

Artículo de investigación

Effects of some production factors on the content of kappa-casein in the milk of cows from different herds in Risaralda (Colombia)

Efecto de algunos factores productivos sobre el contenido de kappa-caseína en leche de vacas de diferentes hatos en Risaralda (Colombia)

Efeito de alguns fatores produtivos sobre o conteúdo de kappa-caseína no leite de vacas de diferentes rebanhos no departamento de Risaralda na Colômbia

Luz Andrea Guevara-Garay¹ ✉ MVZ, Esp, MSc(c); [CvLAC](#), Juan Carlos Rincón Flórez¹ Zoot, MSc, PhD(c); [CvLAC](#), Felipe Llano Naranjo¹ MVZ; [CvLAC](#), Diego Alejandro Cuartas Castaño¹ MVZ

Fecha correspondencia:

Recibido: 29 de septiembre de 2015.
Aceptado: 27 de junio de 2016.

Forma de citar:

Guevara-Garay LA, Rincón Flórez JC, Llano Naranjo F, Cuartas Castaño DA. Efecto de algunos factores productivos sobre el contenido de kappa-caseína en leche de vacas de diferentes hatos en Risaralda (Colombia). Rev. CES Med. Zootec. 2016; Vol 11 (2): 42-50.

Open access

© Copyright

Creative commons

Éthics of publications

Peer review

Open Journal System

e-ISSN 1900-9607

DOI: <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.11.2.3>

[cesmvz.11.2.3](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.11.2.3)

Comparte



Abstract

K-casein is one of the most important milk proteins by their relationship to traits associated with the cheese production. Therefore, the aim of this study was to determine the relationship between some production traits and kappa casein content in the milk of cows in eight herds from Pereira, Risaralda. 48 milk samples from cows were analysed for k-casein content by polyacrylamide gel electrophoresis in one dimension (SDS-PAGE Triazine) and were taken the effect of the breed, the supplementation, calving number, days in milk and milk yield. The information was evaluated using a generalized linear model using R software with agricolae and car libraries (R Core Team). The mean of k-casein was 3.55 g/L and the coefficient of variation was 19.3%, the coefficient of variation for milk production was 40.3%. The traits evaluated was only significant ($p < 0.05$) the type of supplementation and. Was found, an inverse relation of k-casein with the number of calving, although it was not significant, this may be due to number of calving it is indicative of the age of the cow and the racial component of the generation.

Keywords: dairy Cattle, electrophoresis quantification, k-casein quantification.

Resumen

La k-caseína es una de las proteínas más importantes de la leche por su relación con diferentes características asociadas a la producción de quesos. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la relación entre algunas características productivas y el contenido de kappa caseína de la leche de vacas en ocho hatos del Municipio de Pereira, Risaralda. Para esto, se tomaron muestras de leche de 48 vacas de diferente tipo racial, las que se les determinó el contenido de k-caseína mediante electroforesis en gel de poliácridamida en una dimensión (Triacina SDS-PAGE) y se determinó el efecto que ejerce el grupo racial, el tipo de suplementa-

Sobre los autores:

1. Grupo de Investigación en Producción Pecuaria Sostenible (PESOS). Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Tecnológica de Pereira, Carrera 27 #10-02 Barrio Álamos, Pereira, Colombia.

ción, el número de parto, los días en lactancia, y el volumen de leche producido. La información fue evaluada mediante un modelo lineal generalizado, usando el software R mediante las librerías agricolae y car (R Core Team). Se encontró un valor medio de k-caseína de 3,55 g/L y un coeficiente de variación del 19,3%, el coeficiente de variación para la producción de leche fue de 40,3%. De los caracteres evaluados sólo fue significativo ($p < 0,05$) el tipo de suplementación. Además, se encontró una relación inversa entre el contenido de k-caseína con el número de parto, aunque no fue significativa, esto se puede deber a que el número de partos es un indicativo de la edad de la vaca y el componente racial de la generación.

Palabras clave: *cuantificación de k-caseína, ganado lechero, proteínas lácteas.*

Resumo

A k-caseína é uma das proteínas mais importantes do leite por sua relação com diferentes características associadas a produção de queijos. Pelo anterior, o objetivo deste trabalho foi determinar a relação entre algumas características produtivas e o conteúdo de kappa caseína do leite de vacas em oito rebanhos do município de Pereira, Risaralda. Para isto, tomaram-se amostras de leite de 48 vacas de diferente tipo racial, nas quais determinou-se o conteúdo de k-caseína mediante eletroforese em gel de poliácridamida em uma dimensão (Triacina SDS-PAGE) e determinou-se o efeito que exerce o grupo racial, o tipo de suplementação, o número de parto, os dias em lactação e o volume do leite produzido. A informação foi avaliada mediante um modelo linear generalizado usando o software R mediante as livrarias agricolae e car (R Core Team). Encontrou-se um valor médio de k-caseína de 3,55 g/L e um coeficiente de variação de 19,3%, o coeficiente de variação para a produção do leite foi de 40,3%. Dos caracteres avaliados só foi significativo ($p < 0,05$) o tipo de suplementação. Além, encontrou-se uma relação inversa entre o conteúdo de k-caseína com o número de parto, ainda que não foi significativa, isto pode-se dever a que o número de partos é um indicativo da idade da vaca e o componente racial da geração.

Palavras-chave: *gado leiteiro, quantificação de k-caseína, proteínas lácteas.*

Introducción

Las caseínas son las proteínas de mayor importancia en la composición de la leche, ya que constituyen cerca del 80% del valor proteico, mientras que el otro 20% está conformado por las proteínas séricas (α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina). El conjunto de caseínas se compone en cuatro grupos principales: α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, β -caseína y k-caseína, esta última constituye cerca del 12% de las caseínas y se encuentra íntimamente ligada con la capacidad de coagulación, tiempo de formación del cuajo, tasa de formación de la cuajada y fuerza del coágulo en la producción de queso ²⁴.

Algunos estudios, señalan que el principal factor que afecta la cantidad de Kappa caseína en la leche es el factor genético y que las vacas que presentan la variante alélica B producen más proteína en la leche que las vacas que presenten la variante alélica A ^{14,16,25}, observándose un comportamiento aditivo de la sustitución génica. Por otro lado, la expresión del gen de caseína en leche depende de múltiples factores entre los que se encuentran el estado nutricional, el número de lactancias y el número de ordeños en el día ²³, entre otros factores ambientales que podrían afectar el contenido de k-caseína en la leche.

De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo pretendió definir la relación entre algunas características productivas y de alimentación con el contenido de k-caseína de la leche en ocho hatos lecheros del municipio de Pereira, teniendo en cuenta la importancia que tiene este grupo de proteínas para la industria láctea.

Materiales y métodos

Se utilizó la información recolectada en ocho hatos lecheros ubicados en el municipio de Pereira, en una zona de vida de Bosque Húmedo Pre-Montano, a una altura promedio de 1250 msnm, con temperaturas media mayor a 24 °C, humedad relativa de 75% y precipitación entre 1700 a 2800 mm/año². Los animales se encontraron en praderas de pasto estrella, suplementados con diferentes alimentos comerciales. Se seleccionaron al azar seis animales de cada finca, a los que se les tomó una muestra de 10 ml de leche en el ordeño de la tarde. Se colectaron 48 muestras de leche en tubos de ensayo, las cuales fueron conservadas aproximadamente a 4 °C durante el transporte hasta el laboratorio de Biología molecular de la Universidad de Antioquia, donde fueron refrigeradas hasta su procesamiento.

Para cada uno de los animales muestreados se registró información sobre el tipo racial, el volumen de leche producida, el número de partos, los días de lactancia y el tipo de suplementación, encontrando variación en estas características. La suplementación fue específica de cada hato, sin embargo dos hatos coincidieron en el tipo de suplementación y por lo tanto, los niveles totales fueron siete, cada uno representado por un suplemento diferente. Es importante resaltar que los suplementos fueron de carácter comercial, por este motivo no se detallan sus nombres, ni se quiso establecer el mejor suplemento, sólo si existe un efecto del tipo de alimentación, teniendo en cuenta que a cada animal se le brindó concentrado de acuerdo al nivel de producción basados en una relación de suplementación de 1 kg de concentrado por cada cuatro litros de leche producidos. Respecto al tipo racial, los animales fueron clasificados como indicus-lechero (n=30) y taurus-lechero (n=18), de acuerdo al componente racial mayoritario que presentaban, el cual fue determinado fenotípicamente, debido a que no se contó con registros genealógicos. Los días en lactancia fueron clasificados como inicio (lactancias menores de 120 días, n=27), lactancia media (de 120 a 240 días, n=15) y finalización (lactancias mayores a 240 días, n=6). El número de parto como indicativo de la edad fue agrupado en tres niveles, el primero conformado por animales de uno y dos partos (n=18), el segundo con animales de tres y cuatro partos (n=18) y el tercero con animales de 5 o más partos (n=12).

A las muestras obtenidas, se les realizó la medición de la k-caseína, mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida en una dimensión con triacina duodecil sulfato sódico (Triacina SDS-PAGE) usando un Mini-Protean III cell (Bio-Rad laboratorios, Richmond, CA), de acuerdo al procedimiento descrito por Pardo y Natalucci ²⁰. El gel fue modificado del propuesto por Pardo y Natalucci ¹⁹, de la siguiente manera, el de separación 10% T, 3% C y el de concentración fue 4% T, 3% C. Los geles fueron analizados mediante un documentador de geles DNR Bio-Imaging Systems (MiniBIs Pro, Jerusalén) y la semi-cuantificación fue realizada mediante el software GelQuant express (Invitrogen).

La información recolectada fue evaluada mediante un modelo lineal generalizado (GLM), la comparación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples de Duncan. La homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Levene y la normalidad mediante la prueba de Jarque-Bera. Todos los procedimientos se realizaron mediante el software R ²¹, usando diferentes librerías como "agricolae" y "car" ²¹.

El modelo utilizado para este análisis fue el siguiente:

$$y_{ijklm} = \mu + R_i + S_j + NP_k + DL_l + PL_m + e_{ijklm}$$

Dónde:

y_{ijklm} es la variable dependiente (cantidad de k-caseína en el leche); μ es la media para la característica; R_i es el efecto fijo del grupo racial ($i=1, 2$); S_j es el efecto fijo del tipo de suplementación ($j=1...7$); NP_k es el efecto fijo del número de partos ($k=1, 2, 3$); DL_l es el efecto fijo días en lactancia ($l=1, 2, 3$); PL_m es la covariable del efecto del volumen de leche producido y e_{ijklm} es el error experimental.

Resultados

Las muestras fueron separadas con éxito (Figura 1) y en la primera columna, se puede observar el marcador de peso molecular M, la siguiente columna C, constituye un patrón testigo (muestra previamente evaluada exitosamente), las siguientes ocho columnas, corresponden a muestras de leche de ocho animales diferentes. En el patrón del gel se observa un conjunto de bandas que corresponde con las caseínas α_{s1} , α_{s2} y β . Un poco más abajo, se observa un fragmento separado de 19 kDa correspondiente con k-caseína, que exhibe variación en su densidad y área, lo que permite suponer diferentes concentraciones en las muestras de leche.

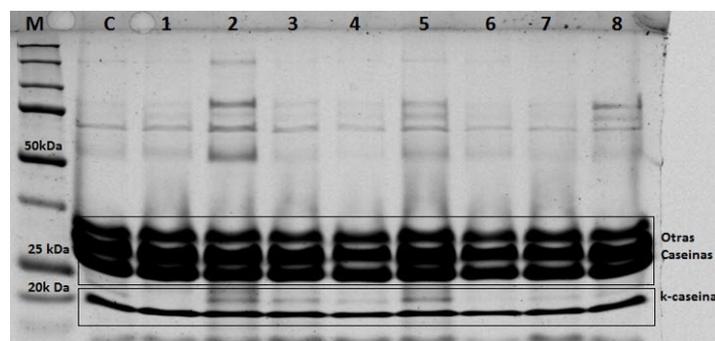


Figura 1. Patrón de electroforesis en gel de Poliacrilamida (Tricina SDS-PAGE) en una dimensión para diferentes muestras de leche Bovina. La columna M, marcador de peso molecular; columna C, testigo control; Columna 1-8, corresponden a muestras de leche de animales diferentes.

Con respecto a los datos colectados en los diferentes hatos, la [tabla 1](#) presenta el resumen para las variables cuantitativas evaluadas. Es posible observar que hay una alta variabilidad en la mayoría de las características incluidas en el modelo. Resulta interesante observar que se contó con animales de diferente nivel de producción de leche, con un coeficiente de variación de 40,3%. Sin embargo, la variación en la cantidad de k-caseína fue menor, mostrando un coeficiente de variación de 19,3%.

El modelo planteado inicialmente fue significativo ($p < 0,01$) con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,34. Sin embargo, sólo se encontró un efecto individual significativo del tipo de suplemento ($p < 0,05$), las demás variables evaluadas no presen-

taron efecto estadísticamente significativo; incluso posteriormente se planteó un modelo adicional incluyendo sólo la variable suplemento y se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0,29, lo que quiere decir que gran parte de la variación explicada por el modelo se debe al tipo de suplemento brindado a los animales.

Tabla 1. Resumen estadístico de las variables número de parto, producción de leche en litros y la cantidad de k-caseína en g/L.

| | Número de parto | Producción de leche (litros) | Nivel k-caseína (g/L) |
|---------------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Media | 3,4 | 15,7 | 3,55 |
| Mínimo | 1,0 | 6,0 | 2,25 |
| Máximo | 8,0 | 35,0 | 4,50 |
| Desviación estándar | 2,0 | 6,3 | 0,69 |
| Coefficiente de variación | 58,5 | 40,3 | 19,31 |

El tipo de suplemento presentó algunas diferencias respecto al promedio de k-caseína en la leche. Sin embargo, algunos de estos incluían alimentos comerciales, por lo que resulta poco práctico realizar la comparación de medias, aunque se haya presentado un efecto significativo ($p < 0,05$). Respecto al número de partos, se encontró una tendencia hacia menores contenidos de k-caseína en la leche a medida que aumenta el número de partos, sin embargo esa tendencia no fue estadísticamente significativa ([Tabla 2](#)).

Tabla 2. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan para el nivel de K-caseína de acuerdo al número de parto.

| Número de parto | Número de animales | Promedio de k-caseína (g/L) * |
|------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Grupo A: 1 - 2 | 18 | 3,726 ^a |
| Grupo B: 2 - 4 | 18 | 3,527 ^a |
| Grupo C: > 4 | 12 | 3,332 ^a |

*Las letras diferentes indican que las medias son diferentes.

Con respecto al componente racial los animales taurus-lecheros presentaron una media de 3,74 g/L, mientras que los indicus-lecheros 3,45 g/L; sin embargo esa diferencia no fue estadísticamente significativa. Finalmente los días en lactancia presentaron promedios de 3,48; 3,51 y 3,97 g/L para los animales en inicio de lactancia, lactancia media y finalización respectivamente, lo que parece una relación directa entre el contenido de k-caseína en la leche y los días de lactancia, aunque esas diferencias tampoco fueron significativas.

Discusión

El valor promedio global de kappa caseína fue (3,55 g/L) superior al reportado en la literatura (3,0 g/L) ¹¹, esto posiblemente debido a la variabilidad racial encontrada en este trabajo, que incluyó dos grupos de animales, uno con mayor proporción de *Bos indicus*, y otro con alta proporción de *B. Taurus*; mientras que el trabajo mencionado corresponde a ganado *B. Taurus* únicamente, como la mayoría de literatura relacionada con k-caseína en la leche ^{2,6,14}. Por otro lado, el manejo de alimentación ha sido mencionado en la literatura como un factor determinante sobre los niveles de

caseína ²³, reportando relación positiva entre dietas con alto contenido de forrajes y los niveles de caseínas en la leche ¹⁹, esto último guarda relación con las condiciones encontradas en el presente estudio, ya que la fuente principal de alimentación consistió de forrajes y en menor medida suplemento comercial. Adicionalmente, es importante considerar el efecto de la suplementación mineral utilizada, ya que a medida que se incremente la diferencia entre cationes y aniones, los niveles de k-caseína disminuyen ¹⁷.

Para la determinación de caseínas en leche se han reportado diversos métodos entre los que se encuentran la espectrometría de masas, cromatografía de interacción hidrofóbica, nano partículas de oro cubiertas con antígeno anticuerpo doblemente marcadas, los cuales presentan diferentes beneficios y limitantes ^{1.5.15}. La técnica de electroforesis de este trabajo y utilizada con anterioridad para la determinación de caseínas ^{12.18}, es una prueba semicuantitativa, por lo tanto, los valores obtenidos pueden tener menor precisión que otros métodos de los expuestos anteriormente, sin embargo es una técnica de fácil implementación y muy económica, lo que favorece su uso e implementación ¹⁸.

Con respecto al tipo racial, es importante resaltar que hubo gran variabilidad en el componente, con animales cruzados en diferentes proporciones, que al ser agrupados, seguramente presentan gran variabilidad interna y por lo tanto es difícil encontrar diferencias entre los grupos raciales definidos, los cuales fueron formados teniendo en cuenta únicamente la apariencia fenotípica de los animales, debido a que se desconocía su pedigrí. Adicionalmente, si se tiene en cuenta que la mayoría los animales usados son seleccionados para producción láctea, es probable que la frecuencia de los alelos de k-caseína sean similares y por este motivo el efecto del componente no sea significativo ⁴. Sin embargo, si se pudiera comparar con diferentes razas lecheras con frecuencias alélicas contrastantes o genotipar cada uno de los animales, posiblemente se encuentre el efecto ampliamente reportado del genotipo sobre la cantidad de k-caseína en la leche ⁴.

De acuerdo con los resultados de este trabajo, el tipo de suplemento consumido por lo animales influyó sobre el nivel de k-caseína en la leche, lo cual sugiere que para los sistemas ganaderos tropicales en los cuales se cuenta con gran variedad de forrajes y suplementos, este valor podría tener una fluctuación importante. No existen en la actualidad trabajos reportados en los cuales se determine el valor de k-caseína con diferentes fuentes de alimentación, sin embargo el presente trabajo sugiere un efecto importante de la alimentación sobre la variación en la k-caseína de la leche bovina, lo cual merece ser estudiado con más detalle. Es importante aclarar que todos los suplementos utilizados en este trabajo fueron marcas comerciales, por lo que no se tuvo en cuenta la comparación de medias debido a que se generaban conflictos de interés para la generación de recomendaciones prácticas.

El efecto del número de parto (NP) sobre el contenido de k-caseína no fue significativo en este trabajo. Sin embargo, al observar las medias se ve una tendencia hacia menores contenidos de k-caseína en animales con mayor número de parto (relación inversa), si se tiene en cuenta que el número de parto es un indicativo de la generación a la cual pertenece el animal, la tendencia observada puede deberse al progreso genético y los cambios productos de la selección de animales, que ha sido encaminada en los últimos años hacia el aumento de los sólidos totales en la leche como recomendación nacional y de la industria láctea ¹⁰. No obstante, es necesari-

rio realizar una evaluación más profunda para concluir adecuadamente acerca del efecto de la edad, sobre los contenidos de k-caseína en la leche bovina, en el cual se puede incluir el efecto de la selección y el progreso genético en los contenidos medios de k-caseína en la leche.

Por otro lado, según la literatura el componente genético resulta determinante en la producción de esta caseína, los resultados sugieren que la manipulación de la dieta puede modificar en cierta medida la expresión genética, por lo tanto, es importante considerar el desarrollo de investigaciones con técnicas de medición más precisas, en donde se evalúen diferentes fuentes de alimentación y suplementos y su efecto sobre la expresión de mensajeros de k-caseína y los niveles en leche de esta proteína; esta información podría llegar a ser valiosa para la industria láctea en la medida que serían identificados los hatos con mejor aptitud para la producción de derivados lácteos, así como para la industria farmacéutica debido a la gran cantidad de beneficios médicos que se han encontrado en esta molécula ^{3, 7, 8, 13, 22}.

Conclusiones

La determinación de la cantidad de proteínas por medio de la técnica de electroforesis en gel resulta ser una herramienta valiosa, fácil y económica para identificar los niveles de k-caseína en la leche, lo que permitió cuantificar y establecer que el tipo de suplementación afecta la cantidad de esta proteína en la leche bovina, lo cual puede ser importante si se tienen en cuenta la relevancia de esta proteína para la determinación del rendimiento quesero. Otras variables como el componente racial, los días de lactancia y el número de parto mostraron algunas tendencias, pero no fueron significativas sobre la cantidad de k-caseína en la leche bovina.

Referencias

1. Altendorfer I, König S, Braukmann A, Saenger T, Bleck E, Vordenbäumen S, *et al.* Quantification of α S1-casein in breast milk using a targeted mass spectrometry-based approach. *J Pharm Biomed Anal* 2015; 103: 52-58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25462120>
2. Alvarado C, Meléndez B, Clavijo M, Coronado M, Armas S, Gimenez O. Efecto de la Variante Genética de la k-Caseína sobre la Producción y Composición de la Leche de un Rebaño Holstein en el Trópico. *Rev Fac Cienc Vet* 2006; 47(1). http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762006000100006
3. Arruda MS, Silva FO, Egito AS, Silva TMS, Lima-Filho JL, Porto ALF, *et al.* New peptides obtained by hydrolysis of caseins from bovine milk by protease extracted from the latex *Jacaratia corumbensis*. *LWT - Food Science and Technology* 2012; 49(1): 73-79. http://www.academia.edu/23236081/New_peptides_obtained_by_hydrolysis_of_caseins_from_bovine_milk_by_protease_extracted_from_the_latex_Jacaratia_corumbensis
4. Azevedo ALS, Nascimento CS, Steinberg RS, Carvalho MRS, Peixoto MGCD, Teodoro RL, *et al.* Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genet Mol Res* 2008; 7(3): 623-630. https://www.researchgate.net/publication/23218827_Genetic_polymorphism_of_the_kappa-casein_gene_in_Brazilian_cattle

5. Bramanti E, Sortino C, Onor M, Beni F, Raspi G. Separation and determination of denatured α s1-, α s2-, β - and κ -caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows' ewes' and goats' milk, milk mixtures and cheeses. *J Chromatogr A* 2003; 994(1-2): 59-74. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12779219>
6. Campo JE, Alvarez LA, Posso A, Muñoz JE. Detección de las variantes alélicas de la Kappa caseína en ganado Normando utilizando la técnica PCR-SSCP. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2007; 20(4): 533. <http://aprendeonlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/issue/view/2364>
7. Carver JA, Duggan PJ, Ecroyd H, Liu Y, Meyer AG, Tranberg CE. Carboxymethylated- κ -casein: A convenient tool for the identification of polyphenolic inhibitors of amyloid fibril formation. *Bioorg Med Chem* 2010; 18(1): 222-228. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19931462>
8. Cheng X, Tang X, Wang Q, Mao XY. Antibacterial effect and hydrophobicity of yak κ -casein hydrolysate and its fractions. *Int Dairy J* 2013; 31: 111-116. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-18373633-a455-3621-b120-ae9abeeffa88>
9. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, IGAC. Características geográficas del departamento de Risaralda. Gobernación de Risaralda 1995.
10. Fedegan, FNG. Plan de desarrollo ganadero 2014-2019. 2014. <http://www.fedegan.org.co/noticias/plan-de-desarrollo-ganadero-2014-2019>
11. Ginger MR, Grigor MR. Review: Comparative aspects of milk caseins. *Comp Biochem and Physiol B Biochem Mol Biol* 1999; 124(2): 133-145. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305049199001108>
12. Kaminarides SE, Koukiassa P. Detection of bovine milk in ovine yoghurt by electrophoresis of para- κ -casein. *Food Chem* 2002; 78(1): 53-55. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460100351X>
13. Laparra JM, Alegría A, Barberá R, Farré R. Antioxidant effect of casein phosphopeptides compared with fruit beverages supplemented with skimmed milk against H₂O₂-induced oxidative stress in Caco-2 cells. *Food Res Int* 2008; 41(7): 773-779. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300928949>
14. Lara MAC, Gama LT, Bufarah G, Sereno JRB, Celegato EML, de Abreu UP. Polimorfismos genéticos en el locus de la K-caseína en ganado bovino de raza pantaneira. *Arch zootec* 2002; 51: 99-105. <http://www.redalyc.org/pdf/495/49519412.pdf>
15. Li YS, Zhou Y, Meng XY, Zhang YY, Liu JQ, Zhang Y, *et al.* Enzyme-antibody dual labeled gold nanoparticles probe for ultrasensitive detection of κ -casein in bovine milk samples. *Biosens Bioelectron* 2014; 61: 241-244. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09565663>
16. Lopez R E, Vasquez A N. Determinación del sexo y genotipificación del gen de la K-caseína en embriones bovinos. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2004; 17(3): 231-240. <http://www.redalyc.org/pdf/2950/295025895003.pdf>

17. Martins CMMR, Arcari MA, Welter KC, Netto AS, Oliveira CAF, Santos MV. Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. *J Dairy Sci* 2015; 98(4): 2650-2661. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25622868>
18. Miralles B, Rothbauer V, Manso MaA, Amigo L, Krause I, Ramos M. Improved method for the simultaneous determination of whey proteins, caseins and para- κ -casein in milk and dairy products by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2001; 915(1-2): 225-230. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11358252>
19. Muir SK, Ward GN, Jacobs JL. Milk production and composition of mid-lactation cows consuming perennial ryegrass-and chicory-based diets. *J Dairy Sci* 2014; 97(2): 1005-1015. [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(13\)00811-4/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(13)00811-4/abstract)
20. Pardo MF, Natalucci CF. Electrophoretic Analysis (Tricine-SDS-PAGE) of Bovine Caseins. *Acta Farm Bonaerense* 2002; 21(1): 57-60. http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP_21_1_2_1_773LCH4215.pdf
21. R-core-team. The R Project for Statistical Computing 2014. Available from: <https://www.r-project.org/>
22. Ramos-Mandujano G, Weiss-Steider B, Melo B, Córdova Y, Ledesma-Martínez E, Bustos S, *et al.* Alpha-, beta- and kappa-caseins inhibit the proliferation of the myeloid cell lines 32D cl3 and WEHI-3 and exhibit different differentiation properties. *Immunobiology* 2008; 213(2): 133-141. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01712985>
23. Requena FD, Agüera EI, Requena F. Genética de la caseína de la leche en el bovino frisón. *Redvet* 2007; 8(1): 1-9. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672014000100007
24. Solarte Portilla CE, Rosero Galindo Y, Erazo Cabrera M, Zambrano Burbano L, Barrera C, Martínez A, *et al.* Polimorfismo de las fracciones caseínicas de la leche en bovinos Holstein del Trópico Alto de Nariño. *Lrrd* 2011; 23(6). <http://www.lrrd.org/lrrd23/6/sola23136.htm>
25. Uffo O, Martínez S. Amplificación por PCR de los genes que codifican para la lactoalbumina, la lactoglobulina y la caseína de una vaca alta productora de leche y dos de sus descendientes e identificación de las variantes alelicas por RFLP. *Revista Salud Animal* 2002; 24(1): 22-26. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672014000100007