



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN FORRAJES ALTERNATIVOS PARA  
LA ALIMENTACIÓN DE BOVINOS EN ECOSISTEMAS ÁRIDOS Y  
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA LECHE DE VACAS DE  
DISTINTOS GRUPOS RACIALES EN DIFERENTES SISTEMAS DE  
ALIMENTACIÓN

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación: Agricultura Sustentable)

Presenta

**RICARDO ORTEGA PÉREZ**

**La Paz, Baja California Sur, México; Febrero de 2012**

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 11:00 horas del día 7 del mes de febrero del 2012, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

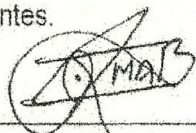
"Perfil de ácidos grasos en forrajes alternativos para la alimentación de bovinos en ecosistemas áridos y perfil de ácidos grasos en la leche de vacas de distintos grupos raciales en diferentes sistemas de alimentación"

Presentada por el alumno:

Ricardo Ortega Pérez

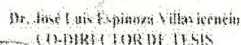
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION En Agricultura Sustentable

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

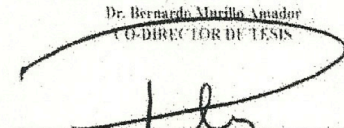


Dr. Bernardo Murillo Amador  
CO-DIRECTOR DE TESIS

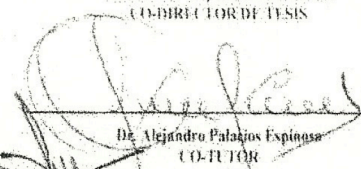
LA COMISION REVISORA



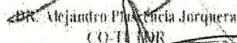
Dr. José Luis Espinoza Villavicencio  
CO-DIRECTOR DE TESIS



Dra. Elena Palacios Alcebetov  
CO-TUTOR



Dr. Alejandro Palacios Espinosa  
CO-TUTOR



Dr. Alejandro Palacios Espinosa  
CO-TUTOR



DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,  
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

## CONFORMACIÓN DE COMITÉS

### COMITÉ TUTORIAL

Co-Directores:

Dr. Bernardo Murillo Amador (CIBNOR, S.C.).

Dr. José Luis Espinoza Villavicencio (UABCS).

Tutores:

Dra. Elena Palacios Mechetnov (CIBNOR, S.C.).

Dr. Alejandro Palacios Espinosa (UABCS).

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera (UABC).

### COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Bernardo Murillo Amador.

Dr. José Luis Espinoza Villavicencio.

Dra. Elena Palacios Mechetnov.

Dr. Alejandro Palacios Espinosa.

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera.

### JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Bernardo Murillo Amador.

Dr. José Luis Espinoza Villavicencio.

Dra. Elena Palacios Mechetnov.

Dr. Alejandro Palacios Espinosa.

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera.

Dra. Alejandra Nieto Garibay (suplente).

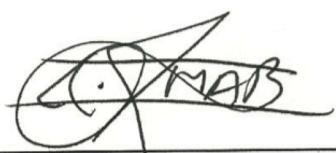
Dr. Enrique Troyo Diéguez (suplente).

## Resumen

En el Experimento 1, se determinó el valor nutricional de la alfalfa henificada (HA), dos genotipos de frijol yorimón [IT90K-277-2 (FYG18) y Sesenteño (FYG25)], un clon de pasto taiwán (PT), un cultivar local de nopal en dos presentaciones, pencas tiernas de 15 días de edad o "nopalitos" (NT) y pencas maduras (NM) de 60 días de edad y germinado de semillas de maíz (GM) del genotipo ASGROW 7573. Se cuantificó el contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC), lípidos totales (LT), cenizas (C), fibra cruda (FC) y energía bruta (EB), así como la concentración de ácido linoleico (LA), ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA), ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), ácidos grasos *n*-3 y *n*-6. Los resultados revelan que los genotipos de frijol yorimón G25 y G18, mostraron el mayor contenido de PC. Respecto a la concentración de LT, el genotipo de yorimón G25 mostró la mayor cantidad seguido del G18 y HA. Los forrajes verdes frijol yorimón G25 y G18, así como el PT tuvieron el contenido mayor de ALA. Las semillas de germinado de maíz mostraron los contenidos mayores de LA, seguido del nopal tierno. Ambos, ALA y LA, son precursores del ácido ruménico y del ácido vaccénico en rumiantes. Por lo tanto, el uso de estos forrajes verdes en la alimentación de rumiantes es una alternativa que podría modificar las proporciones de ácido grasos en la leche y la carne con el propósito de incrementar los PUFA, específicamente los ácidos grasos conjugados como son el ácido ruménico y el ácido vaccénico. En experimentos posteriores, se hicieron análisis con vacas Jersey y Criollas en forma independiente. El objetivo fue determinar el perfil de ácidos grasos (AG) en la grasa de la leche. Las vacas seleccionada tenían de dos a cinco partos y al momento del muestreo se encontraban entre los 60 y 120 d de lactación. En el experimento 2, se seleccionaron dos hatos de vacas Jersey. En un hato se alimentaron con alfalfa verde picada y concentrado comercial (AV; n=5) y en el otro con heno de alfalfa y concentrado comercial (HA; n=5). Ambos grupos estuvieron estabulados. En el experimento 3, se seleccionaron vacas Criollas de 4 hatos. Los animales escogidos al azar de 10 poblaciones se alimentaron con forraje verde (FV-P; n=25) en pastoreo durante la estación de lluvias de septiembre a octubre de 2009 en una zona semiárida de matorral sarcocauléscente. Otro grupo se mantuvo estabulado y se alimentó con heno de alfalfa (HA; n=7). En los dos experimentos, se

colectaron muestras de 10 mL de leche a los cuales se les determino LT y el perfil de AG, que fueron analizados con un modelo lineal general (SAS, 2001) utilizando el tipo de alimento consumido por cada raza de vacas como variables independientes. Para las vacas Jersey, los resultados revelan que la concentración de lípidos totales fue mayor en la leche de vacas alimentadas con heno de alfalfa (HA), mientras que la concentración de AG saturados, monoinsaturados y poliinsaturados no fue significativamente diferente ( $p>0.05$ ) entre HA y forraje verde (AV). Se observó mayor concentración en AV de 22:0, 16:1n-9, 20:1n-11, 20:1n-9, 20:1n-7, 18:1n-7t11 (ácido vaccénico), 18:2n-7c9t11 (ácido ruménico) y 20:5n-3 (EPA). La concentración de AG omega-6 fue similar entre tratamientos ( $p>0.05$ ) y la concentración de AG omega-3 hubo una tendencia mayor en AV, por lo que la relación de omega-3:omega-6 fue mayor en AV. Para el experimento tres con vacas criollas, la concentración de AG saturados fue menor ( $p<0.05$ ) en FV-P. Esa diferencia estuvo determinada por los AG 14:0, 15:0 y 16:0, principalmente. El total de AG monoinsaturados fue mayor en FV-P ( $p<0.05$ ). El total de AG poliinsaturados fue similar entre grupos, pero los AG 18:2n-6 y CLAc9t11 fueron más abundantes en FV-P ( $p<0.01$ ). La concentración de AG omega-3 fue parecida entre tratamientos y la concentración de AG omega-6 fue mayor en FV-P ( $p<0.01$ ), por lo que la relación de omega-3:omega-6 fue menor en FV-P. Se concluye que la alimentación con forraje verde disminuyó la cantidad de AG saturados, en particular los de cadena corta, y aumentó el AG 18:2n-6 (linoleico), así como la concentración de los AG monoinsaturados; aumentó la cantidad de 18:1n-7t11 (ácido vaccénico) e incrementó la cantidad de CLAc9t11 (ácido ruménico), EPA y el total de CLA en leche de vacas.

**Palabras clave:** Cultivos forrajeros, vacas, nutrición, ácidos grasos, CLA, leche.



Dr. Bernardo Murillo Amador  
Co-director de tesis

**Vo.Bo**



Dr. José Luis Espinoza Villavicencio  
Co-director de tesis

## Abstract

In Experiment 1, the nutritive value of alfalfa hay (HA), two cowpea genotypes [IT90K-277-2 (G18) and Sesenteño (G25)], a clone of taiwan grass (PT), a local cultivar of prickly pear cactus in two presentations, green cladodes of 15 days of age or "nopalitos" (NT) and mature cladodes of 60days of age (NM) and germinated seeds of corn (GM) of the genotype Asgrow 7573, were determined. The content of dry matter (MS), crude protein (PC), total lipids (LT), ashes (C), crude fiber (FC) and gross energy (EB) as well as the concentration of linoleic acid (LA),  $\alpha$ -linolenic acid (ALA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), and *n*-3 and *n*-6 fatty acids were quantified. Results showed that the genotypes of cowpea G25 and G18 had the highest content of PC. With respect to the concentration of LT, the cowpea genotype FYG25 showed the highest amount followed by FYG18 and AH. Green fodders cowpea G25 and G18, as well as PT had the highest content of ALA. Germinated seeds of corn showed the highest content of AL, followed by green prickly pears. Both ALA and AL are precursors of rumenic acid and vaccenic acid in ruminants. Therefore, the use of these green forages in the feeding of ruminants is an alternative that may modify the proportions of fatty acids in milk and meat in order to increase PUFA, specifically fatty acids conjugated such as rumenic and vaccenic acid. In subsequent experiments, analyses were performed with Jersey and Criollo cows independently. The objective was to determine the profile of fatty acids (FA) in the milk fat. The cows selected had two to five calvings and at the time of sampling were between 60 and 120 d of lactation. In experiment 2, two herds of Jersey cows were selected. In a herd cows were fed chopped green alfalfa and commercial concentrate (AV, n = 5) and in the other cows were fed alfalfa hay and commercial concentrate (HA, n = 5). Both groups were stabled. In experiment 3, Criollo cows from 4 herds were selected. The animals were randomly chosen from 10 populations, were fed green forage (FV-P; n=25) on grazing during the rainy season from September to October, 2009 in a semiarid zone of sarcocaulescent shrubs. Other group was maintained stabled and fed alfalfa hay (HA-C; n=7). In both experiments, samples of 10 mL of milk were collected whose LT and the FA profile were determined, then analyzed with a general linear model (SAS, 2001) using the type of feed consumed by

each breed of cows as independent variables. For Jersey cows, the results show that the concentration of total lipids was higher in milk from cows fed alfalfa hay (HA), while the concentration of saturated, monounsaturated and polyunsaturated FAs was not significantly different ( $p>0.05$ ) between HA and green forage (AV). A higher concentration was observed in AV of 22:0, 16:1 $n$ -9, 20:1 $n$ -11, 20:1 $n$ -9, 20:1 $n$ -7, 18:1 $n$ -7t11 (vaccenic acid), 18:2 $n$ -7c9t11 (rumenic acid) and 20:5 $n$ -3 (EPA). The concentration of omega-6 FA was similar between treatments ( $p>0.05$ ) and the concentration of omega-3 FA had a greater tendency in AV, so that the omega-3:omega-6 relationship was higher in AV. For experiment three with Criollo cows, the concentration of saturated FAs was lower ( $p<0.05$ ) in FV-P. This difference was determined by the FAs 14:0, 15:0 and 16:0 mainly. The total monounsaturated FAs was higher in FV-P ( $p<0.05$ ). The total polyunsaturated FA was similar between groups, but the FAs 18:2 $n$ -6 and 18:2 $n$ -7c9t11 were more abundant in FV-P ( $p<0.01$ ). The concentration of omega-3 FA was similar between treatments and the concentration of omega-6 FA was higher in FV-P ( $p<0.01$ ), so that the omega-3:omega-6 relationship was lower in FV-P. It is concluded that feeding green forage decreased the amount of saturated fatty acids, in particular those of short chain, and increased the FA 18:2 $n$ -6 (linoleic), as well as the concentration of monounsaturated FAs, increased the amount of 18:1 $n$ -7t11 (vaccenic acid) and increased the amount of CLA c9t11 (rumenic acid), EPA and total CLA in milk of cows.

**Key words:** forage crops, cows, nutrition, fatty acids, CLA, milk.

## **Dedicatoria**

A la memoria de mi madre Maricela, quien siempre fue mi inspiración para superarme.

A mi esposa Silvia, por su apoyo en todo momento.

A mis hijos Ricardo y Silvia Maricela, que son mi razón de ser y con el deseo de estimular su espíritu de superación.



## **Agradecimientos**

A Dios.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar estudios de Doctorado. Beca No. 211771.

Al Dr. Bernardo Murillo Amador, por invitarme y darme la oportunidad de participar en el presente proyecto de investigación.

Al Dr. José Luís Espinoza Villavicencio, por haber tenido la idea original de desarrollar este trabajo de investigación.

A la Dra. Elena Palacios Mechetnov, por su buena disponibilidad al trabajo y visión para resaltar lo importante.

A los miembros del Comité Tutorial, Revisores de tesis y Sinodales, Dr. Bernardo Murillo Amador, Dr. José Luís Espinoza Villavicencio, Dra. Elena Palacios Mechetnov, Dr. Alejandro Palacios Espinosa y Dr. Alejandro Plascencia Jorquera.

A la M.C. Olivia Arjona López, por el esfuerzo extraordinario realizado durante mi estancia en el laboratorio de metabolismo de lípidos.

Al personal de la Dirección de Posgrado del CIBNOR.

A Pedro Luna García, M.C. Sonia Guadalupe Rocha Meza y I.BQ. María Dolores Rondero Astorga por su ayuda en el trabajo de campo y de laboratorio, respectivamente.

## Contenido

	<b>Página</b>
Resumen.....	I
Abstract.....	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimientos .....	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES .....	4
2.1. Plantas forrajeras resistentes a la sequía.....	4
2.1.1. Frijol yorimón .....	4
2.1.2. Pasto Taiwán.....	4
2.1.3. Nopal.....	5
2.1.4. Alfalfa henificada .....	5
2.2. Composición de la leche.....	6
2.3. Síntesis de ácidos grasos de la leche.....	10
2.4. La digestión ruminal y sus implicaciones en el contenido lipídico de la leche .....	11
2.5. Origen del ácido linoleico conjugado en los productos de rumiantes .....	13
2.6. Factores que afectan la producción del CLA en las vacas lecheras.....	15
2.7. Influencia de la dieta sobre el contenido de CLA en la leche de bovinos .....	17
2.7.1. Lípidos como fuente de sustratos energéticos de la dieta.....	17
2.7.2. Factores que afectan la fuente de sustratos para síntesis de CLA .....	19
2.7.3. Factores combinados: Consumo de pastos y forrajes frescos.....	20
2.7.4. Suplementos lipídicos .....	22
2.8. Raza: variación interespecífica .....	24
2.9. Individuos: variación intraespecífica .....	25
2.10. Importancia de los CLA en la salud humana .....	26
3. OBJETIVO GENERAL.....	31
3.1. Objetivos Específicos .....	31
4. HIPÓTESIS .....	32
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5.1. Área de estudio (Experimento 1).....	33
5.1.2. Material vegetativo .....	33
5.2. Área de estudio y tratamientos (Experimento 2) .....	34
5.3. Área de estudio y tratamientos (Experimento 3) .....	34

5.4. Análisis químicos.....	35
5.4.1. Análisis proximal en forrajes.....	35
5.4.2. Análisis de lípidos totales y de ácidos grasos en forrajes.....	35
5.4.3. Extracción de lípidos totales de la leche.....	36
5.4.4. Análisis de lípidos totales (método gravimétrico).....	38
5.4.5. Análisis de ácidos grasos metil esterificados (FAME) y linoleicos conjugados (CLA).....	38
5.4.6. Identificación de los ácidos grasos linoleicos conjugados por cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-MS).....	39
5.5. Análisis estadístico.....	40
6. RESULTADOS.....	41
6.1. Experimento 1. Composición química y perfil de ácidos grasos en forrajes alternativos para la alimentación de rumiantes en ecosistemas áridos.....	41
6.1.1 Resultados del análisis bromatológico de los forrajes.....	41
6.1.2. Resultados del análisis de ácidos grasos.....	43
6.2. Experimento 2. Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas Jersey alimentadas con forraje verde o heno.....	45
6.2.1. Ácidos grasos saturados.....	46
6.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados.....	46
6.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados.....	47
6.2.4. CLA y MUFA <sup>trans</sup> .....	48
6.3. Experimento 3. Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas Criollas alimentadas con forraje verde o heno.....	49
6.3.1. Ácidos grasos saturados.....	49
6.3.2. Ácidos grasos monoinsaturados.....	50
6.3.3. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA).....	51
6.3.4. CLA y MUFA <sup>trans</sup> .....	52
7. DISCUSIÓN.....	54
8. CONCLUSIONES.....	66
9. LITERATURA CITADA.....	68
11. ANEXOS.....	86
Anexo 1. Artículo publicado en la Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems.....	86
Anexo 2. Acuse de recibo del segundo artículo científico sometido para su revisión a la revista Interciencia.....	100

**Lista de figuras**

	<b>Página</b>
Figura 1. A) Ácido ruménico, b) ácido vaccénico, c) ácido linoleico y d) ácido alfa linolénico.....	3
Figura 2. Metabolismo de los lípidos en el rumen y el origen del ácido linoleico conjugado en los productos de rumiantes (Tanaka, 2005; Kemp <i>et al.</i> , 1984b; Griinari <i>et al.</i> , 2001; Bauman <i>et al.</i> , 1999, 2001; Elgersma <i>et al.</i> , 2006; García <i>et al.</i> , 2008; Margarida <i>et al.</i> , 2007; Or-Rashid <i>et al.</i> , 2007; Rico <i>et al.</i> , 2007; Buccioni <i>et al.</i> , 2008; Jenkins <i>et al.</i> , 2008).....	13
Figura 3. Factores que afectan a la eficacia de la biohidrogenación (Martínez-Marín <i>et al.</i> , 2010).....	18

## Lista de tablas

	<b>Página</b>
Tabla I. Porcentaje de grasa, proteína y lactosa en leche de diferentes razas lecheras.....	7
Tabla II. Porcentaje de grasa, proteína y lactosa en leche de diferentes razas de carne.....	8
Tabla III. Composición de los principales ácidos grasos en la grasa de la leche.1 .....	10
Tabla IV. Perfil ácidos grasos del zacate fresco, heno y aceite de soya (adaptada de Izumi <i>et al.</i> , 2002).....	21
Tabla V. Composición química (Media $\pm$ E.E; g100 <sup>-1</sup> de MS) de alfalfa henificada y cuatro forrajes alternativos para ecosistemas áridos.....	42
Tabla VI. Concentración de ácidos grasos (Media $\pm$ E.E; g100 <sup>-1</sup> g de ácidos grasos) de alfalfa henificada y cuatro forrajes alternativos para ecosistemas áridos. ....	45
Tabla VII. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos saturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).....	46
Tabla VIII. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos monoinsaturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA). ....	47
Tabla IX. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos poliinsaturados y altamente poliinsaturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).....	48
Tabla X. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos <i>trans</i> (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).....	49
Tabla XI. Concentración (promedio $\pm$ Error Estándar) de ácidos grasos saturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa en confinamiento(HA-C), o con Forraje verde en pastoreo(FV-P). ....	50
Tabla XII. Concentración (promedio $\pm$ EE) de ácidos grasos monoinsaturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje verde (FV-P) en pastoreo.....	51
Tabla XIII. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos poliinsaturados y altamente poliinsaturados (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje (FV-P) verde en pastoreo. ....	52
Tabla XIV. Concentración (media $\pm$ EE) de ácidos grasos <i>trans</i> (g100 <sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje (FV-P) verde en pastoreo.....	53

## Lista de acrónimos

Abreviatura	Definición
AG	Ácido graso
ALA	Ácido alfa linolénico (18:3 $n$ -3)
ANOVA	Análisis de varianza
bFGF	Factor del crecimiento del fibroblasto básico
BF3/MeOH	Trifluoruro de boro en metanol
BHT	Butilhidroxitolueno (antioxidante)
CLA	Ácido linoleico conjugado(18:2 $n$ -7c9t11; 18:2 $n$ -6t10c12)
DHA	Ácido docosahexaenoico (22:6 $n$ -3)
EB	Energía cruda
EE	Error estándar
EPA	Ácido eicosapentaenoico (20:5 $n$ -3)
FAME	Ácidos grasos metil esterificados
FC	Fibra cruda
FID	Detector de ionización de flama
FV	Forraje verde
GC-MS	Cromatografía de gases con detección por espectro de masas
HA	Heno de alfalfa
HCl:MeOH	Ácido clorhídrico-metanol
HUFA	Ácidos grasos altamente insaturados
KOH	Hidróxido de potasio
LA	Ácido linoleico (18:2 $n$ -6)
LPL	Lipoproteín-lipasa
LT	Lípidos totales
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
MS	Materia seca
PC	Proteína cruda
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
SCD	Stearoil CoA Desaturasa
SFA	Ácidos grasos saturados

## 1. INTRODUCCIÓN

La ganadería en Baja California Sur es importante, debido a la superficie que ocupa (4.7 millones de Ha) y al número de familias que involucra, con más de 4 mil 500 productores y un valor total del inventario ganadero de 1,406 millones de pesos (INEGI, 2006).

De acuerdo con el SIAP (2011), la población total de bovinos en Baja California Sur es de 208,447 cabezas. De estas, 15,387 son bovinos de leche distribuidos en los municipios de Comondú (60%), Mulegé (20%), La Paz (18%) y Los Cabos (4%). La población de bovinos de carne es de 193,060 animales distribuidos en los municipios de Los Cabos, La Paz, Comondú, Mulegé y Loreto en proporciones de 34, 30, 19, 13 y 4%, respectivamente (SIAP, 2011). La mayor parte de esta ganadería se desarrolla bajo el sistema de producción extensivo, dependiente de los agostaderos (INEGI, 2006).

En el sur del estado, la ganadería lechera comúnmente es explotada bajo un sistema de producción semiestabulado, con pastoreo en praderas de diferentes tipos como zacate Bermuda cruzado ( *Cynodon plectostachyus* ) mezclado con grama ( *Cynodon dactylon* ), zacate Buffel ( *Cenchrus ciliaris* ) o alfalfa ( *Medicago sativa* ; CEA, 2000). En el resto de la entidad, esta ganadería se desarrolla en un sistema de producción estabulado, donde la alimentación del ganado se basa en granos y forrajes, principalmente alfalfa henificada.

La ganadería en Baja California Sur ha sido afectada por sequías recurrentes. De acuerdo con registros tomados de 102 estaciones meteorológicas de los cinco municipios entre 1961 y 2003, el 42% de los años presentan precipitaciones superiores a los 200 mm, el 27% entre 100 y 200 mm y el 31% de los años registran precipitaciones inferiores a los 100 mm (Ruiz *et al.*, 2006). Lo anterior hace suponer que en 3 de cada 10 años se presentan sequías. Alrededor del 68% de las lluvias se registran durante los meses de Julio a Octubre (Agredano-Hernández, 2007).

En este sentido, las frecuentes sequías y la consecuente escasez de forrajes limitan la alimentación y producción de ganado debido a pérdidas por mortandad y bajas tasas reproductivas; estas a su vez, repercuten en limitar los programas de mejoramiento genético. Para minimizar el efecto de las sequías se pueden utilizar especies de plantas y forrajes adaptadas a las zonas áridas que además tengan un buen rendimiento de materia seca (Agredano-Hernández, 2007).

En Baja California Sur, el sistema de producción de bovinos para carne se basa en el pastoreo extensivo. En la mayoría de los ranchos, las vacas se ordeñan durante la temporada de lluvias, cuando la disponibilidad de forraje verde es suficiente para cubrir los requerimientos nutricionales. La leche que se obtiene se utiliza para el consumo familiar y para la elaboración de queso que se comercializa en las comunidades cercanas a cada rancho. La ganadería bovina de leche de la entidad, en el 20% de los casos se desarrolla bajo un sistema de producción semi-estabulado con una alimentación que contempla el uso de forrajes frescos, henos y en algunos casos complementados con concentrados.

El tipo de alimentación de las vacas, ya sea predominantemente estabulado o extensivo, tiene un efecto importante en la calidad de la leche y la carne. Dewhurst *et al.* (2006) observaron un incremento importante en los niveles de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en la leche producida por vacas alimentadas con dietas que contienen una proporción alta de forraje. En otro estudio, las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y 18:1n-7t11(ácido vaccénico) en la leche de vacas estuvieron correlacionadas positivamente con la proporción de alfalfa en la dieta (Castillo *et al.*, 2006). Se ha demostrado también que el pastoreo de rumiantes en agostaderos en donde el consumo de alimentos se limita a forrajes nativos incrementa el contenido de CLA en la leche hasta en un 500% comparada con la producida por vacas lecheras alimentadas con dietas integrales especiales para bovinos productores de leche (Dhiman *et al.*, 1999).

El perfil de ácidos grasos en la leche y carne es importante dado que algunos ácidos grasos pueden ser benéficos y otros perjudiciales en la salud de los humanos. Los PUFA, en particular los omega-3, aportan beneficios a la salud humana participando en el desarrollo neural,



reduciendo la inflamación, arritmia y los niveles de triglicéridos en la sangre (Belury, 2002; Lock y Bauman, 2004; Carpentier *et al.*, 2006).

Recientemente, se ha propuesto que los ácidos linoleicos conjugados (por sus siglas en inglés **CLA**; Figura 1), en particular el ácido ruménico (18:2*n-7c9t11*) que es el más predominante en la leche de rumiantes, promueve a su vez, varias funciones fisiológicas importantes en los consumidores, incluyendo la anticancerígena, antiarteriogénica, inmunomoduladora, promoción del crecimiento y promoción de una masa corporal magra (Tanaka, 2005).

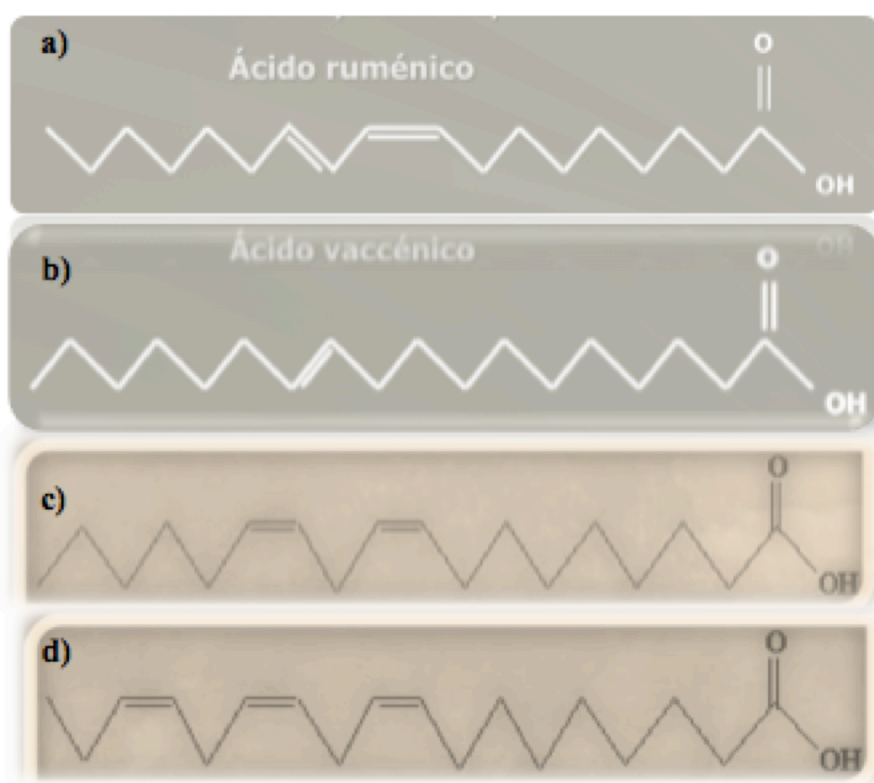


Figura 1. A) Ácido ruménico, b) ácido vaccénico, c) ácido linoleico y d) ácido alfa linolénico.

Con base en los planteamientos anteriores, una alternativa para producir leche con características de un alimento funcional, es conocer las concentraciones de ácidos grasos (AG) de algunos forrajes de corte resistentes a la sequía, así como identificar el perfil de ácidos grasos en la leche de vacas en diferentes sistemas de alimentación.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Plantas forrajeras resistentes a la sequía

#### 2.1.1. Frijol yorimón

El frijol yorimón es una planta leguminosa anual erguida o rastrera, de crecimiento vigoroso. Las variedades presentan diferencias entre sí: Sus hojas son grandes o pequeñas; el tamaño y color del grano son diferentes, lo cual significa que se tiene un cultivo con potencial para propósitos diversos como la producción de forraje, grano o ambos (Pandey, 1990). En su ciclo de vida presenta diferencias dependiendo del genotipo o cultivar. Una variedad precoz puede presentar un ciclo de vida de 2 meses hasta la floración y de 2.5 a 3 meses hasta la cosecha. Sin embargo, existen variedades con un ciclo de hasta 6 meses. Son sensibles al fototropismo y florecen en octubre a noviembre (Murillo-Amador *et al.*, 2003a).



#### 2.1.2. Pasto Taiwán

Es un pasto perenne de tallos múltiples que producen macollos (FAO, 2007). Los tallos son erectos, recubiertos en forma parcial o total por las vainas de las hojas. Las hojas son lanceoladas y pueden alcanzar una longitud superior a 1.50 m, con variaciones en su anchura entre 3 y 5 cm (Romero, 2002). Para un buen establecimiento de la planta, se debe de dar un tiempo mayor a los 120 d después de la siembra, para que la planta desarrolle un buen sistema radicular que permita una mayor vida productiva de la pradera. Los cortes se realizan cada 60 a 70 d en verano y 80 a 90 d en invierno,



cuando el pasto está tierno y succulento. De preferencia se debe ofrecer al ganado en verde y picado para que las hojas y los tallos se mezclen bien (Agredano-Hernández, 2007). Está adaptado a las condiciones de los trópicos y subtropicos, se desarrolla en los climas de trópico húmedo y seco (Agredano-Hernández, 2007).

### 2.1.3. Nopal

Es la especie cactácea de mayor importancia económica en el mundo. Se cultiva para fruta, forraje o como hospedante de la grana cochinilla, pero sólo en México se consumen sus cladodios tiernos como verdura (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Está disponible en todas las estaciones del año como forraje verde para el consumo de ovejas y cabras. Se caracteriza por su adaptación fisiológica a la escasez de agua (Atti *et al.*, 2006). Una recomendación al momento de la plantación es que no deben de plantarse pencas que tengan alguna herida producto del corte y que no haya cicatrizado completamente con la finalidad de evitar daños por pudrición. La cosecha, donde el objetivo es obtener brotes para forraje depende también del sistema de producción con que se cuente. Bajo un sistema de producción intensiva, los cortes se pueden realizar por día o por semana, dependiendo de la disponibilidad de producción (Murillo-Amador *et al.*, 2002).



### 2.1.4. Alfalfa henificada

La principal limitante de la alfalfa es la cantidad de agua, teniéndose algunas regiones donde se riega únicamente con aguas tratadas. La henificación (secado) permite conservar el forraje seco a partir de lograr una rápida evaporación del agua (10-15% de humedad) contenida en la planta. De esta manera se



obtiene un forraje que permite mantener la mayoría de los nutrientes para la alimentación (INIFAP, 1986).

## 2.2. Composición de la leche

La leche es un fluido biológico que contiene un gran número de constituyentes (Davies *et al.*, 1983; Kennelly, 1996). La composición de la leche de vacas lecheras generalmente varía entre 3.0 a 3.5% de grasa, 2.8 a 4.5% de proteína y 4.2 a 5.1% de lactosa (Velazquez, 2000). Algunos valores reportados en vacas lecheras se presentan en el Tabla I. En comparación, la composición de la leche en vacas para carne se han reportado con valores entre 2.5 a 6.5% para grasa, 3.0 a 4.0% de proteína y 3.8 a 5.3% para lactosa (Tabla II).

El peso específico de la leche oscila entre 1.027 y 1.035, con una media de 1.032. El punto de congelación se encuentra entre  $-0.54^{\circ}\text{C}$  y  $-0.55^{\circ}\text{C}$  (valores límites:  $-0.51^{\circ}\text{C}$  y  $-0.59^{\circ}\text{C}$ ) en virtud de la lactosa y sales disueltas (Lerche, 1969). Desde el punto de vista tecnológico la composición de la leche determina su valor para la elaboración de productos alimenticios (Román-Ponce, 1995).

La leche bovina se encuentra conformada aproximadamente por 98% de triglicéridos, un poco menos del 2% de lípidos polares (fosfoglicéridos y esfingolípidos), y por pequeñas cantidades de colesterol y ácidos grasos libres, mono, di y triglicéridos (Jensen *et al.*, 1991).

Los triglicéridos están constituidos por una unidad de glicerol al que están esterificados tres AG en las posiciones *sn*-1, *sn*-2 y *sn*-3 mientras que los lípidos polares varían su estructura de acuerdo al grupo al que se refiera, i.e.: fosfogliceridos y esfingolípidos.

El primer grupo son los fosfoglicéridos, entre los que se encuentran fosfoglicéridos y plasmalógenos, ambos con AG en las posiciones *sn*-1, *sn*-2. Los fosfoglicéridos son los más abundantes y conocidos, e incluyen en su estructura ácido fosfatídico. La diferencia principal entre plasmalógenos y fosfoglicéridos es que el AG en el *sn*-1 del glicerol contiene una especie alquil ( $-\text{O}-\text{CH}_2-$ ) o O-alquenil éter ( $-\text{O}-\text{CH}=\text{CH}-$ ).

Tabla I. Porcentaje de grasa, proteína y lactosa en leche de diferentes razas lecheras.

Raza	Grasa de la leche (%)	Proteína de la leche (%)	Lactosa de la leche (%)	Referencia
Holstein	3.5	3.0	4.6	Jennes (1985)
Holstein	3.3	3.7	4.5	Sharaby (1988)
Holstein	3.9	2.8	4.9	Nagel y Broderick (1992)
Holstein	3.6	3.0	4.9	Rodríguez <i>et al.</i> (1997a)
Holstein	3.8	2.9	5.1	Rodríguez <i>et al.</i> (1997a)
Jersey	4.9	3.6	4.7	Jennes (1985)
Jersey	4.3	4.5	4.2	Sharaby (1988)
Jersey	5.0	3.7	5.0	Rodríguez <i>et al.</i> (1997a)
Jersey	4.3	4.5	4.2	Rodríguez <i>et al.</i> (1997a)
Lechera*	3.2	3.2	3.8	Mondragón <i>et al.</i> (1983)
Guernsey	4.6	3.5	4.8	Jennes (1985)
Ayrshire	4.0	3.3	4.6	Jennes (1985)
Pardo Suizo	3.8	3.2	4.8	Jennes (1985)

\*Pardo Suizo y Holstein y sus cruizas

Tabla II. Porcentaje de grasa, proteína y lactosa en leche de diferentes razas de carne.

Raza	Grasa de la leche (%)	Proteína de la leche (%)	Lactosa de la leche (%)	Referencia
Angus	4.1	3.3	4.7	Beal <i>et al.</i> (1990)
Hereford	4.9	3.5	5.5	Butson y Berg (1984)
Hereford	6.3	3.3	5.0	Daley <i>et al.</i> (1986)
Chianina	4.3	3.8	5.1	Meregalli <i>et al.</i> (1983)
Red Poll	5.8	3.0	5.2	Daley <i>et al.</i> (1986)
Hungarian Grey	4.9	3.5	5.1	Kovacs <i>et al.</i> (1999)
Charoláis	3.4	3.5	5.2	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Angus x Hereford	5.8	3.0	5.0	Daley <i>et al.</i> (1986)
Hereford x Red Poll	5.7	3.1	5.1	Daley <i>et al.</i> (1986)
Red Poll x Hereford	5.9	3.2	5.1	Daley <i>et al.</i> (1986)
Angus x Charoláis	5.7	3.1	5.1	Daley <i>et al.</i> (1986)
Brahman x Hereford	6.5	3.3	5.1	Daley <i>et al.</i> (1986)
Brahman x Angus	5.7	3.2	5.0	Daley <i>et al.</i> (1986)
British <sup>1</sup>	2.8	3.3	5.3	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Dairy <sup>2</sup> x British	3.1	3.2	5.1	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Charoláis x British	3.6	3.3	5.2	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Burwash x British	3.1	3.5	5.2	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Dairy x Burwash	3.1	3.3	5.0	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Jersey x British	3.9	3.5	5.2	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Exotic <sup>3</sup> x Dairy	3.3	3.5	5.1	Mondragon <i>et al.</i> (1983)
Beef Synthetic <sup>4</sup>	4.9	3.5	5.5	Butson y Berg (1984)
Dairy-Beef <sup>5</sup>	4.8	3.5	5.2	Butson y Berg (1984)
Dairy-Beef <sup>6</sup>	4.8	3.5	5.3	Butson y Berg (1984)

1=Angus, Hereford, Shorton y sus cruzas; 2=Pardo Suizo, Holstein y sus cruzas; 3=Chianina, Limousin, Charoláis y Maine Anjou; 4=Cruzas de Charoláis, Angus y Galloway; 5=Cruza de progenie lechera con Hereford o madres de raza de carne sintéticas; 6=Cruzas de Holstein o Pardo Suizo con razas de carne.

El segundo grupo son los esfingolípidos, que a su vez se dividen en fosfoesfingolípidos y glucolípidos. Los fosfoesfingolípidos incluyen en su estructura una ceramida, un grupo fosfato y un amino alcohol; el más abundante esfingolípido es la esfingomielina. Los glucolípidos también poseen en su estructura una ceramida, pero no tienen fosfato ni alcohol; entre los principales glucolípidos se encuentran los cerebrósidos y gangliósidos.

El colesterol es un lípido esteroide formado por una molécula de ciclo-pentano-perhidrofenantreno constituida por cuatro carbociclos condensados, una cadena alifática y un grupo hidroxilo (Jensen *et al.*, 1991; Fahy *et al.*, 2005).

La composición de AG varía entre los tipos de lípidos. Los AG insaturados predominan en los fosfoglicéridos (aprox. 70% insaturados, 30% saturados), mientras que los AG saturados (SFA) predominan en los triglicéridos (aprox. 30% insaturados, 70% SFA), y esfingolípidos (20% insaturados, 80% SFA) (Smith y Lowry, 1962). En términos generales podría decirse que la grasa de la leche bovina está compuesta por 70% SFA, 25% MUFA y 5% poliinsaturados (PUFA). Sin embargo, la grasa de la leche es, posiblemente, la más compleja de las grasas comestibles. En ella se han detectado cerca de 400 AG diferentes, con longitudes de cadena que van desde C2 hasta C28, incluyendo pares, impares, saturados, insaturados, *cis* y *trans* (Ledoux *et al.*, 2005). La grasa de la leche de vaca juega un papel importante en la nutrición humana (Parodi, 2004).

La grasa láctea se sintetiza en su mayoría en las células secretoras de la glándula mamaria. Se encuentra en forma de partículas emulsionadas o suspendidas en pequeños glóbulos microscópicos, cuyos diámetros pueden variar de 0.1 a 0.22 micrones rodeados de una capa de fosfolípidos que evitan que la grasa se aglutine y pueda separarse de la parte acuosa (Lerche, 1969). La síntesis de triglicéridos se realiza en el retículo endoplasmático liso seguida por su agregación en el retículo endoplasmático rugoso, conformando lo que se conoce como núcleo del glóbulo de grasa que se encuentran casi exclusivamente compuesto por triglicéridos (99.8%; Heid y Keenan, 2005), con pequeñas cantidades de colesterol, vitaminas y otros componentes (Jensen *et al.*, 1991).

Tabla III. Composición de los principales ácidos grasos en la grasa de la leche.<sup>1</sup>

Número de carbonos	Nombre común	Rango promedio (wt%)
4:0	Butírico	2-5
6:0	Caproico	1-5
8:0	Caprílico	1-3
10:0	Caprico	2-4
12:0	Laurico	2-5
14:0	Mirístico	8-14
15:0	Pentadecanoico	1-2
16:0	Palmítico	22-35
16:1	Palmitoleico	1-3
17:0	Margárico	0.5-1.5
18:0	Esteárico	9-14
18:1 <sup>2</sup>	Oleico	20-30
18:2	Linoleico	1-3
18:3	Linolénico	0.5-2

<sup>1</sup>Adaptado de Kaylegian y Lindsay (1995).

<sup>2</sup>También contiene alrededor de 3% del total de isómeros como *trans* (Jensen y Newber, 1995).

### 2.3. Síntesis de ácidos grasos de la leche

Los AG de cadena corta y el 50% de los AG de cadena mediana saturados con un número par hasta de 16 carbonos, son sintetizados *de novo* en el citoplasma a partir del acetato y 3-hidroxi-butirato que llegan en la sangre proveniente de la fermentación en el rumen, en reacciones catalizadas por las enzimas acetyl CoA carboxilasa y AG sintetasa.

No todos los AG de la leche bovina se sintetizan en la glándula mamaria. Los AG ya formados pueden ser transportados a la glándula mamaria en las lipoproteínas que circulan en la sangre o como AG libres, ambos procedentes de la dieta y/o sintetizados o transformados en el hígado. Así, aprox. 50% de los AG de cadena mediana saturados con un número par hasta de 16 carbonos procede de lípidos circulantes en sangre que tienen su origen en la dieta, el rumen y la grasa



movilizada de las reservas corporales (Angulo *et al.*, 2005; Angulo y Olivera, 2008).

En la glándula mamaria bovina es posible la desaturación pero no la elongación de cadenas de más de 16 carbonos debido a que no existen las enzimas necesarias (Chilliard *et al.*, 200), por lo tanto, los AG de 18 ó más carbonos (excepto los que se originan como producto de la desaturación tales como el oleico y el ruménico), proceden de lípidos circulantes en sangre, a su vez con origen en el alimento o síntesis en el hígado.

La enzima lipoproteína lipasa (LPL) se encarga de hidrolizar los AG unidos a triglicéridos que vienen en las lipoproteínas en la sangre permitiendo así la disponibilidad de AG para la glándula mamaria. Algunos han encontrado que la LPL se origina en las células de la glándula mamaria mientras que otros la han encontrado en los adipocitos mamaros localizados en las células intersticiales de en glándula mamaria. Posiblemente esta enzima es producida en los adipocitos, secretada y transportada a través de las células de la glándula mamaria tanto hacia los capilares endoteliales como hacia el sitio de secreción de leche en la glándula mamaria (Mahecha *et al.*, 2008). Una vez que la LPL libera a los AG en los capilares mamaros, estos deben atravesar lateralmente la bicapa lipídica de la membrana del capilar, luego cruzar células adyacentes que se encuentran entre el capilar y la glándula mamaria, para finalmente alcanzar las células de la glándula mamaria. Clegg *et al.* (2001) referencian la necesidad de un gradiente de concentración de AG, lo cual es posiblemente creado por traslocadores de AG o proteínas de enlace.

#### **2.4. La digestión ruminal y sus implicaciones en el contenido lipídico de la leche**

Las dietas corrientes de los rumiantes contienen generalmente entre 2 y 5% de lípidos, de los que cerca de la mitad son ácidos grasos (Doreau y Ferlay, 1994). Uno de los motivos principales para incrementar el contenido de grasa en la dieta de rumiantes es aumentar su concentración energética (Chilliard y Ollier, 1994). La inclusión de fuentes de grasa apropiadas en la dieta de los rumiantes también permite incrementar el contenido del ácido linoleico conjugado (CLA) y los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de la serie omega-3, eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), en la carne y la leche con la consiguiente mejora de sus cualidades saludables para el ser humano (Collomb *et al.*, 2006; Givens *et al.*, 2006; Schmid *et al.*, 2006). Sin embargo, en ambos casos, los resultados obtenidos están estrechamente ligados al proceso

digestivo de los rumiantes, en particular a causa de las modificaciones que los lípidos sufren por la fermentación microbiana ruminal (Bell, 1982).

Los lípidos de los alimentos sufren dos importantes transformaciones en el rumen: lipólisis y biohidrogenación, como se explica en la Figura 2 (Tanaka, 2005).

La lipólisis se refiere a la liberación por hidrólisis de los ácidos grasos esterificados en los triglicéridos, glicolípidos y fosfolípidos. La biohidrogenación consiste en la reducción de los enlaces dobles existentes en los ácidos grasos liberados.

Si los lípidos de la dieta son accesibles a la microflora del rumen, son hidrolizados rápidamente. La lipólisis libera los ácidos grasos y el glicerol, o la galactosa en el caso de los glicolípidos (Hawke y Silcock, 1970). El glicerol y la galactosa libres son rápidamente fermentados (Johns, 1953), el primero mayoritariamente a ácido propiónico mientras que el segundo lo es a ácido acético (Hobson y Mann, 1961).

La principal actividad lipolítica es debida a lipasas, galactolipasas y fosfolipasas de origen mayoritariamente bacteriano pero también protozoario (Harfoot y Hazlewood, 1988). Las lipasas vegetales son secundarias en relación a las lipasas microbianas (Dawson *et al.*, 1977), y la lipasa de la saliva de los rumiantes tiene baja actividad (Gooden, 1973).

Los ácidos grasos saturados liberados no sufren modificaciones en el rumen pero los insaturados son rápidamente hidrogenados por las bacterias, dado que estos ácidos grasos pueden ser tóxicos, al estar oxidados, para bacterias anaeróbicas. Los principales sustratos para la biohidrogenación presentes en los alimentos de los rumiantes son los ácidos linoleico y linolénico (Doreau y Ferlay, 1994) y los principales productos, son los ácidos grasos conjugados, específicamente, el ácido linoleico conjugado o CLA (Figura 2).

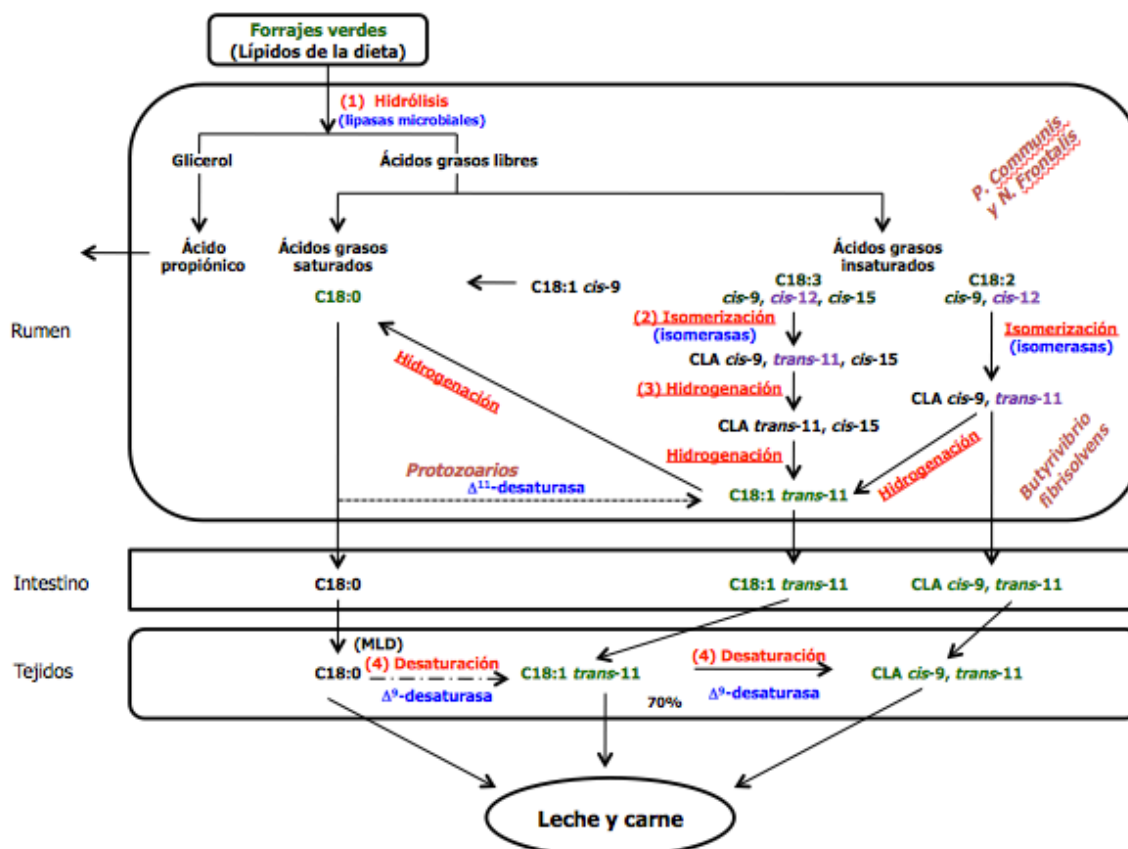


Figura 2. Metabolismo de los lípidos en el rumen y el origen del ácido linoleico conjugado en los productos de rumiantes (Tanaka, 2005; Kemp *et al.*, 1984b; Griinari *et al.*, 2001; Bauman *et al.*, 1999, 2001; Elgersma *et al.*, 2006; García *et al.*, 2008; Margarida *et al.*, 2007; Or-Rashid *et al.*, 2007; Rico *et al.*, 2007; Buccioni *et al.*, 2008; Jenkins *et al.*, 2008).

## 2.5. Origen del ácido linoleico conjugado en los productos de rumiantes

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un término colectivo que describe una mezcla de isómeros dienoicos, geométrica y posicionalmente conjugados, derivados del ácido linoleico. En 1935, la presencia de ácidos grasos con dobles ligaduras conjugadas fue reportada por primera vez en la leche de vacas pastoreando sobre pasturas en primavera (Booth *et al.*, 1935) y un trabajo posterior de Parodi (1977) demostró que ese ácido graso fue el CLAc9t11, principalmente. El CLAc9t11 es el isómero predominante, representando del 75-90% del total de CLA en la grasa del rumiante y el CLAt7c9, es el segundo isómero más prevalente representando del 3-16% del total de CLA. Para el isómero de CLAc9t11 se ha propuesto el nombre común de “ácido ruménico” debido a su relación única con los rumiantes (Kramer *et al.*, 1998). El CLAc9t11 o

ácido ruménico, es un intermediario en la biohidrogenación del LA a ácido esteárico. Parodi (1977) identificó al principal AG octadecadienoico conjugado en la grasa de la leche como CLAc9t11. Además, se ha observado una relación estrecha entre el contenido en la leche de 18:1n-7t11 (ácido vaccénico) y CLAc9t11 (Solomon *et al.*, 2000).

La biohidrogenación del ácido linoleico se realiza en tres pasos: En primer lugar ocurre una rápida isomerización del enlace CLAc12t11, resultando proporciones variables de isómeros (CLAc9t11; CLAt9c11; CLAt10c12; etc.) de CLA, entre los que destaca el ácido ruménico (CLAc9t11) con un porcentaje en torno al 30% en vacas (Piperova *et al.*, 2002). En una segunda fase, el enlace *cis*-9 es hidrogenado para formar ácido vaccénico (18:1n-7t11). La biohidrogenación del ácido linolénico comienza igualmente con la isomerización del enlace CLAc12t11, posteriormente se hidrogenan los enlaces *cis*-9 y *cis*-15 dando lugar a ácido vaccénico. Este proceso no incluye la formación de ácido ruménico como intermediario pero sí de otros isómeros de CLA. En ambos casos, según Bauman *et al.* (1999), la velocidad a que el ácido vaccénico es reducido a ácido esteárico es más lenta que los pasos previos; en consecuencia, la acumulación de ácido vaccénico facilita que una parte del mismo escape del rumen y sea disponible para la absorción intestinal. En el caso del ácido oleico, no ocurre solamente la biohidrogenación a ácido esteárico sino que, además, se forman numerosos isómeros *trans* (Mosley *et al.*, 2002) y parte del mismo es transformado en los ácidos 10-hidroxiesteárico y 10-cetoesteárico (Jenkins *et al.*, 2006).

Moate *et al.* (2004) estimaron tasas medias de biohidrogenación *in vivo* de los ácidos oleico, linoleico y linolénico de 27, 88 y 244% por hora, respectivamente. Estos valores son sustancialmente mayores que los obtenidos *in vitro* por Beam *et al.* (2000) para el ácido linoleico (9-12%/h) y Enjalbert *et al.* (2003) para los ácidos linoleico y linolénico (19-38%/h y 20-46%/h, respectivamente).

Alternativamente, estudios de cinética sobre la  $\Delta 9$  desaturasa derivada del hígado de rata demostraron que el 18:1n-7t11 es convertido en CLAc9t11 por esta enzima; aunque la conversión de ácido esteárico a ácido oleico representa la reacción sustrato-producto preferido (Pollard *et al.*, 1980), presentándose este mismo mecanismo fisiológico en rumiantes (Park y Pariza, 2009).

En un estudio la infusión abomasal del 18:1n-7t11 (12.5 g/día) en vacas lecheras en lactación resultó en un 31% de incremento en el contenido de CLAc9t11, en la grasa de la leche. A partir de esos reportes, se asume que también ocurre la síntesis endógena de CLAc9t11 y que está implicada en ello la enzima  $\Delta 9$  desaturasa teniendo como precursor al 18:1n-7t11, otro intermediario en la biohidrogenación ruminal de los ácidos linoleico (LA) y alfa linolénico (ALA; Griinari *et al.*, 2000; Park y Pariza, 2009).

An *et al.* (2003) investigaron la ocurrencia y cambios en función del tiempo del CLA y el 18:1n-7t11 en el rumen de ovejas fistuladas; la alimentación de las ovejas con dietas conteniendo grasas poliinsaturadas resultó en un incremento marcado en el nivel de 18:1n-7t11 y de un incremento ligero de CLA en el rumen. En esos estudios, el nivel de 18:1n-7t11 (0.3-0.4 mg/g) fue mayor que el de CLA (menos de 0.05 mg/g). Esto sugiere que las tasas de conversión de ácidos LA y ALA a 18:1n-7t11 son más rápidas que del 18:1n-7t11 a ácido esteárico. Entonces, el CLAc9t11 producido por la biohidrogenación ruminal del ácido LA es un intermediario transitorio, mientras que el 18:1n-7t11 es acumulado en el rumen. Si el CLA en los productos de rumiantes se origina del CLA que se escapa de la biohidrogenación incompleta del LA de la dieta en el rumen como ha sido reconocido generalmente, la concentración de CLA en el rumen también se ha visto que es baja. De esta manera, la mayor parte del CLAc9t11, en la grasa de la leche se ha visto que se origina de la síntesis endógena a través de la  $\Delta 9$  desaturasa y del 18:1n-7t11 que deriva del flujo ruminal y que es el precursor para la síntesis endógena. La clave para incrementar el contenido de CLAc9t11 en la grasa de la leche podría ser aumentando el flujo ruminal de 18:1n-7t11 e incrementando la actividad de la  $\Delta 9$  desaturasa en la glándula mamaria.

## **2.6. Factores que afectan la producción del CLA en las vacas lecheras**

Las variaciones en la composición de los ácidos grasos de la materia grasa de la leche de bovinos, son la resultante de los sistemas de alimentación, del período de lactancia, de la variación estacional y del área geográfica, influyendo también el grado de mastitis y la raza, entre otros (Pinto *et al.*, 2002). De todos estos factores, el más importante es la dieta del animal y se puede manipular en gran parte, para aumentar la concentración de CLA en productos alimenticios de rumiantes (Sanhueza, 2004).

La comprensión de los diversos factores que afectan el contenido de CLA en productos alimenticios tiene implicaciones prácticas en lechería y al considerarlos, es posible enriquecer los productos alimenticios que pueden derivar en beneficios potenciales de la salud asociados con CLA (Khanal y Olson, 2004).

Los factores que determinan la eficacia de la biohidrogenación son diversos. En primer lugar, la isomerización previa a la biohidrogenación requiere que el grupo carboxilo de la molécula esté libre, lo cual determina que la lipólisis pueda considerarse como la etapa limitante del proceso global y que todos los factores que repercuten sobre la lipólisis afecten también a la biohidrogenación (Bauman *et al.*, 2003). La eficacia de la biohidrogenación se relaciona negativamente con la proporción de concentrados en la dieta (Sauvant y Bas, 2001). De hecho, la biohidrogenación es más intensa en dietas con abundantes forrajes (Kucuk *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2006). Cuando disminuye la proporción de forraje, el flujo de isómeros 18:1t totales hacia el duodeno puede duplicarse (Loor *et al.*, 2004). Ello es debido, principalmente, a un incremento lineal del flujo del isómero 18:1t10, cuya proporción en dichas circunstancias puede pasar del 4 al 25% del total de isómeros del grupo (Piperova *et al.*, 2002; Loor *et al.*, 2004). En general, todas aquellas características de la dieta, como el pequeño tamaño de partícula, abundancia de concentrados, exceso de almidón degradable en rumen, ausencia de tampones, que reducen el valor medio diario de pH ruminal a menos de 6.25 (Sauvant *et al.*, 1999) afectan negativamente a la eficacia de la biohidrogenación (Figura 3). Troegeler-Meynadier *et al.* (2006) comprobaron *in vitro* que un pH <6 inhibe la isomerización y la segunda reducción, lo cual puede relacionarse con el hecho que las bacterias celulolíticas, principales responsables de la biohidrogenación, son muy sensibles a valores de pH <6 (Slyter, 1986; Owens *et al.*, 1998). Otros factores que afectan negativamente a la eficacia de la biohidrogenación son la elevada concentración del ácido linoleico (Atkinson *et al.*, 2006; Harvatine y Allen, 2006) y linolénico (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006). También, la presencia en el medio ruminal de EPA y DHA inhibe la reducción del ácido vaccénico (Chow *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005), la de los ácidos oleico y linoleico (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004) y la suya propia (Dohme *et al.*, 2003; Chow *et al.*, 2004).

La reducción de la biohidrogenación resulta en la acumulación de ácido vaccénico principalmente, pero también de CLA en el líquido ruminal (Jalc *et al.*, 2007) y, en función de la

cantidad aportada y el pH, de los propios PUFA que sirven de sustrato (Martin y Jenkins, 2002; Griswold *et al.*, 2003; Bessa *et al.*, 2005). Esta situación aumenta la cantidad de dichos ácidos grasos que pasa al intestino delgado. En condiciones normales, el promedio de PUFA que llega intacto al duodeno es 10-15% de los presentes en la dieta (Givens *et al.*, 2006).

Los intermediarios que escapan de la biohidrogenación completa en el rumen son absorbidos por el tracto digestivo y transportados a la glándula mamaria a través de la sangre.

## **2.7. Influencia de la dieta sobre el contenido de CLA en la leche de bovinos**

Las variaciones en el contenido de CLA en la grasa de leche entre distintas razas de bovinos, se deben principalmente a la dieta (Bauman, 2002). Durante los últimos años de investigación se han propuesto varios factores de la dieta que afectan el contenido de CLA en la grasa de la leche. Bauman *et al.* (2001) dicen que estos efectos alimenticios se agrupan en categorías concernientes al mecanismo potencial por el cual pueden actuar. La primera categoría incluye **los factores alimenticios que proporcionan sustratos lipídicos** para la biohidrogenación en el rumen, los aceites vegetales con alto contenido de ácidos linoleicos y linolénicos son particularmente eficaces. Éstos conducen al aumento desde el rumen del ácido vaccénico y en menor grado de los isómeros de CLA.

En el segundo grupo, los **factores alimenticios alteran el ambiente ruminal**, de tal modo que afectan las bacterias implicadas en la biohidrogenación del rumen. El forraje juega un papel importante y puede afectar el ambiente ruminal y la biohidrogenación.

En el tercer grupo, incluye los **factores alimenticios que implican una combinación** de sustratos lipídicos y de la modificación de la población de bacterias en el rumen. El pasto es un ejemplo, ya que aquellos animales que se alimentan de pradera durante la primavera producen dos a tres veces más de CLA en la grasa de la leche que cuando la dieta se basa en maíz. Sin embargo, cuando el pasto madura esta diferencia en la producción de CLA disminuye.

### **2.7.1. Lípidos como fuente de sustratos energéticos de la dieta**

Las vacas alimentadas con menos energía de la requerida producen leche con una grasa que

contiene menores concentraciones de ácidos grasos de cadena corta y media pero, exhiben un aumento del ácido graso 18:1, comparado con la leche de vacas alimentadas de manera adecuada (Timmen y Patton, 1988). Sin embargo, no es claro cuánto, de tal aumento en 18:1 influiría en el ácido vaccénico lo que eventualmente contribuiría al CLA de la leche.

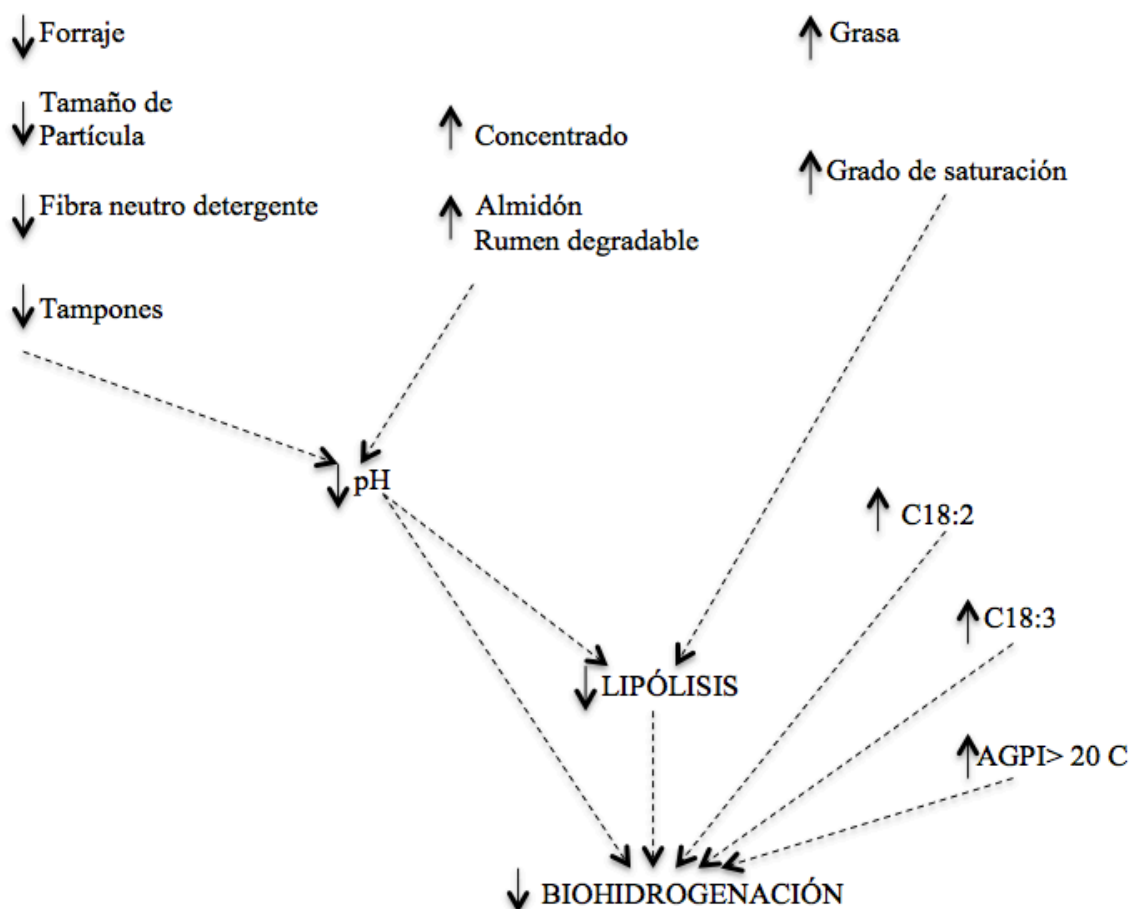


Figura 3. Factores que afectan a la eficacia de la biohidrogenación (Martínez-Marín *et al.*, 2010). Aún se desconoce si las vacas que han presentado una disminución de energía mientras pastorean, contribuyen al incremento de CLA. Si este fuera el caso, sería interesante saber si el contenido de CLA en la leche podría ser aumentado disminuyendo el contenido de energía de la ración (Khanal y Olson, 2004).

No es suficiente con incrementar la cantidad de grasa en la dieta de los bovinos, para producir CLA. Khanal y Olson, (2004) propusieron que otra forma de suplementar ácidos grasos es a



través del sebo o grasa animal, rica en SFA de cadena larga. Sin embargo, su efecto en los CLA es mínimo debido a que no contiene dobles enlaces en el carbono 18 por lo que no se produce ácido vaccénico a través de la biohidrogenación en el rumen (Chouinard *et al.*, 1998), Pantoja *et al.* (1996) indicaron que aquellas vacas suplementadas con 4 o 5% de sebo en su dieta, presentaban una baja concentración de ácido vaccénico (1.6 %) en la grasa de la leche. Lo anterior concuerda con la biohidrogenación de MUFA y PUFA como mecanismo de protección para los microorganismos del rumen.

### **2.7.2. Factores que afectan la fuente de sustratos para síntesis de CLA**

La manipulación de la dieta animal implica principalmente el suplementar LA o ALA como sustratos para la biohidrogenación en el rumen y la producción de CLA. Algunos aceites vegetales o semillas oleaginosas poseen LA o ALA: en las pasturas por ejemplo, predomina el ALA, el ácido linoleico es mayoritario (>50%) en los ácidos grasos de los cereales, sus subproductos y las proteaginosas y las semillas oleaginosas y sus aceites y harinas de extracción tienen un contenido de ácidos grasos variable en función de la especie botánica. El efecto de la dieta se relaciona más con la composición de los ácidos grasos insaturados de la materia utilizada, que con cualquier otro factor en la alimentación (Khanal y Olson, 2004).

Se ha reportado que la suplementación de lípidos en la ración incrementa los ácidos esteáricos, oleico y CLA en la leche (Santos *et al.*, 2001). La adición de aceite de soya en la dieta, disminuye el contenido de LA y SFA, e incrementa el nivel de CLA y ácidos grasos no identificados (Sanhueza, 2004).

Dhiman *et al.* (2000) y Chouinard *et al.* (2001) demostraron que las soyas calentadas provocan un incremento doble o triple del contenido de CLA en la leche, en comparación con la semilla de soya extruida, y mas aun que en la semilla cruda. Al respecto Khanal y Olson (2004) indicaron que los ácidos grasos son accesibles a los microbios del rumen cuando las semillas oleaginosas se procesan y el tratamiento térmico aumenta aún la liberación de aceite de las semillas en el rumen. En semillas crudas, la escasa liberación de aceite conduce a la biohidrogenación completa de ácido linoleico a ácido esteárico en el rumen, produciendo poco contenido de CLA en la grasa de la leche.

### 2.7.3. Factores combinados: Consumo de pastos y forrajes frescos

Además de la composición de ácidos grasos en cada tipo de alimento, hay cambios relacionados con el tratamiento del alimento. En los forrajes verdes predominan los ácidos linolénico y linoleico, que representan 50 y 10-20% del total de ácidos grasos, respectivamente. Por el contrario, en los mismos forrajes conservados el contenido de los ácidos linoleico y oleico aumenta 5 y 2% en promedio, respectivamente, y el de ácido linolénico desciende 20% en promedio.

Se ha observado que cuando se les ofrece forrajes conservados como el ensilaje de maíz al ganado, se provee de un menor suministro de ácidos grasos esenciales (Dewhurst y King, 1998).

Cuando las vacas lecheras fueron pastoreadas, tuvieron mayores niveles de AG insaturados en la leche, comparadas con las vacas alimentadas con ensilaje de maíz en un sistema de producción estabulado (Schroeder *et al.*, 2003; Ledoux *et al.*, 2005). Más recientemente, Rico *et al.* (2007) pastorearon vacas en la sabana de Bogotá y registraron 35% de AG insaturados en la leche. Resultados similares fueron obtenidos en un estudio de Elgersma *et al.* (2003) cuando alimentaron con dietas basadas en forrajes frescos.

El forraje induce un incremento lineal en los porcentajes de MUFA y PUFA. El SFA que más disminuye es el 16:0 cuando la proporción de forraje fresco se incrementa del 0 al 100% en la dieta (Couvreur *et al.*, 2006). A su vez, AG de cadena corta (4:0 al 14:0) también disminuyen linealmente pero no como el 16:0. Sin embargo, los SFA (11:0 al 17:0) se incrementan linealmente con la proporción de forraje fresco en la dieta (Couvreur *et al.*, 2006).

El MUFA que más se incrementa (de 0.9 a 4.2%) es el 18:1t11; sin embargo el 18:1c9t13 generalmente no es modificado por el forraje fresco ofrecido en la dieta (Couvreur *et al.*, 2006). El forraje fresco induce incrementos lineales en otros ácidos grasos monoinsaturados como el 18:1tt6t7t8t15; 18:1c13c15, pero no de 18:1t9t10 y los ácidos grasos con menos de 18:0 carbonos como el 10:1, 14:1c9 y 16:1c9, disminuyen linealmente o tienden a disminuir con la proporción de forraje fresco en la dieta, excepto en el 16:1c7.

Cuando a las vacas se les ofreció en la dieta 0 y 100% de forraje fresco, el porcentaje de 18:2n-6t incremento de 0.25 a 0.61%, respectivamente; el de CLAc9t11 incremento de 0.48 a 1.65%, respectivamente y el 18:3n-3 de 0.22 a 0.70%, respectivamente. Por otra parte, el 18:2n-6c-c tendió a disminuir linealmente. Los PUFA como el 20:0 y 22:0 no fueron modificados en la grasa de la leche de las vacas que se les ofreció el forraje fresco (Couvreur *et al.*, 2006).

La alimentación con pastos resulta en un contenido mayor de CLA en la grasa de la leche comparado con la alimentación con raciones totalmente mezcladas (TMR) y con un contenido lipídico similar a los forrajes conservados (Jahreis *et al.*, 1997). Se ha reportado que el contenido de CLA en la grasa de la leche de vacas alimentadas en pastoreo es de dos (Kelly *et al.*, 1998b) a cinco veces (Dhiman *et al.*, 1999) mayor que las que comieron TMR.

La razón que se ha dado por el cual el forraje fresco promueve tales incrementos, es que el zacate ensilado causa la pérdida de esos LA y ALA, que en el zacate fresco representan más del 50%. Del forraje fresco a heno, el porcentaje de ALA se reduce a la mitad y simultáneamente la concentración total de ácidos grasos disminuye a una tercera parte (Tabla IV).

Dhiman *et al.* (1999), indicaron que las vacas alimentadas permanentemente en pastoreo natural han producido 500% más de CLA comparadas con aquellas que se alimentaron con TMR.

Tabla IV. Perfil ácidos grasos del zacate fresco, heno y aceite de soya (adaptada de Izumi *et al.*, 2002).

Ácido graso	Proporción de ácidos grasos (%)		
	Zacate fresco	Heno	Aceite de soya
16:0	21.6	33.3	11.4
18:0	1.6	2.9	4.1
18:1c9	2.3	3.2	24.1
18:2n-6 (ácido linoleico)	15.5	17.8	50.9
18:3n-3 (ácido linolénico)	48.2	24.9	6.2
Otros	10.9	18.0	3.3
18:2n-6+ 18:3n-3	63.7	42.7	57.1
Total de ácidos grasos (mg g <sup>-1</sup> de materia seca)	20.0	6.8	-

Bauman y Griinari (2001) mostraron que alimentando las vacas con una dieta alta en concentrado

y baja en forraje, ocurría un cambio en las rutas de la biohidrogenación con alteraciones en las poblaciones bacterianas, de tal manera que, el 18:1*n*-8t10 reemplaza al 18:1*n*-7t11 como el ácido graso predominante en la grasa de la leche. Cuando se alimentó con dietas ricas en concentrado y bajas en forraje, el contenido del 18:1t10 y el CLAt10c12 en la leche aumentó (Bauman y Griinari, 2001).

Eastridge y Qiu (2001) constataron una concentración creciente de CLA en la leche de vacas lecheras, al disminuir la cantidad de grano en la dieta o al aumentar la cantidad de forraje consumido. Así, la concentración de CLA en leche parece ser más alta para las vacas que pastan forraje que las alimentadas con cualquier otra dieta. Al estudiar el efecto de la administración de forraje fresco sobre la concentración del CLA en la grasa de leche en vacas lecheras, se demostró que cuando las vacas consumían sólo forraje, las concentraciones del CLA en la grasa de leche aumentaban al doble. Entonces, la concentración del CLA en la grasa de leche puede ser incrementada con la ingestión del forraje fresco (Sanhueza, 2004).

Sobre el efecto de los distintos tipos de forraje en la composición grasa de la leche, cabe destacar que la alimentación de vacas con pasturas, parece producir un alto contenido de ácido linoleico en la leche, más que aquellos alimentos de forraje conservado o maíz. Pero, la magnitud de esta diferencia es limitada. Las comparaciones indirectas indican que la grasa de la leche en dietas con ensilaje de maíz, son más ricas en ácidos grasos de cadena corta y ácido linoleico, comparadas con dietas de forraje conservado de pradera. El forraje fresco comparado con el forraje conservado, favorece la cantidad de ácido mirístico y ácido palmítico, a partir de ácidos grasos mono y poliinsaturados, incluyendo el CLA (Chilliard *et al.*, 2001).

Esto posiblemente se debe a la oxidación de ALA durante el secado y a cambios en el pH que ocurren durante la deshidratación del forraje.

#### **2.7.4. Suplementos lipídicos**

La grasa de la leche y el contenido de CLA se pueden incrementar agregando suplementos de CLA. Las últimas investigaciones han establecido que estos suplementos tienen como resultado un aumento de la dosis relacionada en la concentración de CLA en la grasa de leche. Los

suplementos contienen varios isómeros de CLA, principalmente CLAt8c10, CLAc9t11, CLAt10c12 y CLAc11t13 y los resultados demostraron que todos los isómeros de CLA eran transferidos a la grasa de la leche (Bauman, 2002).

Al agregar aceites vegetales a la dieta de vacas en pastoreo aumenta generalmente los CLA en leche, sin embargo, ese incremento no sucede a concentraciones del 2% al 2.5% (Sanhueza, 2004). Estos resultados sugieren que la fuente de alimentación que inhibe la hidrogenación adicional de ácido vaccénico a ácido esteárico aumenta el contenido de CLA. Pero, no hay investigaciones que indiquen lo que sucede al suplementar vacas que pastorean con otras fuentes de ácido linoleico y ácidos linolénicos u otros ácidos grasos que inhiban la biohidrogenación adicional de ácido vaccénico a ácido esteárico, disminuyendo por consiguiente el CLA (Khanal y Olson, 2004).

Whitlock *et al.* (2002) señalaron que el aceite de pescado es tan efectivo en el aumento del contenido de CLA en la leche como los aceites vegetales o las semillas oleaginosas. Pero si se administra una gran cantidad de aceite de pescado (200 o 400 ml/d), se reduce la grasa de la leche y por lo tanto, disminuyen la concentración total de CLA, así como el rendimiento del ácido vaccénico.

Sin embargo, AbuGhazaleh *et al.* (2003) demostraron que es posible aminorar la reducción de la grasa de la leche combinando el aceite de pescado con otras fuentes de LA y ALA. Por ejemplo, al administrar 1% de aceite de pescado junto a 2% de semillas de girasol que contenga un elevado nivel LA, demostraron que se obtiene una mayor concentración y producción de CLA y ácido vaccénico, comparado al 1% de aceite de pescado más el 2% de una fuente de grasa rica en ácido esteárico. Asimismo, en algunos ensayos se lograron también altas concentraciones de CLA en la leche de vacas alimentadas con 1% a 2% de aceite de girasol, junto a 3% de aceite de pescado durante la lactancia; estos altos niveles siempre estuvieron asociados con una elevada cantidad de ácido vaccénico y con una importante síntesis endógena de  $\Delta$ -9 desaturasa en la glándula mamaria. AbuGhazaleh *et al.* (2002) indicaron que era posible aumentar la concentración de ácido vaccénico y CLA desde 91% a 109% cuando se administraba aceite de pescado y extruido de soya en forma conjunta, pero cuando se proporcionaban por separado los efectos fueron no

significativos. Esto sugiere que el aceite de pescado junto con extruido de soya aumenta la producción de CLA y de VA, más que otras fuentes de alimento ricas en ácido linoleico.

El mecanismo por el cual la suplementación con aceite de pescado aumenta la concentración de CLA y ácido vaccénico en la leche no están definidos (Khanal y Olson, 2004). El aceite de pescado es rico en PUFA y HUFA de 20 y 22 carbonos. Estos ácidos grasos probablemente no son capaces de producir CLA y ácido vaccénico directamente durante la biohidrogenación en el rumen. Se ha propuesto que las largas cadenas de PUFA del aceite de pescado, inhiben la biohidrogenación completa de LA en el rumen, inhibiendo así el crecimiento de bacterias responsables de hidrogenar ácido vaccénico, o inhibiendo las hidrogenasas, lo que conduciría a un gran escape de ácido vaccénico desde el rumen.

## **2.8. Raza: variación interespecífica**

Algunas de las variaciones en el nivel de CLA observado entre vacas se presentan debido a la raza (Khanal y Olson, 2004). White *et al.* (2001) demostraron que dando una misma dieta a la raza Holstein presenta un nivel más alto de CLA en la grasa de leche que las razas Jersey y Normando. Sin embargo, Kelsey *et al.* (2003) observaron una variación secundaria en el contenido de CLA en la grasa de la leche, entre Holstein y Jersey alimentadas con una misma dieta y determinaron que la raza contribuía sólo al 1% de la variación total. Además, indicaron que la raza Holstein contra Pardo Suizo, tienen una pequeña relación entre la variación individual sobre el nivel de CLA. Comprobaron que en general, la producción de leche y la composición de la misma son características de cada raza.

Cuando se compararon cuatro tipos de vacas Holstein Friesian (Irlandesas, Holandesas, Montbeliard y Normando) se comprobó que la raza tiene poco efecto en la producción de CLA, sin embargo la raza Montbeliard produjo 13% más CLA en la leche que las otras razas (Lawless *et al.*, 1999).

Es posible que cada raza contenga una flora intestinal concreta, así como distintos mecanismos de transporte, acumulación y secreción de leche en la glándula mamaria, que produzca diferencias en la concentración de CLA en la grasa de leche.

## 2.9. Individuos: variación intraespecífica

Muchos estudios han observado que las diferencias sustanciales causan un aumento (Jiang *et al.*, 1996) o una disminución (Stanton *et al.*, 1997) en el contenido de CLA en la grasa de la leche. Sin embargo, la variación individual no se ha considerado y ningún estudio ha examinado, específicamente, la variación individual sobre el contenido de CLA en la grasa de la leche. Según Bauman *et al.* (2001) las diferencias en el contenido de CLA en la grasa de la leche entre vacas que han sido bien alimentadas son de poca o ninguna importancia para explicar la variación entre individuos y afirma que el contenido de CLA en la leche, depende más bien de la producción en el rumen de ácido vaccénico y CLA, así como de la actividad de la  $\Delta$ -9 desaturasa en los tejidos.

Peterson *et al.* (2002) demostraron que los animales son bastante constantes en el tiempo, aún cuando se administren diferentes dietas que pudieran cambiar el contenido de CLA. Esto sugiere que la producción en el rumen de ácido vaccénico y CLA varían entre individuos con la misma dieta, lo cual representa la base de la variación individual sobre el contenido de CLA en la grasa de la leche. La  $\Delta$ -9 desaturasa es una enzima clave en la síntesis endógena de CLA en la grasa de la leche.

La variación entre animales es también uno de los factores que provoca diferencias en el contenido de CLA de la leche (Bauman, 2002). Esta variación parece estar afectada por dos razones; primero, las vacas parecen tener diferentes producciones ruminales de ácido vaccénico y CLA, aún cuando todos los animales consumen la misma dieta. Esta variación está probablemente relacionada con diferencias individuales como el consumo de alimento y la frecuencia de masticación, lo que afectaría el ambiente ruminal. La segunda razón es que las vacas se diferencian en la actividad de la  $\Delta$ -9 desaturasa y en la síntesis endógena de CLA en la glándula mamaria. Probablemente, esta variación entre individuos reflejaría diferencias en la  $\Delta$ -9 desaturasa, lo que implicaría la regulación de la expresión de genes, polimorfismo de los genes que afectan la estructura primaria o terciaria de la enzima, modificaciones post-traduccionales o factores que afectarían la interacción entre enzima y el sustrato o producto (Sanhueza, 2004). Esto, claramente ofrece el potencial para la selección genética y es un área de futura investigación (Bauman, 2002).

## 2.10. Importancia de los CLA en la salud humana

Antes de 1987, el interés científico en el CLA estuvo limitado a los microbiólogos del rumen quienes estudiaron el isómero CLAc9t11 como un intermediario en la biohidrogenación del ácido linoleico. Esto cambió cuando Ha *et al.* (1987) reportaron que el CLA producido por la isomerización base cristalizada del ácido linoleico fue un inhibidor efectivo de neoplasia inducida por benzopirena en el ratón. Desde entonces, el CLA ha ganado una atención considerable como un nutriente que ejerce los siguientes efectos fisiológicos en animales experimentales y en seres humanos: (i) inhibición de la carcinogénesis; (ii) inhibición de la arteriosclerosis inducida por colesterol [reducción de la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de la proporción de LDL con respecto a las lipoproteínas de alta densidad (HDL)]; (iii) reducción de la acumulación de grasa corporal; (iv) incremento de la respuesta inmune; (v) habilidad para promover el crecimiento (incrementa la proteína corporal); (vi) mejoramiento de la diabetes (la normalización de la tolerancia dañada a la glucosa); y (vii) mejoramiento del metabolismo del hueso (Bhattacharya *et al.*, 2006).

En estudios anteriores, Pariza *et al.* (1983) habían observado que los extractos de carne de bovino molida contenían moduladores de mutágenos que actuaban como inhibidores del cáncer, pero sin establecer que este efecto se debía al CLA. Ip *et al.* (1996) reportaron que con un 0.05-0.50% de CLA en la dieta de ratas se redujeron los tumores mamarios inducidos mediante el tratamiento con 7, 12-dimetilbenzantraceno, una conocida sustancia cancerígena. Bauman *et al.* (2000) produjeron mantequilla enriquecida con CLA manipulando la dieta de vacas lecheras y la compararon con dos fuentes de CLA sintetizados químicamente utilizando un modelo de cáncer de glándula mamaria en ratas: Los animales que comieron las dietas con mantequilla enriquecida con CLA, tuvieron una menor incidencia de tumores que los que consumieron las dietas testigo. Se observó que el isómero de CLAc9t11 representó el 91% del total de CLA en la mantequilla enriquecida, y se ha sugerido que este CLA es anticancerígeno; aun se desconoce la función de otros isómeros. Esos resultados son particularmente alentadores ya que fueron los primeros en demostrar la presencia de un anticancerígeno natural como componente de un alimento que puede reducir efectivamente los tumores en un modelo de cáncer animal. Posterior a estos hechos se ha incrementado el número de reportes sobre el CLA en la leche. Se ha visto que el CLA inhibe la carcinogénesis mediante mecanismos que afectan directamente los estados conocidos como



iniciación (Ha *et al.* 1987; Liew *et al.*, 1995), promoción del tumor (Ip *et al.*, 1994, 1996), progresión y metástasis (Cesano *et al.*, 1998). El CLA puede también afectar de manera indirecta el inicio del cáncer reduciendo la cantidad excesiva de grasa corporal, la cual influye indirectamente en el riesgo de cáncer (Pariza, 1999). El CLA puede revertir la progresión de cáncer reduciendo la caquexia, la cual está asociada al cáncer avanzado. La caquexia es mediada por citocinas, especialmente por el factor- $\alpha$  de necrosis del tumor (Hotamisligil y Spiegelman, 1994).

Es probable que un mecanismo mediante el cual el CLA ejerce muchas de las funciones fisiológicas es modulando la acumulación de ácido araquidónico en los fosfolípidos: Cuando se proporcionan en la dieta o se suplementan como aceite, los isómeros del CLA son metabolizados rápidamente a ácido araquidónico conjugado a través de una serie de rutas metabólicas *in vivo*. Se han identificado metabolitos elongados y desaturados de CLA en muchos tejidos en animales (Banni *et al.*, 2001; Belury, 2002). También se ha observado efecto inhibitorio de la CLA sobre la delta-6, disminuyendo así la síntesis de ácido araquidónico a partir de precursores de 18 carbonos (Hargrave-Barnes *et al.*, 2008). Como consecuencia, hay una reducción de la reserva de ácido araquidónico metabolizable (no conjugado) y en una producción reducida de eicosanoides y prostaglandinas de la serie 2 (PGE2) en etapas posteriores.

El CLA, además de disminuir el sustrato para eicosanoides, también tiene un papel en la reducción de la actividad de la COX-2, enzima responsable de la síntesis de prostaglandinas, como se ha demostrado *in vivo* en el hueso y en macrófagos (Palombo *et al.*, 2002). Se ha visto que el exceso de PGE2 promueve una respuesta carcinogénica, mientras que niveles fisiológicos de PGE2 estimulan algunas funciones inmunes e inhiben la actividad carcinogénica. Además, un producto de la elongación del CLA c9t12, el ácido eicosadenoico conjugado, reduce la proliferación de tres líneas de cáncer *in vitro* (Palombo *et al.*, 2002).

Por otro lado, la apoptosis ofrece protección contra la carcinogénesis a través de la muerte celular programada de las células cancerosas y se ha reportado que el CLA de la dieta induce apoptosis en numerosos tejidos (Ip *et al.*, 2000; Tsuboyama-Kasaoka *et al.*, 2000) y en células epiteliales de glándula mamaria en cultivo (Ip *et al.*, 1999). Esos datos sugieren que el CLA puede inhibir la

promoción induciendo eventos que sirven como señales que conducen a un incremento de la apoptosis.

El nivel alto de colesterol en el plasma ha sido ubicado como uno de los mayores factores de riesgo en el desarrollo de enfermedad crónica del corazón, tales como la aterosclerosis (Grundy, 1986). La aterosclerosis es una enfermedad de la capa interna de las paredes arteriales caracterizada por la acumulación de células musculares lisas y lípidos. Hay evidencia de que el CLA reduce la formación de placa aterosclerótica en hamsters (Wilson *et al.*, 2000) y Kritchevsky *et al.* (2000) reportaron que los conejos alimentados con CLA tuvieron una reducción significativa de la placa aterosclerótica tanto en el arco aórtico como en la aorta torácica.

La aterosclerosis esta relacionada con los niveles de colesterol esterificado presente en el tejido aórtico. El colesterol esterificado se redujo en conejos que consumieron CLA en su dieta. Uno de los posibles mecanismos por el cual el CLA de la dieta reduce el colesterol sérico ha sido mostrado por Thomas *et al.* (2000): Cuando alimentaron hamsters con una dieta semisintética que contenía 1g de colesterol/kg de la dieta, que además fue suplementada ya sea con 20 g de ácido linoleico o con 20 g de CLA/kg de la dieta por 8 semanas, el colesterol sérico total en ayuno y los triglicéridos fueron significativamente más bajos en los grupos suplementados con ácido linoleico o con CLA que en los hamsters testigo. La adición de CLA en la dieta dio como resultado una disminución en la actividad de la acil-colesterol aciltransferasa (ACAT) en el intestino, mientras que el ácido linoleico no tuvo efecto sobre esta enzima. La ACAT esterifica el colesterol y lo almacena como éster de colesterol que proviene de la dieta. Existe evidencia de que la mayoría del colesterol de la dieta es esterificado antes de ser ensamblado en quilomicrones y secretado dentro del sistema linfático (Wrenn *et al.*, 1995). Los quilomicrones posteriormente pasan a formar LDL, que es un factor de riesgo de la aterosclerosis. El CLA reduce el LDL en el plasma e inhibe el desarrollo de aterosclerosis en hamsters (Nicolosi *et al.*, 1997) y en conejos (Lee *et al.*, 1994), y reduce uno de los factores de riesgo principal para la aterosclerosis, que es la proporción alta de colesterol-LDL:colesterol-HDL. Al parecer, el retraso en la aparición de aterosclerosis por el CLA, se debe al menos en parte, a un resultado de cambios en la formación y en el metabolismo de las lipoproteínas.

Se ha demostrado que el ácido linoleico conjugado reduce la grasa corporal sin afectar la masa total del cuerpo. Los cerdos alimentados con CLA desarrollaron menos grasa corporal y mostraron una mejor eficiencia alimenticia (Dugan *et al.*, 1997). El CLA reduce el contenido de grasa de la canal en el ratón (Belury y Kempa-Steczko, 1997; West *et al.*, 1998) y disminuye el grosor de la grasa dorsal en cerdos (Cook *et al.*, 1998). El suplemento de CLA en la dieta de cerdos incrementa la deposición de tejido magro y reduce el depósito de grasa (Ostrowska *et al.*, 1999).

Este efecto se podría deber a una mayor actividad de la carnitin-transferasa en tejido adiposo pardo lo cual incrementa la  $\beta$ -oxidación (Park *et al.*, 1997; Rahman *et al.*, 2000), a una estimulación de leptinas y adinopectinas que regulen el metabolismo de lípidos a nivel digestivo y hepático (Beluri, 2003), o a una reducción en el apetito (Park *et al.*, 2007). Park *et al.* (1997) observaron que la adición de CLA *in vitro* a adipocitos reduce significativamente la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL), una enzima que hidroliza los AG a partir de las lipoproteínas de la sangre. La reducción en su actividad, disminuiría la cantidad de triglicéridos que se forman en los adipocitos. El tratamiento con CLA también aumenta la liberación de ácidos grasos de esas células al medio, probablemente por lipólisis intracelular. Entonces, el descenso de la grasa corporal asociada con el CLA puede ser un resultado parcial de una menor deposición de grasa y un incremento de la lipólisis en los adipocitos, posiblemente complementados con el incremento de la oxidación de ácidos grasos tanto en las células del músculo esquelético y tejido pardo (principales sitios de oxidación de ácidos grasos), como en el hígado, aunado a una menor ingesta de alimento en animales adultos con alimento *ad libitum*. Lo anterior tendría como efecto secundario, la disminución de la resistencia a la insulina, mejorando así los niveles de glucosa en diabéticos.

Distintos isómeros de CLA pueden producir efectos diferentes. Así, se ha reportado que el CLA<sub>c9t11</sub> incrementa la ganancia de peso corporal pero no afecta los niveles de grasa corporal; En contraste, el CLA<sub>t10c12</sub> reduce el nivel de grasa corporal en relación al control en ratones (Cook *et al.*, 2000).

El ácido vaccénico estimula la PPAR-alfa que promueve la expresión de genes que aumentan la beta oxidación de AG en ratones (Spencer *et al.*, 2011). En más ejemplos de otros isómeros, investigaciones indican que la suplementación con CLAt10c12 aumenta dramáticamente los índices de estrés oxidativo a niveles considerablemente altos mas que los observados en los grandes fumadores (Risérus *et al.*, 2002). En un estudio, el CLAt10c12 produjo un incremento del 32% en la concentración de colesterol biliar, lo que aumenta la probabilidad de formación de cálculos biliares (Nazare *et al.*, 2007). El CLAt10c12 redujo el contenido de DHA en el tejido del corazón por un 25%, mientras que en el bazo, se incremento el contenido de DHA y disminuyeron los AA. El DHA es una ácido graso omega-3 importante para la salud cardiovascular, y la reducción dramática de DHA en el tejido del corazón puede traer serias consecuencias a la salud.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

Conocer el potencial de algunos forrajes resistentes a la sequía, así como el efecto de diferentes sistemas de alimentación en bovinos, para modificar el contenido de algunos ácidos grasos, con énfasis en los conjugados, en la leche de vaca.

#### **3.1. Objetivos Específicos**

3.1.1. Determinar la composición química y el perfil de ácidos grasos del heno de alfalfa, pasto taiwán, frijol yorimón, nopal verdura-forraje y germinado de semillas de maíz, como especies resistentes a la sequía de Baja California Sur.

3.1.2. Comparar el efecto sobre el perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche de vacas alimentadas con alfalfa fresca o heno de alfalfa, con especial énfasis en los ácidos grasos conjugados y con enlaces *trans*.

3.1.3 Comparar el efecto sobre el perfil de ácidos grasos en la leche de vacas alimentadas con forraje fresco en pastoreo o con heno de alfalfa en un sistema estabulado, con especial énfasis en los ácidos grasos conjugados y con enlaces *trans*.

#### **4. HIPÓTESIS**

4.1. El perfil de ácidos grasos de algunos de los forrajes alternativos para zonas áridas será comparable al de heno de alfalfa.

4.2. La composición química y la concentración de ácidos grasos conjugados en la leche de vacas alimentadas con alfalfa fresca será mejor que en leche de vacas alimentadas con alfalfa henificado.

4.3. La composición química y la concentración de ácidos grasos conjugados en la leche de vacas alimentadas con forraje fresco en pastoreo será mejor que la leche de vacas confinadas y alimentadas con heno de alfalfa.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Área de estudio (Experimento 1)

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), localizado en una zona árida del Estado de Baja California Sur (B.C.S.), a 20 km al noroeste de la ciudad de La Paz, México (24°08'N, 110°24'W). El clima de la región es de tipo BW y BS, desértico y seco según la clasificación de Köppen, con temperaturas máxima 33.9° C, mínima 10.7° C y media de 22° C.

### 5.1.2. Material vegetativo

Se utilizaron cinco especies vegetales forrajeras. La alfalfa henificada (*Medicago sativa*) fue considerada como testigo. Las otras cuatro especies forrajeras consistieron en dos genotipos (G-18: IT90K-277-2 y G-25: Sesenteño) de frijol yorimón (*Vigna unguiculata* L. Walp.), un cultivar local de nopal (*Opuntia* spp.), un clon de pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) y germinado de semilla de maíz (*Zea mays*) genotipo ASGROW 7573.

Se tomaron muestras al azar de las cinco especies forrajeras de la siguiente manera: se obtuvo una muestra compuesta de heno de alfalfa (HA) de un lote comercial cuyo origen fue el Valle de Santo Domingo, B.C.S. Las muestras de frijol yorimón (G18 y G25), cultivado bajo manejo convencional (Murillo-Amador *et al.*, 2003a) se tomaron de un predio ubicado en el Valle de “El Carrizal” municipio de La Paz, B.C.S., a los 58 días después de la siembra, en la etapa de floración. Las muestras se tomaron haciendo un corte manual con cuchillo a 5 cm de la superficie del suelo. Para el nopal, se tomaron cladodios tiernos (nopalitos; NT) y cladodios maduros (NM) de 15 días y 2 meses de edad, aproximadamente. Se colectaron de una plantación comercial con manejo convencional (Murillo-Amador *et al.*, 2002, 2006), localizada en la comunidad de El Centenario, municipio de La Paz, B.C.S. La muestra de pasto taiwán (PT) se obtuvo de una parcela con manejo convencional (Agredano-Hernández, 2007) ubicada en el Valle de “El Carrizal” municipio de La Paz, B.C.S. Se colectaron hojas de cinco plantas cuya edad oscilaba entre 70 y 80 días. La muestra compuesta de germinado de semillas de maíz (GM) se colectó de un invernadero localizado en las instalaciones del campo experimental del CIBNOR. La colectase hizo a los 14 días después de la siembra, en la etapa fenológica de plántula. Todas las muestras

colectadas se colocaron en bolsas de plástico y se introdujeron en una hielera para transportarse al laboratorio de análisis químico.

### 5.2. Área de estudio y tratamientos (Experimento 2)

El presente trabajo se llevó a cabo en el municipio de La Paz (24°35'17" N, 110°51'29" O) y Comondú (26°33'01" N, 111°39'03" O). En noviembre de 2009 se colectaron muestras de leche de 10 vacas Jersey distribuidas en dos hatos. Las muestras se tomaron de vacas que tenían de dos a cinco partos que se encontraban entre los 60 y 120 días de lactación. Los tratamientos se establecieron de la manera siguiente: AV (n = 5): vacas alimentadas con alfalfa verde picada y concentrado comercial; HA (n = 5): vacas alimentadas con heno de alfalfa y concentrado comercial. **Ambos hatos estuvieron bajo un sistema de producción estabulada.** De cada vaca se colectaron 10 mL de leche en un tubo estéril, se colocaron en una hielera para ser transportadas al laboratorio donde se congelaron a -80°C hasta su procesamiento.

### 5.3. Área de estudio y tratamientos (Experimento 3)

El trabajo se llevó a cabo en el municipio de La Paz, B.C.S., ubicado en las coordenadas geográficas 24°35'17" N y 110°51'29" O. Entre septiembre y octubre de 2009 se colectaron muestras de leche de 32 vacas Criollas de dos a cinco partos y al momento del muestreo tenían entre 60 y 120 d de lactación. Un grupo fue mantenido **en corral** y se alimentaron de heno de alfalfa (HA-C; n = 7) y vacas del mismo grupo racial **pastorearon** forraje verde directamente en un agostadero abierto (FV-P; n = 25); el tipo de pastos y arbustos nativos a continuación se describe: El tipo vegetativo es matorral sarcocauléscente (Morelos, 1988). La flora está constituida principalmente por especies como el torote (*Bursera microphylla*), ciruelo (*Cyrtocarpa edulis*), choya (*Opuntia cholla*), pitahaya agria (*Machaerocereus gummosus*), palo adán (*Fouquieria diguetii*), lomboy (*Jatropha cinerea*), palo verde (*Cercidium floridum*), uña de gato (*Olneya tesota*), frutilla (*Lycium californicum*), yuca (*Yucca elata*), palo amarillo (*Esenbeckia flava*), brasil (*Haematoxylon brasiletto*), datilillo (*Yucca valida*), samo (*Coursetia glandulosa*), palo fierro (*Pithecellobium confine*), mezquitillo (*Krameria parvifolia*), biznaga (*Ferocactus peninsulae*), pimientilla (*Adelia virgata*), mezquite (*Prosopis juliflora*), damiana (*Turnera diffusa*), mariola (*Solanum hindsianum*), cacachila (*Karwinskia humboldtiana*), cardón (*Pachycereus pringlei*), palo de arco (*Tecoma stans*), y algunos pastos de los géneros *Bouteloua*



*babata*, *Aristida* sp, *Hyptis* sp. (Morelos, 1988).

De cada vaca se colectaron 10 mL de leche en un tubo estéril, se colocaron en una hielera para ser transportadas al laboratorio donde se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

## **5.4. Análisis químicos**

### **5.4.1. Análisis proximal en forrajes**

En el laboratorio, las muestras se dividieron en dos partes: una parte se utilizó para la determinación de materia seca (MS), para lo cual fue sometida a una temperatura de  $105^{\circ}\text{C}$  por 4 horas en el horno de secado (Terlab®). La otra parte se utilizó para la determinación de análisis químicos. Se secó a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 24 a 72 horas en un horno (HTP-80®). Las cenizas (C) se determinaron por combustión a  $600^{\circ}\text{C}$  durante 5 horas, utilizando la mufla (Thermolyne 6000®). La proteína cruda (PC) se determinó en el destilador Foss Kjeltex 2300 durante 4 minutos por muestra y en el digestor Foss Kjeltex 2040 durante 25 minutos, por el método microkjeldahl. La fibra cruda (FC) se cuantificó por el método de hidrólisis sucesiva en una multiunidad de extracción (Fiber Tec M6 Tecator®) y la energía bruta (EB) se determinó mediante calorímetro PARR1261® (AOAC, 2005).

### **5.4.2. Análisis de lípidos totales y de ácidos grasos en forrajes**

Los forrajes verdes se liofilizaron en una liofilizadora marca Virtis 5L® durante 24 horas, luego se pulverizaron en mortero cegata y se extrajeron el total de lípidos (LT) con una mezcla de solventes de agua:cloroformo:metanol (1:2:1.8) basados en la técnica de Bligh y Dyer (1959). Una fracción de los lípidos se utilizó para su cuantificación por el método de calcinación (Marsh y Weinstein, 1966). La otra fracción se secó con  $\text{N}_2$  gaseoso y se le agregaron 2.5 mL de ácido clorhídrico-metanol  $\text{HCl}:\text{MeOH}$  (5:95). Posteriormente se calentó a  $85^{\circ}\text{C}$  por 2.5 horas para metilar los lípidos con base en el método Sato y Murata (1988). Se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se le agregaron 1.5 mL de hexano. Se separaron las dos fases luego de centrifugación y enfriamiento por 24 horas a  $-20^{\circ}\text{C}$  y se separó la fase superior, misma que se colocó en tubo de ensayo (No. 99447) previamente etiquetado. A la muestra original se le adicionó 1.5 mL de hexano y se volvió a separar la fase superior, la cual se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 24 h. Después, se separó la fase superior de las muestras, se juntaron las fases superiores de la

misma muestra y las muestras se secaron en un evaporizador Pierce Reactivap III® con N<sub>2</sub> gaseoso. A cada muestra se le agregó el hexano necesario para obtener una concentración de ácidos grasos dentro del rango lineal de cromatógrafo de gases de espectrometría de masas (Sato y Murata, 1988). Se les añadió una cucharadita de sulfato de sodio anhidro, con la finalidad de eliminar cualquier residuo de agua (Christie, 2003).

Los metil ésteres se separaron mediante el método BPX70MOD.M utilizando el cromatógrafo de gases modelo GCD 1800 B, con mezcla de 37 estándares (Supelco 47885-U) Columna DB23 60 m\*0.25 mm\*0.25 µm (catálogo agilent 122-2362). Se utilizó helio como gas acarreador con flujo de 1 mLminuto<sup>-1</sup>. La temperatura inicial de la columna fue de 110°C, la cual se mantuvo por 3 minutos para luego incrementarse a una tasa de 30° por minuto hasta llegar a 165°C, manteniéndola durante 2 minutos. A continuación la temperatura se incrementó de nuevo a una tasa de 10° por minuto hasta llegar a 210°C, manteniéndola por 2 minutos. Finalmente, la temperatura se incrementó a una tasa de 3°C por minuto hasta conseguir los 240°C y manteniéndola durante 10 minutos. La temperatura del inyector y del detector fue de 250°C. Los ácidos grasos presentes en las muestras se identificaron comparando los espectros de masas. Fueron confirmados mediante la interpretación de los espectros de metil-esteres de ácidos grasos según McLafferty y Turecek (1993), así como mediante la comparación de los tiempos de retención de los picos en la muestra con los tiempos de retención de un patrón comercial de 37 metil-esteres de ácidos grasos. Para calcular la concentración de los ácidos grasos presentes en las muestras se integró el área bajo los picos y se interpoló con una curva de calibración que relaciona cinco concentraciones conocidas (5, 10, 20, 40 y 80 µg mL<sup>-1</sup>) de cada uno de los 37 estándares de ácidos grasos metil-esterificados, con sus respectivas áreas bajo el pico, siendo el área directamente proporcional a la masa del sistema (GC-MS). Para calcular la concentración de cada ácido graso en g 100<sup>-1</sup> g, se consideró a los µg mg<sup>-1</sup> como el 100%.

#### **5.4.3. Extracción de lípidos totales de la leche**

La extracción de lípidos de las muestras de leche, se realizó de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959). Se utilizaron 2 mL de leche por muestra y se agregaron 12 mL de una mezcla de cloroformo:metanol 2:1. A cada una de las muestras se les agregaron 10 µl de butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante a una concentración de 0.5 mgmL<sup>-1</sup> y 10 µl del estándar interno 23:0 a

una concentración de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ , se vortexearon, se sonicaron por 15 minutos en frío y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Posteriormente las muestras nuevamente se vortexearon y se dejaron en reposo por 1 hora a temperatura ambiente.

Es importante mencionar que las muestras originalmente estaban en una proporción de 3:6:1 metanol (M)-cloroformo (C) -agua (A) v/v/v y se ajustaron a 8:4:2 M-C-A v/v/v, con el fin de llegar a la proporción de 2:1:0.8 M-C-A v/v/v, como lo describe el método de Bling y Dyer (1959), se incrementó la proporción de M-C-A a 12:6:4.8 (6:3:2.4). Para lograr ésta proporción se agregaron 4.67 mL de metanol, 0.33 mL de cloroformo y 1.73 mL agua destilada.

Posteriormente las muestras se vortexearon, y se centrifugaron a 2500 rpm a  $5^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos. Con la ayuda de una pipeta Pasteur (por muestra), se separó el solvente (parte superior) para colocarlo en viales de vidrio de 50 mL (primera recuperación=1R) y se almacenaron en frío.

A la fracción residual sólida (precipitado) se le agregaron 3 mL de una mezcla metanol-cloroformo (2:1). Se agitó en vortex, se centrifugó a 2500 rpm a  $5^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos, se recuperó el solvente de la parte superior y se almacenó junto con la primera recuperación (1R).

Nuevamente, a la fracción sólida se le agregaron 3 mL de la mezcla metanol:cloroformo (2:1), se centrifugó a 2500 rpm a  $5^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos, se recuperó el solvente de la parte superior y se almacenó en el vial que contenía la primera recuperación (1R). La fracción sólida se desechó.

Para favorecer la separación de las fases en los viales que contenían la solución de solvente orgánica y lípidos (de la primera recuperación=1R), se les agregó agua destilada en  $1/3$  de su volumen (equivale a aproximadamente 5 mL), se agitaron en vortex y se centrifugaron a 2500 rpm por 10 minutos.

La separación de la fracción de cloroformo y lípidos (fase inferior o vial con la primera recuperación 1R) se realizó con una pipeta Pasteur (por muestra). Esto se logró introduciendo la pipeta y a la vez burbujeando aire dentro del vial cuidando de no extraer la parte acuosa (fase superior) y se colocó en un vial de vidrio de 50 mL (segunda recuperación 2R). Se agregaron 2

mL de cloroformo a la fase superior, agitando en vortex y centrifugando a 2500 rpm por 10 minutos para luego separar la capa inferior y reunirla con la segunda recuperación 2R.

Los viales de 50 mL que contenían el cloroformo y los lípidos se evaporaron con nitrógeno gaseoso hasta concentrarlos a un volumen de 3 mL. Una vez concentrados los lípidos, se almacenaron en viales de 4 mL. Del extracto de 3 mL se tomó 1 mL para análisis de lípidos totales, determinados por el método gravimétrico (LT). Se tomó también 1 mL para análisis de ácidos grasos metil esterificados (FAME) incluyendo los ácidos grasos linoleicos conjugados (CLA), quedando 1 mL del extracto como reserva.

#### **5.4.4. Análisis de lípidos totales (método gravimétrico)**

Para determinación de lípidos totales por el método gravimétrico como se describe en Arjona y Palacios (2009) se utilizaron tubos de borosilicato de 10 mL y se colocaron en un horno de temperatura controlada a 80°C por 24 horas (como mínimo), hasta peso constante. Después, los tubos se colocaron en un desecador, se dejaron enfriar por 1 hora y se registró el peso de cada uno de ellos. Se agregó 1 mL del extracto lipídico (obtenido por el método Bligh y Dyer, 1959) y se evaporó a sequedad con gas nitrógeno. Nuevamente, los tubos se colocaron en el horno de temperatura controlada a 30°C por 24 h. Se colocaron en un desecador por 1 hora y finalmente se registró el peso (tubo+lípidos).

#### **5.4.5. Análisis de ácidos grasos metil esterificados (FAME) y linoleicos conjugados (CLA)**

Para la derivatización se realizaron varios ensayos donde se observó pérdida de CLA con el método tradicional de derivatización, por lo que se aplicó uno alternativo que se describe con mayor profundidad en Arjona *et al.* (2012). Se tomó 1 mL de la fracción de lípidos (obtenida por Bligh y Dyer, 1959) para cada una de las muestras evaporándolas a sequedad con un equipo de evaporador de solventes (marca Jouan®). Después, las muestras fueron transesterificadas de acuerdo a la metodología propuesta por Chand *et al.* (2001). Para lo anterior se agregó 1 mL de BF<sub>3</sub>-Metanol (10%), las muestras se vortexearon y se colocaron en bloques de calentamiento a 30°C durante 30 minutos. Transcurrido ese tiempo se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente a cada muestra se le agregó 1 mL de hexano grado HPLC. Después, se les adicionaron 2 mL de agua re-distilada y se centrifugaron a 2000 rpm a 5°C durante 5 minutos.

En seguida se realizaron lavados de la muestra que consistieron en desechar la parte inferior introduciendo una pipeta pasteur, burbujeando aire y cuidando de no interferir en la fase superior. Este procedimiento de lavado de muestra se repitió en cuatro ocasiones. Después de la última centrifugación se les retiró el agua (parte inferior) y se les agregaron 200  $\mu$ L de KOH (al 1.5%). Posteriormente las muestras se vortexearon por 15 segundos y se almacenaron por 24 horas a -20°C. Por último, se recuperó la fase superior que contenía los FAME + CLA + hexano y se transfirió a viales ámbar de 2 mL.

Los separación de los ácidos grasos linoleicos conjugados y ácidos grasos metil esterificados (FAME) se realizó utilizando una columna DB-23 de Silica fundida; [(50%-Cianopropil)-metilpolisiloxano] de 60m x 0.25mm ID x 0.25mm film, Marca J&W Scientific, con una rampa de temperatura de 60 a 220°C y con el uso de un detector de ionización de flama (FID) adaptado en un cromatógrafo de gases 6890N marca Agilent Technologies.

La identificación de los CLA (Nu-chek Prep, Inc, Elysian, MN, USA) y FAME (Sigma; Bellefonte, PA, USA) se realizó con base en estándares externos: 1) 11t-octadecaenoico o *trans*-vaccénico; 2) 9c,11t-octadecadienoico o ruménico; 3) 10t,12c-octadecadienoico.

La cuantificación se realizó con base en el estándar interno 23:0.

#### **5.4.6. Identificación de los ácidos grasos linoleicos conjugados por cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-MS)**

Los separación e identificación de los ácidos grasos linoleicos conjugados se llevó a cabo inyectando 1  $\mu$ L de muestra en hexano en el CG-MS. La separación se realizó con el uso de una columna DB-23 de Silica fundida; [(50%-Cianopropil)-metilpolisiloxano] de 60m x 0.25mm ID x 0.25mm film, Marca J&W Scientific, con una rampa de temperatura de 60 a 220°C. Se utilizó un detector masas, adaptado en un cromatógrafo de gases marca Varian CP-3800y una ionización por impacto electrónico de 70 eV.

La identificación de los CLA se realizó con base en estándares externos (Nu-chek prep,) y a su vez basado en los iones moleculares del espectro de masas para los ácidos 18:1n-7t11, CLAc9t11 y CLAt10c12.

### 5.5. Análisis estadístico

En el Experimento 1, las diferencias de las variables dependientes (materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra cruda, energía, lípidos totales, ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados, omega-3, omega-6, ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico) entre los forrajes se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor o vía (forrajes) con cuatro repeticiones. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ), se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey ( $p = 0.05$ ) para identificar las diferencias entre cada par de medias. Para cumplir con los supuestos del análisis de varianza (Sokal y Rohlf, 1981), los datos mostrados en porcentaje fueron previamente transformados mediante arcoseno. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS (SAS, 2001).

En los experimentos 2 y 3 se aplicó un modelo lineal general utilizando el procedimiento GLM del SAS (SAS, 2001). Las variables independientes fueron los tipos de alimento que consumieron las vacas y las variables dependientes, los lípidos totales y cada uno de los ácidos grasos medidos en la leche ( $\text{g } 100^{-1} \text{ g}$ ). Para su análisis, los AG también fueron agrupados de acuerdo al número de dobles enlaces en la cadena carbonada (saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y altamente poliinsaturados); y desde el punto de vista de la posición de un doble enlace en la cadena carbonada a partir del grupo metilo terminal (omega-3 y omega-6). Se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS (SAS, 2001).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Experimento 1. Composición química y perfil de ácidos grasos en forrajes alternativos para la alimentación de rumiantes en ecosistemas áridos.

#### 6.1.1. Resultados del análisis bromatológico de los forrajes

Los forrajes mostraron diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) entre todas las variables de respuesta evaluadas de composición bioquímica gruesa (MS, PC, C, LT, FC y EB).

El contenido de materia seca (MS) fue mayor en el nopal maduro seguido del nopal tierno, heno de alfalfa, pasto taiwán, frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25. El nopal tierno tuvo mayor cantidad de materia seca que el pasto taiwán, frijol yorimón G25 y frijol yorimón G18, pero resultado similar al heno de alfalfa. A su vez, el heno de alfalfa captó mayor cantidad de materia seca que los genotipos de yorimón (G25 y G18) pero similar al pasto taiwán, mientras que el frijol yorimón G25 y G18 no presentaron diferencias significativas (Tabla V).

En el análisis de proteína cruda (PC) se presentaron diferencias estadísticas ( $p < 0.0001$ ) entre los forrajes evaluados, siendo el frijol yorimón G25 el que presentó la mayor concentración, seguido por frijol yorimón G18, heno de alfalfa, germinado de maíz, nopal tierno, pasto taiwán y nopal maduro (Tabla V).

Las cenizas (C) fue mayor ( $p < 0.0001$ ) en nopal maduro seguido por nopal tierno, frijol yorimón G25, frijol yorimón G18, heno de alfalfa, pasto taiwán y germinado de maíz. El contenido de C en el frijol yorimón G18, frijol yorimón G25 y heno de alfalfa resultaron similares pero obtuvieron mayores concentraciones que el germinado de maíz. Sin embargo el pasto taiwán fue similar al heno de alfalfa pero diferente a las dos variedades de frijol yorimón (Tabla V).

La fibra cruda (FC) fue significativamente mayor para el heno de alfalfa y pasto taiwán. Por su parte, el frijol yorimón G18 y G25 fueron similares ( $p > 0.05$ ) entre sí pero obtuvieron mayores concentraciones de FC que el germinado de maíz y nopal maduro, los cuales mostraron valores estadísticamente iguales entre sí, pero obtuvieron mayores concentraciones que el nopal tierno (Tabla V).

La energía bruta (EB) fue mayor para el germinado de maíz con respecto al resto de forrajes, seguido en orden descendente por heno de alfalfa, pasto taiwán, frijol yorimón G18, frijol yorimón G25, nopal tierno y nopal maduro (Tabla V). El heno de alfalfa mostró mayor cantidad que los forrajes frijol yorimón G25, frijol yorimón G18, nopal tierno y nopal maduro pero obtuvo concentraciones similares al pasto taiwán. A su vez, El pasto taiwán mostro concentraciones similares a los forrajes frijol yorimón G25 y G18 pero obtuvo concentraciones superiores a los forrajes nopal tierno y nopal maduro. Estos últimos mostraron las cantidades menores de EB (Tabla V).

Tabla V. Composición química (Media  $\pm$  E.E; g  $100^{-1}$  de MS) de alfalfa henificada y cuatro forrajes alternativos para ecosistemas áridos.

Variable	GM	FYG18	FYG25	PT	NT	NM	HA
MS	3.1 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	91.3 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>	91.2 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	92.2 $\pm$ 0.25 <sup>d</sup>	93 $\pm$ 0.49 <sup>c</sup>	94.2 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	92.3 $\pm$ 0.05 <sup>c,d</sup>
PC	14.5 $\pm$ 0.36 <sup>d</sup>	19.3 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	23.3 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	8.1 $\pm$ 0.15 <sup>f</sup>	9.7 $\pm$ 0.39 <sup>e</sup>	5.8 $\pm$ 0.37 <sup>g</sup>	17.6 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>
C	3.2 $\pm$ 0.32 <sup>e</sup>	11 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>	11.4 $\pm$ 0.45 <sup>c</sup>	9.7 $\pm$ 0.42 <sup>d</sup>	22.5 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	26.4 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	10.7 $\pm$ 0.51 <sup>c,d</sup>
FC	9.3 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	16.5 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	14.3 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>	29.5 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	6.5 $\pm$ 0.44 <sup>d</sup>	9.9 $\pm$ 1.52 <sup>c</sup>	29.9 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>
EB <sup>1</sup>	4.42 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	3.93 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	3.91 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	4.01 $\pm$ 0.03 <sup>b,c</sup>	3.25 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	2.85 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	4.13 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
LT	3.41 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	4.93 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	5.97 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	3.13 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>	2.13 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	2.20 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>	4.32 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> Literales diferentes entre hileras indican diferencias ( $P \leq 0.0001$ ). GM=Germinado de maíz; FYG18=Frijol yorimón G18; FYG25=Frijol yorimón G25; PT=pasto Taiwán; NT=Nopal tierno; NM=Nopal maduro; HA=Heno de alfalfa; MS=Materia seca; PC=Proteína cruda; C=Cenizas; FC=Fibra cruda; EB=Energía bruta, <sup>1</sup>Mcal/kg; LT=Lípidos totales.



Los lípidos totales (LT) fueron mayores en frijol yorimón G25, seguido en orden descendente por el frijol yorimón G18, heno de alfalfa, germinado de maiz, pasto taiwán, nopal maduro y nopal tierno. A su vez el frijol yorimón G18 y heno de alfalfa fueron similares entre sí pero obtuvieron mayores concentraciones que los forrajes germinado de maiz, pasto taiwán, nopal maduro y nopal tierno. El germinado de maiz y pasto taiwán fueron similares entre si pero obtuvieron mayores concentraciones que el nopal maduro y nopal tierno, siendo éstos últimos los que mostraron los valores menores de LT.

### **6.1.2. Resultados del análisis de ácidos grasos**

Los forrajes mostraron diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) en la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, omega-3 y omega-6 (Tabla VI).

El nopal maduro y el heno de alfalfa presentaron la mayor cantidad de ácidos grasos saturados (SFA) y fueron similares entre sí, el germinado de maiz presento concentraciones similares al heno de alfalfa pero cantidades inferiores al nopal maduro, cantidades similares al pasto taiwán, a su vez el pasto taiwán fue similar al nopal tierno, frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25 (Tabla VI).

En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), el germinado de maiz mostró la mayor concentración con respecto al resto de los forrajes, seguido por frijol yorimón G18, heno de alfalfa y nopal tierno, los cuales no mostraron diferencia estadística con germinado de maiz. Los forrajes nopal maduro, frijol yorimón G25 y pasto taiwán, mostraron la menor concentración y fueron similares estadísticamente entre sí (Tabla VI).

Respecto a la concentración de ácidos poliinsaturados (PUFA), los forrajes frijol yorimón G25 y pasto taiwán mostraron la mayor concentración, seguidos en orden descendente y sin diferencia estadística por los forrajes frijol yorimón G18 y nopal tierno, mientras que los forrajes que mostraron menor concentración e igualdad estadística entre ellos fueron el nopal maduro, el heno de alfalfa y el germinado de maiz (Tabla VI).

Los forrajes frijol yorimón G25, frijol yorimón G18 y pasto taiwán no mostraron diferencia

estadística entre sí, con mayor concentración de omega-3 respecto al resto de los forrajes, seguidos en orden descendente por nopal maduro, heno de alfalfa, nopal tierno y germinado de maiz. A su vez, los forrajes nopal maduro, heno de alfalfa y nopal tierno no mostraron diferencia estadística y presentaron una mayor concentración de omega-3 que el germinado de maiz (Tabla VI).

El germinado de maiz mostró la mayor concentración de omega-6, seguido por el nopal tierno, el cual no mostró diferencia estadística con el primero, seguido en orden descendente por heno de alfalfa, nopal maduro, pasto taiwán, frijol yorimón G25 y frijol yorimón G18, siendo éste último forraje el que mostró la menor concentración de omega-6.

Los forrajes mostraron diferencias significativas con respecto al ácido linoleico (LA, 18:2*n*-6), donde el germinado de maiz mostró el mayor contenido de LA, sin diferencia estadística al nopal tierno, seguido por los forrajes heno de alfalfa, nopal maduro, pasto taiwán, frijol yorimón G25 y frijol yorimón G18, siendo los genotipos de frijol yorimón los que mostraron el menor contenido de LA.

Respecto al contenido de ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3*n*-3), los forrajes frijol yorimón G25, frijol yorimón G18 y pasto taiwán mostraron el mayor contenido de éste ácido, seguido en orden descendente por los forrajes nopal maduro, heno de alfalfa, nopal tierno y germinado de maiz, siendo éste último el que mostró el contenido menor de ALA.

Respecto a la proporción omega-6:omega-3, el germinado de maiz mostro el valor mayor, seguido del nopal tierno, que fue mayor que el nopal maduro, pasto taiwán y heno de alfalfa. Finalmente, el frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25, mostraron la menor relación de omega-6:omega-3.

Tabla VI. Concentración de ácidos grasos (Media  $\pm$  E.E; g 100<sup>-1</sup> g de ácidos grasos) de alfalfa henificada y cuatro forrajes alternativos para ecosistemas áridos.

Ácido graso	GM	FYG18	FYG25	NT	NM	PT	HA
12:0	—	—	—	0.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.1 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	—
14:0	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.3 $\pm$ 0.03 <sup>c,d</sup>	0.4 $\pm$ 0.02 <sup>b,c,d</sup>	0.6 $\pm$ 0.2 <sup>b,c,d</sup>	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	0.7 $\pm$ 0.06 <sup>b,c</sup>
15:0	0.4 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.6 $\pm$ 0.07 <sup>a,b</sup>	0.8 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.07 <sup>a,b</sup>	0.7 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.05 <sup>a,b</sup>	—
15:1 <sub>n-8</sub>	—	—	—	0.3 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.2 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	—	—
16:0	21.0 $\pm$ 0.8 <sup>a,b</sup>	18.2 $\pm$ 1.2 <sup>b,c</sup>	16.2 $\pm$ 0.3 <sup>c,d</sup>	17.5 $\pm$ 0.3 <sup>b,c</sup>	17.3 $\pm$ 0.7 <sup>b,c</sup>	12.7 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>	23.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>
16:1 <sub>n-9</sub>	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>b,c</sup>	7.6 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	0.1 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.2 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	—	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>a,b</sup>
16:1 <sub>n-7</sub>	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>b,c</sup>	0.2 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>b,c</sup>	0.3 $\pm$ 0.02 <sup>b,c</sup>	0.3 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	—
17:0	0.4 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.2 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.3 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.5 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	1.2 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	0.7 $\pm$ 0.2 <sup>a,b</sup>
18:0	3.7 $\pm$ 0.1 <sup>a,b</sup>	2.7 $\pm$ 0.2 <sup>b,c</sup>	2.4 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	2.2 $\pm$ 0.2 <sup>c,d</sup>	2.7 $\pm$ 0.1 <sup>b,c</sup>	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	4.8 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
18:1 <sub>n-9</sub>	15.7 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	1.4 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	1.5 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	7.7 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	5.9 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.7 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	6.8 $\pm$ 2.2 <sup>b</sup>
18:1 <sub>n-7</sub>	0.8 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.2 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.3 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.2 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.6 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	—	—
18:2 <sub>n-6</sub>	36.3 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	5.0 $\pm$ 1.7 <sup>d</sup>	8.5 $\pm$ 0.5 <sup>c,d</sup>	26.5 $\pm$ 2.7 <sup>a,b</sup>	16.3 $\pm$ 1.9 <sup>b,c</sup>	12.5 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	16.6 $\pm$ 0.4 <sup>b,c</sup>
18:3 <sub>n-6</sub>	—	0.4 $\pm$ 0.03 <sup>a,b</sup>	0.5 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.3 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.5 $\pm$ 0.01 <sup>a,b</sup>	0.4 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>
18:3 <sub>n-3</sub>	15.9 $\pm$ 3.9 <sup>c</sup>	60.0 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>	61.1 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	36.3 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>	38.6 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	55.3 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>	37.4 $\pm$ 4.5 <sup>b</sup>
20:0	1.1 $\pm$ 0.03 <sup>a,b</sup>	0.5 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.5 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.4 <sup>a,b</sup>	2.2 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
22:0	1.1 $\pm$ 0.10 <sup>b,c</sup>	0.4 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.5 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	2.2 $\pm$ 0.2 <sup>a,b</sup>	2.8 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.0 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	1.1 $\pm$ 0.3 <sup>b,c</sup>
24:0	1.6 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.8 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.2 $\pm$ 0.06 <sup>a,b</sup>	1.3 $\pm$ 0.07 <sup>a,b</sup>	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	1.5 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
26:0	0.5 $\pm$ 0.02 <sup>a,b</sup>	0.4 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.8 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.4 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.9 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.1 <sup>a,b</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>a,b</sup>
SFA	30.5 $\pm$ 0.8 <sup>b,c</sup>	24.8 $\pm$ 1.7 <sup>c</sup>	24.2 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	28.1 $\pm$ 1.0 <sup>c</sup>	37.5 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	29.1 $\pm$ 2.5 <sup>b,c</sup>	36.2 $\pm$ 2.2 <sup>a,b</sup>
MUFA	17.3 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	9.6 $\pm$ 3.6 <sup>a,b</sup>	5.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	8.8 $\pm$ 0.9 <sup>a,b</sup>	7.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	3.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	9.4 $\pm$ 2.1 <sup>a,b</sup>
PUFA	52.2 $\pm$ 2.1 <sup>c</sup>	65.6 $\pm$ 3.3 <sup>a,b</sup>	70.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	63.0 $\pm$ 1.5 <sup>a,b,c</sup>	55.2 $\pm$ 2.2 <sup>b,c</sup>	68.2 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	54.4 $\pm$ 4.1 <sup>b,c</sup>
Omega-3	15.9 $\pm$ 3.9 <sup>c</sup>	60.1 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>	61.2 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	36.3 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>	38.6 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	55.3 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>	37.4 $\pm$ 4.5 <sup>b</sup>
Omega-6	36.3 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	5.5 $\pm$ 1.7 <sup>d</sup>	9.0 $\pm$ 0.5 <sup>c,d</sup>	26.7 $\pm$ 2.7 <sup>a,b</sup>	16.6 $\pm$ 1.9 <sup>c</sup>	13.0 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	17.0 $\pm$ 0.4 <sup>b,c</sup>
<i>n-6:n-3</i>	2.7 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	0.1 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.2 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.7 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.4 $\pm$ 0.05 <sup>b,c</sup>	0.3 $\pm$ 0.1 <sup>b,c</sup>	0.5 $\pm$ 0.1 <sup>b,c</sup>

Medias con diferente superíndice (a-d) entre hileras, difieren significativamente ( $p < 0.01$ ). GM =Germinado de maíz; FYG18=Frijol yorimón genotipo G18; FYG25=Frijol yorimón genotipo G25; PT=Taiwán; NT=Nopal tierno; NM=Nopal maduro; HA=Heno de alfalfa; SFA=saturados; MUFA=monoinsaturados; PUFA=poliinsaturados;*n-3*=omega tres; *n-6*=omega seis; Celdas vacías indican ácidos grasos no detectados.

## 6.2. Experimento 2. Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas Jersey alimentadas con forraje verde o heno.

La concentración de lípidos totales en la leche de vacas alimentadas con heno de alfalfa (HA; 55.0  $\pm$  1.1 mg100<sup>-1</sup> g) fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que las que consumieron forraje verde picado (AV; 17.0  $\pm$  0.4 mg100<sup>-1</sup> g). Los AG saturados fueron los mayoritarios en la grasa de leche, con mas de la mitad de los AG representados por SFA.

### 6.2.1. Ácidos grasos saturados

El contenido de AG saturados en la leche se presenta en la Tabla VII. El SFA mas abundante fue el 16:0, seguido del 14:0 y el 18:0. El total de AG saturados fue parecido ( $p>0.05$ ) en las vacas alimentadas con forraje verde, comparadas con las vacas alimentadas con heno de alfalfa. El único AG saturado que mostró efecto de tratamiento fue el AG de cadena larga 22:0; teniendo mayor concentración en el tratamiento AV ( $p<0.0001$ ).

Tabla VII. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos saturados (g  $100^{-1}$  g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).

Ácido graso	Tratamiento	
	HA	AV
14:0 Tetradecanoico (mirístico)	12.1 $\pm$ 2.0	10.1 $\pm$ 0.5
15:0 Pentadecanoico (pentadecánico)	1.0 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.1
16:0 Hexadecanoico (palmítico)	31.0 $\pm$ 3.3	32.0 $\pm$ 1.0
17:0 Heptadecanoico (margarico)	0.7 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.0
18:0 Octadecanoico (esteárico)	11.4 $\pm$ 0.9	11.0 $\pm$ 0.4
20:0 Eicosaenoico (araquídico)	0.2 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
22:0 Docosanoico (behénico)	0.2 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0***
Total SFA	56.6 $\pm$ 4.4	55.9 $\pm$ 1.4

Valores con asteriscos indican diferencias significativas en ácidos grasos en la misma fila: \*\*\*( $p<0.001$ ).

### 6.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Los MUFA representaron el 34.3 y 35.4% de los AG en la leche de las vacas de los grupos HA y AV, respectivamente ( $p>0.05$ ). El MUFA mas abundante fue el 18:1 $n$ -9, seguido del 16:1 $n$ -7 y el 18:1 $n$ -7. En la Tabla VIII se puede observar que el contenido de 16:1 $n$ -9 se incrementó en las vacas alimentadas con forraje verde. Además, el contenido de algunos MUFA de cadena larga (20:1 $n$ -11, 20:1 $n$ -9 y 20:1 $n$ -7) aumentó en las vacas alimentadas con forraje verde. De los MUFA de cadena larga, el más abundante fue el 20:1 $n$ -7, representando más de 0.5 y 1.0 g por 100 de los AG de la leche en HA y AV, respectivamente.

Tabla VIII. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos monoinsaturados (g 100<sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).

Ácido graso	Tratamiento	
	HA	AV
14:1 <i>n</i> -8; 6-tetradecanoico (miristoleico)	0.8 $\pm$ 0.2	16 $\pm$ 0.1
15:1 <i>n</i> -8; 7-heptadecanoico (margárico)	1.0 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.0
16:1 <i>n</i> -9; 7-hexadecenoico (palmitoleico)	0.1 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.1**
16:1 <i>n</i> -7; 9-hexadecenoico (palmitoleico)	2.0 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.2
16:1 <i>n</i> -5; 11-hexadecenoico (palmitoleico)	0,7 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0
17:1 <i>n</i> -8; 9-heptadecenoico (9-heptadecilenico)	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0
18:1 <i>n</i> -9; 9-octadecenoico (oleico)	23.0 $\pm$ 3.5	21.0 $\pm$ 0.5
18:1 <i>n</i> -7; 11c-octadecaenoico (vaccénico)	1.2 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0
18:1 <i>n</i> -5; 13-octadecenoico	0.5 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0
20:1 <i>n</i> -11; 9-eicosaenoico (gadoleico)	0.1 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0***
20:1 <i>n</i> -9; 11-eicosaenoico (gondoico)	0.1 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0*
20:1 <i>n</i> -7; 13-eicosaenoico	0.5 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0***
22:1 <i>n</i> -11; 11-docosaenoico (cetoleico)	0.2 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1
24:1 <i>n</i> -9; 15-tetracosanoico (nervónico)	1.0 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.0
Total MUFA	34.3 $\pm$ 4.0	35.4 $\pm$ 1.2

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*( $p < 0.05$ ); \*\*( $p < 0.01$ ); \*\*\*( $p < 0.01$ ).

### 6.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados

En la Tabla IX se observa que la concentración total de PUFA fue similar en la leche de vacas alimentadas con HA y AV ( $p > 0.05$ ). Con excepción del 20:3*n*-6 que fue mayor cuando las vacas se alimentaron con HA y el 20:5*n*-3 (EPA) que se incrementó cuando se alimentaron con AV, la mayor parte de los PUFA y HUFA no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). El PUFA más abundante fue el 18:2*n*-6, seguido por el 18:3*n*-3. Desde el punto de vista de la posición de un doble enlace en la cadena carbonada a partir del grupo metilo terminal, los AG omega-3 fueron más abundantes en el tratamiento AV y los AG omega-6 fueron más abundantes en HA, aunque dichas diferencias fueron no significativa ( $p > 0.05$ ).

Tabla IX. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos poliinsaturados y altamente poliinsaturados (g 100<sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).

Ácido graso	Tratamiento	
	HA	AV
18:2 <i>n</i> -6; 9,12-octadecadienoico (linoleico)	4.3 $\pm$ 1.3	3.4 $\pm$ 0.2
18:3 <i>n</i> -6; 6,9,12-octadecatrienoico ( $\gamma$ -linolénico)	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0
18:3 <i>n</i> -3; 9,12,15- octadecatrienoico ( $\alpha$ -linolénico)	1.4 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.1
20:2 <i>n</i> -6; 9,14-eicosadienoico	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
20:3 <i>n</i> -6; 8,11,14-eicosatrienoico (dihomo- $\delta$ -linolénico)	0.5 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.2**
Total PUFA	8.7 $\pm$ 1.9	8.9 $\pm$ 0.5
20:4 <i>n</i> -6; 5,8,11,14-eicosatetraenoico (araquidónico)	0.1 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.1
20:5 <i>n</i> -3; 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (EPA)	0.1 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0**
22:6 <i>n</i> -3; 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (DHA)	0.3 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0
Total HUFA	0.5 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.2
Omega-3	1.8 $\pm$ 1.5	2.4 $\pm$ 0.2
Omega-6	6.2 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.2
Relación omega-3:omega-6	0.29	0.47

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*\*( $p < 0.01$ ).

#### 6.2.4. CLA y MUFA *trans*

En la Tabla X se observa que la concentración de C18:1*n*-7t11 (ácido vaccénico) y de CLAc9t11 (ácido ruménico) fueron mayores en leche de vacas alimentadas con AV ( $p < 0.01$ ). Esto contribuyó a que el total de ácidos linoleicos conjugados (CLA) y el total de *trans* resultara superior ( $p < 0.001$ ) en la leche de vacas alimentadas con forraje verde, aun si no hubo diferencia para el CLAt10c12.

Tabla X. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos *trans* (g100<sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Jersey alimentadas con Forraje verde más concentrado comercial (AV) o Forraje seco más concentrado comercial (HA).

Ácido graso	Tratamiento	
	HA	AV
18:1 <i>n</i> -9 <i>t</i> ; 9 <i>t</i> -octadecenoico (oleico)	1.0 $\pm$ 1.0	1.0 $\pm$ 1.0
18:1 <i>n</i> -7 <i>t</i> 11; 11 <i>t</i> -octadecaenoico (vaccénico)	1.7 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.5**
18:2 <i>n</i> -6 <i>t</i> ; 9,12 <i>t</i> -octadecadienoico	1.0 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.1
18:2 <i>n</i> -7 <i>c</i> 9 <i>t</i> 11; 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i> -octadecadienoico (ruménico)	0.7 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.2**
18:2 <i>n</i> -6 <i>t</i> 10 <i>c</i> 12; 10 <i>t</i> ,12 <i>c</i> -octadecadienoico	0.1 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0
Total <i>trans</i>	4.5	7.1***
Acido ruménico + acido vaccénico	2.4	5.1

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*\*( $p < 0.01$ ); \*\*\*( $p < 0.001$ ).

### 6.3. Experimento 3. Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas Criollas alimentadas con forraje verde o heno.

La diferencia en la concentración de lípidos totales en la leche de vacas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C; 23.3 $\pm$ 6.7 mg/100 g) o que consumieron forraje verde en pastoreo (FV-P; 31.2 $\pm$ 6.1 mg100<sup>-1</sup> g) fue no significativa ( $p > 0.05$ ).

#### 6.3.1. Ácidos grasos saturados

El contenido de AG saturados en la leche se presenta en la Tabla XI. El SFA más abundante fue el 16:0, seguido del 14:0 y el 18:0. El total de AG saturados fue menor ( $p < 0.05$ ) en las vacas alimentadas con forraje verde (54.5 g por 100 g de AG) comparadas con las vacas alimentadas con heno de alfalfa (64.0 g por 100 g de AG). Los principales AG saturados que contribuyeron a la diferencia entre los tratamientos fueron los de cadena mediana (14:0, 15:0, 16:0). Los más abundantes fueron 16:0 y 14:0. A diferencia de los AG de cadena mediana, el contenido de 18:0 fue mayor en las vacas del grupo FV-P. No se observaron diferencias para los ácidos grasos saturados de cadena larga.

Tabla XI. Concentración (promedio  $\pm$  Error Estándar) de ácidos grasos saturados (g 100<sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa en confinamiento (HA-C), o con Forraje verde en pastoreo (FV-P).

Ácido graso	Tratamiento	
	HA-C	FV-P
14:0 Tetradecanoico (mirístico)	11.76 $\pm$ 0.61	9.12 $\pm$ 0.55*
15:0 Pentadecanoico (pentadecánico)	2.50 $\pm$ 0.39	0.94 $\pm$ 0.13**
16:0 Hexadecanoico (palmitico)	41.57 $\pm$ 1.50	31.28 $\pm$ 1.04**
17:0 Heptadecanoico (margarico)	0.65 $\pm$ 0.30	0.87 $\pm$ 0.12
18:0 Octadecanoico (esteárico)	6.57 $\pm$ 0.53	11.26 $\pm$ 0.72**
20:0 Eicosaenoico (araquídico)	0.20 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.06
22:0 Docosanoico (behénico)	0.17 $\pm$ 0.01	0.28 $\pm$ 0.05
Total SFA	63.95 $\pm$ 1.54	54.48 $\pm$ 1.44*

Valores con asteriscos indican diferencias significativas en ácidos grasos en la misma fila: \* ( $p < 0.05$ ); \*\* ( $p < 0.01$ ).

### 6.3.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Los MUFA representaron el 29.4 y 36.8 g por 100 g de los AG en la leche de las vacas de los grupos HA-C y FV-P, respectivamente, y fueron significativamente diferentes entre si ( $p < 0.05$ ). El MUFA mas abundante fue el 18:1 $n$ -9, seguido del 16:1 $n$ -7 y el 18:1 $n$ -7. En la Tabla XII se puede observar que el contenido de algunos MUFA de cadena mediana (14:1 $n$ -5, 16:1 $n$ -7 y 17:1 $n$ -7) se redujo en las vacas alimentadas con forraje verde. Sin embargo, en este grupo fue significativamente mayor la concentración de AG de cadena larga como 18:1 $n$ -9, 20:1 $n$ -7 y el 24:1 $n$ -9.



Tabla XII. Concentración (promedio  $\pm$  EE) de ácidos grasos monoinsaturados ( $\text{g } 100^{-1}$  g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje verde (FV-P) en pastoreo.

Ácido graso	Tratamiento	
	HA-C	FV-P
14:1 <i>n</i> -5; 6-tetradecanoico (miristoleico)	1.62 $\pm$ 0.19	0.71 $\pm$ 0.04**
15:1 <i>n</i> -8; 7-heptadecanoico (margárico)	0.32 $\pm$ 0.11	0.43 $\pm$ 0.03
16:1 <i>n</i> -9; 7-hexadecenoico (palmitoleico)	0.11 $\pm$ 0.03	0.28 $\pm$ 0.05
16:1 <i>n</i> -7; 9-hexadecenoico (palmitoleico)	3.00 $\pm$ 0.49	1.45 $\pm$ 0.20**
16:1 <i>n</i> -5; 11-hexadecenoico (palmitoleico)	0.44 $\pm$ 0.18	0.69 $\pm$ 0.12
17:1 <i>n</i> -8; 9-heptadecenoico (9-heptadecilenico)	0.88 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.05**
18:1 <i>n</i> -9; 9-octadecenoico (oleico)	19.81 $\pm$ 1.29	27.27 $\pm$ 1.65*
18:1 <i>n</i> -7; 11c-octadecaenoico (vaccénico)	0.85 $\pm$ 0.06	0.94 $\pm$ 0.05
18:1 <i>n</i> -5; 13-octadecenoico	0.34 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.03
20:1 <i>n</i> -11; 9-eicosaenoico (gadoleico)	0.10 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.07*
20:1 <i>n</i> -9; 11-eicosaenoico (gondoico)	0.14 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.07
20:1 <i>n</i> -7; 13-eicosaenoico	0.06 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.08*
22:1 <i>n</i> -11; 11-docosaenoico (cetoleico)	0.11 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.05
24:1 <i>n</i> -9; 15-tetracosaenoico (nervónico)	0.06 $\pm$ 0.01	0.56 $\pm$ 0.08**
Total MUFA	29.43 $\pm$ 1.79	36.79 $\pm$ 1.59*

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*( $p < 0.05$ ); \*\*( $p < 0.01$ ).

### 6.3.3. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)

En la Tabla XIII se observa que la concentración total de PUFA en la leche fue similar en la leche de vacas alimentadas con HA-C y FV-P. Con excepción del 18:2*n*-6, que fue significativamente más abundante cuando las vacas se alimentaron con FV-P, la mayor parte de los otros PUFA o HUFA no fueron significativamente diferentes. PUFA mas abundante fue el 18:2*n*-6, seguido por el 18:3*n*-3. Desde el punto de vista de la posición de

un doble enlace en la cadena carbonada a partir del grupo metilo terminal, los AG omega-6 fueron más abundantes en el tratamiento FV-P que en HA-C ( $p<0.01$ ) y los AG omega-3 tuvieron una mayor presencia en HA-C aunque dicha diferencia fue no significativa ( $p>0.05$ ).

Tabla XIII. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos poliinsaturados y altamente poliinsaturados ( $\text{g } 100^{-1}$  g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje (FV-P) verde en pastoreo.

Ácido graso	Tratamiento	
	HA-C	FV-P
18:2n-6; 9,12-octadecadienoico (linoleico)	1.47 $\pm$ 0.22	3.01 $\pm$ 0.16**
18:3n-6; 6,9,12-octadecatrienoico ( $\gamma$ -linolénico)	0.09 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.06
18:3n-3; 9,12,15- octadecatrienoico ( $\alpha$ -linolénico)	1.29 $\pm$ 0.07	1.06 $\pm$ 0.14
20:2n-6; 9,14-eicosadienoico	0.09 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01
20:3n-6; 8,11,14-eicosatrienoico (dihomo- $\delta$ -linolénico)	0.19 $\pm$ 0.03	0.31 $\pm$ 0.03
Total PUFA	6.03 $\pm$ 0.82	7.91 $\pm$ 0.85
20:4n-6; 5,8,11,14-eicosatetraenoico (araquidónico)	0.17 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.05
20:5n-3; 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (EPA)	0.22 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.02
22:6n-3; 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (DHA)	1.65 $\pm$ 0.31	0.79 $\pm$ 0.20
Total HUFA	2.04 $\pm$ 0.38	1.23 $\pm$ 0.27
Omega-3	3.16 $\pm$ 0.41	2.04 $\pm$ 0.36
Omega-6	2.37 $\pm$ 0.37	5.1 $\pm$ 0.44**
Relación omega-3:omega-6	1.33	0.40

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*\* ( $p<0.01$ ).

#### 6.3.4. CLA y MUFA *trans*

En la Tabla XIV se observa que la concentración de 18:2n-6t y de CLAc9t11 (ácido ruménico) fueron mayores en leche de vacas alimentadas con FV-P ( $p<0.05$ ). Esto contribuyó a que el total de ácidos linoleicos conjugados (CLA) resultara superior ( $p<0.05$ ) en la leche de vacas alimentadas con forraje verde, aun si no hubo diferencia para el CLAt10c12. Por otro lado, 18:1n-7t11 (vaccénico) también fue mayor en leche de vacas

alimentadas con FV-P.

Tabla XIV. Concentración (media  $\pm$  EE) de ácidos grasos *trans* (g 100<sup>-1</sup> g de AG) en la leche de vacas Criollas alimentadas con heno de alfalfa (HA-C) en confinamiento, o con Forraje (FV-P) verde en pastoreo.

Ácido graso	Tratamiento	
	HA-C	FV-P
18:1 <i>n</i> -9 <i>t</i> ; 9 <i>t</i> -octadecenoico (oleico)	0.42 $\pm$ 0.09	0.58 $\pm$ 0.04
18:1 <i>n</i> -7 <i>t</i> 11; 11 <i>t</i> -octadecaenoico (vaccénico)	0.98 $\pm$ 0.20	1.57 $\pm$ 0.14*
18:2 <i>n</i> -6 <i>t</i> ; 9,12 <i>t</i> -octadecadienoico	0.30 $\pm$ 0.05	0.91 $\pm$ 0.10**
18:2 <i>n</i> -7 <i>c</i> 9 <i>t</i> 11; 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i> -octadecadienoico (ruménico)	0.50 $\pm$ 0.04	0.77 $\pm$ 0.05*
18:2 <i>n</i> -6 <i>t</i> 10 <i>c</i> 12; 10 <i>t</i> ,12 <i>c</i> -octadecadienoico	0.06 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.03
Total <i>trans</i>	2.26	4.0
Acido ruménico + acido vaccénico	1.48	2.34

Literales diferentes en las hileras indican diferencias: \*( $p < 0.05$ ); \*\*( $p < 0.01$ ).

## 7. DISCUSIÓN

Los resultados relacionados con la composición de la leche se tornan interesantes dadas las siguientes características: En un sistema de producción intensivo (estabulado) las vacas lecheras reciben los requerimientos nutricionales de acuerdo a su nivel de producción lo que les permite explotar su potencial genético, reflejándose en una mayor producción de leche. Sin embargo, en un sistema de producción semiintensivo el ganado lechero pasta prácticamente durante todo el día y al momento de la ordeña se le ofrece concentrado (2 kg) lechero (CEA, 2000); con este sistema se va a registrar menor porcentaje de grasa en la leche debido a un contenido menor de fibra en la dieta que induce una disminución en la síntesis de acetato y butirato (Zebeli *et al.*, 2006) reflejándose en una menor producción de leche. Muchos ganaderos han modificado su programa de alimentación de heno a pastoreo en forraje verde siguiendo un sistema de pastoreo rotacional intensivo. Este sistema ha llamado la atención del productor porque reduce los costos de producción al evitar el trabajo que implica la cosecha y el empacado del heno de alfalfa (mayor mano de obra, requiere maquinaria y equipo especializado y combustibles). Aunado a lo anterior, los ganaderos no saben que en ese cambio de sistema también están produciendo una leche rica en CLA, lo que podría dar un valor agregado dadas las modificaciones en su composición que se han observado en este estudio y en otros Kelly *et al.* (1998a); Schroeder *et al.* (2005); Dewhurst *et al.* (2006); Coppa *et al.* (2011).

Los pastos y forrajes nativos verdes también son un potencial para la alimentación del ganado bovino en el sistema de producción extensivo; estos forrajes se caracterizan por tener alto contenido de ácidos linoleicos y alfa linolénico (Dhiman *et al.*, 1999), por lo que al consumirlo los bovinos producen leche rica en CLA de acuerdo a resultados obtenidos en este estudio con ganado Criollo y en otros estudios Dhiman *et al.* (1999) y Frelich *et al.* (2009). Los resultados de las vacas Criollas son importantes porque la leche tiene ventajas para la salud del rancho ya que la leche que se obtiene es consumida directamente en el rancho, así como la mayor parte del queso; la otra parte de queso que venden podría redituarse al rancho mayores ingresos por la venta de queso rico en CLA y beneficios a la salud de las personas que lo consumen.

En el presente estudio se observó que el pasto taiwán fresco es muy rico en ácido linolénico. Este pasto representa una alternativa para la producción de forraje de corte de alto rendimiento y aceptable calidad nutritiva, el cual ha sido validado y transferido mediante los apoyos de la Fundación Produce de B.C.S., en el municipio de La Paz, siendo adaptado por productores de diferentes comunidades en donde ha prosperado eficientemente. Este pasto se ha utilizado para la producción de forraje de corte y se conserva para su aprovechamiento durante las épocas críticas de escasez de alimento en los agostaderos (pastos nativos) de la entidad (Agredano-Hernández, 2007).

El frijol yorimón en sus variedades G18 y G25 es considerada como una leguminosa con menores requerimientos de agua de riego para su desarrollo, tolerancia a salinidad, rusticidad y adaptación a las condiciones agroecológicas (Murillo-Amador *et al.*, 2003a). Además, en este estudio se observó que ambas variedades tienen propiedades bioquímicas (PC y EB, principalmente) similares al heno de alfalfa y tiene alto contenido de ácido linolénico como se observó en este experimento y en otros estudios (Murillo-Amador *et al.*, 2003a). El frijol yorimón, aporta los nutrientes necesarios para cubrir los requerimientos nutricionales del ganado lechero para producir leche rica en CLA y ácido vaccénico; por estas razones, el frijol yorimón es una alternativa para reemplazar al heno de alfalfa.

Recientemente, Lee *et al.* (2008) estudiaron la alfalfa henificada para determinar la concentración de MS, observando valores similares a los obtenidos en los genotipos de frijol yorimón (G18 y G25), determinando además, cantidades inferiores de MS con respecto a PT, NT, NM y AH. Otro estudio (Atti *et al.*, 2006) mostró que heno de avena y nopal (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) obtuvieron valores inferiores en MS con respecto a los obtenidos en la presente investigación. Cantidades menores de MS respecto a las mostradas en el presente estudio, fueron reportadas por Cabiddu *et al.* (2006) al evaluar los forrajes verdes *Daisy forb*, *Lolium rigidum*, *Medicago polymorpha* y *Hedysarum coronarium* durante la fase vegetativa. Valores similares a los obtenidos en MS en los genotipos de yorimón (G18 y G25) fueron reportados en los diferentes estados de madurez (fase de anthesis y post-anthesis) en el tallo de frijol yorimón (Baloyi *et al.*, 2008). En un experimento realizado por Agredano-Hernández (2007) se reportan valores inferiores de

MS en la hoja de pasto taiwán respecto a los reportados en el pasto taiwán del presente trabajo. Acorde con los resultados del presente estudio y los reportes de otras investigaciones, es evidente que los valores en la concentración de MS en los diferentes forrajes, mostrarán un diferencial de respuesta acorde con el material genético utilizado y con las condiciones agroecológicas de evaluación.

Los resultados en cuanto a que nopal tierno mostró el mayor contenido de cenizas (C) con respecto a nopal maduro, no coinciden con los obtenidos por Tegegne (2002), quien en un ensayo realizado en Etiopía, demostró que los renuevos o brotes tiernos de nopal, presentan un contenido menor de cenizas que los tallos y pencas; dicha variación se debe a la serie de compuestos y elementos que conforman la ceniza y a la estrecha relación de estos con la química de suelos y a los complejos fenómenos de la disponibilidad de sus elementos para la planta (Bravo, 1978). Por su parte, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) indican que la composición química de los nopalitos frescos mostró valores de 1.3% de cenizas, de la cual, 90% es calcio. El contenido de C en frijol yorimón G18, frijol yorimón G25 y heno de alfalfa resultó similar pero obtuvieron mayores concentraciones que el germinado de maíz; sin embargo el pasto taiwán fue similar al heno de alfalfa pero diferente a los dos genotipos de frijol yorimón. En un estudio realizado por Lee *et al.* (2008) evaluaron alfalfa henificada obteniendo concentraciones mayores de C que el germinado de maíz; sin embargo, en el resto de los forrajes evaluados los valores de C fueron inferiores a los reportados en este estudio. En un estudio, Baloyi *et al.* (2008) reportaron valores de C en hojas de frijol yorimón, los cuales fueron superiores a los obtenidos en el frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25. El hecho de que los valores de C difieran dentro de la misma especie indica que estos dependen de la variedad, de la edad de las plantas, de las condiciones de crecimiento del cultivo, entre otros factores inherentes tanto al diferencial genotípico como a la interacción de este con los factores ambientales (Tarawali *et al.*, 1997).

Los resultados en cuanto al contenido de fibra cruda (FC) en frijol yorimón en el presente estudio, son acordes a lo mencionado por Tarawali *et al.* (1997) quienes indican que los valores nutrimentales de frijol yorimón se pueden comparar muy bien con otros forrajes en cuanto al contenido de proteína cruda, digestibilidad y contenido mineral, pero no con el de

fibra cruda, ya que este por lo general es inferior respecto a otros forrajes. Otros estudios (Atti *et al.*, 2006) han revelado que el contenido de FC en nopal (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) es inferior al reportado en esta investigación en heno de alfalfa y pasto taiwán, pero fue superior a lo obtenido en nopal tierno, nopal maduro, germinado de maiz, frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25. Por su parte, Fuentes-Rodríguez (1997a,b) reportó valores promedio del contenido de FC de 10.2 a 17.1 de varias especies de nopal, los cuales son superiores a los mostrados en el presente estudio. Asimismo, Pimienta (1990) y Flores *et al.* (1995) concluyen que el contenido de fibra cruda aumenta con la edad del cladodio, llegando a 16.1% en los tallos suberificados, pero siendo cercana a 8.0%, en promedio, en los renuevos; este hecho también lo observó Tegegne (2002) en un ensayo con nopal realizado en Etiopía. Sin embargo, Muñoz de Chávez *et al.* (1995) señalan que en promedio, los nopales presentan valores de 3.5% de FC, mientras que Rodríguez-Félix y Cantwell (1988) indican que en la composición química de los nopales frescos, se determinaron valores 1.1% del contenido de fibra, valor que la hace comparable al contenido de fibra de la espinaca.

Respecto a la energía bruta, Atti *et al.* (2006) reporta valores de 0.75 FU/kg de MS en nopal (*Opuntia ficus-indica f. inermis*).

En relación a los lípidos totales (LT), estos resultados coinciden con los presentados por Muñoz de Chávez *et al.* (1995), quienes señalan que al igual que otras hortalizas, los nopales tienen un alto contenido de agua (90%) y bajo contenido de lípidos. Asimismo, con los de Rodríguez-Félix y Cantwell (1988), quienes indican que la composición química de los nopales frescos es principalmente agua (91%), 1.5% de proteínas y 0.2% de lípidos. Estudios recientes en alfalfa henificada muestran resultados similares a los forrajes nopal tierno y nopal maduro y concentraciones inferiores que los forrajes pasto taiwán, germinado de maiz, heno de alfalfa, frijol yorimón G18 y frijol yorimón G25 (Lee *et al.*, 2008).

En relación a los ácidos grasos saturados (SFA), Biondi *et al.* (2008) reportaron valores diferenciales en el contenido de SFA en una mezcla de pastos de corte, heno de haba, paja

de trigo y un concentrado comercial.

Una respuesta similar a la del presente documento en cuanto al contenido diferencial de ácidos grasos monoinsaturados en distintos forrajes, fue reportado por Biondi *et al.* (2008) al evaluar una mezcla de pastos de corte, heno de haba y paja de trigo.

Reportes recientes (Biondi *et al.*, 2008) han demostrado la variabilidad en la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en pastos de corte, heno de haba y paja de trigo, de los cuales el pasto de corte mostró incluso concentraciones superiores a las obtenidas en los forrajes evaluados en el presente estudio, donde el heno de haba, mostró concentraciones similares al heno de alfalfa y nopal maduro e inferiores al germinado de maíz pero superiores al nopal tierno, frijol yorimón G18, frijol yorimón G25 y pasto taiwán, sin embargo, la paja de trigo mostró concentraciones inferiores a todos los forrajes evaluados. Otros estudios (Atti *et al.*, 2006) han demostrado que la utilización de nopal en la alimentación de cabritos se asocia a un mayor contenido de 18:2, al ácido linoleico conjugado (CLA), así como a una mayor proporción de PUFA y a la proporción PUFA:SFA, todo ello respecto al forraje utilizado como testigo, concluyendo que el uso de nopal en la alimentación de cabritos maximiza la proporción de CLA, PUFA y la relación de PUFA:SFA.

Lo anterior representa una ventaja comparativa para el nopal utilizado en el presente estudio como forraje alternativo, dado que el nopal tierno mostró valores superiores de PUFA con respecto al forraje convencional (heno de alfalfa; HA) comúnmente utilizado en la alimentación de las especies de mayor importancia (bovinos y caprinos) en el estado de Baja California Sur (INEGI, 2006).

El hecho de que los forrajes planteados en el presente estudio como alternativos, frijol yorimón G25, frijol yorimón G18 y pasto taiwán hayan mostrado la mayor concentración de omega-3 comparativamente con respecto al forraje convencional HA, representa una ventaja, dado que se ha demostrado que para obtener carne de calidad en bovinos se deben incrementar los ácidos grasos en particular los omega-3, en la dieta suministrada a los



animales (Scollan *et al.*, 2001). Asimismo, otros estudios han indicado que corderos alimentados con pasto, presentaron mejores características nutricionales que la carne de corderos criados bajo un sistema de producción intensivo (Demeyer y Doreau, 1999; French *et al.*, 2000; Wood *et al.*, 1999).

El hecho de que el nopal tierno haya mostrado una mayor concentración de omega-6 con respecto al nopal maduro, coincide con Dewhurst *et al.* (2006) quienes señalan que las diferencias genéticas en la concentración de ácidos grasos en pastos serán más aparentes en plantas jóvenes con respecto a los pastos más maduros en las etapas de floración o senescencia destinados a la conservación como ensilaje o heno. Por otro lado, un número considerable de investigadores han estudiado la variación genética en los niveles de ácidos grasos en pastos y leguminosas forrajeras comúnmente consumidas por rumiantes (Dewhurst *et al.*, 2006). Estos estudios han proporcionado evidencias de los efectos genéticos, sin embargo, también se han identificado efectos grandes de los factores ambientales, tales como la luz (Dewhurst y King, 1998), los intervalos en los cortes, la estación del año, el régimen de fertilización, entre otros.

Respuestas diferenciales en el contenido de ácido linoleico (LA) y ácido alfa linolénico (ALA) se han reportado en diferentes especies vegetales utilizadas como alimento en distintas especies domésticas. Al respecto, Lourenco *et al.* (2007) en un estudio donde utilizaron tres mezclas de diferentes forrajes (mezcla de pastos, mezcla de forrajes de leguminosas y una mezcla de reygrass), encontraron que el contenido de LA fue mayor en la mezcla de pastos, mientras que la mezcla de reygrass mostró el contenido mayor de ALA. Por su parte, Atti *et al.* (2006) en un experimento realizado con nopal (*Opuntia ficus-indica f. inermis*) observaron contenidos mayores de LA que el germinado de maíz; sin embargo, se registraron contenidos inferiores a los forrajes frijol yorimón G25, frijol yorimón G18, pasto taiwán, nopal maduro y heno de alfalfa, pero concentraciones similares al nopal tierno.

En otro experimento Steinshamn *et al.* (2007) evaluaron durante dos años consecutivos la concentración de LA y ALA en el ensilado de *Trifolium repens* L. y *Trifolium pratense* L.;

ambos de segundo corte, observando que los contenidos de ambos ácidos entre las dos especies, no mostró diferencias significativas, pero al comparar los contenidos de LA con los obtenidos en el presente estudio, se observa que el contenido de LA de ambas especies, es mayor al de los forrajes frijol yorimón G18, frijol yorimón G25 y pasto taiwán pero inferiores a los forrajes germinado de maiz, nopal tierno, nopal maduro y heno de alfalfa, mientras que el contenido de ALA de ambas especies, solo superó al de germinado de maiz.

Por su parte Cabiddu *et al.* (2006) utilizaron diferentes forrajes verdes en fase vegetativa (*Lolium rigidum* Gaudin, *Hedysarum coronarium* L., *Medicago polymorpha* L., *Chrysanthemum coronarium* L.) durante la época de invierno y primavera, observando diferencias entre los forrajes en el contenido de LA y ALA en ambas estaciones del año, con contenidos menores a los encontrados en los forrajes en el presente estudio.

El contenido de LA y ALA en el HA obtenida en el presente estudio, fue inferior a lo reportado por Lee *et al.* (2008) quienes realizaron un experimento con alfalfa henificada, sin embargo, reportaron valores inferiores de LA y ALA al germinado de maiz y nopal tierno pero superiores al resto de los forrajes evaluados.

Por su parte, Biondi *et al.* (2008) evaluaron una mezcla de paja de pastos de corte, heno de haba y paja de trigo, encontrando contenidos diferentes de LA y ALA entre los forrajes evaluados; además, los contenidos reportados de ambos ácidos fueron similares al obtenido en el frijol yorimón G25, pero superiores a los forrajes germinado de maiz, nopal tierno, nopal maduro, pasto taiwán y heno de alfalfa e inferiores al frijol yorimón G18. Estudios recientes (Buccioni *et al.*, 2008) realizados en una mezcla de forrajes secos compuesto de pasto natural, alfalfa de segundo corte, harina de maíz, harina de soja, harina de cebada, grasa total de soja y suplemento de vitaminas y minerales, mostró contenidos de LA similares al frijol yorimón G18 e inferiores al frijol yorimón G25, germinado de maiz, nopal tierno, nopal maduro, pasto taiwán y heno de alfalfa, así como valores inferiores en el contenido de ALA respecto a los forrajes evaluados en el presente estudio.

Por otro lado, Flowers *et al.* (2007) reportó contenidos de ALA en un forraje compuesto de

heno de alfalfa, Festuca, trébol y maleza (50:20:20:10), mayores a los mostrados por los forrajes germinado de maiz, heno de alfalfa, nopal tierno y nopal maduro del presente estudio. Una vez que el rumiante consume forraje, se ha observado que la bacteria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens* convierte el ácido linoleico por isomerización a ácido conjugado posiblemente CLAc9t11 o ácido ruménico seguido por la hidrogenación del 18:1n-7t11 o ácido vaccénico (Jenkins *et al.*, 2008). En otro estudio se observó que los cabritos que consumieron nopal, obtuvieron mayor concentración de 18:2 y CLA, indicando que el nopal utilizado como forraje verde produce carne de calidad superior en términos nutricionales (Atti *et al.*, 2006).

Las vacas Jersey que comieron forraje verde picada (AV) registraron el menor porcentaje de grasa en la leche. Esto probable que se deba a un contenido menor de fibra en la dieta que induce una disminución en la síntesis de acetato y butirato (Zebeli *et al.*, 2006). La concentración de lípidos totales en el grupo AV, está por debajo del rango reportado para vacas Holstein y Jersey alimentadas con forraje verde en pastoreo (Frelich *et al.*, 2009; White *et al.*, 2001, respectivamente), y para vacas de doble propósito en pastoreo sobre forraje verde y suplementadas con diferentes cantidades de materia seca (Rico *et al.*, 2007).

La concentración de AG saturados en la leche de las vacas alimentadas con heno de alfalfa está dentro del rango reportado en vacas lecheras, especialmente en vacas Jersey alimentadas en pastoreo (White *et al.*, 2001). Sin embargo, en los animales que se alimentaron con forraje verde, dicho valor se encuentra por debajo del mínimo señalado por Månsson (2008). Este autor menciona que el contenido de AG saturados en la leche fue menor durante el verano; etapa en que las vacas se mantienen en pastoreo, comparado con el invierno cuando los animales permanecen estabulados y consumen alimento seco. En otros experimentos, Galina *et al.* (2007) midieron las concentraciones de AG en quesos elaborados con leche de vacas Cebú y de cabras que pastorearon en pradera de una leguminosa del bosque tropical; o estabuladas y alimentadas con ensilaje de maíz y un suplemento basado en concentrado. En esos estudios, el consumo de forraje verde redujo la concentración de AG saturados del queso en ambas especies.

En nuestro estudio, el único AG saturado que presentó efecto de tratamiento fue el 22:0, teniendo mayor cantidad en vacas que comieron forraje verde. A su vez, Leiber *et al.* (2005) mencionan que este AG, se encuentra en mayor cantidad en la grasa láctea de vacas alimentadas solo con forrajes.

El total de MUFA parecido entre los tratamientos. Esto no coincide con los resultados de otro estudio en el que se comparó la misma variable en la leche de vacas pastoreando sobre forraje verde o alimentadas con ensilaje (Frelich *et al.*, 2009). Los MUFA de cadena mediana en ambos grupos se encontraron dentro del rango reportado en otros estudios. Sin embargo, los valores registrados en las vacas alimentadas con HA y AV están por debajo de los referidos para vacas lecheras (Jensen, 2002).

En nuestro trabajo se observó una mayor cantidad de 16:1 $n$ -7 en AV. La importancia de algunos MUFA a nivel de glándula mamaria, es que los AG 16:0 (palmítico) y 18:0 (esteárico) son oxidados por la esteroil-CoA desaturasa, estos se convierten a 16:1 (palmitoleico) y 18:1 (oleico); que a su vez, están envueltos en la producción de CLA (Medrano *et al.*, 1999).

Aunque la concentración de PUFA fue similar entre HA y AV, la tendencia favorece al segundo grupo. En este sentido, nuestros resultados coinciden con los de Frelich *et al.* (2009). Lo anterior concuerda también con los resultados de un estudio realizado con vacas Simmental bajo pastoreo de forraje verde, en un sistema de producción orgánica (Vranješ *et al.*, 2010). En otro estudio, Coppa *et al.* (2011) observaron que las vacas lecheras Montbéliard alimentadas en el sistema de pastoreo rotacional, el contenido de PUFA en la grasa de la leche fue constante, mientras que en el sistema de pastoreo continuo la concentración disminuyó.

Las concentraciones de ácido ruménico en HA y AV están dentro del rango señalado en la literatura (Kelly *et al.*, 1998). Los ácidos ruménico y vaccénico que pasan del rumen al intestino delgado, son absorbidos y transportados a la glándula mamaria; aquí, el ácido vaccénico es desaturado a ácido ruménico y este último se libera en la leche (Bauman *et al.*,

2006; Khiaosa-ard *et al.*, 2010). Esto explica porqué el contenido de CLA en la grasa de la leche de vacas alimentadas con forraje verde es mayor que en las vacas que comieron una ración integral (Dhiman *et al.*, 1999; Schroeder *et al.*, 2003; Stockdale *et al.*, 2003; Frelich *et al.*, 2009; Wijesundera *et al.*, 2003; Bargo *et al.*, 2006).

Recientemente Coppa *et al.* (2011) observaron que las vacas Montbéliard en un sistema de pastoreo rotacional tuvieron una cantidad mayor de ácido ruménico y CLA total en la leche que cuando estuvieron estabuladas o en un sistema de pastoreo continuo. Diversos reportes comentan que las vacas que consumen solo pastura, por lo general tienen altas sumas de CLA en leche; específicamente el CLA $\alpha$ 11, más que en las vacas que consumen dietas totalmente mezcladas (Kelly *et al.*, 1998a; Schroeder *et al.*, 2005).

En el experimento 3, la concentración total de lípidos en ambos tratamientos está dentro del rango reportado para vacas Holstein alimentadas con forraje verde en pastoreo (Frelich *et al.*, 2009) y para vacas de doble propósito en pastoreo sobre forraje verde y suplementadas con diferentes cantidades de materia seca (Rico *et al.*, 2007). Aunque la diferencia en el contenido de lípidos entre los tratamientos del presente estudio fue no significativa, se aprecia que se acumularon mas ácidos grasos en la leche de las vacas alimentadas con forraje verde.

La concentración de AG saturados en la leche de las vacas alimentadas con heno de alfalfa está dentro del rango reportado en vacas lecheras; sin embargo, en los animales que se alimentaron con forraje verde, dicho valor se encuentra por debajo del mínimo señalado por Månsson (2008). Este autor menciona que el contenido de AG saturados en la leche fue menor durante el verano; etapa en que las vacas se mantienen en pastoreo, comparado con el invierno, cuando los animales permanecen estabulados y consumen alimento seco. En otros experimentos, Galina *et al.* (2007) midieron las concentraciones de AG en quesos elaborados con leche de vacas Cebú y de cabras que pastorearon en pradera de una leguminosa del bosque tropical; o estabuladas y alimentadas con ensilaje de maíz y un suplemento basado en concentrado. En esos estudios, el consumo de forraje verde redujo la concentración de AG saturados del queso en ambas especies. En nuestro estudio, los AG

saturados más abundantes fueron 16:0 y 14:0, con concentraciones mayores a las reportadas en vacas lecheras de la Sabana Colombiana (Rico *et al.*, 2007). Proporciones similares de 14:0 e inferiores de 16:0 en el grupo FV-P del presente trabajo, fueron determinadas en la leche de vacas Holstein pastoreando sobre alfalfa en Argentina (Castillo *et al.*, 2006).

El total de MUFA resultó mayor en las vacas del tratamiento FV-P. Esto coincide con los resultados de otro estudio en el que se comparó la misma variable en la leche de vacas pastoreando sobre forraje verde o alimentadas con ensilaje (Frelich *et al.*, 2009). Los MUFA de cadena mediana en el grupo HA se encontraron dentro del rango reportado en otros estudios; sin embargo, los valores registrados en las vacas alimentadas con FV-P están por debajo de los referidos para vacas lecheras (Jensen, 2002).

En nuestro trabajo se observó una mayor cantidad de 16:1n-7 en HA. Aunque no se cuantificaron las AG del forraje, esto quizá se relaciona con una mayor concentración del AG referido en el heno de alfalfa, como ocurrió en un estudio con vacas Holstein (Dhiman *et al.*, 1999).

Aunque la concentración de PUFA fue similar entre HA y FV-P, la tendencia favorece al segundo grupo. En este sentido, nuestros resultados coinciden con los de Frelich *et al.* (2009). Lo anterior coincide también con los resultados de un estudio realizado con vacas Simmental bajo pastoreo de forraje verde, en un sistema de producción orgánica (Vranješ *et al.*, 2010).

De los PUFA, solamente el linoleico y el ruménico fueron afectados por la dieta. Ambos aumentaron en la leche de vacas alimentadas con forraje verde. Las concentraciones de ácido ruménico en HA y FV-P están dentro del rango señalado en la literatura (Kelly *et al.*, 1998). La mayor concentración de ácido linoleico en la leche del grupo FV-P podría estar asociada con un mayor consumo del AG, o con una menor biohidrogenación debida a la actividad de la polifenol oxidasa y de los fenoles (Steinshamm *et al.*, 2007). Estos compuestos se encuentran en altas concentraciones en los arbustos que forman parte de la dieta del ganado que pastorea en el área donde se realizó el estudio (Ramírez-Orduña *et al.*,

2003). La composición lipídica de los forrajes verdes consiste en glucolípidos y fosfolípidos, con una concentración alta de ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico, principalmente; estos AG son sustratos importantes para la biohidrogenación por los microorganismos del rumen (Jenkins *et al.*, 2008). A partir de los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico, se producen los isómeros de valor biológico como los ácidos ruménico y vaccénico (Jalc *et al.*, 2007).

Los ácidos ruménico y vaccénico que pasan del rumen al intestino delgado, son absorbidos y transportados a la glándula mamaria; aquí, el ácido vaccénico es desaturado a ácido ruménico y este último se libera en la leche (Bauman *et al.*, 2006). Esto explica por qué el contenido de CLA en la grasa de la leche de vacas alimentadas en pastoreo es mayor que en las vacas que comieron una ración integral (Schroeder *et al.*, 2003; Stockdale *et al.*, 2003; Frelich *et al.*, 2009).

Con base en esto se puede argumentar que los resultados observados en el presente estudio se pudieran relacionar con una cantidad menor de ácido  $\alpha$ -linolénico presente en el heno de alfalfa, ya que, por pérdidas oxidativas durante la henificación, dicho AG se reduce hasta una sexta parte de lo que contiene el zacate fresco (Tanaka, 2005). Esas pérdidas están asociadas con el sistema lipoxigenasa, un mecanismo de defensa de las plantas ante el daño tisular que termina catabolizando los PUFA a compuestos volátiles como aldehídos y alcoholes (Dewhurst *et al.*, 2006).

## 8. CONCLUSIONES

Por sus características bioquímicas, el uso de los forrajes alternativos como el frijol yorimón G25, frijol yorimón G18 y pasto taiwán mostraron la mayor concentración de ácido alfa linolénico y omega-3 con respecto al forraje convencional de heno de alfalfa. Los mayores niveles de omega-3 en estos forrajes alternativos representa una ventaja, tanto a nivel de calidad de la carne para consumo humano, pero además, representan una alternativa de bajo costo a la alfalfa para la producción de leche de vaca.

La leche de vacas Jersey alimentadas con forraje verde tuvo menor concentración de lípidos totales, pero mayor concentración de ácido vaccénico (18:1n-7t11), de ácido ruménico (CLAc9t11), del total de CLA y total de *trans* en comparación con la leche de vacas alimentadas con heno de alfalfa. Dado el efecto positivo potencial tanto del ácido vaccénico como del ruménico contenido en la leche de vaca sobre la salud humana, se recomienda incrementar la frecuencia de alimentación con forraje verde y disminuir en lo posible el henificado.

Dado que conseguir alfalfa fresca no siempre es posible en el siguiente experimento se evaluó el efecto de alimentar las vacas con una dieta conocida, como es alfalfa henificada al mantener las vacas Criollas en confinamiento, en comparación con forraje verde típico del agostadero al dejar las vacas en pastoreo, sobre el perfil de ácidos grasos. Las vacas en pastoreo, aun con el esfuerzo físico que tuvieron, presentaron mayor cantidad de grasa en la leche, aunque mucho menor en la raza Criolla que en la Jersey. La grasa, aun siendo mayor en pastoreo, presento menos SFA, mas MUFA y en particular, mas ácido vaccénico y (18:1n-7t11), ruménico. Lo anterior implica que es mejor dejar pastorear a las vacas en forraje mixto, que confinarlas y ofrecerles el alimento henificado.

Así, los forrajes verdes de corte o en pastoreo modifican la composición de la grasa de la leche haciéndola más benéfica para la salud de la población humana que consume el producto y sus derivados. La composición específica de la grasa de la leche producida por vacas en pastoreo merece también la atención de los procesadores de leche, dado que el



pastoreo modifica positivamente las cualidades de la leche.

Dado que a nivel de salud humana, resulta mas sencillo incrementar los niveles de CLA en la leche y sus derivados, que incrementando la cantidad total de leche consumida, es necesario implementar la tecnología a nivel de ganadería para lograr este incremento de forma natural. Esto es importante porque es posible lograr la síntesis de algunos CLA de forma química, pero el efecto de cada isómero, así como la relación entre distintos isómeros puede afectar de forma benéfica o negativa la salud humana.

Sin embargo, aun si a nivel de salud humana, una menor concentración de ácidos grasos saturados es un buen resultado y la cantidad de ácido ruménico y vaccénico incremento, seria deseable que la leche de forraje verde presentara mayores niveles en la relación omega-3:omega-6. Esto podría ser modificado variando el tipo de dieta de las vacas para incluir mas forrajes con alto contenido de 18:3n-3, como es el caso del frijol yorimón o pasto taiwán.

Lo anterior apunta a la producción de leche de calidad usando forraje alternativo de zonas áridas en pastoreo, lo cual compensaría la menor cantidad de leche producida, por una leche con efectos benéficos sobre la salud humana y con posibilidad de ser comercializada como orgánica.

## 9. LITERATURA CITADA

- Abaza, M.A., A.R. Abou-Akkada, and K. El-Shazly. 1975. Effect of rumen protozoa on dietary lipid in sheep. *J. Agric. Sci.* 85:135-143.
- AbuGhazaleh, A., D. Schingoethe, A. Hippen, and L. Whitlock. 2002. Feeding Fish meal an extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk, *J. Dairy. Sci.* 85:624-631.
- AbuGhazaleh, A., D. Schingoethe, A. Hippen, and K. Kalscheur. 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J. Dairy Sci.* 86:944-953.
- Agredano-Hernández, F. 2007. Establecimiento y manejo de pasto Taiwán para forraje de corte en B. C. S. INIFAP. Folleto Técnico Núm. 1.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC. 18th Ed. AOAC, Arlington, VA.
- An, J.K., C.W. Kang, Y. Izumi, Y Kobayashi, and K. Tanaka. 2003. Effects of dietary fat sources on occurrences of conjugated linoleic acid and *trans* fatty acids in rumen contents. *Asian-Australasian. J. Anim. Sci.* 16:222-226.
- Angulo, J., L. Mahecha, C.A. Giraldo, y M. Olivera. 2005. Prostaglandinas y grasa de la leche. Síntesis a partir de ácidos grasos poliinsaturados, en bovinos. En: *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca*. Medellín-Colombia: Editorial Biogénesis.
- Angulo, J., y M. Olivera. 2008. Fisiología de la producción láctea en bovinos: Involución de la glándula mamaria, lactogénesis, galactopoyesis y eyección de la leche. En: *Buenas Prácticas de producción de leche: contexto socioeconómico, morfofisiológico, sanitario y normativo*. Medellín- Colombia: Editorial Biogénesis.
- Arjona, O., Ortega, R, y Palacios, E. 2012. Determinación de Isómeros de Ácido Linoleico Conjugado (CLA) en leche de rumiantes. Manual de métodos. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Laboratorio de Metabolismo de lípidos.
- Atkinson, R.L., E.J. Scholljegerdes, S.L. Lake, V. Nayigihugu, B.W. Hess, and D.C. Rule. 2006. Site and extent of digestion, duodenal flow, and intestinal disappearance of total and esterified fatty acids in sheep fed a high-concentrate diet supplemented with high-linoleate safflower oil. *J. Anim. Sci.* 84:387-396.

- Atti, N., M. Mahouachi, and H. Rouissi. 2006. The effect of spineless cactus *Opuntia ficus-indica* f. *inermis*) supplementation on growth, carcass, meat quality and fatty acid composition of male goat kids. *Meat Science*. 73:229-235.
- Baloyi, J.J., N.T. Ngongoni, and H. Hamudikuwanda. 2008. Chemical composition and ruminal degradability of cowpea and silverleaf desmodium forage legumes harvested at different stages of maturity. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 8:81-91.
- Banni, S., G. Carta, E. Angioni, E. Murru, and P. Scanu. 2001. Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *J. Lipid Res*. 42:1052-1061.
- Bargo, F., J.E. Delahoy, G.F. Schroeder, L.H. Baumgard, and L.D. Muller. 2006. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Anim. Feed Sci. Technol*. 131:226-240.
- Bauman, D.E. 2002. Conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat: A Good News Story. Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853-4801 USA. 56 pp.
- Bauman, D.E., D.M. Barbano, D.A. Dwyer, and J.M. Griinari. 2000. Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci*. 83:2422-2425.
- Bauman, D.E, and J.M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*. V. 70. 15-29p.
- Bauman, D., B.L. Corlbaumgard, and J. Griinari. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. *Recent Advances in Animal Nutrition*, P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, eds. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 221-250p.
- Bauman, D.E., L.H. Baumgard, B.A. Corl, and J.M. Griinari†. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*.
- Bauman, D.E., I.H Mather, R.J. Wall, and A.L. Lock. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci*. 89:1235-1243.
- Bhattacharya, A., J. Banu, M. Rahman, J. Causey, and G. Fernandes. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutritional*

- Biochemistry. 17:789-810.
- Beam, T.M., T.C. Jenkins, P.J. Moate, R.A. Kohn, and D.L. Palmquist. 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and bio-hydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.* 83:2564-2573.
- Bell, A.W. 1982. Control of lipid metabolism in ruminants. *Proc. Nutr. Soc. Aus.* 7:97-104.
- Belury, M.A. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22:505-531.
- Belury, M.A., and A. Kempa-Steczko. 1997. Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids.* 32:199-204.
- Bessa, R.J.B., V. Portugal, I.A. Mendes, J. Santos-Silva. 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livest. Prod. Sci.* 96:185-194.
- Biondi, L., M.A. Valvo, M. Di Gloria, E. Scinardo Tenghi, V. Galofaro, and A. Priolo. 2008. Changes in ewe milk fatty acids following turning out to pasture. *Small Rumin. Res.* 75:17-23.
- Bligh, G.E., and J.W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.* 37(3):911-917.
- Booth, R.G., S.K. Kon, W.J. Dann, and T. Moore. 1935. A study of seasonal variation in butter fat. A seasonal spectroscopic variation in the fatty acid fraction. *Biochemical Journal.* 29:133-137.
- Bravo H., H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Tomo 1. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Buccioni, A., M. Antongiovanni, F. Petacchi, M. Mele, A. Serra, P. Secchiari, and S. Minieri. 2008. Effect of dried or green herbage on vaccenic acid and conjugated linoleic acid production during *in vitro* rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 140:207-213.
- Cabiddu, A., M. Addis, G. Pinna, M. Decandia, M. Sitzia, G. Piredda, A. Pirisi, and G. Molle. 2006. Effect of corn and beet pulp based concentrates on sheep milk and cheese fatty acid composition when fed Mediterranean fresh forages with particular

- reference to conjugated linoleic acid *cis*-9, *trans*-11. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:292-311.
- Carpentier, Y.A., Portois, and W.J. Malaisse. 2006. n-3 Fatty acids and the metabolic syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(suppl):1499S-504S.
- Castillo, A.R., M.A. Taverna, R.R. Páez, A. Cuatrin, D. Colombatto, F. Bargo, M.S. García, P.T. García, M. Chavez, A.D. Beaulieu, and J.K. Drackley. 2006. Fatty acid composition of milk from dairy cows fed fresh alfalfa based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:241-254.
- Centro de Estadística Agropecuaria (CEA). 2000. Normatividad Pecuaria. SAGARPA.
- Cesano, A., S. Visonneau, J.A. Scimeca, D. Kritchevsky, and D. Santoli. 1998. Opposite effects of linoleic acid and conjugated linoleic acid on human prostatic cancer in SCID mice. *Anticancer Res.* 18:833-838.
- Chow, T.T., V. Fievez, A.P. Moloney, K. Raes, D. Demeyer, and S. De Smet. 2004. Effect of fish oil on *in vitro* rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:1-12.
- Coppa, M., A. Ferlay, F. Monsallier, I. Verdier-Metz, P. Pradel, R. Didienne, A. Farruggia, M.C. Montel, and B. Martin 2011. Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *J. Dairy Sci.* 94:1132-1145.
- Chand, A., A. Wilkins, E. Kolver, and M. Veth. 2001. A rapid Method for Quantification of Conjugated Linoleic Acid in Rumen Fluid Using Gas Chromatography. *Analytical Sci. (supplement)*. 17:397-400.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, M. Doreau, A. Baldi, and K. Stelwagen. 2001. Effect of lipids supplementation in the ration on production of conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat composition of dairy cows. Special issue. Fifth International Workshop on the Biology of Lactation in Farm Animals. *Livestock Production Science* Vol. 70. Nº 1-2. Herbivore Research Unit, INRA Theix, 63122. Saint Genes Champanelle, France. 31p.

- Chilliard, Y., A. Ferlay, R.M. Mansbridge, and M. Doreau. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49:181-205.
- Chilliard, Y., and A. Ollier. 1994. Alimentation lipidique et métabolisme du tissu adipeux chez les ruminants. Comparaison avec le porc et les rongeurs. *INRA Prod. Anim.* 7:293-308.
- Chouinard, P., L. Corneau, W. Butler, Y. Chilliard, J. Drackley, and D. Bauman. 1998. Conjugated inoleic acid content of milk from cows fed different sources of dietary fat. *J. Dairy Sci.* 81(Suppl. 1):223(Abstr.).
- Chouinard, P., L. Corneau, W. Butler, Y. Chilliard, J. Drackley, and D. Bauman. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84:680-690.
- Christie, W.W. 2003. *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids.* Bridgater, England. 416p.
- Clegg, R.A., M.C. Barber, L. Pooley, I. Ernens, Y. Larondelleb, and M.T. Traversa. 2001. Milk fat synthesis and secretion: molecular and cellular aspects. *Livest. Prod. Sci.* 70:3-14.
- Collomb, M., A. Schmid, R. Sieber, D. Wechsler, and E.L. Ryhanen. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Int. Dairy J.* 16:1347-1361.
- Coppa M., A. Ferlay, F. Monsallier, I. Verdier-Metz, P. Pradel, R. Didienne, A. Farruggia, M.C. Montel, and B. Martin. 2011. Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *J. Dairy Sci.* 94:1132-1145.
- Couvreur, S., C. Hurtaud, C. Lopez, L. Delaby, and J.L. Peyraud. 2006. The Linear Relationship Between the Proportion of Fresh Grass in the Cow Diet, Milk Fatty Acid Composition, and Butter Properties. *J. Dairy Sci.* 89:1956-1969.
- Davies, D.T., Holt, C. and Christie, W.W., 1983. The composition of milk. In: *Biochemistry of lactation.* ed. Mephan, T.B., Elsevier Science Publisher B.V. 71-117.
- Dawson, R.M.C., N. Hemington, and G.P. Hazlewood. 1977. On the role of higher plant

- and microbial lipases in the ruminal hydrolysis of grass lipids. *Br. J. Nutr.* 38:225-232.
- Demeyer, D., and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedures of Nutritional Society.* 58:593-607.
- Dewhurst, R.J., and P.J. King. 1998. Effects of extended wilting, shading and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass Forage Sci.* 53:219-224.
- Dewhurst, R.J., K.J. Shingfield, M.R.F Lee, and N.D. Scoll. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:168-206.
- Dhiman, T., L. Satter, M. Pariza, M. Galli, K. Albright, and M. Tolosa. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016-1027.
- Dhiman, T.R., G.R. Anand, L.D. Satter, and M.W. Pariza. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82:2146-2156.
- Dohme, F., V. Fievez, K. Raes, and D. Demeyer. 2003. Increasing levels of two different fish oils lower ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid *in vitro*. *Anim. Res.* 52:309-320.
- Doreau, M., and A. Ferlay. 1994. Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 45:379-396.
- Dugan, M.E.R., J.L. Aalhus, A.L. Schaefer, and J.K.G. Kramer. 1997. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Canadian J. Anim. Sci.* 77:723-725.
- Eastridge, M., and X. Qiu. 2001. Conjugated linoleic acid in milk from cows on pasture. Department of Animal Sciences. The Ohio State University, Special Circular Ohio Agricultural Research and Development Center. N°182. Ohio, USA. 37p.
- Elgersma, A., S. Tamminga, and G. Ellen. 2003. Effect of grazing versus stall-feeding of cut grass on milk fatty acid composition of dairy cows. Proceedings of the International Occupational Symposium of the European Grassland Federation, Pleven. Bulgaria. *Grassland Sci. Eur.* 8:271-274.
- FAO. 2007. Food and Agricultura Organization. Pennisetum purpureum. Disponible:

- [http://www.ecocrop.fao.org/gppis.exe\\$ECShow?Host=1651](http://www.ecocrop.fao.org/gppis.exe$ECShow?Host=1651)
- Fahy, E., S. Subramaniam, H.A. Brown, C.K. Glass, A.H. Jr. Merrill, and R.C. Murphy. 2005. A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid. Res.* 46(5):839-61.
- Flores, H. A., M. Murillo, F. Borrego, y J.L. Rodríguez. 1995. Variación de la composición química de estratos de la planta de 20 variedades de nopal. p. 110-115. *In: Memorias. VI Congreso Nacional y IV Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del nopal.* Guadalajara, México.
- Flowers, G., S.A. Ibrahim, and A.A. AbuGhazaleh. 2007. Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. *J. Anim. Sci.* 91:722-730.
- Folch, J., M. Lees, and G.H. Stanley. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biology and Chemistry.* 226:497-509.
- French, P., C. Stanton, F. Lawless, E.G. O’Riordan, F.J. Monahan, and P.J. Caffrey. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *J. Anim. Sci.* 78:2849-2855.
- Frelich, J., M. Šlachta, O. Hanuš, J. Špička, and E. Samková. 2009. Fatty acid composition of cow milk fat produced on low-input mountain farms. *Czech. J. Anim. Sci.* 54:532-539.
- Fuentes-Rodríguez, J. 1997a. A comparison of the nutritional value of Opuntia and Agave plants for ruminants. *Journal of the Professional Association for Cactus Development.* 2:20-24.
- Fuentes-Rodríguez, J. 1997b. Feeding prickly pear cactus to small ruminants in Northern Mexico. I. Goats. *Journal of the Professional Association for Cactus Development.* 2:25-28.
- Galina, M.A., F. Osnaya, H.M. Cuchillo, and G. F. W. Haenlein. 2007. Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats. *Small Rumin. Res.* 71:264-272.
- Givens, D.I., K.E. Kliem, and R.A. Gibbs. 2006. The role of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Sci.* 74:209-218.
- Gooden, J.M. .1973. The importance of lipolytic enzymes in milk fed and ruminating



- calves. *Aust. J. Biol. Sci.* 26:1189-1199.
- Griinari, J.M., B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V. Nurmela, and D.E. Bauman. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta(9)$ -desaturase. *J. Nutr.* 130:2285-2291.
- Griswold, K.E., G.A. Apgar, R.A. Robinson, B.N. Jacobson, D. Johnson, and H.D. Woody. 2003. Effectiveness of short-term feeding strategies for altering conjugated linoleic acid content of beef. *J. Anim. Sci.* 81: 1862-1871.
- Grundy, S.M. 1986. Cholesterol and coronary heart disease: A new era. *Journal of American Medical Association.* 256:2849-2858.
- Ha, Y.L., N.K. Grimm, and M.W. Pariza. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis.* 8:1881-1887.
- Harfoot, C.G., and G.P. Hazlewood. 1988. Lipid metabolism in the rumen. pp: 285-322 in *The Rumen Microbial Ecosystem.* Elsevier Science Publishing, New York, NY.
- Harvatine, K.J., and M.S. Allen. 2006. Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. *J. Nutr.* 136:677-685.
- Hawke, J.C., and W.R. Silcock. 1970. The *in vitro* rate of lipolysis and biohydrogenation in rumen contents. *Biochim. Biophys. Acta.* 218:201-212.
- Heid, H.W., and T.W. Keenan. 2005. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur. J. Cell. Biol.* 84(2-3):245-58.
- Hobson, N., and S.O. Mann. 1961. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. *J. Gen. Microbiol.* 25:227-240.
- Hotamisligil, G.S., and B.M. Spiegelman. 1994. Tumor necrosis factor  $\alpha$ : A key component of the obesity–diabetes link. *Diabetes.* 43:1271-1278.
- INEGI. 2006. Anuario estadístico de B. C. S. 343p
- INIFAP. 1986. Valle de Santo Domingo. Guía para la asistencia técnica agrícola. 3era. Edición. 43p.
- INRA. 2002. In Sauvant D, Perez JM, Tran G (Eds). *Tables de Composition et de Valeur Nutritive des Matières Premières Destinées aux Animaux d'Élevage.* INRA. Paris, Francia. 301 pp.
- Ip, C., S.P. Briggs, A.D. Haegele, H.J. Thompson, J.M. Stokson, and J.A. Scmecca. 1996. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is

- independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis*. 17:045-1050.
- Ip, C., M.M. Ip, T. Loftus, S.F. Shoemaker, and W. Shea-Eaton. 2000. Induction of apoptosis by conjugated linoleic acid in cultured mammary tumor cells and premalignant lesions of rat mammary gland. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 9:689-696.
- Ip, C., M. Singh, H.J. Thompson, and J.A. Scimeca. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research*. 54:1212-1215.
- Ip, M.M., P.A. Masso-Welch, S.P. Shoemaker, W.K. Shea-Eaton, and C. Ip. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary epithelial cells in primary culture. *Experimental Cell Research*. 250:22-34.
- Izumi, Y., J. K. An, Y. Kobayashi, and K. Tanaka. 2002. Effects of fresh grass feeding on the formation of conjugated linoleic acid (CLA) and vaccenic acid (*trans*-11C18:1) in the rumen. *Proceedings of Japanese Society for Rumen Metabolism and Physiology*. 15:43-46.
- Jalc, D., M. Certik., K. Kundrikova, and P. Namestkova. 2007. Effect of unsaturated C18 fatty acids (oleic, linoleic and  $\alpha$ -linolenic acid) on ruminal fermentation and production of fatty acid isomers in an artificial rumen. *Vet. Med*. 52:87-94.
- Jahreis, G., J. Fritsche, and H. Steinhart. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutr. Res*. 17:1479-1484.
- Jenkins, T.C., A.A. AbuGhazaleh, S. Freeman, and E.J. Thies. 2006. The production of 10-hydroxystearic acid and 10-ketostearic acids is an alternate route of oleic acid transformation by the ruminal microbiota in cattle. *J. Nutr*. 136:926-931.
- Jenkins, T.C. R.J. Wallace, P.J. Moate, and E.E. Mosley. 2008. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim Sci*. 86:397-412.
- Jensen, R.G., A.M. Ferris, and C.J. Lammi-Keefe. 1991. Symposium: Milk fat composition, function and potential for change. The composition of milk fat. *J. Dairy Sci*. 74:3228.
- Jensen, R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids. *J. Anim. Sci*. 85:295-350.

- Jensen, R.G., A.M. Ferris, C.J. Lammi-Keefe. 1991. Symposium: Milk fat composition, function and potential for change. The composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 74:3228.
- Jiang, J., L. Bjoerck, R. Fonden, and M. Emanuelson. 1996. Occurrence of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk: Effects of feed and dietary regimen. *J. Anim. Sci.* 79:438-445.
- Johns, A.T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of the sheep. *NZ J. Sci. Tech.* 35: 262-269.
- Kaylegian, K. E., and R. C. Lindsay. 1995. Milk fat usage and modification. Pages 1-18 in *Handbook of Milkfat Fractionation Technology and Application*. Am. Oil Chem. Soc. Press, Champaign, IL.
- Kennelly, J.J., 1996. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 60:137-152.
- Kelly, M.L., J.R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M.E.V. Amburgh, and D.E. Bauman 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128:881-885.
- Kelly, M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Van Amburgh, and L.D. Muller. 1998a. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 81:1630-1636.
- Kelly, M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Van Amburgh, and L.D. Muller. 1998b. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 81:1630-1636.
- Kelsey, J.A., B.A. Corl, R.J. Collier, and D.E. Bauman. 2003. The Effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 86:2588-2597.
- Khanal, R.C., and K.C. Olson. 2004. Factors affecting conjugated Linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: A Review. Department of Animal, Dairy and Veterinary Sciences, Asian Network for Scientific Information. Utah State University, Logan, UT 84322, USA. *Pakistan Journal of Nutrition.* 3(2):82-98.
- Khiaosa-ard, R., F. Klevenhusen, C.R. Soliva, M. Kreuzer, and F. Leiber. 2010. Transfer of linoleic and linolenic acid from feed to milk in cows fed isoenergetic diets differing

- in proportion and origin of concentrates and roughages. *J. Dairy Res.* 77:331-336.
- Kramer, J.K.G., P.W. Parodi, R.G. Jensen, M.M. Mossoba, M.P. Yurawecz, and R.O. Adlof. 1998. Rumenic acid: A proposal common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*.33:853.
- Kritchevsky, D. 2000. Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *Brit. J. Nutr.* 83:459-465.
- Kucuk, O., B.W. Hess, A. Ludden, and D.C. Rule. 2001. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *J. Anim. Sci.* 79:2233-2240.
- Lawless, F., C. Stanton, P. L'escorp, R. Devery, P. Dillon, and J.J. Murphy. 1999. Influence of breed on bovine milk *cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid content. *Livest Prod Sci.* 62:43-49.
- Ledoux, M., L. M. Chardigny, M. Darbois, Y. Soustre, J. L. Sébédio, and L. Laloux. 2005. Fatty acid composition of French butters, with a special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *J. Food Comp. Anal.* 18:409-425.
- Lee, J.H., B. Kouakou, and G. Kannan. 2008. Chemical composition and quality characteristics of chevon from goats fed three different post-weaning diets. *Small Rumin. Res.* 75:177-184.
- Lee, K.N., D. Kritchevsky, and M.W. Pariza. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis.* 108:19-25.
- Lee, M.R.F., J.K.S. Tweed, A.P. Moloney, and N.D. Scollan. 2005. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Anim. Sci.* 80:361-367.
- Lee, M.R.F., J.K.S. Tweed, R.J. Dewhurst, and N.D. Scollan. 2006. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal metabolism and duodenal flow of fatty acids in beef steers. *Anim. Sci.* 82:31-40.
- Leiber, F., M. Kreuzer, D. Nigg, H.R. Wettstein, and M.R.L. Scheeder. 2005. A study on the causes for the elevated n-3 fatty acids in cows' milk of alpine origin. *Lipids.* 40:191-202.

- Lerche, Martin. 1969. Inspección veterinaria de la leche. Ed. Acribia, Zaragoza España, 1:69; pág. 188.
- Liew, C., H.A.J. Schut, S.F. Chin, M.W. Pariza, and R.H. Dashwood. 1995. Protection of conjugated linoleic acid against 2-amino-3-methylimidazol[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: A study of inhibitory mechanisms. *Carcinogenesis*. 16:3037-3043.
- Lock, A.L., and D.E. Bauman. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*. 39:1197-1206.
- Loor, J.J., K. Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard, and M. Doreau. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acid and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 87:2472-2485.
- Lourenco, M., G. Van Ranst., D. De Smet, K. Raes, and V. Fievez. 2007. Effect of grazing pastures with different botanical composition by lambs on rumen fatty acid metabolism and fatty acid pattern of *longissimus* muscle and subcutaneous fat. *Animal*. 1:537-545.
- Mahecha, L., J. Angulo, B. Salazar, M. Cerón, J. Gallo, and C.H. Molina. 2008. Supplementation with bypass fat in silvopastoral systems diminishes the ratio of milk saturated/unsaturated fatty acids. *Trop. Anim. Health. Prod.* 40:209-216.
- Månson, H.L. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr. Res* DOI: 10.3402/fnr.v52i0.1821.
- Martin, S.A., and T.C. Jenkins. 2002. Factors affecting conjugated linoleic acid and *trans*-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacterial. *J. Anim. Sci.* 80:3347-3352.
- Martínez-Marín., M. Pérez-Hernández, L. Pérez-Alba, y G. Gómez-Castro. 2010. Digestión de los lípidos en los rumiantes: una revisión. *Interciencia*. 35(4):240-246.
- Marsh, B.J., and B.D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Res.* 7:574-576.
- McLafferty, F.W., and F. Turecek. 1993. Interpretation of mass spectra. 4<sup>th</sup> Ed. University Sciences Books. Sausalito, CA. 371p.
- Medrano, J.F., A. Johnson, E.J. DePeters, and A. Islas. 1999. Genetic modification of the

- composition of milk fat: Identification of polymorphisms within the bovine stearoyl-Co-A-desaturase gene. *J. Dairy. Sci.* 82(Suppl. 1):71(Abstr.).
- Moate, P.J., W. Chalupa, T.C. Jenkins, and R.C. Boston. 2004. A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 112:79-105.
- Morelos, O. S. 1988. La Vegetación: una aproximación a través de la foto interpretación en la Sierra de La Laguna de Baja California Sur, Centro de Investigaciones Biológicas de B. C. S. A. C. La Paz, B. C. S.
- Morand-Fehr, M., and G. Tran. 2001. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. *INRA Prod. Anim.* 14:285-302.
- Mosley, E.E., G.L. Powell, M.B. Riley, and T.C. Jenkins. 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers *in vitro*. *J. Lipid Res.* 43:290-296.
- Muñoz de Chávez, M., A. Chávez, and J.A Roldán. 1995. The nopal: a plant of manifold qualities. *World Review of Nutrition and Dietetics.* 77:109-134.
- Murillo-Amador, B., B. Troyo-Diéguez, A. Nieto-Garibay, y M. Aguilar-García. 2002. El nopal, cultivo forrajero sostenible para el noroeste de México. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S., México. 97p.
- Murillo-Amador, B., A. Nieto-Garibay, y J.A. Larrinaga-Mayoral. 2003a. Manual para la producción de frijol yorimón en el Valle del Carrizal, B.C.S. Edit. Editorial. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, B. C. S., México. 52p.
- Nazare, J.A., A.B. de la Perriere, F. Bonnet, M. Desage, J. Peyrat, C. Maitrepierre, C. Louche-Pelissier, J. Bruzeau, J. Goudable, T. Lassel, H. Vidal, y M. Laville. 2007. Daily intake of conjugated linoleic acid enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy subjects. *Br. J. Nutr.* 97:273-280.
- Nicolosi, R.J., E.J. Rogers, D. Kritchevsky, J.A. Scimeca, and P.J. Huth. 1997. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery.* 22:266-277.
- Ostrowska, E., M. Muralitharan, R. Cross, D. Bauman, and F. Dunshea. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129:2037-2042.

- Palombo, J.D., A. Ganguly, B.R. Bistrin, and M.P. Menard. 2002. The antiproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human cancer cells. *Cancer Letter*. 177:163-172.
- Pandey, R. K. 1990. Guía del agricultor para el cultivo del chícharo de vaca en arrozales. Edit. LIMUSA. México, D.F.
- Pantoja, J., J.L. Firkins, M.L. Eastridge, and B.L. Hull. 1996. Fatty acid digestion in lactating dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. *J. Dairy. Sci.*79:575-584.
- Pariza, M.W. 1999. The biological activities of conjugated linoleic acid. In: M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza, G.J. Nelson (eds). *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. pp. 12–20. AOCS Press, Champaign, IL.
- Pariza, M.W., L.J. Loretz, J.M. Storkson, and N.C. Holland. 1983. Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. *Cancer Research*. 43 (Suppl.):2444s–2446s.
- Park, Y., and M.W. Pariza. 2009. Research review. Bioactivities and potential mechanisms of action for conjugated Fatty acids. *Food Sci. Biotechnol.* Vol. 18. No. 3. 586pp.
- Park, Y., K.J. Albright, W. Lin, J.M. Storkson, M.E. Cook, and M.W. Pariza. 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*. 32:853-858.
- Parodi, P. W. 1977. Conjugated octadecadienoic acids on milk fat. *J. Dairy Sci.* 60:1550-1553.
- Parodi, P. W. 2004. Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*. 59:3-59.
- Peterson, D.G., J.A. Kelsey, and D.E. Bauman. 2002. Analysis of variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid (CLA) in Milk Fat of dairy Cows. Department of Animal Science Cornell University Ithaca, NY 14853. *J. Dairy Sci.* 85:2164-2172.
- Pimienta, E. 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.
- Pinto, M., A. Rubilar, E. Carrasco, K.S. Ah-Hen, C. Brito, and L. Molina. 2002. Efecto estacional y del área geográfica en la composición de ácidos grasos en la leche de Bovinos. Universidad Austral De Chile. Facultad De Ciencias Agrarias. Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos. Valdivia, Chile. *Agro Sur* V.30 N.2 Jul.
- Piperova, L.S., J. Sampugna, B.B. Teter, K.F. Kalscheur, M.P. Yurawecz, Y. Ku, K.M.

- Morehouse, and R.A. Erdman. 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9- containing CLA in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 132:1235-1241.
- Pollard, M.R., F.D. Gunstone, A.T. James, and L.J. Morris. 1980. Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids.* 15:306-314.
- Ramírez-Orduña, R., R.G. Ramírez, M.V. Gómez-Meza, J. A. Armenta-Quintana, Ramírez-Orduña, J. M, R. Cepeda-Palacios, y J.M. Ávila-Sandoval. 2003. Seasonal dynamics of organic matter digestion in browse species from Baja California Sur, Mexico. *J. Appl. Anim. Res.* 24:65-78.
- Reyes-Agüero, J., J.R. Aguirre-Rivera, y H.M. Hernández. 2005. Notas sistemáticas y una descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. (cactaceae). *Agrociencia.* 39:395-408.
- Rico, J.E., B. Moreno, M.L. Pabón, and J. Carulla. 2007. Composición de la grasa láctea en la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA *cis*-9, *trans*-11. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20:30-39.
- Risérus, U., B. Samar, J. Stefan, N.F. Gunilla, A. and V. Bengt. 2002). "Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated c-reactive protein". *American Heart Association Journals.* 106:1925-9.
- Rodríguez-Félix, A., y M. Cantwell. 1988. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition.* 38:83-93.
- Román-Ponce., H. 1995. Situación actual y retos de la ganadería bovina en el trópico. XX Simposium de Ganadería Tropical. México. pp. 1-110.
- Romero, F.J.M.O. 2002. El pasto taiwán para producción de leche bajo pastoreo en riego. En: *Tecnología disponible 1997-2002.* INIFAP. Tomo 1. 197pp.
- Sanhueza, G.M.D. 2004. Determinación de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche de bovinos del sector vilcún, novena región. Tesis de Licenciatura. pp:1-131.
- Santos, F.L., M.T.C. Silva, R. De P. Lana, S.C.C. Brandao, L.H. Vargas, L.R. Abreu, R. Lanal, and R. Abreu. 2001. Los Efeito da suplementacao del racao de na de lipidios



- serenan un producao del conjugado de linoleico de ácido (CLA) e un gorduras de da de composicao hacen el leite del vacas. *Tecnología de Alimentos. Revista Brasileira de Zootecnia.* 30(6):1931-1938.
- SAS. 2001. *SAS User'S Guide (Release 8.2).* Statistics SAS Inst. Inc., Cary. North Caroline.
- Sato, N., and N. Murata. 1988. Membrane lipids. *Methods of encimology.* L. Parker & A. N. Glazer eds. 167:251-259.
- Sauvant, D., F. Meschy, and D. Mertens. 1999. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Prod. Anim.* 11:49-60.
- Schmid, A., M. Collomb, R. Sieber, and G. Bee. 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci.* 73:29-41.
- Schroeder, G.F., J.E. Delahoy, I. Vidaurreta, F. Bargo, G.A. Gagliostro, and L.D. Muller. 2003. Milk fatty acid composition of cows fed a total mixed ration or pasture plus concentrate replacing corn with fat. *J. Dairy Sci.* 86:3237-3248.
- Schroeder, G.F., J. J. Couderc, J. J. F. Bargo, and D.H. Rearte. 2005. Milk production and fatty acid profile of milk fat by dairy cows fed a winter oats (*Avena sativa* L.) pasture-only or a total mixed rations. *N. Z. J. Agric. Res.* 48:187-195.
- Scollan, N.D., N.J. Choi, E. Kurt, A.V. Fisher, M. Enser, and J.D. Wood. 2001. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *Brit. J. Nutr.* 85:115-124.
- SIAP. 2011. Sistema de información agropecuario y pesquero. SAGARPA Baja California Sur.
- Slyter, L.L. 1986. Ability of pH-selected mixed ruminal microbial populations to digest fiber in various pHs. *Appl. Env. Microbiol.* 52:390-391.
- Smith, L.M., and R.R. Lowry. 1962. Fatty Acid Composition of the Phospholipids and Other Lipids in Milk. *J. Dairy Sci.* 45:581-588.
- Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. 1981. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research.* Freeman, NY, USA. pp:859.
- Solomon, R., L.E. Chase, D. Ben-Ghedalia, and D.E. Bauman. 2000. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the

- concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:1140-1146.
- Stanton, C., F. Lawless, G. Kjellmer, D. Harrington, R. Devery, J.F. Connolly, and J. Murphy. 1997. Dietary influences on bovine milk *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.* 62:1083-1086.
- Steinshamn, H., E. Thuen, and U.T. Brenøe. 2007. Clover species in grass-clover silages affects milk fatty acid composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 16(1):65-69.
- Stockdale, C.R., G.P. Walker, W.J. Wales, D.E. Dalley, A. Birkett, Z. Shen, and P.T. Doyle. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *J. Dairy Res.* 70:267-276.
- Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Anim. Sci. J.* 76:291-303.
- Tarawali, S., B.B. Singh, M. Peters, and S.F. Blade. 1997. Cowpea haulms as fodder. *in* Advances in cowpea research, edited by Singh, B.B., Mohan Raj, D.R., Dashiell, K.E., and Jackai, L.E.N. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS) copublication. Available at IITA, Ibadan, Nigeria. pp:313-325.
- Tegegne, F. 2002. Fodder potencial of *Opuntia ficus-indica*. *Acta Horticulturae.* 581:343-345.
- Thomas, C.H.Y., L. Yang, Y. Huang, J. Wang, and Z.Y. Chen. 2000. Dietary conjugated linoleic acid mixture affects the activity of intestinal acyl coenzyme A: Cholesterol acyltransferase in hamsters. *Brit. J. Nutr.* 84:935-941.
- Timmen, H., and S. Patton. 1988. Milk fat globules: fatty acid composition, size and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids.* 23:685-689.
- Troegeler-Meynadier, A., L. Bret-Bennis, and F. Enjalbert. 2006. Rates and efficiencies of reactions of ruminal biohydrogenation of linoleic acid according to pH and polyunsaturated fatty acids concentrations. *Repr. Nutr. Dev.* 46:713-724.
- Velazquez, M. 2000. Udder health and milk composition, with special reference to beef cows. A literature review. Department of Animal Environment and Health. 1-67.
- Vranješ, A.P., M. Krajinović, J. Kecman, S. Trivunović, R. Pejanović, G. Krajinović, and G. Mačak. 2010. Comparison of fatty acid composition in conventional and organic

- milk. *Mljekarstvo*. 60:59-66.
- West, D.B., J.P. DeLany, P.M. Camet, F. Blohm, A.A. Truett, and J. Scimeca. 1998. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *American Journal of Physiology*. 275:R667-R672.
- White, S.L., J.A. Bertrand, M.R. Wade, S.P. Washburn, J.TJr. Green, and T.C. Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84:2295-2301.
- Whitlock, L.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, K.F. Kalscheur, R. J. Baer, N. Ramawamy, and K. M. Kasperson. 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acid in milk of dairy cows more than when fed separately. *J. Dairy Sci.* 85:234-243.
- Wijesundera, C., Z. Shen, W.J. Wales, and D.E. Dalley. 2003. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Res.* 70:257-265.
- Wilson, T.A., R.J. Nicolosi, M. Chrysam, and D. Kritchevsky. 2000. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherosclerosis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. *Nutr. Res.* 20:1795-1805.
- Wood, J.D., M.Enser, A.V. Fisher, G.R. Nute, R.I. Richardson, and P.R. Sheard. 1999. Manipulating Meat Quality and Composition. *Proceedures of Nutritional Society*. 58:363-370.
- Wrenn, S.M., J.S. Parks Jr, F.W. Immermann, and L.L. Rudel. 1995. ACAT inhibitors CL 283, 546 and CL 283, 796 reduce LDL cholesterol without affecting cholesterol absorption in African green monkeys. *J. Lipid Res.* 36:1199-1210.
- Zebeli, Q., M. Tafaj, H. Steingass, B. Metzler, and W. Drochner. 2006. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 89:651-668.