

# Efectos de la transformación lechera hacia leche A2 sobre las características de coagulación de la leche

**Bibiana Juan Godoy.** Profesora Agregada del Departamento de Ciencia animal y de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona.

**Antonio José Trujillo Mesa.** Catedrático del Departamento de Ciencia animal y de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona.

## Introducción

La leche es un alimento completo debido a su alto contenido en nutrientes como vitaminas, grasas, minerales, hidratos de carbono y un alto aporte de proteína. Las proteínas de la leche se dividen en caseínas (CN), que representan aproximadamente el 80 % de las proteínas totales, y las proteínas del suero, que representan alrededor del 20 %. Entre las caseínas se han descrito cuatro tipos diferentes:  $\alpha$ 1-CN (entre 12 y 15 g/l),  $\beta$ -CN (9 y 11 g/l),  $\alpha$ 2-CN (entre 3 y 4 g/l) y  $\kappa$ -CN (2-3 g/l). De las proteínas del suero, las más relevantes son:  $\alpha$ -lactoalbúmina ( $\alpha$ -La) y la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg).

Todas las proteínas han sufrido modificaciones en sus estructuras debido a la sustitución o exclusión de algún aminoácido de la cadena peptídica, generando así variantes genéticas. Estas variantes genéticas, que afectan la estructura de las proteínas, provocan cambios en sus características, además de influir en la producción de leche, las aplicaciones tecnológicas para la industria y la salud de los consumidores.

De la  $\beta$ -CN, que representa el 30 % de las caseínas de la leche, se han descrito 13 variantes alélicas diferentes (A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 y J) (Patel *et al.*, 2020), siendo las más comunes la A1 y la A2. Estas dos, solo se diferencian por un aminoácido en la posición 67, donde la  $\beta$ -CN A1 presenta una histidina y la  $\beta$ -CN A2 una prolina.

Actualmente, la mayor parte de la leche comercializada contiene una mezcla de caseína A1 y A2, que puede ser de vacas heterocigotas A1/A2 o

de la mezcla de leche de animales homocigotos A1/A1 y A2/A2. No obstante, en los últimos años se ha introducido en el mercado un nuevo tipo de leche de vaca, denominada "leche A2". Este tipo de leche se caracteriza por estar libre de la variante A1 de  $\beta$ -CN, y se le asocian propiedades beneficiosas para la salud. Esto es debido a que la hidrólisis de la  $\beta$ -CN A1 libera un péptido bioactivo opioide llamado casomorfin-7 (BCM-7), mientras que la hidrólisis de la  $\beta$ -CN A2 prácticamente no produce liberación de este compuesto. Este péptido ha sido propuesto como el causante de síntomas gastrointestinales adversos, concluyendo que la  $\beta$ -CN A2 podría reducir las molestias gastrointestinales causadas por el consumo de leche bovina (Jianqin *et al.*, 2016).

La conversión del ganado hacia animales homocigotos A2A2 para obtener leche A2, puede tener implicaciones a nivel de granja e industria, ya



Los autores de este artículo divulgativo forman parte del equipo de investigadores del proyecto MILKA2, encargándose en particular de la transformación de la leche. El objetivo del proyecto, en el que también participa CONAFE a través del servicio genómico, es valorar la posibilidad de dirigir la producción hacia leche A2 y sus consecuencias sobre las ganaderías, la industria láctea, el consumidor y el mercado.

que puede modificar las propiedades tecnofuncionales de la leche.

Actualmente se está desarrollando un proyecto nacional (PID2019-110752RB-I00) "Impacto productivo, tecnológico y económico de producir leche procedente de vacas con distintos genotipos de beta-caseína (Milk A2), en el que también participa CONAFE a través del servicio genómico, que tiene como objetivo valorar las consecuencias de la transformación hacia leche A2 a nivel de granja, industria láctea, consumidor y mercado. Así mismo, pretende desarrollar métodos fiables de detección de los polimorfismos de las distintas caseínas, para certificar la leche y derivados A2.

Este artículo se centrará en los avances obtenidos sobre las consecuencias de transformación hacia una leche A2 para la industria láctea, estudiando los efectos del polimorfismo genético sobre las características de coagulación ácida y enzimática de la leche, necesaria para la producción de derivados lácteos.

### Influencia del genotipo de $\beta$ -CN sobre la coagulación enzimática y ácida de la leche

Las propiedades tecnológicas de la leche, como es su coagulación, dependen de la composición proteica, las condiciones de procesamiento, los minerales y el tamaño de las micelas de caseína, y todo ello puede verse afectado por el genotipo de sus proteínas.

La  $\beta$ -CN B ha sido descrita como la mejor variante para la coagulación enzimática de la leche (Di Stasio y Mariani, 2000; Comin *et al.*, 2008; Jensen *et al.*, 2012; Vallas *et al.*, 2012). Con respecto a las variantes más comunes,  $\beta$ -CN A1 y A2, el genotipo  $\beta$ -CN A2A2 ha sido asociado con peores propiedades de coagulación enzimática (Hallen *et al.*, 2007; Jensen *et al.*, 2012; Poulsen *et al.*, 2013; Ketto *et al.*, 2017; Bisutti *et al.*, 2022).

Cuando se comparó el genotipo  $\beta$ -CN A1A2 con A2A2, el primero se caracterizó por un tiempo más corto de coagulación y la obtención de una cuajada más firme en las razas rojas suecas y Holstein suecas (Hallen *et al.*, 2007). Poulsen *et al.* (2013) también describió un tiempo de coagulación más largo en vacas Holstein danesas y rojas danesas, y una tasa de endurecimiento de la cuajada más baja en vacas Holstein danesas y Jersey danesas en leche  $\beta$ -CN A2 en comparación con A1. Bisutti *et al.* (2022) también describieron un mayor tiempo de coagulación y una menor tasa de agregación de la cuajada en vacas italianas Holstein. Gustavson *et*

*al.* (2014) asociaron un tiempo de gelificación más corto y una mayor fuerza de gel en el alelo  $\beta$ -CN A1 en comparación con A2 en ganado rojo sueco. Jensen *et al.* (2012), que estudiaron muestras de leche individuales de vacas danesas Holstein y Jersey con propiedades extremas de coagulación enzimática, también asociaron las muestras con mala coagulación con el genotipo  $\beta$ -CN A2A2.

Todos estos resultados podrían indicar una influencia negativa de la  $\beta$ -CN A2 sobre la coagulación enzimática de la leche en comparación con A1. No obstante, otros autores no encontraron ningún efecto de los alelos de la  $\beta$ -CN sobre las propiedades de coagulación enzimática de la leche (Ikonen *et al.*, 1997; Comin *et al.*, 2008; Bonfatti *et al.*, 2010; Glantz *et al.*, 2011). Las diferencias entre autores podrían deberse al efecto compuesto del resto de variantes genéticas de las otras proteínas, lo cual sería más significativo que el efecto de los alelos individuales.

Otro factor a tener en consideración es que el genotipo de la  $\beta$ -CN también puede influir en el de las otras proteínas. Vallas *et al.* (2012) describieron que el genotipo  $\kappa$ -CN EE se asociaba solo con el genotipo  $\beta$ -CN A1A1. Ikonen *et al.* (1999) también encontraron que todas las vacas portadoras del genotipo  $\kappa$ -CN EE tenían el genotipo  $\beta$ -CN A1A1, y Comin *et al.* (2008) encontraron que el genotipo  $\kappa$ -CN EE rara vez se asociaba con  $\beta$ -CN A2A2. Está descrito que la  $\kappa$ -CN E se relaciona con propiedades desfavorables de coagulación enzimática de la leche (Ikonen *et al.*, 1999; Caroli *et al.*, 2000; Wedholm *et al.*, 2006; Comin *et al.*, 2008; Hallen *et al.*, 2007; Jensen *et al.*, 2012). Por lo tanto, cuando se seleccionan animales para  $\beta$ -CN A2A2, se podría estar eliminando el genotipo E de la  $\kappa$ -CN.

Respecto a la coagulación ácida de la leche, los derivados lácteos más importantes son las leches fermentadas, las cuales para su elaboración suele someterse la leche a un tratamiento térmico de unos 90-95 °C durante 5-10 min. Esto conduce a la desnaturalización de las proteínas del suero, especialmente la  $\beta$ -Lg, y su posterior unión con la  $\kappa$ -CN en la superficie de las micelas. Por esta razón, las proteínas más influyentes en las propiedades de coagulación ácida de la leche son la  $\beta$ -Lg y la  $\kappa$ -CN. Se ha descrito que la  $\beta$ -LG B exhibe mayores tasas de agregación hacia la  $\kappa$ -CN en comparación con la  $\beta$ -LG A (Allmere *et al.*, 1997, 1998), y una mayor firmeza de la cuajada (Hallén *et al.*, 2009). Sin embargo, el alelo A se asocia con concentraciones más altas de  $\beta$ -Lg en la leche, por lo que la leche de vacas portadoras del genotipo AA se asocia con un tiempo de coagulación más corto y una cuajada más firme en comparación con la BB (Hallén *et al.*, 2009).

También se ha descrito que la leche con  $\kappa$ -CN AA tiene mayor tasa de agregación y una firmeza ligeramente mayor en comparación con los genotipos AB y BB (Ketto *et al.*, 2017). La mayoría de los autores no han encontrado un efecto significativo del genotipo de la  $\beta$ -CN sobre las propiedades de coagulación ácida (Hallén *et al.* 2009; Ketto *et al.*, 2017). Nguyen *et al.* (2018) describieron un gel más blando en yogures elaborados con leche A2A2 en comparación con los elaborados con leche A1A1. Esta menor firmeza del gel de los yogures de leche A2A2 fue consecuencia de una red proteica menos densa con poros más grandes. No obstante, en este estudio no se mencionaron los genotipos del resto de proteínas de la leche, las cuales podían estar influyendo en los resultados encontrados. Ya hemos mencionado anteriormente la importancia del con-



junto de genotipos sobre los alelos individuales. Ketto *et al.* (2017) describieron que el genotipo compuesto de las caseínas ( $\alpha$ S1- $\beta$ - $\kappa$ -CN) afectó significativamente las propiedades de coagulación ácida, siendo el genotipo  $\alpha$ S1BB-  $\beta$ -CNA2A2-  $\kappa$ -CNAA el que se asoció con mejores propiedades de coagulación ácida. Wang *et al.* (2022) encontraron que la leche fermentada A2 tenía mejores características de viscosidad y una estructura más estable que la leche fermentada normal.

### Resultados del proyecto MILKA2

En este proyecto evaluamos las propiedades de coagulación ácida y enzimática de leche de tanque obtenida a partir de vacas  $\beta$  CN A2A2, comparándola con leche de tanque control, que fue una mezcla de leche de vacas  $\beta$  CN A1A2, A1A1 y A2A2 (para imitar la leche actual del mercado).

Para minimizar el efecto de otras variables que podrían influir en los resultados, las muestras de leche de tanque se confeccionaron seleccionando minuciosamente los animales individuales, para que tuvieran similar genotipo del resto de proteínas, días de lactación, número de lactación y manejo. Esta información se puede observar en la Tabla 1.

Las leches, que se obtuvieron de tres explotaciones diferentes, se atemperaron a 50 °C para ser desnatadas, e inmediatamente se enfriaron y almacenaron en cámara frigorífica (4 °C) para su posterior análisis.

Como puede observarse en la Tabla 1, la leche del tanque control fue una mezcla de leches de animales mayoritariamente  $\beta$ -CN A1A2, seguida de

A1A1, y una pequeña cantidad de A2A2, por lo que ambos alelos A1 y A2 estaban presentes en la leche. Tanto para la  $\kappa$ -CN como la  $\beta$ -LG, el alelo AB presentó la mayor frecuencia. De la  $\kappa$ -CN, cabe destacar que en la leche A2 sólo se encontraron tres variantes (AA, AB y BB); sin embargo, en la leche control también se encontraron BE, AE y EE. Ya se mencionó anteriormente que diversos autores describieron que el alelo  $\kappa$ -CN E raramente aparece en asociación con  $\beta$ -CN A2A2 (Ketto *et al.*, 2017). Hallén *et al.* (2009) describieron que el genotipo de  $\kappa$ -CN EE se asociaba sólo con el genotipo de  $\beta$ -CN A1A1, y que los genotipos de  $\kappa$ -CN BE y AE se asociaban también principalmente con genotipos de  $\beta$ -CN que incluían A1.

No hubo diferencias de composición entre ambos grupos de leche, mostrando un pH medio de 6,67, 9,14 % de sólidos totales y un 3,13 % de proteína.

### Resultados de coagulación enzimática y ácida a nivel instrumental

Para conocer los efectos sobre la coagulación ácida y enzimática de la leche, se trabajó con un equipo Optigraph, que mide los parámetros de tiempo de coagulación, tasa de agregación y densidad del gel.

A nivel instrumental, la leche A2 presentó un mayor tiempo de coagulación, tanto para la enzimática como ácida, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Figura 1).

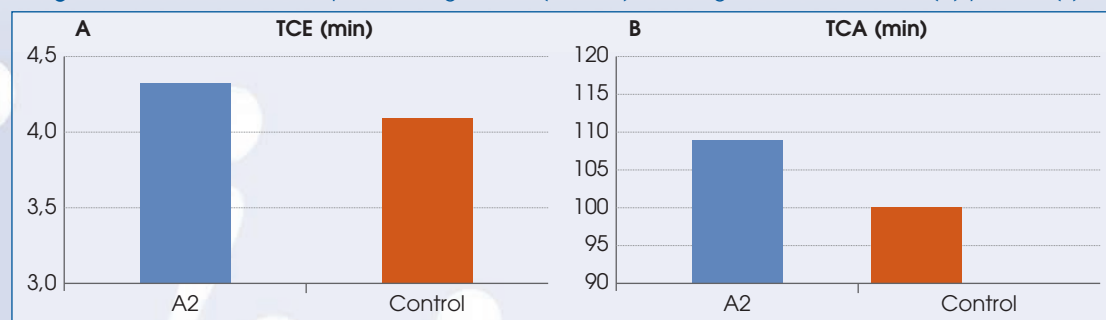
En ambas coagulaciones, los geles de leche A2 presentaron mayor densidad de gel (Figura 2). El

**Tabla 1.** Información de las vacas escogidas para la recolección de leche.

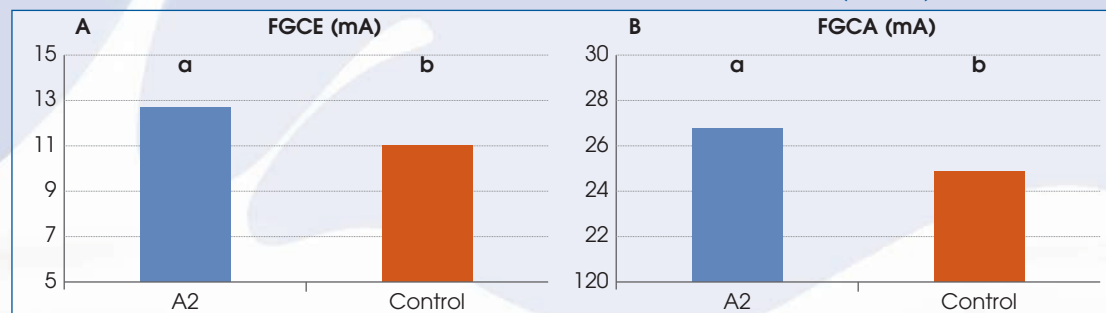
Leche <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	DIL <sup>3</sup>	Lac <sup>4</sup>	$\beta$ -CN*			$\kappa$ -CN*						$\beta$ -Lg*		
		Media + SD	Media + SD	A2A2	A1A2	A1A1	AA	AB	BB	BE	AE	EE	AA	AB	BB
A2	243	167.3 ± 55,3	1,52 ± 0,43	243	0	0	75	117	50				98	108	37
C	228	175 ± 48,1	1,67 ± 0,55	9	190	29	43	69	28	49	36	5	82	112	36

<sup>1</sup> Muestra de leche (A2: leche con  $\beta$ -CN A2, C: leche control con  $\beta$ -CN A1 y A2); <sup>2</sup> N: Número de vacas; <sup>3</sup> DIL: días de lactación; <sup>4</sup> Lac: número de lactaciones;  $\beta$ -CN\*:  $\beta$ -caseína;  $\kappa$ -CN\*:  $\kappa$ -caseína;  $\beta$ -Lg\*:  $\beta$ -lactoglobulina.

**Figura 1.** Resultados del tiempo de coagulación (TC, min) en coagulación enzimática (A) y ácida (B)



**Figura 2.** Resultados de la densidad de gel (FG, mA) en coagulación enzimática (A) y ácida (B); <sup>ab</sup> Valores con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0,05$ )





resto de parámetros evaluados, tasa de agregación, velocidad de acidificación y capacidad de retención de agua de los geles ácidos, no presentaron diferencias significativas (Juan y Trujillo, 2022).

### Resultados de coagulación enzimática y ácida en productos lácteos comerciales

Se elaboraron producciones de derivados lácteos de coagulación enzimática (quesos frescos), y coagulación ácida (yogures).

De ambos productos se evaluaron las características sensoriales a nivel instrumental (color y textura) y a partir de catas realizadas por catadores habituados a probar y valorar derivados lácteos.

Los resultados instrumentales no mostraron diferencias de color entre los quesos elaborados con leche A2 y los quesos elaborados con leche control. Tampoco se observaron diferencias significativas en los parámetros de textura, aunque los quesos A2 mostraron valores de firmeza ligeramente más elevados.

Los catadores valoraron los quesos A2 como ligeramente más firmes. El resto de características sensoriales (color, olor, granulosis, sensación acuosa, intensidad de sabor y sabores extraños) no presentaron diferencias entre ambos productos (Figura 3)

Cuando los catadores tuvieron que elegir uno de los quesos, la mayoría (73 %) prefirió el queso fresco elaborado con leche A2, destacando su textura (Figura 5).

Los yogures elaborados con leche A2 mostraron una mayor luminosidad y firmeza que los yogures elaborados con leche control, aunque las diferencias fueron muy pequeñas. Los catadores describieron los yogures A2 como ligeramente más firmes y adherentes que los yogures control. El resto de características sensoriales (color, homogeneidad del gel, cremosidad, olor, acidez e intensidad de sabor y sabores extraños) se valoraron igual para ambos productos (Figura 4).

El 45% de los catadores prefirió el yogur A2, el 24% los yogures control y el resto (31%) no tuvo preferencia por ninguno (Figura 5).

### Conclusión

Se pueden elaborar derivados lácteos, tanto de coagulación ácida como enzimática, con leche A2, sin que esto tenga un efecto importante sobre las propiedades de coagulación y/o las características sensoriales del producto. Las pequeñas diferencias encontradas son muy ligeras y, a nivel sensorial, potencialmente beneficiosas.

Esta investigación fue financiada por la Agencia Estatal de Investigación (MCIN/AEI/10.13039/50110 0011033).

Figura 3. Resultado de la cata sensorial de quesos frescos.

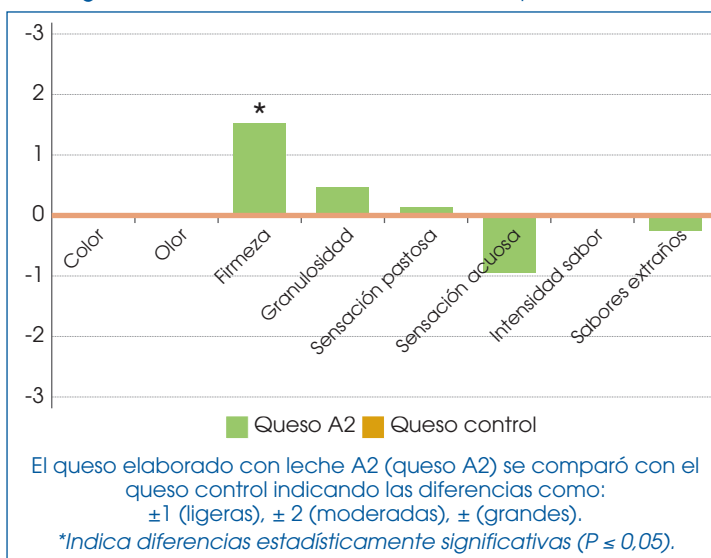
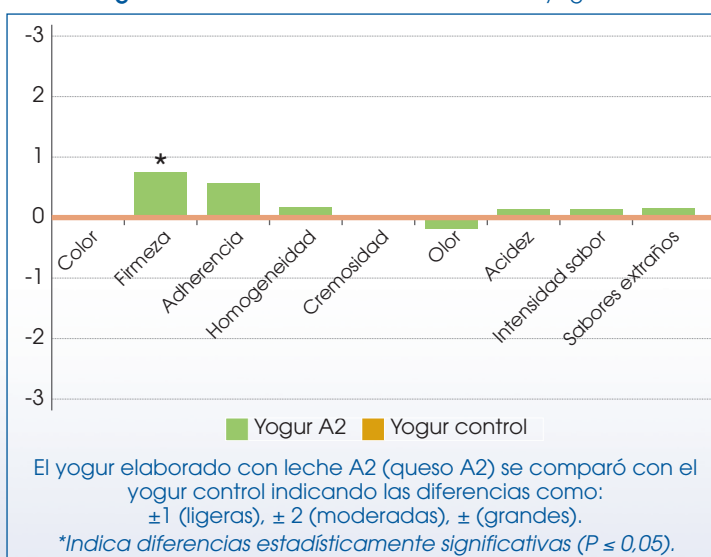


Figura 4. Resultado de la cata sensorial de yogures.



### Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a Rita Casals (FE-FRIC) su ayuda en la obtención de leche y a las ganaderías La Cavallería, Mas Isern y Can Barrina por su colaboración y suministro de leche.

Las personas interesadas en la bibliografía de este trabajo, puede pedirla enviando un correo electrónico a [conafe@conafe.com](mailto:conafe@conafe.com)

Figura 5. Preferencia de los catadores al probar los diferentes derivados lácteos (quesos frescos y yogures) elaborados con leche A2 y leche control.

