0,525	-0,536	-0,537
-0,522	-0,515	-0,516	-0,522	-0,541
-0,513	-0,519	-0,52	-0,528	-0,534
-0,521	-0,519	-0,517	-0,518	-0,543
-0,523	-0,523	-0,506	-0,528	-0,54

		-0,519	-0,521	-0,53
--	--	--------	--------	-------

En el Ensayo I turno de mañana no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,29$), que si se observaron en el resto de los ensayos ($\alpha>0,05$). En la tabla siguiente se presentan los grupos homogéneos resultantes aplicando el Test de Tukey con un intervalo de confianza del 95%.

Tabla 41: Grupos Homogéneos resultantes del test de comparaciones múltiples establecidos para el descenso crioscópico.

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
I	Tarde	0,004	A) SMO, SMP, SMP+BL B) SPC
II	Mañana	< 0,0001	A) SMO, SMP+PC, SMP+BL B) SMP, SPC
II	Tarde	< 0,0001	A) SMO, SMP+BL, SMP+PC, SMP B) SPC

4.2.3 Análisis de la variación de la acidez Dornic de la leche en función de la alimentación.

Tabla 42: Valores de Acidez Dornic de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
15	11	14,5	14	12,5
15,5	12	14	12	12
14,5	12,5	14	12	10
16,5	16,5	17	15	13,5
16,5	17	15,5	13,5	10,5
18	16,5	15,5	14,5	12,5
16	15	15,5	13	12
15,5	15	15,5		12

Tabla 43: Valores de Acidez Dornic de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
16,5	15,5	15,5	15	14
18	16	15	14	13,5
17	16,5	16	13,5	11
19	17	17	13,5	15
18	17	17	16	13,5
18,5	18	18	16	14
15,5	17	16,5	15	12,5
16,5	16,5	15,5	16	12

Tabla 44: Valores de Acidez Dornic de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
16	16,5	16,5	13	12,5
16,5	16	17,5	15,5	14,5
12,5	15,5	17,5	12,5	12,5
14,5	16	18	14,5	13,5
17,5	17	16	15,5	14
16,5	15,5	15,5	15,5	15
18,5	17	18	16,5	14
			16	17,5

Tabla 45: Valores de Acidez Dornic de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
16,5	15	15	13	13
17,5	17	15	15	17
17	14	15,5	9	13
18	17,5	16	16	14,5
18	17	17	16	15,5
20	17	15,5	16	15
20	17,5	17,5	15	16

		17,5	16,5	17
--	--	------	------	----

En ambos ensayos se observaron diferencias estadísticamente significativas para un $\alpha > 0,05$. En la siguiente tabla se presentan los grupos homogéneos para cada turno.

Tabla 46: Grupos homogéneos en cuanto a acidez Dornic resultantes del test de comparaciones múltiples

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
I	Mañana	< 0,0001	A) SMO, SMP, SMP+BL B) SMO, SMP, SMP+BL, SMP+PC C) SMP, SMP+BL, SMP+PC, SPC D) SMP+PC, SPC
I	Tarde	< 0,0001	A) SMO, SMP, SMP+BL B) SMO, SMP, SMP+BL, SMP+PC C) SMP+BL, SMP+PC D) SPC
II	Mañana	0,004	A) SMO, SMP+PC, SMP+BL B) SMO, SMP+PC, SMP, SPC
II	Tarde	0,0027	A) SMO, SMP+PC B) SMP, SMP+BL, SMP+PC, SPC

4.2.4. Análisis de la variación del contenido proteico de la leche en función de la alimentación.

Tabla 47: Valores del contenido proteico de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP+BL (E1)	SMP (E1)	SMP+PC (E1)	SPC (E1)
2,86	2,97	2,95	3,31	3,01
2,92	3,23	3,14	2,69	2,83
2,73	3,01	2,92	2,64	2,6
3,12	3,25	3,26	3,25	3,27
2,8	2,75	3,12	2,99	2,91
3,22	3,3	3,49	3,54	3,42

2,98	3,17	2,97	3,05	2,71
3,22	2,99	2,76	2,92	2,86

Tabla 48: Valores del contenido proteico de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP+BL (E1)	SMP (E1)	SMP+PC (E1)	SPC (E1)
2,96	2,89	2,97	3	3,03
3,34	3,18	3,26	2,82	2,64
2,92	2,84	2,83	2,5	2,56
3,38	3,58	3,29	3,7	3,15
3,12	2,88	2,94	3,65	2,87
3,44	3,43	3,28	3,52	3,5
2,91	3,24	3,22	2,93	2,67
2,93	2,94	2,95	2,95	2,74

Tabla 49: Valores del contenido proteico de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SPC (E2)
2,67	2,66	2,82	2,84
2,84	2,89	2,87	3,13
2,37	2,62	2,49	2,69
2,53	2,9	2,72	2,62
2,54	2,7	2,74	2,7
2,75	2,87	2,67	2,47
2,76	2,69	3,13	3,28

Tabla 50: Valores del contenido proteico de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SPC (E2)
2,52	2,66	2,69	3,02
2,86	2,84	3,04	3,28
2,39	2,68	2,52	2,8
2,74	2,9	2,93	3,02
2,51	2,69	2,96	3,08
2,83	2,88	2,72	2,96
2,94	2,79	2,58	3,02

		3,11	3,34
--	--	------	------

En ambos turnos del Ensayo I no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios para un $\alpha > 0,05$ (turno mañana $p=0,75$ y turno tarde $p=0,47$). En el Ensayo II, tampoco se detectaron diferencias significativas en el turno de mañana ($p=0,39$), mientras que si las hubo en el turno de tarde ($p=0,003$). En la siguiente tabla se presentan los grupos homogéneos.

Tabla 51: Grupos homogéneos de contenido protéico resultantes del test de comparaciones múltiples

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
II	Tarde	0,003	A) SMO, SMP+PC, SMP+BL B) SMO, SPC, SMP+BL, SMP+PC C) SMP+BL, SPC

4.2.5. Análisis de la variación del contenido de grasa butirosa de la leche en función de la alimentación.

Tabla 52: Valores del contenido de grasa butirosa de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP + BL (E1)	SMP (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
2,2	2,7	0,9	2,9	3,6
3,2	3,7	2,2	1,1	1,7
3	2	2,3	1,2	1,25
2,2	2,6	2,4	3,1	2,3
3,3	2,2	1,6	3,5	2,1
3	3,8	4,2	5,7	3,9
3,5	3,2	2,75	3,4	3,9
	3,1	2,9	4,4	3,4

Tabla 53: Valores del contenido de grasa butirosa de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
4,1	3,1	2,8	3,4	1,5
2,6	3,7	2,8	3,4	2,6
3,8	3,3	2,3	2	3,1
3,1	3,6	1,4	3,8	2,9
4	3,7	2,7	3	3
4,2	4,1	3,4	4,6	4,6
4,3	3,9	4,3	3,6	3,3
3,5	4,2	3	3	4,4

Tabla 54: Valores del contenido de grasa butirosa de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
2,8	1,5	2	3,45	4,2
3,2	3,4	3,6	3,1	3,6
3,1	2	3,2	3,7	4
2,3	2	3	2,7	4,4
1,7	1,7	2,6	3,85	4,3
3,6	3,4	3,6	2,5	3,2
4,2	4,05	4,4	2,1	4,4
			4,2	4,3

Tabla 55: Valores del contenido de grasa butirosa de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
3	4,2	2,5	2,9	2,2
3,7	3,3	1,3	3,6	3,6
4,9	3,6	3,6	3	3
2,9	4,3	3,2	3,3	2,1
3,4	3,8	3,6	2,6	1,7
4,4	3	4,2	2,7	2,8
	4,1	3,3	3,2	4,2

		3,8	4,6	
--	--	-----	-----	--

En el Ensayo I no se observaron diferencias significativas en el turno mañana ($p=0,67$) y turno tarde ($p=0,11$). En el Ensayo II se observaron diferencias significativas en el turno de mañana ($p=0,013$) pero no en el turno de tarde ($p=0,137$).

Tabla 56 :Grupos Homogéneos resultantes del test de comparaciones múltiples

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
II	Mañana	0,013	SMO, SMP+BL, SMP, SPC SMO, SMP+PC, SMP+BL, SMP

4.2.6. Análisis de la variación de los sólidos totales de la leche en función de la alimentación.

Tabla 57: Valores del contenido de sólidos totales de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
10,1	10,49	8,2	10,97	10,74
10,49	10,41	10,19	8,79	9,77
10,94	8,93	9,63	8,89	8,54
9,57	10,49	10,44	8,91	10,57
9,79	9,58	9,72	11,31	9,87
11,62	11,72	12,35	13,82	12,21
10,89	11,01	10,28	11,2	12,07
9,93	10,62	10,44	11,87	11,32

Tabla 58: Valores del contenido de sólidos totales de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
12,29	10,33	10,85	11,6	10,08
11,08	11,68	11,11	11,3	10,08
11,67	10,98	10	9,84	10,44
11,53	11,57	9,48	12,32	10,5
11,86	10,18	10,64	10,92	11,21
12,93	12,11	11,34	13,08	13,3

12,67	12,09	11,88	11,62	11,07
	11,57	11,25	10,72	14,49

Tabla 59: Valores del contenido de sólidos totales de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
11,05	9,67	9,75	11,07	11,81
11,55	11,59	11,83	11,92	12,08
10,37	9,62	11,67	10,98	11,54
10,58	10,08	11,71	11,52	12,33
9,88	9,56	11	11,06	12,58
12	11,58	11,83	10,83	12,02
12,48	12,4	12,71	11,74	12,48
			12,49	12,79

Tabla 60: Valores del contenido de sólidos totales de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
10,9	11,65	10,15	10,55	10,19
12,06	11,53	10,77	11,63	10,84
13,31	11,56	11,62	11,73	11,21
12,75	12,79	12,34	10,74	10,86
10,35	11,13	11,94	12,58	10,21
12,01	11,17	10,87	10,75	11,27
12,8	12,54	12,7	10,28	12,8
			13,35	11,25

En el Ensayo I no hubo diferencias significativas en el turno de mañana ($p=0,89$) ni en el de tarde ($p=0,30$). Lo mismo ocurrió en el Ensayo II ($p=0,017$ y $p=0,37$, respectivamente).

Tabla 61: Grupos homogéneos en cuanto a contenido de sólidos totales resultantes del test de comparaciones múltiples

Ensayo	Turno	P	Grupos Homogéneos
II	Mañana	0,017	SMO, SMP+BL, SMP, SPC

			SMO, SMP+PC, SMP+BL, SMP
--	--	--	-----------------------------

4.2.7. Análisis de la variación de los sólidos no grasos de la leche en función de la alimentación.

Tabla 62: Valores del contenido de sólidos no grasos de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
7,9	7,79	7,3	8,07	7,14
7,29	6,71	7,99	7,69	8,07
s/d	6,93	7,33	7,69	7,29
6,57	7,89	8,04	5,81	8,27
7,59	7,38	8,12	7,83	7,77
8,32	7,92	8,15	8,12	8,31
7,89	7,81	7,53	7,8	8,17
6,43	7,52	7,54	7,47	7,92

Tabla 63: Valores del contenido de sólidos no grasos de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo I.

SMO (E1)	SMP (E1)	SMP + BL (E1)	SMP + PC (E1)	SPC (E1)
8,19	7,23	8,05	8,2	8,58
8,48	8,5	8,31	7,9	7,84
7,87	8,14	7,7	7,84	7,4
8,43	7,97	8,08	8,52	8,31
7,86	7,48	7,94	7,92	7,62
8,73	8,01	7,94	8,48	8,7
8,37	8,19	7,58	8,02	8,7
	7,37	8,25	7,72	10,09

Tabla 64: Valores del contenido de sólidos no grasos de la leche procedente del turno de mañana de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
8,25	8,17	7,75	7,62	7,66
8,35	8,19	8,23	8,82	8,48
7,27	7,62	8,47	7,28	7,54
8,28	8,08	8,71	8,82	7,93
8,18	7,86	8,4	7,21	8,28
8,4	8,18	8,23	8,83	8,82
8,28	8,35	8,31	9,64	8,11
			8,29	8,49

Tabla 65: Valores del contenido de sólidos no grasos de la leche procedente del turno de tarde de las vacas sometidas a diferente alimentación durante el Ensayo II.

SMO (E2)	SMP+PC (E2)	SMP + BL (E2)	SMP (E2)	SPC (E2)
7,9	7,45	7,65	7,65	8,04
8,36	8,23	7,17	8,03	7,66
7,85	7,96	8,42	8,73	7,86
7,45	8,49	8,74	7,44	8,81
8,61	7,33	7,74	9,98	8,51
8,4	8,17	7,57	8,05	10
	8,44	8,27	7,08	7,05
			8,75	

En ambos Ensayos no se observaron, en ningún caso, diferencias estadísticamente significativas para el grupo de muestras correspondientes a los ensayos: I mañana ($p=0,51$), I tarde ($p=0,19$), II mañana ($p=0,86$) y II tarde ($p=0,89$).

4.2.8 Calidad Bacteriológica de la leche producida

Tabla 66: Ensayo I , Clostridium sp [NMP / ml]

Ensayo I Clostridium sp [NMP / ml]				
Silo de maíz óptimo	Silo maíz pasado + pulpa de citrus	Silo maíz pasado + bact. Lácticas.	Silo de maíz pasado	Silo de pulpa de citrus
225.000	6.950.000	450.000	29.000	<1.000
17.500	24.000	305.000	12.100	<1.000
6.400	1.125.000	12.100	43.000	<1.000
	146.500	29.000	11.200	<1.000
		119.000	12.100	<1.000

Tabla 67: Ensayo II , Clostridium sp [NMP / ml]

Ensayo II Clostridium sp [NMP / ml]				
silo de maíz óptimo	silo de maíz pasado + pulpa de citrus	silo de maíz pasado + bacterias lácticas	silo de maíz pasado	silo de pulpa de citrus
275.000	27.000	3.000	2.000	3,6
305.000	6.000	2.000	8.000	97
680.000	195.000	122.000	6.250.000	6,4
305.000	34.000	3.350.000	7.800.000	19
570.000	305.000	7.800.000	1.800.000	6,4

No se observaron diferencias estadísticamente significativas para el grupo de muestras correspondientes a los ensayos I (p=0,19) y al ensayo II (p=0,12).

Tabla 68: Ensayo I , Gérmenes aerobios totales Leche [UFC / ml]

Ensayo I: Gérmenes aerobios totales Leche [UFC / ml]			
Silo maíz pasado + pulpa de citrus	Silo maíz pasado + bact. Lácticas.	Silo de maíz pasado	Silo de pulpa de citrus
110	110000	150	<1000
4200000	470000000	170000000	<1000
530000	170000000	50000	<1000
90000	190000000	600000	<1000
	70000	130000000	<1000

Tabla 69: Ensayo II , Gérmenes aerobios totales Leche [UFC / ml]

Ensayo II: Gérmenes aerobios totales Leche [UFC / ml]				
siló de maíz óptimo	siló de maíz pasado + pulpa de citrus	siló de maíz pasado + bacterias lácticas	siló de maíz pasado	siló de pulpa de citrus
46.000	6.000.000	250.000	105.000	100
170.000	112.000.000	100.000	22.000	100
170.000	1.800.000	120.000	52.000	160
4.800.000	270.000	2.300.000	210.000	180
2.300.000	420.000	1.080.000	1800	100

En la comparación por grupos aplicando el test tukey con CI 95, no se observaron diferencias significativas para cada tratamiento. Ensayo I ($p=0,1$) y Ensayo II ($p=0,36$)

4.2.9 Consideraciones globales.

En base a los resultados anteriores parece que, de una forma general, la alimentación de las vacas con SPC da lugar a leche con un punto crioscópico más cercano a 0 °C, con menor acidez Dornic y con menor contenido en proteínas. El resto de alimentaciones suministradas se combinan entre ellas de forma variable para conseguir el mismo efecto en cuanto al aumento o disminución de las propiedades analizadas, de manera que la elección de una u otra podrá hacerse en función de las características de la leche que se desee obtener teniendo en cuenta su posterior procesado.

V.Capítulo: Influencia de las características físicoquímicas y bacteriológicas de la leche en la calidad de los quesos

En este Capítulo se presentan la metodología empleada y los resultados obtenidos en la fabricación de quesos de pasta dura, con la leche proveniente de los Ensayos descritos en el Capítulo anterior.

5.1. Metodología

5.1.1. Elaboración de quesos de pasta dura

Las elaboraciones queseras se realizaron empleando la tecnología convencional para fabricación de queso Reggianito Argentino (Gallino, 1994), obteniéndose dos quesos de un peso aproximado a 6,0-6,5 kg cada uno, por cada tratamiento.

Los pasos seguidos en cada elaboración fueron los siguientes:

- a. **Fermento:** en todos los casos se usó como fermento una mezcla de cepas seleccionadas de *Lactobacillus helveticus*, identificadas como Lh SF 133, Lh SF 138 y Lh SF 209, las cuales fueron aisladas y purificadas a partir de “sueros fermento” provenientes de plantas queseras de la zona. Las mismas fueron desarrolladas individualmente en leche en polvo reconstituida, estéril, y se mezclaron en el momento de su inoculación a la leche a elaborar. La cantidad de fermento (mezcla) empleada fue la necesaria para elevar 4º Dornic la acidez de la leche, siendo la proporción de cada cepa determinada en base a su correspondiente nivel de acidez alcanzado. En el momento de uso, las tres cepas exhibieron valores de pH en el orden de $3,3 \pm 0,05$, con una acidez promedio de $190 \pm 10^\circ \text{D}$.
- b. **Pasteurización:** el saneamiento de la leche se realizó mediante un tratamiento a 65°C durante 20 min, llevado a cabo en la tina quesera.
- c. **Reposición de cloruro de calcio:** luego de la pasteurización se adicionó 0,02 % de CaCl_2
- d. **Coagulante:** la coagulación de la leche se produjo con coagulante de bovino adulto 230 IMCU mL-I, Naturen (Chr. Hansen Argentina S.A.), compuesto por una mezcla de 85 % de pepsina y 15% de renina bovinas, en la dosis de 28 mL para 100 L.
- e. **Cocción de la pasta:** una vez alcanzado el tamaño de grano adecuado, se calentó hasta 45°C a razón de $1^\circ \text{C}/\text{min}$. Logrado el nivel de humedad deseado, la temperatura se elevó rápidamente hasta 51°C , dándose por finalizada la cocción.

- f. **Prensado:** luego de ser colocados en los moldes, los quesos se mantuvieron bajo presión de aproximadamente 0,3 kg/cm² durante 24 horas.
- g. **Salado:** los quesos fueron salados por inmersión en salmuera al 20 % (w/w) y pH 5,4 a 12°C, a razón de un día por kg de queso.
- h. **Maduración:** la maduración se realizó en cámara a 12°C y 80 % de humedad relativa, por un período de 6 meses. Se realizó un seguimiento visual de los mismos.

5.2.2. Evaluación sensorial

Se aplicó un Análisis Descriptivo Cuantitativo utilizando escalas de 10 cm no estructuradas, ancladas en los extremos.

Los atributos y las escalas, elegidos por consenso de los evaluadores, fueron:

- Aroma (1= suave – 9 = intenso)
- Color (1= tenue – 9 = muy intenso);
- Aspecto de la masa y corte granular (1 = malo – 9 = muy bueno)
- Fracturabilidad (1 = mucha – 9 = poca o nada)
- Sensación al paladar (1 = áspero, arenoso o pastoso – 9 = no áspero, no arenoso o no pastoso)
- Flavor genuino (1 = muy suave – 9 = muy intenso)
- Gusto salado (1 = leve – 9 muy intenso)
- Flavor residual (1 = suave – 9 = muy intenso)

La evaluación sensorial de los caracteres organolépticos de los quesos estuvo a cargo de un plantel de siete jueces entrenados especialmente con la metodología propuesta por Costell y Durán (1982).

5.2. Resultados y discusión

En la Tabla 70 se presenta la evaluación de los distintos atributos organolépticos de las muestras evaluadas por los jueces en el Ensayo I, recordando que muestras de queso Q1 es la Testigo y corresponde a Silo Maíz Optimo (SMO), muestras de queso Q2 es de Silo Maíz Pasado+Bacterias Lácticas (SMP+BL), muestra Q3 es de Silo Maíz Pasado (SMP), Q4 es Silo Maíz Pasado+Pulpa de Citrus (SMP+PC) y Q5 corresponde a Silo de Pulpa de Citrus (SPC).

Tabla 70: Valoración media de los atributos organolépticos de las muestras de queso evaluadas en el Ensayo I.

Atributos evaluados	Alimentación				
	SMO	SMP +BL	SMP	SMP+PC	SPC
Denominación de las muestras de queso	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5
Aroma	6,89	6,19	5,1	7,09	7,69
Color	6,28	5,11	5,51	6,48	3,76
Corte Granular	7,61	7,11	7,23	7,45	7,27
Fracturabilidad	8,14	7,76	7,66	7,78	6,28
Sensación al Paladar	7,69	6,97	7,38	7,21	5,92
Flavor Genuino	7,94	7,65	7,65	7,1	6,5
Gusto Salado	5,43	5,47	6,64	6,18	6,26
Flavor residual	2,16	2,19	2,82	3,05	4,49

Tabla 71: Grupos homogéneos en cuanto a los diferentes atributos organolépticos evaluados en los quesos resultantes del test de comparaciones múltiples realizado con los resultados del Ensayo I.

Atributos evaluados	P	Grupos Homogéneos
Aroma	0,0001	A: SMO; SMP+BL;
		B: SMO; SMP+PC
		C: SMO; SMP+PC; SPC
		D: SMP
Color	0,0001	A: SMP+BL; SMP
		B: SMO; SMP
		C: SMP+PC
		D: SPC
Aspecto de la masa	0,6	No hay diferencias significativas
Corte Granular	0,35	No hay diferencias significativas
Fracturabilidad	0,0001	A: SMO; SMP+BL; SMP+PC;
		B: SPC
Sensación al Paladar	0,0001	A: SPC
		B: SMP+BL; SMP; SMP+PC
		C: SMO; SMP; SMP+PC
Flavor Genuino	0,0006	A: SMP+PC; SPC
		B: SMP+BL; SMP; SMP+PC
		C: SMP+BL; SMP; SMO
Gusto Salado	0,0022	A: SMO; SMP+BL
		B: SMP+PC; SPC
		C: SMP; SMP+PC; SPC
Flavor residual	0,848	No hay diferencias significativas

Del análisis de la tabla anterior, se observa que no hubo diferencias significativas para los atributos Aspecto de la masa, Corte Granular, Flavor residual.

Para el atributo Aroma, se observa que los quesos obtenidos con leche proveniente de los tratamientos de SMO, SPC y SPM+PC, pertenecen a un mismo grupo homogéneo. El agregado de pulpa de citrus intensifica el aroma, el tratamiento de SMP sin agregado alguno presenta un aroma más suave.

En el atributo Color, se observa que los quesos elaborados con leche provenientes con tratamientos en los que esta presente la pulpa de citrus difieren significativamente de los que no contienen. En el caso de los SPC se obtiene el color más tenue e intensificándose en el SMP+PC.

Se observa que los quesos obtenidos del tratamiento SPC presentan mayor grado de Fracturabilidad, Sensación al paladar más áspero o arenoso; en Flavor Genuino más suave que el resto de los quesos elaborados con otros tratamientos.

En el atributo Gusto Salado, los quesos elaborados con leche de los tratamientos donde está presente la pulpa de citrus constituyen grupos homogéneos diferentes a los tratamientos donde no está presente. En los quesos provenientes de los tratamientos SMO y SMP+BL tienen menor Gusto Salado.

En la Tabla 72, se presenta la evaluación de los distintos atributos organolépticos, de las muestras evaluadas por los jueces en el Ensayo II.

Tabla 72: Valoración de los atributos organolépticos de las muestras de queso evaluadas en el ensayo II.

Atributos evaluados	Alimentación Vacas				
	SMO	SMP+PC	SMP+BL	SMP	SPC
Denominación de las muestras de queso	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5
Aroma	5,15	6,1	5,75	5,11	5,34
Color	5,14	6,22	5,91	5,32	6,07
Corte Granular	7,67	7,47	7,69	7,71	7,94
Fracturabilidad	8,11	7,95	7,91	8,27	8,09
Sensación al Paladar	7,85	7,42	7,64	7,7	7,74
Flavor Genuino	5,74	6,54	5,79	5,04	5,3
Gusto Salado	5,43	5,62	5,5	5,56	5,73
Flavor residual	2,86	4,69	4,22	3,84	4,3

Tabla 73: Grupos homogéneos en cuanto a los diferentes atributos organolépticos evaluados en los quesos resultantes del test de comparaciones múltiples realizado con los resultados del Ensayo II.

Atributos evaluados	P	Grupos Homogéneos
Aroma	0,0145	A: SMO; SMP+BL; SMP; SPC; B: SMP+PC; SMP+BL
Color	0,0089	A: SMO; SMP; B: SMP+BL; SMP; C: SMP+PC; SMP+BL; SPC;
Aspecto de la masa	0,98	No hay diferencias significativas
Corte Granular	0,94	No hay diferencias significativas
Fracturabilidad	0,9665	No hay diferencias significativas
Sensación al Paladar	0,9395	No hay diferencias significativas
Flavor Genuino	0,0537	A: SMO; SMP+BL; SMP; SPC; B: SMO; SMP+PC; SMP+BL;
Gusto Salado	0,86	No hay diferencias significativas
Flavor residual	0,9	No hay diferencias significativas

En la mayoría de los atributos no se observan diferencias significativas para cada uno de los tratamientos. Sólo se observaron diferencias significativas para los atributos Aroma, Color y Flavor Genuino. Del análisis de los distintos grupos homogéneos para estos atributos, podemos observar que los quesos obtenidos con la leche del tratamiento con Silo de Pulpa de Citrus (SPC) no tienen diferencias significativas en los atributos Aroma y Flavor con los obtenidos con la leche del tratamiento con Silo de Maíz Optimo (SMO). Para el atributo Color, los quesos obtenidos con la leche proveniente de los tratamientos SPC y SMO presentan diferencias significativas.

VI. Conclusiones

Características de los silos de maíz y/o pulpa de citrus.

1. Los valores de pH de todos los silajes estuvieron en el intervalo de valores característicos para procesos de fermentación de silos de buena calidad. El agregado de aditivos como bacterias lácticas y pulpa de citrus no incidieron de manera significativa en el pH de los diferentes silajes.
2. En los silajes de pulpa de citrus se obtuvieron los valores más elevados de energía metabolizable, valor proteico y digestibilidad de la materia orgánica y los valores más bajos de materia seca.
3. En los silos de maíces pasados, se elevó la energía metabolizable y la digestibilidad de la materia orgánica, con la adición de bacterias lácticas específicas y residuos de pulpa de citrus. Además, el agregado de pulpa de citrus a estos silos, disminuyó el contenido de materia seca de la masa total.
4. El agregado de aditivos, como bacterias lácticas y residuos de pulpa de citrus a los silos de maíces pasados, elevó la energía metabolizable y la digestibilidad de la materia orgánica. El agregado de pulpa de citrus a los silos de maíz pasado, disminuyó el contenido de materia seca.
5. Todos los silajes a base de maíz obtuvieron clasificaciones de pésima a muy mala calidad microbiológica. La calidad de estos silajes debe estar afectada por los procedimientos de confección de los mismos, como por ejemplo, en el transporte de esporas por las ruedas del tractor, de la tierra a la masa del material ensilado. La adición de pulpa de citrus mejora significativamente la calidad microbiológica de los silos.
6. De lo anteriormente descrito puede concluirse que el agregado de pulpa de citrus permite mejorar algunos aspectos de la calidad del silo de maíz "pasado", como es la energía metabolizable, la digestibilidad del mismo y la calidad microbiológica, disminuyendo algo el contenido de materia seca. Esto permite recomendar su adición. Para futuros trabajos de investigación, quedaría determinar cual es la proporción óptima de pulpa de citrus en la construcción de silos de maíz "pasados", para obtener el máximo de energía metabolizable y digestibilidad, sin afectar significativamente el contenido de materia seca. Por otro lado quedarían los mismos interrogantes para investigar que sucedería cuando se agrega en pequeñas proporciones a silos de maíz en estado óptimo de corte.

Características de la leche

7. La alimentación de las vacas afecta de forma significativa a las características de la leche en sus parámetros físicos: pH, acidez Dornic y punto crioscópico. La diferencia más marcada se establece cuando los silos están formulados a base de pulpa de citrus, lo que da lugar a leche con un punto crioscópico más cercano a 0 °C, con menor acidez Dornic y con pH más cercano a la neutralidad pero siempre dentro de los intervalos definidos como normales por el Código Alimentario Argentino.
8. Para la elaboración de quesos, la leche de mejor calidad desde el punto de vista composicional sería aquella que contenga mayor contenido de: sólidos totales, sólidos no grasos y proteínas. En nuestras observaciones se encontró que esta leche se lograba con la alimentación de silos de pulpa de citrus.

Características de los Quesos Reggianito

9. La alimentación de las vacas no afecta de forma significativa a los atributos Corte Granular y Flavor residual de los quesos.
10. Los silos de pulpa de citrus no alteran el Aroma de los quesos, el cual no tiene diferencias significativas con los quesos obtenidos con leche proveniente de los silos de maíz óptimo.
11. Los quesos que se obtienen con leche proveniente de los silos de pulpa de citrus tienen un color más tenue.

Conclusión final

El uso de la pulpa de citrus en nuestra región permite suplir el déficit de otros recursos forrajeros de reserva como son el silo de maíz, permitiendo producir leche de adecuada calidad que tenga como fin la producción de quesos, no alterando los atributos sensoriales de los mismos.

VII. Índice Bibliográfico

ALAIS, Ch. (1985). "Ciencia de la Leche". Compañía Editorial Continental S.A.- Barcelona. España.

AMMERMAN, C.; HENRY, P. (1968). "Citrus and vegetable products for ruminant animals". Department of Animal Science. University of Florida, Gainesville 32611.

ARBABI, S.; GHOORCHI, T.; NASERIAN, A. (2008) "The effect of Dried Citrus Pulp, Dried Beet Sugar Pulp and Wheat Straw as Silage Additives on By-Products Of Orange Silage". Asian Journal of Animal Sciences 2(2): 35-42.

ARAVANTINOSZAFIRIS, G.; TZIA, C.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. (1994). "Fermentation of orange processing wastes for citric acid production" J.Sci. Food Agr 65:117-120

ASHBELL, G.; LISKER, N. (1988). "Aerobic deterioration in maize silage stored in bunker silo under farm condition in subtropical climate". J. Sci. Food Agric. 45:307-315.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z. (2000). "Silage from tropical cereals and forage crops". FAO Plant Production and Protection Paper (161): 109-116. www.fao.org/AG/AGP/AGPC/gp/SILAGE/TEXT/Paper7.txt
FAO Electronic Conference on Tropical Silage

AYMAN NUNNEER ABDALLAH HEJAZY (2008) "Effect of Feeding Sesame Oil Cake on Performance and Cheese Quality of Anglo-Nubian Goats". Degree of Master in Animal Production, An-Najah National University

BAMPIDIS, V.; ROBINSON, P. (2006) "Citrus by-products as ruminant feeds: A review". Animal Feed Science and Technology 128:175–217

BAL, M.; COORS, J.; SHAVER, R. (1997) "Impact of the Maturity of Corn for Use as Silage in the Diets of Dairy Cows on Intake, Digestion, and Milk Production". J. Dairy Sci. 1997 80:2497-2503

BARBERIS, S. (2002) "Bromatología de la leche". Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.

BIANCHI, S. (1987) "Batteri lattici selezionati nell, insilato di mais: ripercussioni sullo stato sanitario e funzionale della manmella e sulla qualità del latte" - Centro Sperimentale del Latte - Milano. Italia.

BOSSI, M. (1987) "Clostridi, enterobacteri e flora lattica nelle feci" Instituto sperimentale lattiero caseario - Lodi. Italia.

BOTTAZZI, V. (1983) "Clostridi e fermentación butirriche dei formaggi. L'industria del latte." (Anno XIX- N.3. Luglio-Settembre):3-26- Milano-Italia.

BRAGACHINI, M. ; CATTANI, P. ; NOGUERA, E. ; RAMIREZ, E. ; RUIZ, S. (1998) "Silaje de maíz y sorgo forrajero". Cuaderno de Actualización Técnica N° 2, ISSN-N°0329-1650. Segunda Edición. INTA-EEA Manfredi. Córdoba. Argentina.

BRUNO, A.; ROMERO, L.; GAGGIOTTI, M. (1996) - "Silaje de alfalfa" INTA-EEA Rafaela. Rafaela. Argentina.

BRUNO, O.; ROMERO, L.; DIAZ, M.; GAGGIOTTI, M. (1996) "Silaje de avena y trigo - Momento de corte" – INTA-EEA Rafaela. Rafaela. Argentina.

CAMASCHELLA, P.; ROTTIGNI, C.; TORCHIO, E.; GIROLETTI, A. (1987) "Caratteristiche chimiche e microbiologiche dell insilato preparato, con particolare riferimento agli sporigeni anaerobi". Centro Sperimentale del latte - Milano. Italia.

CASTILLO, A.; Gallardo, M. (1989). "Alimentos no tradicionales en ganado lechero. Consideraciones prácticas para su utilización". Información Para Extensión, Núm. 88 – INTA-EEA Rafaela. Rafaela. Argentina.

CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO - TOMO II - Técnicas de análisis. Edición 1998. Buenos Aires. Argentina.

COMERON, E.; ROMERO, L.; BRUNO, O.; DIAZ, C. (1996). "Utilización de forrajes conservados en los sistemas lecheros". INTA-EEA Rafaela. Rafaela. Argentina.

COUSSI, G. (1988). "Butiryques et fermentación butyrique". Dossiers Techniques Veterinaires. (Julliet): 75-96.- Francia.

DEGANO, L. (1987).- "Preparazioni e somministrazione alle bovine dell insilato di maíz trinciato aggiunto di batteri lattici selezionati" Instituto sperimentale lattiero caseario - Lodi. Italia.

DIAZ, M.; VICENTIN, J.; DI NUCCI, E.; PAVETTI, D. (1996) Trabajo final de graduación "Características fermentativas y de calidad de silaje de diferentes cultivares de maíz" UNER. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Pág. 12. Oro Verde. Entre Ríos. Argentina.

DI MARCO, O.; Aello, M. (2003). "Calidad nutritiva de la planta de maíz para silaje". Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias- UNM del P - EEA Balcarce-INTA). Balcarce. Argentina.

ETCHEVERS, F.; COLELLA, E.; SCREPIS, M.; GERARD, M.; LOPEZ, G.; ZIMMERMAN, L.; SCORCIAPINO, C.; MANCUSO, W.; VALLECILLO, M. (1995). "Identificación y análisis de los elementos mas asociados con la obtención de leche de calidad, en los Departamentos Paraná y Diamante de la Provincia de Entre Ríos". Facultad de Ciencias Agropecuarias-UNER.- Oro Verde. Entre Ríos. Argentina.

ETCHEVERS, F.; COLELLA, E.; SCREPIS, M.; ZIMMERMAN, L.; ERMACORA, O.; GERARD, M.; GALLI, S.; SGARBANTI, D.; SPAHN, E.; CHAJUD, A. (1987). "Relevamiento de las Características físico químicas y bacteriológicas de la leche cruda producida en la cuenca suroeste de la Provincia de Entre Ríos". Facultad de Ciencias Agropecuarias-UNER.- Oro Verde. Entre Ríos. Argentina

FERNANDEZ, H.; VILLAR, G.; GALLI, J.; GALEANO, A. (1991). "Programa Ración: Alimentación de la Vaca Lechera". Versión 4.0. Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias- UNM del P - EEA Balcarce-INTA). Balcarce. Argentina.

GAGGIOTTI, M. (1998). "Clostridios gasógenos en leche cruda". Jornadas Almast'98 – Calidad de leche y mastitis - Rafaela - Santa Fe, Argentina.

GAGGIOTTI, M.; ROMERO, L.; REINHEIMER, J.; CALVINHO, L.; WANZENRIED, R. (2.001). "Contaminación con esporos de clostridios gasógenos en forrajes conservados". 24º Congreso Argentino de Producción Animal, 19 al 21 de Septiembre de 2001. Rafaela. Argentina.

GAGGIOTTI, M.; ROMERO, L.; TAVERNA, M.; REINHEIMER, J.; QUAINO, O.; CALVINHO, L. (2001). "Niveles de contaminación por clostridios gasógenos en forrajes conservados". IX Congreso Argentino de Microbiología, 7 al 11 de Octubre de 2001. Buenos Aires.

GAGGIOTTI, M. (2003). "Los alimentos y su valor nutritivo". XX Curso Internacional de Producción Lechera. Tomo 2: Nutrición. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

GAGLIOSTRO, G. (1992). "Efecto de la nutrición sobre el contenido de proteínas en la leche". Revista Argentina de Producción Animal Vol. 12. N° 2. (AAPA). Balcarce. Argentina

GALLARDO, M.; GAGGIOTTI, M. et al. (2004). "Forrajes Conservados; una guía práctica para su utilización en producción lechera". ISBN 987-521-146-X primera edición. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

GALLINO, R.; ZAMBONI, E.; MEINARDI, C. (1986). "Maduración acelerada de quesos". Revista Argentina de Lactología - Año 1- N°2 págs.48 y sigs. Santa Fé. Argentina

GALLINO, R.; D'AMICO, E.; ZAMBONI, E. (1986). "Maduración de Quesos Duros: Evolución de los parámetros físico-químicos". V Jornadas Técnicas Lactocasearias. Santa Fe. Argentina

GARCIARENA, A.; HOFER, C. (1997). "Dinámica de digestión y ambiente ruminal generado por dietas con alto contenido de pulpa de citrus: Alimentación con subproductos en sistemas de producción de carne y leche" (182 p.), Jornada Anual de Difusión Técnica. EEA Concepción del Uruguay-INTA. 8 de agosto de 1997. Concepción del Uruguay. Argentina.

GARCIARENA, A.; ALMEIDA, E.; CAMINOS, E. (1996). "Evaluación de malta húmeda en producción de leche. Producción Animal, Subproductos de la industria cervecera". (65 p.). EEA Concepción del Uruguay-INTA. Concepción del Uruguay. Argentina.

GREGORET, R.; Gallardo, M. (2003). "Ensilajes: ¿porqué es importante el tamaño de picado?". Proyecto Regional de Lechería, Campaña de Forrajes Conservados 2003-2004. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

GREGORINI, P. (2006). "Silaje de planta entera de maíz: algunas consideraciones nutricionales". EEA Balcarce - INTA . Balcarce. Argentina.

GRASSER, L.; Fadel, J.; Garnett, I.; Depeters, E. (1995) "Quantity and Economic Importance of Nine Selected By-products Used in California Dairy Rations". J. Dairy Sci. 78: 962-971

GROSS, F. (1987). "Utilización de silaje de maíz en vacas lecheras, en pastoreo" Pág. 19. Boletín N° 117. EEA Balcarce-INTA. Balcarce. Argentina.

GONZALES MOLES, A.; BOZA, J.; AGUILERA, J. (1974). "Ensayos de nutrición con pulpa de limón en la alimentación del cerdo". Revista de Agroquímica y Tecnología de alimentos. Vol. 14. Buenos Aires. Argentina.

GOMEZ, B.; FERNÁNDEZ, M. (2003). "Estimación del valor nutricional de los insumos e ingesta de materia seca". Curso: Formulación de raciones para vacunos en lactación. EEA Balcarce-INTA. Balcarce. Argentina

HERON, S.; EDWARDS, L.; PHILLIPS, P. (1988). "The effects of inoculation, addition of glucose and mincing on fermentation and proteolysis in ryegrass ensiled in laboratory silos". Animal Feed Science and Technology.19:85-96

HIRIART LE-BERT. (1998).- "Ensilados. Procesamiento y Calidad" (INIA-Chile) Editorial Trillas- México.

HOFER, C.; POZZOLO, O.; GALLI, I. (1991). "Evaluación In-Vitro del silaje de pulpa de citrus para la alimentación de rumiantes". EEA Concepción del Uruguay-INTA. Entre Ríos. Argentina.

HOFER, C., MONJE, A., GARCIARENA, A. (1996). "Suplementación a terneras con pulpa de citrus y granos de sorgo". EEA Concepción del Uruguay-INTA. Entre Ríos. Argentina

KLEIN, F.; LANUZA, F.; NAVARRO, H. (1993). "Niveles de inclusión de ensilaje de maíz en la ración de vacas lecheras con parto de otoño". Agricultura Técnica (Chile) 53(2):118-125. Santiago. Chile.

KLIJN, N.; NIEUWENHOF, F.; HOOLWERF, J.; VAN DER WAALS, C.; WEERKAMP, A. (1995). "Identification of Clostridium tyrobutyricum as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification". Appl. Environ. Microbiol. 1995 61: 2919-2924

LABORATORIO SCOPE SA. (1998).- "Inoculante biológico para silaje". Cartilla Informativa "SILAL BIO. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina

LINN, J. (2003). "Energy in the 2001 Dairy NRC: Understanding the System". Department of Animal Science. University of Minnesota, St. Paul, Minnesota. En: Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference. College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, May 2003. Minnesota. USA.

LODI, R.; TODESCO, R. (1987). "Qualità microbiológica e fisico-chímica del latte prodotto". Centro per lo Studio Tecnologico, Bromatológico e Microbiológico del Latte CNR. - Milano - Italia.

LUNDEN PETTERSSON, K.; LINDGREN, S. (1990). "The influence of the carbohydrate fraction and additives quality". Grass and Forage Science 45, 223-233.

Mc DONALD, P.; HENDERSON, A.; HERON, S. (1991). "The biochemistry of silage". 2° edition. Chalcombe publications. 125-142. Marlow, UK.

MELO, O. (1998). "Avances en la alimentación de las vacas lecheras". Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Católica de Córdoba. Córdoba. Argentina.

MERRY, R.; BRAITHWAITE, G. (1987) "The effects of enzymes and inoculants on the chemical and microbiological silaje". Suppl. 70.

MERRY, R.; DAVIES, D.; BAKEWELL, E.; WILSON, F. (1995) "The effect of different additives on protein in silaje made from high and low sugar herbages". Esevier/INRA. ann Zootech 44. Suppl, 78.

MONTEJO, I.; LAMELA, L.; SANCHEZ, T.; LOPEZ, O. (2008). "Nota técnica: Producción de leche con ensilaje de hollejo de cítrico. Pastos y Forrajes", Vol. 31, No. 2

OUDE ELFERINK, S.; DRIEHUIS, F.; GOTTSCHAL, J.; SPOELSTRA, S. (2001) "Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación". Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos.

PASSADORE, R. (1997) "Evaluación de pulpa de citrus fresca ensilada". Trabajo final de graduación. Facultad de Ciencias Agropecuarias- UNER.- Oro Verde. Entre Ríos. Argentina.

REARTE, D. (1992) "Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles". EEA Balcarce-INTA. Balcarce. Argentina.

REINHEIMER, J.; SUAREZ, V.; BAILO, N.; ZALAZAR, C. (1997) "Fermentos naturales de suero utilizados en la elaboración de quesos duros". Revista Argentina de Lactología - Año VI - N° 9.- Santa Fe - Argentina.

RIBOLDI, F. ; ZECCONI, A. ; DEGANI, L. (1987). "Rilevamenti di tipo sanitario sulle bovine". Istituto Sperimentale Lattiero Caseario. Lodi. Italia.

ROMERO, L.; DI NUCCI, E.; DIAZ, M. (1998). "Características fermentativas y de calidad de silajes de diferentes cultivares de maíz, campaña 97/98." Datos no publicados de EEA Paraná-INTA. Paraná. Argentina.

ROMERO, L.; DIAZ, M.; BRUNO, O.; GIORDANO, J. (1996). "Silaje de granos con alta humedad". EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

ROMERO, L.; BRUNO, O.; CAMERON, E.; GAGGIOTTI, M. (1996). "Silaje de sorgo granífero. Efecto del momento de corte". EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

ROMERO, L.; ARONNA, S. (2003). "Siembra de maíz para silaje". Proyecto Regional de Lechería. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina

SCORINCI, H.; SIMONETTA, A. (1998). "Determinación de la evolución del Eh en quesos reelaborados untables contaminados con Clostridium sporogenes". Facultad Ingeniería Química. (UNL). Santa Fe . Argentina.

TAFFAREL, D. (1998). "Características fermentativas y de calidad de silajes de tres cultivares de maíz, con y sin agregado de bacterias

lácticas”. Trabajo Final de Graduación. Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER - Oro Verde, Entre Ríos. Argentina.

TAVERNA, M.; CALVINHO, L.; CANAVESIO, V.; NEGRI, L.; PÁEZ, R.; CHARLÓN, V.; CUATRIN, A. (2001) “Caracterización de la calidad higiénico sanitaria de la leche producida en la cuenca lechera central de la Argentina”. Anuario 2001. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

TAVERNA, M.; CHARLÓN, V.; CUATRIN, A.; GAGGIOTTI, M.; PÁEZ, R.; CHAVEZ, M. (2001) “Composición química de la leche producida en la cuenca lechera central de la Argentina”. Anuario 2001. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

TAVERNA, M.; CHAVEZ, M.; GAGGIOTTI, M.; CUATRIN, A.; CHARLÓN, V.; NEGRI, L.; PÁEZ, R. (2001) “Composición mineral de la leche producida en la cuenca lechera central de la Argentina” Anuario 2001. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

TAVERNA, M. ; COULON, J. (2000) “Calidad de la leche y de los quesos”. Editorial INTA. Buenos Aires. Argentina

TAVERNA, M. (2001) Revista Argentina Producción Animal. Volumen 21, Suplemento.1. Balcarce. Argentina

TAVERNA, M. (2002) “Composición química de la leche”. EEA Rafaela-INTA. Rafaela. Argentina.

THOMAS, P.; Morrison, I. (1981). “Ensilaje para la producción de leche”, Capítulo 2. Aspectos técnicos del proceso de ensilaje. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.

VASTA, V.; NUDDA, A.; CANNAS, A.; LANZA, M.; PRIOLO, A. (2008) “Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants”. Animal Feed Science and Technology. Vol. 147: 223–246.

VIVIANI ROSSI, E. ; GUTIERREZ, L. (2001) “Forrajes Conservados, Primera Parte. Henolajes Empaquetados: Entre el Heno y el Silaje”. Revista de Comunicaciones. EEA Valle Inferior de Río Negro-INTA. Vol.11:10-13. Río Negro. Argentina

VOLANIS M.; ZOIIOPOULOS P.; PANAGOU E.; TZERAKIS C. (2006). "Utilization of an ensiled citrus pulp mixture in the feeding of lactating dairy ewes". *Small Ruminant Research* 64:190–195

VOLANIS M., ZOIIOPOULOS P., TZERAKIS C. (2004). "Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep". *Small Ruminant Research* 53:15–21

ZAMBONI, E., GALLINO, R. (1994). "Racionalización y estudio de la tecnología del queso Reggianito Argentino. Aspectos tecnológicos, microbiológicos y físico-químicos". Centro de Investigaciones de la Industria Lechera- INTI. Buenos Aires. Argentina.