



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

EFFECTO DE LA VITAMINA E EN LA FUNCIÓN DIGESTIVA Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE BOVINOS ALIMENTADOS CON UN SUPLEMENTO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO

MÓNICA RAMÍREZ MELLA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

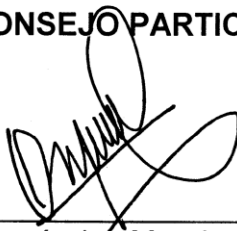
2012

La presente tesis titulada: **“Efecto de la vitamina E en la función digestiva y composición de la leche de bovinos alimentados con un suplemento de ácido linoleico conjugado protegido”**, realizada por la alumna: **Mónica Ramírez Mella**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA


CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dr. Omar Hernández Mendo

ASESOR:



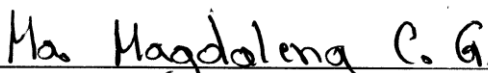
Dr. Jacinto Efrén Ramírez Bribiesca

ASESOR:



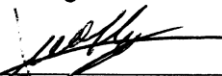
Dr. Ricardo Daniel Améndola Massiotti

ASESOR:



Dra. María Magdalena Crosby Galván

ASESOR:



Dr. Juan Andrés Burgueño Ferreira

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Octubre de 2012

EFFECTO DE LA VITAMINA E EN LA FUNCIÓN DIGESTIVA Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN BOVINOS ALIMENTADOS CON UN SUPLEMENTO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO PROTEGIDO

Mónica Ramírez Mella, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2012

La presente tesis se compone de la Introducción General, Revisión de literatura, tres capítulos que engloban la investigación, objeto de este estudio, y Conclusiones y Recomendaciones Generales. El Capítulo 1 consiste en un artículo de revisión de literatura que enmarca la importancia de proteger ingredientes y/o compuestos del ataque de microorganismos a nivel ruminal, donde la nanotecnología ocupa un papel importante. En el Capítulo 2 se discute el efecto de la vitamina E en la composición de la leche de vacas en pastoreo que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado microencapsulado, así como un análisis económico del mismo. El Capítulo 3 consiste en el estudio del efecto de la vitamina E en la fermentación ruminal y la digestión de nutrientes en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado microencapsulado. En el Capítulo 1 se describen aspectos generales de la nanotecnología así como algunas de las aplicaciones que pudiera tener en la producción animal. Considerando que a pesar de que gran parte de los estudios van dirigidos a humanos, primeramente se hacen prueban en animales, por lo que este hecho pudiera considerarse para desarrollar productos que tengan por objetivo alguna especie animal, ya que el uso de tal tecnología aún es escasa en la producción animal. Sin embargo, la microencapsulación es una tecnología que posee prácticamente los mismos objetivos que la nanotecnología, además de que en el proceso se utilizan los mismos métodos de preparación. Por lo anterior, en los Capítulos 2 y 3 se discute la utilización de un suplemento de ácido linoleico conjugado (CLA) microencapsulado, tecnología reciente que permite proteger al CLA de la hidrogenación ruminal. De esta manera, se evaluó el efecto de la vitamina E en la concentración de grasa y perfil de ácidos grasos de leche de vacas en pastoreo que recibieron un suplemento el CLA microencapsulado (Capítulo 2). Se utilizaron 8 vacas Holstein

neozelandesas, en pastoreo rotacional, en un Diseño Crossover asignadas aleatoriamente a cuatro tratamientos: testigo (dieta base con CLA microencapsulado) y tres niveles de vitamina E (4000, 8000 y 12000 UI/vaca por día). Todas las vacas recibieron un suplemento que aportó 5g de *cis*-9, *trans*-11 y 5g de *trans*-10,*cis*-12 de ácido linoleico conjugado. No hubo diferencias en el consumo de materia seca, en la producción de leche ni en su composición por efecto de la vitamina E y, en todos los tratamientos, el contenido de grasa fue inferior a 3%. El perfil de ácidos grasos de la leche tampoco se modificó, ni hubo beneficios económicos debido a que no se encontraron incrementos en producción de leche ni de grasa. Así mismo, se evaluó el efecto de la vitamina E en la fermentación ruminal y en la digestión de nutrientes en novillos que recibieron un suplemento de CLA microencapsulado (Capítulo 3). Se utilizaron 4 novillos machos Holstein canulados ruminal y duodenalmente, en un Diseño en Cuadro Latino 4 x 4, asignados aleatoriamente a cuatro tratamientos: Testigo (dieta base con CLA microencapsulado) y testigo con tres niveles de vitamina E (4000, 8000 y 12000 UI/novillo por día). Todos los novillos recibieron un suplemento que aportó 5g de *cis*-9, *trans*-11 y 5g de *trans*-10,*cis*-12 de ácido CLA el cual, junto con la vitamina E, se colocaron directamente en el rumen a través de la cánula ruminal. No hubo cambios significativos en la producción ruminal de AGV's, aunque numéricamente, la digestión ruminal de la FDN fue mejor ($P<0.15$) en el tratamiento con 12000 UI de vitamina E, y de la FDA ($P<0.25$) en los tratamientos con 4000, 8000 y 12000 UI de vitamina E; así mismo, también, numéricamente, no estadísticamente ($P<0.17$), la digestión postruminal de la materia orgánica fue mejor con 8000 y 12000UI de vitamina E. Se concluye que la vitamina E no es efectiva para prevenir la disminución de grasa en la leche de vaca por efecto del CLA microencapsulado a pesar de que se mejora la digestión de nutrientes a lo largo de todo el tubo gastrointestinal de novillos. Se necesita aún más investigación que explique el papel de la vitamina E en la digestión de nutrientes a lo largo de todo el tubo digestivo, y de esta manera poder entender con mayor certeza, la respuesta en el comportamiento productivo.

Palabras clave: Nanotecnología, microencapsulación, CLA, grasa en leche, vacas en pastoreo.

ABSTRACT

This thesis includes the General Introduction, a Review, and three chapters that include the discussion of the research project, and general recommendations and conclusions. Chapter 1 is a review that takes into consideration the importance of protecting ingredients or/and compounds against attack ruminal microorganisms, where the nanotechnology plays an important role. In Chapter 2, the evaluation of the effect of vitamin E on the fat content and fatty acid profile of grazing dairy cows supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid (CLA) is discussed. In Chapter 3, the evaluation of the effect of vitamin E on the digestion of nutrients in steers supplemented with microencapsulated CLA is described. In Chapter 1, nanotechnology general aspects and its possible application on animal production is described, taking into consideration that even though most of the studies on nanotechnology are addressed to human being, all tests are done using animals first. This suggests that it is possible to use this technology on animal production. In this sense, as the microencapsulation has the same principles of the nanotechnology, it took us to work on microencapsulated CLA, a technology that allows to protect the CLA against the ruminal biohydrogenation, which is discussed in Chapters 2, where the main objective to evaluate the effect of vitamin E on the fat content and fatty acid profile of grazing dairy cows supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. Eight New Zealand Holstein cows in a rotational grazing system were used, in a crossover design, randomly assigned to four treatments: control (base diet with microencapsulated CLA) and three levels of vitamin E (control with 4000, control with 8000, and control with 12000 UI/cow per day). All the cows received a supplement with 5 g of *cis*-9, *trans*-11, and 5 g of *trans*-10, *cis*-12 of CLA. Moreover, they each received 4 kg DM concentrate and 3.2 kg DM corn silage every day. There were no differences in dry matter intake, milk production, or milk composition (fat, protein, and lactose) as an effect of vitamin E, and fat content remained under 3% in all treatments. The fatty acid profile of the milk was not modified either, although there was a decrease of 5.7% saturated fatty acids in the treatments with vitamin E. On the other hand, to understand the digestion of nutrients, a study was carried out using four Holstein steers cannulated in the rumen and duodenum in a 4 x 4

(Chapter 3) in a Latin Square design, randomly assigned to four treatments: control (basal diet with microencapsulated CLA) and three levels of vitamin E (control with 4000, 8000 and 12000 IU/steer per day, respectively). All steers were placed intraruminally the supplement that provided 5 g of *cis*-9, *trans*-11 and 5 g of *trans*-10, *cis*-12 CLA, and the dose of vitamin E in according with the assigned treatment. Dry matter intake was restricted to 2.1% of initial BW. There were no statistically significant differences in ruminal pH and volatile fatty acid production by the effect of vitamin E. The digestion of nutrients was not statistically affected either, but there was a trend to improve ruminal digestion of NDF ($P < 0.15$) in the treatment with 12000 IU of vitamin E, and ADF ($P < 0.25$) in treatments with 4000, 8000 and 12000 IU of vitamin E. Post-ruminal digestion of OM was improved, numerically ($P < 0.17$), in treatments with 8000 and 12000 IU of vitamin E. It is concluded that vitamin E improves ruminal, post-ruminal and total digestion of some nutrients, but not ruminal pH and volatile fatty acid production. Further research is needed to explain the role of vitamin E on the digestion of nutrients throughout the gastrointestinal tract, in order to understand the animal performance.

Key words: Nanotechnology, microencapsulation, CLA, fat milk, grazing dairy cows

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante los estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por permitirme realizar mis estudios, así como a las fuentes de financiamiento para realizar mi proyecto de investigación como son Proyecto-CONACYT-90968 (2008-2009): Diseño de nanopartículas para la administración de ácido linoleico conjugado a vacas productoras de leche, y al Fideicomiso (Inversión 167304-apoyo a proyectos de tesis 2010), y a la LPI-16 (Innovación Tecnológica), del Colegio de Postgraduados.

Al Ing. José Luis Jasso, de la empresa BASF Mexicana S.A. de C.V., por donar el ácido linoleico conjugado protegido, indispensable para la realización de esta investigación.

Al Dr. Omar Hernández Mendo por la confianza, apoyo, paciencia y dedicación que tuvo a lo largo de mi formación doctoral.

Al Dr. Efrén Ramírez Bribiesca por las facilidades que me otorgó para realizar el experimento con los animales canulados y por su apoyo durante mis estudios.

Al Dr. Ricardo D. Améndola Massiotti por la confianza para abrirme las puertas del Módulo de Producción de Leche en Pastoreo de la Universidad Autónoma Chapingo para realizar el experimento con las vacas.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván por la asesoría y apoyo para realizar los análisis de laboratorio.

Al Dr. Juan Andrés Burgueño Ferreira por el apoyo y asesoría en el análisis estadístico.

A mis profesores del Programa de Ganadería de quienes adquirí conocimientos de gran valor y que contribuyeron en la escritura de esta tesis.

A mi gran amiga Rosy y a mis amigos Daniel y Raymundo por su apoyo desinteresado, por los grandes momentos que pasamos y, principalmente, por su amistad la cual, sin duda, durará por mucho tiempo.

Al personal del Módulo de Producción de Leche en Pastoreo de la Universidad Autónoma Chapingo ya que con su apoyo y paciencia se facilitó la realización del estudio con vacas.

A todas aquellas personas que no nombré, pero que, de alguna manera, facilitaron la realización de esta tesis.

Dedicada a *Tato...*

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema	4
2. Objetivos	5
2.1. <i>Objetivo General</i>	5
2.1. <i>Objetivos Particulares</i>	5
3. Hipótesis	5
4. Revisión de literatura.....	6
4.1. <i>La producción de leche en México</i>	6
4.2. <i>Los lípidos en la dieta del ser humano y su relación con la salud</i>	7
4.1.1. <i>Clasificación de los lípidos</i>	7
4.1.2. <i>Estructura de los lípidos</i>	8
4.1.3. <i>Funciones biológicas de los lípidos</i>	10
4.1.4. <i>Enfermedades relacionadas con el consumo de grasas.</i>	11
4.3. <i>Componentes de los lípidos de la leche con propiedades terapéuticas.</i>	13
4.4. <i>El ácido linoleico conjugado (CLA)</i>	15
4.4.1. <i>Características químicas</i>	15
4.4.2. <i>Biosíntesis en rumiantes</i>	16
4.4.3. <i>Efectos fisiológicos de los isómeros del ácido linoleico conjugado</i>	19
4.4.4. <i>Factores que afectan su contenido en la grasa de la leche de vaca</i>	22
4.5. <i>Disminución de la grasa en leche por efecto de los suplementos de CLA</i> ..	24
4.6. <i>La vitamina E como mecanismo para aumentar el contenido de grasa en la leche</i>	25
4.6.1. <i>Generalidades de la vitamina E</i>	25
4.6.2. <i>Estructura, absorción, transporte y distribución</i>	26
4.6.3. <i>Funciones</i>	28
4.7. <i>Microencapsulación de nutrientes</i>	30
5. Literatura citada	31

CAPÍTULO I. LA NANOTECNOLOGÍA APLICADA A LA PRODUCCIÓN ANIMAL

.....	44
1.1. Resumen.....	44
1.2. Abstract	45
1.3. Introducción.....	45
1.4. Diferencias entre los nanomateriales y los materiales voluminosos	47
1.5. Preparación y diseño de nanopartículas	49
1.6. Posibles aplicaciones en producción animal.....	50
1.7. Seguridad y toxicidad de los nanomateriales utilizados en animales.....	54
1.8. Conclusiones.....	54
1.9. Literatura citada	54

CAPÍTULO II. EFECTO DE LA VITAMINA E EN LA COMPOSICIÓN DE LECHE DE VACAS EN PASTOREO SUPLEMENTADAS CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCAPSULADO

.....	59
2.1. Resumen.....	59
2.2. Abstract	60
2.3. Introducción.....	60
2.4. Materiales y métodos	62
2.5. Resultados y discusión.....	67
2.6. Conclusiones.....	74
2.7. Literatura citada	74

CAPÍTULO III. EFECTO DE LA VITAMINA E EN LA DIGESTIÓN DE NUTRIENTES EN NOVILLOS SUPLEMENTADOS CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCAPSULADO	81
3.1. Resumen	81
3.2. Abstract	82
3.3. Introducción.....	82
3.4. Materiales y métodos	84
3.5. Resultados y discusión.....	88
3.6. Conclusiones.....	92
3.7. Literatura citada	92
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	97

ÍNDICE DE CUADROS

REVISIÓN DE LITERATURA

Cuadro 1. Ácidos grasos comunes, fórmula química y símbolo.....9

CAPÍTULO I. LA NANOTECNOLOGÍA APLICADA A LA PRODUCCIÓN ANIMAL

Cuadro 1. Tamaño de distintas estructuras biológicas (nm).....46

CAPÍTULO II. INTERACCIÓN VITAMINA E Y ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCASULADO EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACAS EN PASTOREO

Cuadro 1. Composición del concentrado, ensilado de maíz y forraje.....63

Cuadro 2. Efecto de la vitamina E en el consumo de materia seca, producción y composición de leche de vacas en pastoreo suplementadas con ácido linoleico conjugado microencapsulado.....69

Cuadro 3. Efecto de la vitamina E en la composición de ácidos grasos de leche de vacas en pastoreo suplementadas con ácido linoleico conjugado microencapsulado71

Cuadro 4. Costos (en dólares) por concepto de alimentación y producción de leche de vacas en pastoreo con diferentes niveles de vitamina E.....73

CAPÍTULO III. EFECTO DE LA VITAMINA E EN LA DIGESTIÓN DE NUTRIENTES EN NOVILLOS QUE RECIBIERON UN SUPLEMENTO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCAPSULADO

Cuadro 1. Ingredientes y composición de la dieta base.....86

Cuadro 2. Efecto de la vitamina E en el pH y perfil de ácidos grasos volátiles en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado.....89

Cuadro 3. Efecto de la vitamina E en la digestión de nutrientes en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado.....91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción nacional pecuaria 2011	6
Figura 2. Principales isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA): <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 (arriba), <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (en medio), <i>cis</i> -9,11 (abajo)....	16
Figura 3. Intermediarios metabólicos de los ácidos linoleico y linolénico.....	17
Figura 4. Estructura general de los tocoferoles y los tocotrienoles	27

INTRODUCCIÓN GENERAL

La industria productora de leche de vaca es una de las ramas de la ganadería de más impacto a nivel nacional, no sólo por jugar un papel importante en la economía del sector primario e industrial, sino también por el alto valor nutritivo que posee dicho producto (SAGARPA, 2004). La composición típica de la leche de vaca es 4.9% de lactosa, 3.1% de proteína y 3.5% de grasa (Davidson y Stabenfeldt, 1999); este último nutriente está conformado por varios tipos de lípidos, principalmente triglicéridos (95% del total de lípidos), cuyos ácidos grasos son, en su mayoría, saturados (Jensen, 2002).

En México, las tres principales causas de muerte en el año 2010 fueron las enfermedades del corazón, la diabetes mellitus y los tumores malignos (INEGI, 2012). Dichas enfermedades se encuentran relacionadas, entre otras causas, con el consumo de grasas, especialmente aquellas con un alto contenido de ácidos grasos saturados, como los productos de origen animal, incluyendo los lácteos y sus derivados, por lo que se ha enfatizado en disminuir el contenido de grasa en la dieta del ser humano. Al respecto, el Gobierno Federal recomienda minimizar el consumo de grasas animales, desalentando, entre otras cosas, el consumo de leche entera en todos los sectores de la población, incluso en el sector infantil. Esta recomendación forma parte de la estrategia contra el sobrepeso y la obesidad incluida en el Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria (Secretaría de Salud, 2010). Sin embargo, más que disminuir, se recomienda cambiar el tipo de grasa que se consume, reemplazando las grasas saturadas por grasas no saturadas (Hu *et al.*, 2001; Tolman *et al.*, 2007).

La grasa de los productos lácteos poseen diversos componentes, como la esfingomielina, el ácido butírico, el β -caroteno y el ácido linoleico conjugado (CLA), con propiedades mayormente anticancerígenas (Parodi, 1997;1999). El CLA es un ácido graso presente en la grasa de la leche que ha demostrado inhibir el desarrollo tumoral en animales de laboratorio en diversos órganos como glándula mamaria (Ip *et al.*, 1991) o próstata (Yang *et al.*, 2003); además, mejora el sistema inmune de diversas especies, entre ellas el cerdo (Bontempo *et al.*, 2004; Field y Schley, 2004), afecta la composición corporal (es decir, reduce la cantidad de grasa corporal y

umenta la masa muscular) de ratones (Hargrave *et al.*, 2004), pollos (Badinga *et al.*, 2003), y cerdos (Ramsay *et al.*, 2001; Thiel-Cooper *et al.*, 2001), y disminuye la presencia de aterosclerosis y estimula el crecimiento de ratas jóvenes (Pariza *et al.*, 2000). Debido a esto, incrementar el contenido de CLA en la leche de vaca sería altamente recomendable. La cantidad de CLA en la leche puede modificarse dependiendo de la dieta de las vacas. Al respecto, se ha demostrado que el contenido de CLA en la leche de animales en pastoreo es mayor que el de estabulados (Dhiman *et al.*, 1999a; White *et al.*, 2001; Stockdale *et al.*, 2003). Así mismo, dicho ácido graso se incrementa con la adición de semillas de oleaginosas (Dhiman *et al.*, 1999b), de aceites insaturados (AbuGhazaleh *et al.*, 2003ab), o de suplementos de ácido linoleico conjugado protegido (Perfield *et al.*, 2002). Reportes muestran que, debido al proceso activo de biohidrogenación dentro del rumen, se utiliza la aplicación intrabomasal de CLA no protegido para estudiar los efectos de isómeros específicos en la síntesis de grasa en leche (Baumgard *et al.*, 2002; Piperova *et al.*, 2004).

Una consecuencia del uso de CLA en la dieta es la disminución en la cantidad de grasa presente en la leche, tanto de aquella proveniente de vacas (Baumgard *et al.*, 2000; Piperova *et al.*, 2004; de Veth *et al.*, 2005), como de oveja (Lock *et al.*, 2006) y cabras (Gulati *et al.*, 2003; Lock *et al.*, 2008), lo cual puede ser benéfico por el hecho de que se produce una leche descremada de manera natural y que se apega a la demanda actual de este tipo de productos; sin embargo, económicamente sería poco rentable, ya que las especificaciones de la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004 mencionan un contenido mínimo de 30 g/L de grasa butírica presente en la leche cruda de vaca, por lo que se deben buscar formas efectivas de contrarrestar dicho problema.

Adicionalmente, la reducción de la grasa en la leche es un efecto secundario de las dietas con elevado contenido de grano y aceites (Ashes *et al.*, 1997). En relación con este último punto, se ha demostrado que dosis elevadas de la vitamina E en dietas altas en aceites incrementan el contenido de grasa en la leche de vaca (Weiss y Wyatt, 2003; Pottier *et al.*, 2006); sin embargo, dicha vitamina no se ha utilizado para prevenir la disminución de grasa en la leche por efecto de

suplementos de ácido linoleico conjugado. Por lo anterior, el objetivo fue evaluar el efecto de la vitamina E en la digestión de nutrientes en novillos, y en la cantidad y composición de los ácidos grasos de la leche en vacas alimentadas con un suplemento de ácido linoleico conjugado microencapsulado.

1. Planteamiento del problema

Uno de los problemas que conlleva la utilización de suplementos de CLA en la alimentación animal es la disminución del contenido de grasa en la leche por debajo del 3% especificado como mínimo en Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004, por lo que su uso se ve limitado a pesar de los beneficios que pudiera tener en la salud de los consumidores, en especial como anticancerígeno.

Debido a lo anterior, es necesario buscar alternativas que eviten que el contenido de la grasa en la leche se afecte negativamente, a la vez que sean inocuas tanto para el animal, el humano y el ambiente, ya que, a la fecha, los estudios con CLA indican su efecto negativo sobre el contenido graso de la leche pero no se encontró ninguno que ofrezca alguna alternativa para prevenir tal disminución. La vitamina E podría ser una opción ya que no es tóxica para el animal, no contamina y no produce residuos perjudiciales para el humano; además, ha mostrado incrementar el contenido de grasa en la leche de vaca cuando se utiliza en dietas altas en aceites poliinsaturados, por lo que su uso en dietas con CLA podría incrementar el contenido de grasa en la leche.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la vitamina E en la concentración de grasa en la leche de vacas en pastoreo que recibieron un suplemento de CLA microencapsulado.

2.1. Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de la vitamina E en la producción de leche de vacas en pastoreo.
- Determinar el efecto de la vitamina E en la composición de leche de vacas en pastoreo.
- Determinar si la vitamina E afecta el perfil de ácidos grasos (incluyendo el ácido linoleico conjugado) en leche de vaca.
- Evaluar el efecto de la vitamina E en el pH y la producción de ácidos grasos volátiles ruminales en novillos.
- Evaluar el efecto de la vitamina E en el flujo, digestión y excreción de materia seca, materia orgánica, proteína, fibra detergente neutra y fibra detergente ácida en novillos.

3. Hipótesis

La utilización de vitamina E incrementa la concentración de grasa en leche de vacas alimentadas con dietas que CLA, debido a cambios en el funcionamiento digestivo.

4. Revisión de literatura

4.1. La producción de leche en México

En México, la producción de leche es la tercera actividad más importante dentro del sector pecuario, después de producción de carne de ave y de bovino (Figura 1). El 67% de la actividad lechera se concentra en los estados de Jalisco, Coahuila, Durango, Chihuahua, Guanajuato, Veracruz, y el Estado de México, registrando una producción nacional de 10,724,288 toneladas de leche fluida en el año 2011 (SIAP, 2011). A pesar de ello, no se cubre la demanda de producción, por lo que se importan grandes volúmenes de leche. Al respecto, México es el principal importador de leche en polvo (221 mil toneladas en el año 2011), la cual se destina, principalmente, a la industria elaboradora de productos lácteos y al Programa de Abasto Social de Leche de LICONSA (SE, 2012).

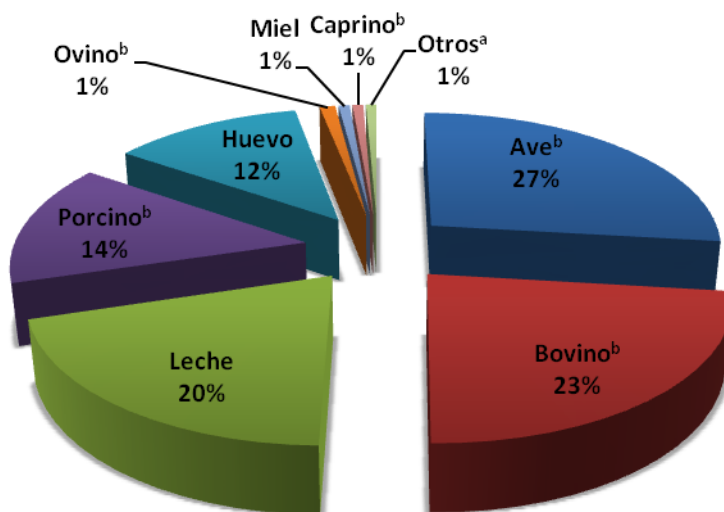


Figura 1. Producción nacional pecuaria 2011. Fuente: SIAP (2011).

De acuerdo a la SAGARPA (2004) los sistemas de producción de leche se clasifican como especializado (tecnificado o intensivo), semi-especializado (semi-tecnificado o semi-intensivo), doble propósito (tropical) y familiar, con volúmenes de producción del 51, 21, 18 y 10%, respectivamente. El sistema de producción de doble propósito es el de menor competitividad debido al rezago técnico, a pesar de

los bajos costos de producción, especialmente de alimentación, basados en pastoreo (Améndola, 2002). El sistema especializado, con tan solo 9% del hato total nacional (Valle y Álvarez, 1997), aporta la mitad del total de leche fresca producida en México (SAGARPA, 2004). En este sistema, la proporción de forraje:concentrado es 45:55, mientras que en el semi-especializado es de 67:33 (Améndola, 2002). En el sistema de producción de leche familiar se aprovechan los recursos familiares, utilizando cultivos forrajeros y residuos de cosecha para la alimentación de sus animales, haciendo uso mínimo de alimentos concentrados y, en el sistema de doble propósito, la alimentación es en pastoreo de praderas nativas con mínima suplementación (Améndola, 2002).

4.2. Los lípidos en la dieta del ser humano y su relación con la salud

Los lípidos son compuestos orgánicos relativamente insolubles en agua, pero relativamente solubles en disolventes orgánicos (Church *et al.*, 2003). Los lípidos tienen funciones bioquímicas y fisiológicas sumamente importantes y diversas: como almacenamiento de energía, son constituyentes de las membranas celulares, como cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, emulsificantes, hormonas y mensajeros intracelulares (Leningher *et al.*, 1995). No obstante lo anterior, durante varias décadas se ha recomendado reducir el consumo de lípidos en la dieta para así disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes mellitus tipo II; sin embargo, Hu *et al.* (2001) y Lin *et al.* (2004) indican que es más efectivo cambiar el tipo más que la cantidad de lípidos que se consume debido a que se asocia el consumo de grasa saturada al consumo de alimentos de origen animal, existe el interés de reducir la cantidad de grasa y cambiar el perfil de ácidos grasos de estos productos hacia un patrón insaturado (Azain, 2004).

4.1.1. Clasificación de los lípidos

De acuerdo con Church *et al.* (2003), los lípidos de importancia nutricional para seres humanos y animales, se clasifican de la siguiente manera:

- **Lípidos simples.** Estos lípidos son ésteres de ácidos grasos con varios alcoholes. Las grasas, los aceites y las ceras son lípidos simples.

- **Lípidos compuestos.** Estos lípidos son ésteres de ácidos grasos que se encuentran unidos a sustancias que no son lípidos como el fósforo, carbohidratos y proteínas. Ejemplos de ellos son los fosfolípidos, glucolípidos y lipoproteínas.
- **Lípidos derivados.** Estos compuestos son sustancias derivadas de los lípidos, como ácidos grasos, glicerol y otros alcoholes.
- **Esteroles.** Los esteroles son estructuras del tipo de la del fenantreno.
- **Terpenos.** Los terpenos son compuestos que tienen la estructura del isopreno.

4.1.2. Estructura de los lípidos

Los ácidos grasos, ácidos carboxílicos con cadenas hidrocarbonadas de 4 a 36 carbonos, son componentes principales de los lípidos. Sus cadenas pueden estar completamente saturadas sin dobles enlaces y sin ramificar, en el caso de los denominados ácidos grasos saturados; o bien, tener uno o más dobles enlaces, en los denominados ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente. Las propiedades físicas de los ácidos grasos están determinadas por las características mencionadas anteriormente: longitud (número de carbonos totales) e insaturación (número de dobles enlaces) de la cadena carbonada (Leningher *et al.*, 1995). No son comunes los ácidos grasos con triples ligaduras en su cadena. Su sufijo indica su estado de saturación, de modo que –anoico significa saturado; -enoico, un doble enlace; -dienoico, dos dobles enlaces; -trienoico, tres dobles enlaces, y así sucesivamente (Berk, 1980).

Los ácidos grasos poliinsaturados, mayoritariamente en configuración *cis*, son denominados como ácidos grasos esenciales, debido a que no pueden ser sintetizados por los tejidos de los animales mamíferos pero cumplen funciones importantes dentro del organismo; los tres principales ácidos grasos esenciales son el ácido linoleico, el ácido linolénico y el ácido araquidónico, aunque este último tiene como precursor al ácido linoleico (Cuadro 1) (Church *et al.*, 2003).

Cuadro 1. Ácidos grasos comunes, fórmula química y símbolo.

Ácidos	Fórmula	Símbolo
<i>Saturados</i>		
Butírico (butanoico)	C ₄ H ₈ O ₂	C4:0
Caproico (hexanoico)	C ₆ H ₁₂ O ₂	C6:0
Caprílico (octanoico)	C ₈ H ₁₆ O ₂	C8:0
Laúrico (dodecanoico)	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	C12:0
Mirístico (tetradecanoico)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	C14:0
Palmítico (hexadecanoico)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	C16:0
Esteárico (octadecanoico)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	C18:0
<i>Insaturados</i>		
Pamitoleico (hexadecenoico)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	C16:1 ^{Δ9}
Oleico (octadecenoico)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C18:1 ^{Δ9}
Linoleico (octadecadienoico)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C18:2 ^{Δ9,12}
Linolénico (octadecatrienoico)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C18:3 ^{Δ9,12,15}
Araquidónico (eicosatetraenoico)	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	C20:4 ^{Δ5,8,11,14}

Fuente: Modificado de Leningher *et al.* (1995) y Church *et al.* (2003).

Un grupo importante de ácidos grasos aquel localizado en los depósitos de grasa de los peces, y que no son muy abundantes en la grasa de otros animales. Se les denomina como ácidos grasos Ω-3 y está integrado por el ácido linolénico (C18:3), el ácido eicosapentaenoico (C20:5) y el docosahexaenoico (C22:6) (Church *et al.*, 2003). A tales ácidos grasos se les atribuye un efecto protector contra padecimientos cardiovasculares (Hu *et al.*, 2001).

Cabe mencionar que los ácidos grasos que contienen dobles enlaces pueden presentarse como isómeros *cis* o *trans*. Leningher *et al.* (1995), define un *isómero* como dos moléculas cualesquiera con la misma fórmula molecular, pero con diferente ordenamiento de los grupos moleculares, y la *configuración* como el ordenamiento espacial de una molécula que está dado por la presencia de dobles enlaces, alrededor de los cuales no existe libertad de giro; pueden ser *cis* o *trans*. La

configuración *cis* hace que la cadena carbonada se doble en un ángulo de aproximadamente 30°, viéndose acortada; mientras que la configuración *trans* presenta arreglos espaciales similares a los ácidos grasos saturados (Berk, 1980).

4.1.3. Funciones biológicas de los lípidos

Las principales funciones biológicas de los lípidos en los animales vertebrados son: 1) almacenamiento de energía, 2) aislamiento térmico, 3) constituyentes de las membranas celulares, 4) precursores de hormonas, icosanoides y quinonas, 5) transporte de vitaminas liposolubles (Church *et al.*, 2003; Leningher *et al.*, 1995). En producción animal, las principales razones por las cuales se agrega grasa a la dieta de los animales son como fuente de energía, para controlar el polvo y mejorar el sabor de la dieta; sin embargo, en algunos casos también se adicionan lípidos específicos con el objetivo de cambiar el perfil de ácidos grasos de los productos de origen animal y darles así un “valor agregado” (Azain, 2004).

Los adipocitos son células especializadas que almacenan grandes cantidades de grasa en forma de gotículas, que ocupan la mayor parte de la célula. La grasa, está formada básicamente de triglicéridos constituidos por una molécula de glicerol y tres ácidos grasos. Aunque los animales tienen una capacidad limitada de almacenar carbohidratos en forma de glucógeno, pueden almacenar casi ilimitadamente el exceso de energía de la dieta en forma de grasa, principalmente subcutánea, alrededor de órganos vitales y en las membranas que rodean los intestinos. De hecho, los seres humanos obesos pueden tener hasta 20 kg de triglicéridos almacenados en sus adipocitos, con lo cual, en teoría, podrían cubrir sus requerimientos energéticos por varios meses. En algunos animales como focas, morsas, pingüinos y otros animales polares, la grasa depositada bajo la piel funciona, además, como protector contra bajas temperaturas ambientales para así mantener constantemente caliente su sangre. Por otro lado, los recién nacidos de la mayoría de los mamíferos, incluido el hombre, poseen un tipo de tejido adiposo denominado grasa marrón (color adquirido por la gran cantidad de mitocondrias que contienen los adipocitos), localizado en el área de la nuca, el cual sirve para generar

calor (Leningher *et al.*, 1995). En el caso de animales que hibernan, la gran cantidad de grasa acumulada antes del período de hibernación les permite obtener energía para mantener sus funciones vitales durante el período mismo de hibernación, en el cual cesa el consumo de alimento. Enzimas especializadas hidrolizan los triglicéridos del tejido adiposo liberando ácidos grasos para la β -oxidación, y glicerol, que es usado en el hígado y los riñones como sustrato para generar glucosa a través de la gluconeogénesis (Carey *et al.*, 2003).

Además de proporcionar energía, los lípidos realizan otras importantes funciones metabólicas y estructurales. La mayoría de las membranas biológicas, constituidas por una doble bicapa, contienen una serie de lípidos polares (fosfolípidos); cada membrana tiene un arreglo lipídico característico que le confiere propiedades específicas (Clandinin *et al.*, 1991). El colesterol, el principal lípido esteroide de los tejidos animales, es un constituyente de las membranas celulares y es precursor de los ácidos biliares y de hormonas esteroideas. Por otro lado, el ácido araquidónico (C20:4) es precursor de los icosanoides, prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, los cuales intervienen en la función reproductiva, en procesos inflamatorios, de dolor y fiebre involucrados con enfermedades y lesiones, en el proceso de coagulación y de presión sanguínea (Leningher *et al.*, 1995). Otras acciones de algunos lípidos específicos incluyen absorción de vitaminas liposolubles en el tubo digestivo (Church *et al.*, 2003), mejoramiento de la capacidad visual por efecto del ácido docosahexaenoico (C22:6), debido a una mayor capacidad de la rodopsina para absorber fotones (Bush *et al.*, 1994), mejoramiento de la capacidad cognitiva (Kalminj *et al.*, 1997), reducción de la grasa corporal (Azain, 2004), mejoramiento de la respuesta inmune (Kew *et al.*, 2003) en individuos que consumen aceite de pescado (con elevada cantidad de ácidos grasos eicosapentaenoico (C20:5) y docosahexaenoico (C22:6)), los ácidos grasos polinsaturados pueden prevenir el deterioro renal (Lauretani *et al.*, 2008).

4.1.4. Enfermedades relacionadas con el consumo de grasas.

México es el segundo país, sólo después de Estados Unidos de América, con mayor cantidad de gente con sobrepeso y obesidad que, entre otras causas, se

debe a un incremento en el consumo de alimentos altamente energéticos, lo cual puede ser factor de la presencia de enfermedades crónicas no transmisibles, como la diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, enfermedades cardio y cerebrovasculares, osteoartritis y varios tipos de cáncer (Secretaría de Salud, 2009). De acuerdo con la Secretaría de Salud (2009), la población mexicana consume 11% más grasas saturadas o “dañinas” que lo recomendado por organismos nacionales e internacionales, con lo que se pone en riesgo el bienestar de la población. Por lo anterior, dicha dependencia gubernamental alienta, entre otros puntos, a disminuir el consumo de grasas animales, incluyendo los productos lácteos enteros, y a incrementar aquellas de origen vegetal.

Una de las principales enfermedades asociadas al consumo elevado de grasas es la diabetes mellitus tipo 2, ya que se estima que el 90 de los casos son atribuibles al sobrepeso y obesidad. La diabetes mellitus es la segunda causa de muerte entre los mexicanos, representa alrededor del 14% del total de defunciones (INEGI, 2012) y afecta hasta 20% de la población en los países industrializados, con una tendencia a presentarse en edades cada vez más tempranas. En un inicio, se pensaba que la diabetes mellitus tipo 2 era provocada por un desorden en el metabolismo de los carbohidratos, después se consideró que era por alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos, provocando una circulación elevada de ácidos grasos libres que causa resistencia a la insulina (Blaschke *et al.*, 2006). Sin embargo, no sólo las personas obesas tienen posibilidad de crear resistencia a la insulina. En un estudio realizado por Jongh *et al.* (2004) se demostró que en mujeres de peso normal, la elevación plasmática de ácidos grasos libres induce a una resistencia aguda a la insulina; mientras que en mujeres obesas, la disminución plasmática de ácidos grasos libres mejora dicha resistencia. Además, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tienen mayor probabilidad de padecer alguna enfermedad hepática, incluyendo hígado graso, cirrosis, carcinoma hepatocelular y falla hepática aguda (Tolman *et al.*, 2007).

4.3. Componentes de los lípidos de la leche con propiedades terapéuticas.

Debido a su contenido en energía, vitaminas y minerales, y a su alta calidad proteínica, los productos lácteos han constituido un grupo de alimentos de gran importancia en la alimentación del ser humano desde épocas muy remotas (Bauman *et al.*, 2006); sin embargo, algunos de sus constituyentes como los ácidos grasos, factores de crecimiento y hormonas (Parodi, 2005), están relacionados con el desarrollo de algunos tipos de cáncer como el de ovario (Larsson *et al.*, 2004), de mama (Moorman y Terry, 2004), y de próstata (Kurahashi *et al.*, 2008), por lo que en ocasiones se recomienda disminuir el consumo de estos productos. A pesar de lo anterior, existe evidencia de que otros componentes de la leche tienen el potencial para prevenir el cáncer. La esfingomiélin (N-acilesfingosina-1-fosfolina), por ejemplo, es un fosfolípido que se localiza principalmente en capa externa de la membrana plasmática de la mayoría de las células de los mamíferos, y forma parte de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche. Su contenido en la leche de vaca es de 0.2 a 1.0 g/100 g de lípidos totales (Parodi, 1999), y depende de varios factores: es mayor en la raza Holstein que en la Jersey (1 044 vs 839 µg/ de grasa de leche, respectivamente), se incrementa en etapas avanzadas de la lactancia (debido al mayor contenido de grasa en la leche) y se eleva en el verano (1100 vs 949 µg/ de grasa de leche en verano e invierno, respectivamente) (Graves *et al.*, 2007). Sus metabolitos, ceramida y esfingosina, inhibe el crecimiento y favorece la apoptosis de células oncogénicas (Parodi, 1997). Al respecto, Dillehay *et al.* (1994) demostraron que ratones alimentados con un suplemento con esfingomiélin de origen lácteo tuvieron menor incidencia de tumores de colon que aquellos que no lo recibieron (20 vs 47%, respectivamente).

El ácido butírico es otro agente anticancerígeno. Es un ácido graso de cadena corta (C4:0) derivado de la fermentación de carbohidratos estructurales (básicamente celulosa) por bacterias anaerobias en el rumen o en la porción ciego-colon de los animales. En los rumiantes, el ácido butírico se absorbe fácilmente a través de la pared ruminal y es utilizado como fuente de energía (Church *et al.*, 2003); en el resto de los animales es absorbido por los enterocitos. El ácido butírico inhibe el crecimiento celular, induce diferenciación de varios tipos de células

cancerígenas y disminuye receptores estrogénicos en células de cáncer mamario, al parecer suprimiendo la expresión de oncogenes y promoviendo la reparación del ADN y la expresión de genes supresores de tumores (Parodi, 1999). Además, algunos derivados del ácido butírico, han mostrado potencial como terapias inmunológicas inactivando a las células T y bloqueando la proliferación de interleucina-2 en estudios realizados con ratones, ya que los fármacos inmunosupresores comúnmente utilizados para dichos tratamientos conllevan a efectos adversos (Gilbert *et al.*, 2000). Se encuentra en cantidades elevadas en la leche de vaca, ya que alrededor de un tercio de los triglicéridos contienen butirato; sin embargo, su vida media en plasma es muy corta, de 3 a 6 minutos, por lo que para mejorar su capacidad terapéutica se han sintetizado análogos o derivados de ácido butírico y así extender su vida media dentro del organismo, algunos de ellos son el triglicérido tributirino (Parodi, 1999), el 2-(4-morfolinil) etil ester, el 2-(4-morfolinil) etil amida y el bisbutiril ester/amida (Gilbert *et al.*, 2000).

Algunas vitaminas, especialmente liposolubles, presentes en la leche, también se les atribuyen propiedades anticancerígenas. Los β -carotenos (precursores de la vitamina A) se encuentran en los forrajes verdes y son transferidos a la leche. Durante su absorción y transporte, parte de ellos son convertidos a vitamina A en el intestino e hígado y, posteriormente, transferidos a la leche. Al parecer, los individuos que tienen concentraciones plasmáticas elevadas de β -carotenos son menos propensos a padecer cáncer, especialmente de pulmón; mientras que la vitamina A inhibe el desarrollo de cáncer en piel, sistema urinario y digestivo. La vitamina D, en conjunto con el calcio, también poseen la capacidad de regular el crecimiento y diferenciación celular; en este caso, los receptores para vitamina D, presentes en muchos órganos, son los mediadores de tal efecto (Parodi, 1999).

Existen otros componentes de la leche con potencial terapéutico, como el inhibidor beta-glucoronidasa (inhibición de cáncer de colon), el inhibidor de *Helicobacter pylori* (prevención de problemas gástricos), la butirofilina (supresor de la esclerosis múltiple) y la xantina oxidasa (agente bactericida) (Spitsberg, 2005); sin embargo, uno de los más estudiados es el ácido linoleico conjugado, el cual se describe a continuación:

4.4. El ácido linoleico conjugado (CLA)

El CLA es un ácido graso que se presenta en forma de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) y, a diferencia de los ácidos grasos no conjugados, los dobles enlaces no están cada tres sino cada dos carbonos (doble, sencillo, doble). Estos ácidos grasos se encuentran, principalmente, en la grasa de los rumiantes (presente en la carne, leche y derivados), aunque otras especies animales y vegetales también los contienen en cantidades considerablemente menores (Chin *et al.*, 1992). En la grasa de la leche de vaca predomina el C18:2 *cis*-9, *cis*-11, que representa el 80-95% del CLA total (Bauman y Griinari, 2001). Las concentraciones de CLA en la grasa de la leche son muy variadas y dependen, básicamente, del tipo de alimentación de las vacas, las cuales oscilan entre 3.3 y 9.9 mg/g de grasa (AbuGhazaleh *et al.*, 2003ab, AbuGhazaleh *et al.*, 2004, Piperova *et al.*, 2004) en sistemas de alimentación a base de granos y pastas de oleaginosas, hasta 22.1 mg/g de grasa en sistemas de pastoreo total (Dhiman *et al.*, 1999a). Además, se le considera una sustancia nutracéutica de origen animal debido a sus efectos positivos en la salud (Rojas *et al.*, 2005), como anticancerígeno, antiaterogénico y antidiabetogénico, disminuyendo la deposición de grasa corporal, mejorando el sistema inmune y potencializando la mineralización del hueso (McGuire y McGuire, 1999; Pariza *et al.*, 2000).

4.4.1. Características químicas

El CLA no es una sola sustancia, es un término que hace referencia a una clase de isómeros conjugados del ácido octadecadienoico (o ácido linoleico) (Parodi, 1997; Pariza *et al.*, 2000), con uniones conjugadas dobles en las posiciones 9 y 11 o, 10 y 12, en configuración *cis* o *trans* (Parodi, 1997). El isómero principal del CLA es el *cis*-9, *trans*-11 (Figura 2) (Pariza *et al.*, 2000).

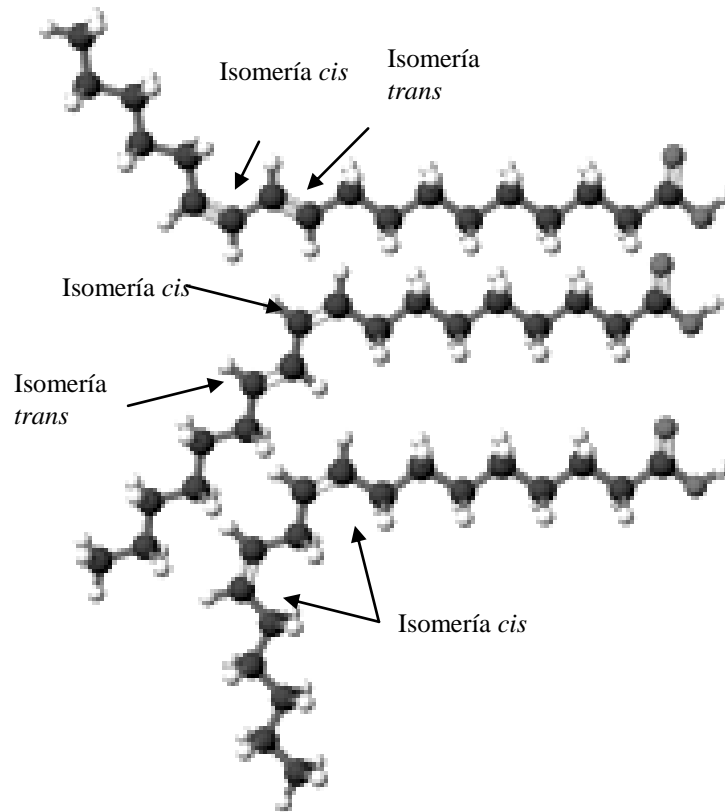


Figura 2. Principales isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA): *trans*-10, *cis*-12 (arriba), *cis*-9, *tran*-11 (en medio), *cis*-9,11 (abajo). Fuente: Pariza *et al.* (2000).

4.4.2. Biosíntesis en rumiantes

En los rumiantes, los ácidos grasos esenciales en la dieta pueden sufrir una biohidrogenación. Específicamente, los ácidos linoleico y linolénico sufren una isomerización dentro del rumen, de ahí que Kramer *et al.* (1998) hayan propuesto que el CLA *cis*-9, *trans*-11 tenga el nombre de ácido ruménico. Por lo tanto, los ácidos grasos poliinsaturados conjugados no son constituyentes normales de los alimentos de estos animales; sino que aparecen en la grasa de la leche (y en tejido adiposo) como producto de una biohidrogenación ruminal (Parodi, 1977), o bien, ser sintetizado en los tejidos animales a partir del C18:1 *trans*-11, denominado ácido vaccénico, otro intermediario de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados en el rumen (Bauman *et al.*, 1999). El CLA es un producto intermedio del metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados, específicamente de los ácidos

linoleico (18:2) y linolénico (18:3), llevado a cabo, dependiendo del estado del rumen, por dos grupos principales de bacterias ruminales: *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Megasphaera elsdenii*, que isomerizan la unión *cis*-12 a *trans*-11, o la unión *cis*-9 a *trans*-10, respectivamente (Kramer *et al.*, 2004). Los ácidos grasos *trans* así formados son absorbidos por el tubo digestivo y utilizados por diversos tejidos, incluyendo el mamario; o bien, biohidrogenarse a ácido vaccénico el cual, después de su absorción, puede transformarse a *cis*-9,*trans*-11 CLA, proceso en el cual está involucrada la enzima Δ^9 desaturasa (Figura 3) (Griinari *et al.* 2000; Pariza *et al.*, 2000).

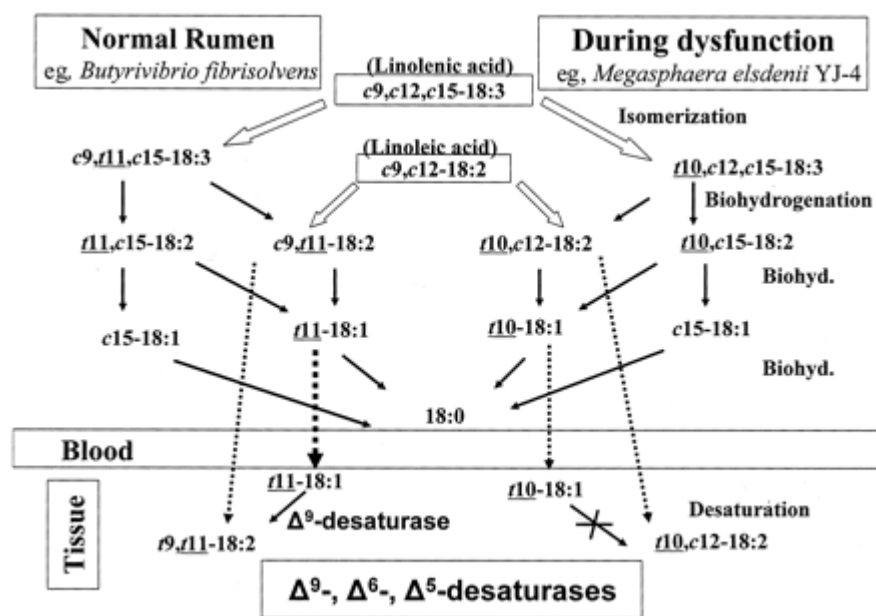


Figura 3. Intermediarios metabólicos de los ácidos linoleico y linolénico.

Tomado de Kramer *et al.* (2004)

Como puede observarse en la Figura 3, la primera reacción llevada a cabo por *Butyrivibrio fibrisolvens* es la isomerización del ácido linoleico a una configuración *cis-trans* (o *trans-cis*) formando el ácido octadecadienoico conjugado (denominado comúnmente ácido linoleico conjugado), el cual sufre una biohidrogenación para dar lugar a un *trans*-ácido monoenoico (con un doble enlace) (Kepler *et al.*, 1966), denominado ácido vaccénico. Mientras que *Butyrivibrio fibrisolvens* da lugar a la formación de un isómero del CLA con configuración *cis*-9,

trans-11; *Megasphaera elsdenii* produce el isómero *trans*-10, *cis*-12, el cual predomina cuando el ganado es alimentado con dietas altas en grano (Kim *et al.*, 2002). Por lo que, en condiciones ruminales normales, la biohidrogenación del *cis*-9, *trans*-11 de CLA formará el ácido vaccénico (*trans*-11 18:1), mientras que en condiciones disfuncionales, tal como sucede en una acidosis ruminal, se formará el isómero *trans*-10 18:1 (Kramer *et al.*, 2004); ambos isómeros pueden dar lugar al ácido esteárico (18:0) (Jenkins, 1993; Kramer *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que el ácido oleico, un ácido graso de 18 carbonos con un doble enlace en configuración *cis*, puede sufrir una biohidrogenación microbiana, siendo precursor de isómeros *trans* y no solo del ácido esteárico (ácido graso de 18 carbonos sin ningún doble enlace), sin formación de intermediarios *trans*; por lo que existe la posibilidad de que ácidos grasos *trans* C18:1, entre ellos *trans*-6, *trans*-7, *trans*-9, *trans*-10, *trans*-11, *trans*-12, *trans*-13, *trans*-14, *trans*-15, y *trans*-16, sean sintetizados a partir del ácido oleico por microorganismos del rumen. Así lo documentaron Mosley *et al.* (2002), al comprobar que hasta el 90% de los isómeros *trans* C18:1 derivaron del ácido oleico 48 horas después de agregarlo en cultivos *in vitro*.

La importancia del isómero *trans*-11 C18:1 denominado, como ya se mencionó anteriormente, ácido vaccénico, radica en que puede biohidrogenarse a ácido esteárico dentro del rumen, o atravesar éste y desaturarse por la acción de una Δ^9 desaturasa, en algún tejido (por ejemplo, el mamario), dando lugar al *cis*-9, *trans*-11 CLA (Kramer *et al.*, 2004; Mosley *et al.*, 2002), isómero más abundante en los productos lácteos y del cual se ha comprobado que posee propiedades anticancerígenas (McGuire and McGuire, 1999; Pariza *et al.*, 2000; Kramer *et al.*, 2004). Sin embargo, el ácido vaccénico también puede desaturarse y convertirse en CLA en varias especies animales, incluyendo la humana. En un estudio realizado con mujeres y hombres, se demostró que la cantidad de CLA en sangre se incrementa tres veces cuando la dieta contiene 4.5 g de ácido vaccénico; además, dicho incremento tiene un efecto lineal (Turpeinen *et al.*, 2002). En tejido adiposo también ocurre una bioconversión de ácido vaccénico a CLA en ratones alimentados con 1% de ácido transvaccénico, aunque sólo 12% del ácido vaccénico consumido

en dos semanas se recuperó como CLA. Cabe destacar que el CLA producido por desaturación de ácido vaccénico se halla únicamente en los triglicéridos, y si el CLA es ofrecido en la dieta puede encontrarse también en fosfolípidos, lo cual es un indicativo de que la desaturación es llevada a cabo en tejido adiposo (Santora *et al.*, 1999). Incluso, se ha demostrado que bacterias del tubo digestivo de ratas pueden sintetizar CLA a partir de ácido linoleico libre de forma similar que un rumiante, aunque es necesario que dicho ácido graso no se halle como parte de los triglicéridos (Chin *et al.*, 1994)

4.4.3. Efectos fisiológicos de los isómeros del ácido linoleico conjugado

Desde el descubrimiento de su actividad biológica, al CLA se le han atribuido una gran cantidad de efectos fisiológicos favorables en experimentos realizados en distintas especies animales. Estos efectos incluyen la inhibición de desarrollo tumoral en diversos órganos incluyendo glándula mamaria (Ip *et al.*, 1991) o próstata (Yang *et al.*, 2003); mejoramiento del sistema inmune (Bontempo *et al.*, 2004; Field y Schley, 2004); cambios en la composición corporal (es decir, una reducción de la cantidad de grasa corporal y aumento de masa muscular) (Hargrave *et al.*, 2004, Badinga *et al.*, 2003; Ramsay *et al.*, 2001); disminución de aterosclerosis (Pariza *et al.*, 2000); incluso, se le considera como antiinflamatorio, por lo que puede tener efectos benéficos en alteraciones, en las cuales estén implicadas prostaglandinas, como la osteoartritis (Watkins *et al.*, 2000). Sin embargo, en la mayoría los experimentos, se ha utilizado una mezcla de isómeros de CLA, en donde predominan en una proporción casi igual *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12 en alrededor de 85%, con otros isómeros en menor cantidad, por lo que la presencia de isómeros adicionales puede dificultar la interpretación de los resultados. Sólo algunos estudios utilizan algún isómero del CLA purificado. De hecho, las diferentes investigaciones indican que *cis*-9,*trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12 tienen diferentes efectos (Pariza *et al.*, 2000; Ip *et al.*, 2007). Por lo que es probable que un determinado isómero sea el responsable de causar un efecto específico en el organismo (McGuire y McGuire, 1999). A continuación se proporciona una breve explicación de los efectos del CLA.

Inhibición la carcinogénesis. Los efectos anticancerígenos del CLA son uno de los más documentados y con mayor impacto, aún cuando a las grasas se les asocia negativamente como causa de varios tipos de cáncer (Field y Schley, 2004). Al respecto, Ip *et al.* (1991) establecieron el importante efecto anticancerígeno del CLA con un modelo animal. Hallaron que, cuando se suministró 0.5, 1 o 1.5% de una mezcla de isómeros de CLA en la dieta de ratas, se disminuyó 32, 56 y 60%, respectivamente, el número de adenocarcinomas mamarios después de la aplicación de 7,12-dimetilbenz(a) antraceno (una sustancia carcinogénica). Posteriormente, Ip *et al.* (1999), observaron una reducción de cerca del 50% en la incidencia de tumores en ratas alimentadas con una mantequilla (obtenida a partir de leche de vacas alimentadas con una dieta que contenía 5.3% de aceite de girasol), con un elevado contenido de ácido vaccénico (precursor de CLA a nivel tisular) y *cis*-9,*trans*-11 CLA (25.0 y 4.1 g/100g de ácidos grasos totales en lugar de una mantequilla convencional (con 3.0 y 0.5 g/100g de ácidos grasos totales, respectivamente). Lo anterior puede deberse, al menos parcialmente, al efecto antiestrogénico del CLA, en especial cuando se trata de tumores mamarios dependientes de estrógeno (Tanmahasamut *et al.*, 2004). Al respecto, la concentración de CLA en diversos tejidos (hepático, mamario, adiposo y en plasma) es significativamente mayor en las ratas suplementadas con mantequilla enriquecida naturalmente con *cis*-9,*trans*-11 CLA y ácido vaccénico (15.7, 36.5, 65.9, y 23.3 µg/mg de lípido, respectivamente) que con la mantequilla testigo (2.6, 7.2, 8.8, y 5.4 µg/mg de lípido, respectivamente), en el mismo nivel de consumo (Ip *et al.*, 1999). Además, el CLA disminuye la peroxidación lipídica en glándula mamaria, por lo que también se le confieren propiedades antioxidantes, aunque la máxima actividad antioxidante se obtiene con una dosis considerablemente menor comparada con aquella observada en la máxima actividad antitumoral (Ip *et al.*, 1991). Sin embargo, aún cuando se ha demostrado que la mezcla de isómeros o el *cis*-9,*trans*-11 CLA, al menos en modelos animales, inhiben la carcinogénesis, el isómero *trans*-10,*cis*-12 CLA muestra una mayor incidencia de tumores en tejido mamario con metástasis en pulmón en ratones transgénicos que expresan un gen (ErbB2/her2) el cual se asocia con el desarrollo de cáncer de mama; estos resultados sugieren que sería

conveniente evitar los suplementos que contengan dicho isómero de CLA (Ip *et al.*, 2007).

Por otro lado, Yang *et al.* (2003) demostraron el efecto inhibitorio del CLA contra los efectos de 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridina, sustancia mutagénica y carcinógena formada a altas temperaturas durante la cocción de la carne y que induce la formación de tumores en el colon, próstata y glándula mamaria en ratas y humanos. La adición de 1% de CLA a la dieta disminuye 38% la frecuencia de mutagénesis en las próstatas de ratas expuestas a dicha sustancia. Por su parte, Miller *et al.* (2003) indican que la disminución en el crecimiento de células cancerígenas de tejido mamario y de colon es probablemente mediado por desaturación de ácido vaccénico a *cis*-9, *trans*-11 CLA. DNA (ácido desoxirribonucleico). El CLA, además inhibir la carcinogénesis en glándula mamaria y próstata, lo hace en otros órganos como piel (Belury *et al.*, 1996; Storey *et al.*, 2007), y colon (Cho *et al.*, 2003).

Metabolismo de lípidos y composición corporal. Una de las funciones del CLA de las que se tiene evidencia es la disminución del peso corporal y cambios en su composición. Por tal motivo, se ha utilizado para mejorar la calidad de la carne de cerdo, aunque con resultados variables. Al respecto, Thiel-Cooper *et al.* (2001) observaron que la grasa dorsal era significativamente menor en cerdos en crecimiento alimentados con 0.25% de CLA en la dieta comparado con el grupo testigo (2.16 y 2.44 cm, respectivamente), aunque la mayor ganancia y conversión alimenticia se obtuvo con 1% de CLA en la dieta (77 g más de ganancia diaria de peso y 33 g menos de alimento que el tratamiento testigo). En contraposición, Ramsay *et al.* (2001) no hallaron diferencias en variables productivas entre cerdos alimentados con o sin CLA. En humanos, también se observó una pequeña reducción de tejido adiposo (2.4 kg en promedio) en individuos, con sobrepeso u obesos, que durante un año consumieron 4.5g diarios de CLA, sin que hubiera cambios en peso total (Gauillier *et al.*, 2004); sin embargo, en otros estudios no se constató la pérdida de peso o de grasa (Larsen *et al.*, 2006; Steck *et al.*, 2007). Al respecto, Mersmann (2002) explica que, en comparación con estudios realizados en

otras especies, la dosis de CLA en estudios con humanos es muy baja (7 g/d como máximo).

4.4.4. Factores que afectan su contenido en la grasa de la leche de vaca

Se ha comprobado que el principal factor que influye en el contenido de CLA en la grasa de la leche es tipo de alimentación de las vacas (Peterson *et al.*, 2002; Rojas *et al.*, 2005), el cual afecta el pH del rumen provocando cambios en la población bacteriana ruminal responsable de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados de la dieta (Martin y Jenkins, 2002); aunque el efecto de la raza también se ha visto que afecta el contenido de CLA, ya que en las vacas Holstein la concentración de CLA es mayor que en las Jersey, independientemente de la alimentación (White *et al.*, 2001). Factores tales como número de partos, estado de la lactancia, producción de leche, porcentaje de grasa y producción de grasa no afectan la concentración de CLA en la leche (Kelsey *et al.*, 2003).

Proporción forraje:concentrado. Dhiman *et al.* (1999a), mencionan que las vacas en pastoreo que no reciben ningún tipo de suplemento producen hasta 500% más CLA en leche que aquellas con una dieta tradicional basada en forraje y grano, en una proporción 50:50;dicho incremento se manifiesta linealmente conforme aumenta la cantidad de forraje (3.8 vs 22.1 mg de CLA/g de ácido graso, respectivamente). Además, la leche de vacas en pastoreo tiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados, incluyendo el oléico, CLA y linolénico, mientras que disminuyen los ácidos grasos saturados y el ácido linoleico. La proporción de ácido linolénico se incrementa en la grasa de la leche cuando aumenta la cantidad de forraje en la dieta. Este ácido graso (abundante en los pastos), al igual que el ácido linoleico, sirve como sustrato para su conversión en CLA, y son las vacas con mayor consumo de forraje las que producen leche con mayor contenido de CLA. Por su parte, White *et al.* (2001), encontraron cerca del doble de CLA presente (como porcentaje de los ácidos grasos totales) en la grasa de la leche de vacas en pastoreo (0.66%) que con una dieta a base de ensilado, granos y oleaginosas (0.36%). Sin embargo, es el pastoreo lo que influye en la concentración de CLA en la

leche ya que, al parecer, los suplementos de fibra (pajas o henos) no afectan su contenido cuando se ofrecen a vacas en pastoreo (Wijesundera *et al.*, 2003).

Por otro lado, la alimentación del ganado con dietas altas en grano, incrementa los ácidos grasos *trans*-C18:1 y el CLA *trans*-10, *cis*-12 en sus tejidos (Kramer *et al.*, 2004), esto significa que, a nivel ruminal, se produce un cambio en la producción de *trans*-11, C18:1 (que es el principal intermediario *trans*-C18:1, a *trans*-10,C18:1 (Loor *et al.*, 2004). En cambio, los rumiantes que se alimentan exclusivamente de forraje poseen niveles más altos de CLA *cis*-9, *trans*-11, CLA *trans*-11, *cis*-13, y *trans*-11 C18:1 (ácido vaccénico) (Kramer *et al.*, 2004). Lo anterior se debe a que cuando la dieta incluye niveles altos de ácidos grasos insaturados (por ejemplo, los aceites de soya, algodón y girasol son ricos en ácido linoleico, en tanto que los pastos lo son en ácido linolénico (C18:3), o cuando el proceso de biohidrogenación es incompleto, el CLA escapa del rumen y puede ser absorbido el tubo digestivo posterior (Dhiman *et al.*, 2000).

Adición de aceites vegetales, de pescado y sebo. La adición de lípidos en la dieta de los rumiantes puede ser a través de aceites de origen vegetal derivados de oleaginosas, aceites de pescado, y grasa animal, especialmente sebo. Los aceites vegetales son una fuente importante de ácidos grasos insaturados, en especial de oleico y linoleico, mientras que los aceites de pescado son fuente de ácidos grasos de cadena larga como el eicosapentaenoico (C20:5) y el docosahexaenoico (C22:6), denominados comúnmente como omega-3. La grasa animal es fuente de ácidos grasos de cadena larga y saturada y se le llama sebo cuando su punto de fusión supera los 38 °C (Rojas *et al.*, 2005).

El sebo en la dieta de rumiantes tiene poco o nulo efecto en la cantidad de CLA en la leche, lo cual puede explicarse por la baja cantidad de ácido linoleico y linolénico en la grasa animal (Chouinard *et al.*, 2000). Al respecto, Onetti *et al.* (2002) no encontraron incrementos significativos en la concentración de CLA en la leche de vaca con la adición de 2% de sebo en la dieta, mientras que Miller *et al.* (2009) indican que sí hubo incrementos con la utilización de sebo al 1.6% en la dieta; sin embargo, los niveles máximos de CLA en la leche son considerablemente más bajos con sebo (0.61 a 0.71 g/100 g de grasa de leche) (Chouinard *et al.*, 2000;

Miller *et al.*, 2009) que con aceites de oleaginosas (3.36 g/100 g de grasa de leche) (Bell *et al.*, 2006), o aceite de pescado (6.05 g/100 g de grasa de leche) (Castañeda-Gutiérrez *et al.*, 2007). El resultado varía dependiendo de la semilla de oleaginosa o de la especie de pescado de las que se extraiga el aceite (Rojas *et al.*, 2005).

Suplementos de ácido linoleico conjugado. Los suplementos de grasa para vacas altas productoras son ampliamente utilizados como fuente de energía concentrada; sin embargo, si se agregan en cantidades elevadas pueden alterar la digestibilidad de la fibra dentro del rumen (Church *et al.*, 2003). Una manera práctica de evitar lo anterior y además, de impedir su biohidrogenación ruminal, es utilizar sales de calcio de ácidos grasos. El CLA puede “protegerse” de esta manera y así aumentar la disponibilidad intestinal de este ácido graso para su absorción (Piperova *et al.*, 2004).

Además, de manera experimental, se ha aplicado el CLA intrabomasalmente. La concentración de ácido linoleico conjugado en leche se eleva cuando éste se aplica directamente en el abomaso de las vacas (Figura 3) (Loor y Herbein, 1998); sin embargo, disminuye el porcentaje de grasa en la leche (Figura 4), debido a que el isómero *trans*-10, *cis*-12 disminuye la expresión de genes que codifican para enzimas involucradas en la síntesis de lípidos en la glándula mamaria, entre ellas: acetil CoA carboxilasa, ácido graso sintetasa, glicerofosfato aciltransferasa, acilglicerofosfato aciltransferasa, lipoproteína lipasa, y $\Delta 9$, $\Delta 6$ y $\Delta 5$ desaturasas (Baumgard *et al.*, 2002).

4.5. Disminución de la grasa en leche por efecto de los suplementos de CLA

Una consecuencia del uso de CLA, específicamente de aquellos suplementos que incluyen el isómero *trans*-10, *cis*-12, es la disminución de la concentración de grasa presente en la leche tanto de vaca (Baumgard *et al.*, 2000; Piperova *et al.*, 2004; de Veth *et al.*, 2005), como de oveja (Lock *et al.*, 2006) y cabra (Gulati *et al.*, 2003; Lock *et al.*, 2008). Incluso dosis bajas (1.25 g/d) del isómero antes mencionado pueden reducir el porcentaje de grasa en la leche de vaca por debajo de 3% (Peterson *et al.*, 2002), debido a que se disminuye la expresión de genes que codifican la síntesis *de novo* de ácidos grasos y la síntesis de triglicéridos para

enzimas involucradas en el transporte y captación de ácidos grasos (Baumgard *et al.*, 2002). Lo anterior puede ser benéfico por el hecho de que se produce una leche “reducida en grasa” de manera natural y que se apega a la demanda actual de este tipo de productos, debido a la asociación entre el consumo de grasa (especialmente aquella de origen animal) y riesgo de padecer cáncer, diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares.

A pesar de lo anterior, económicamente sería poco rentable producir leche de vaca con un contenido bajo de sólidos totales (incluida la grasa), por ser un factor importante para la elaboración de quesos, y por las especificaciones de la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004 que indica un contenido mínimo de 30 g/L de grasa butírica presente en la leche cruda de vaca, por lo que se deben buscar formas efectivas de contrarrestar dicho problema.

4.6. La vitamina E como mecanismo para aumentar el contenido de grasa en la leche

4.6.1. Generalidades de la vitamina E

Durante el primer tercio del siglo XX se llevó a cabo una vasta investigación sobre las vitaminas, consideradas como compuestos esenciales para muchos vertebrados que no pueden ser sintetizadas por ellos mismos y, por lo tanto, deben obtenerse a partir de la dieta. En esa época, se identificaron dos grupos de estos compuestos: aquellos que se podían extraer de los alimentos por medio de disolventes acuosos (vitaminas hidrosolubles), y los que eran solubles en diversos solventes orgánicos (vitaminas liposolubles) (Lehninger *et al.*, 1995). La vitamina E como tal, se aisló por primera vez en 1936, pero fue durante la década previa (en 1922), que se demostró que las ratas con una dieta deficiente en ciertos lípidos mostraban problemas reproductivos, definiendo a la sustancia ausente como vitamina E, nombre colectivo de un grupo de lípidos estrechamente relacionados denominados tocoferoles y tocotrienoles. El nombre de tocoferol se deriva del griego *toko* = nacimiento y *fero* = llevar; el sufijo *ol* indica un alcohol (Bjørneboe *et al.*, 1990; Berk, 1980). Se cuantifica en Unidades Internacionales (UI); una UI equivale a 1 mg de acetato de tocoferol. (Berk, 1980). La vitamina E es muy inestable,

oxidándose en presencia de minerales y de ácidos grasos poliinsaturados (Church *et al.*, 2003); no obstante, los tocoferoles soportan temperaturas elevadas, ácidos y álcalis, motivo por el cual su contenido es elevado en los aceites comestibles (Berk, 1980).

Los aceites vegetales y otros productos derivados de plantas son las principales fuentes naturales de vitamina E. Los tocotrienoles se encuentran en concentraciones elevadas en el aceite de palma y el salvado de arroz; otras fuentes importantes de esta forma de vitamina E son el aceite de coco, el germen de trigo y cebada, y el frijol de soya. Incluso, los tocotrienoles pueden detectarse en productos de origen animal como la carne y huevo. Por el otro lado, los tocoferoles se hallan en abundancia en los aceites de girasol, cacahuate, ajonjolí y oliva (Packer *et al.*, 2001).

4.6.2. Estructura, absorción, transporte y distribución.

La vitamina E pertenece a un grupo de lípidos, minoritarios en cuanto a masa, con actividad biológica específica y esencial, denominado isoprenoides que se sintetizan a partir de precursores de cinco carbonos relacionados como el isopreno; los otros lípidos mayoritarios son los de almacenamiento y estructurales (Lehninger *et al.*, 1995). La vitamina E engloba ocho formas solubles en grasa, que se han aislado de fuentes vegetales: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles (ambos como α -, β -, γ -, y δ -); los primeros poseen colas saturadas y los segundos colas insaturadas (Figura 4), y difieren en actividad biológica y antioxidante (Kayden y Traber, 1993; Packer *et al.*, 2001), siendo el α -tocoferol la forma de mayor actividad biológica (BjØrneboe *et al.*, 1989). El isómero D es más activo que la forma L; de hecho, la vitamina E disponible en el mercado se encuentra en forma de acetato de DL- α - tocoferol (Church *et al.*, 2003).

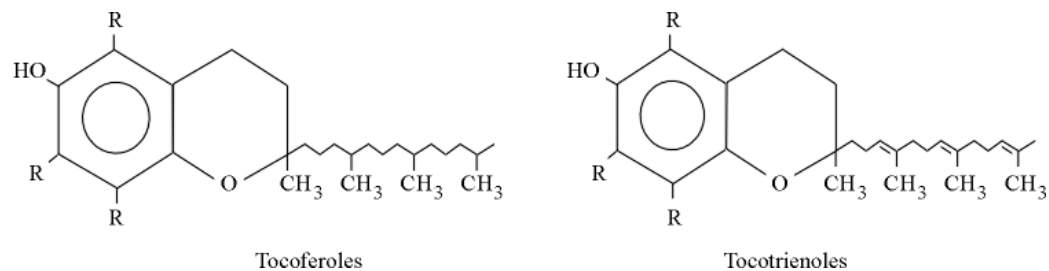


Figura 4. Estructura general de los tocoferoles y tocotrienoles. Tomado de Rodríguez (1997).

La absorción intestinal de lípidos y vitaminas liposolubles depende de la función pancreática, de las secreciones biliares, de la formación de micelas y penetración a través de la membrana del intestino (BjØrneboe *et al.*, 1990). En los mamíferos, el principal sitio de absorción es el yeyuno, llegando a los vasos linfáticos y transportados como parte de las lipoproteínas (Church *et al.*, 2003), básicamente quilomicrones (BjØrneboe *et al.*, 1990). Experimentalmente, cuando la síntesis de quilomicrones se detiene en ratas, no se secreta vitamina E en la linfa (Kayden y Traber, 1993) Asimismo, individuos con problemas de malabsorción pueden tener deficiencias de vitamina E, misma q se puede prevenir al administrar α -tocoferol en forma micelar, lo cual es un claro indicativo de la importancia de las sales biliares necesarias para la formación de micelas (BjØrneboe *et al.*, 1990). Además, su absorción puede incrementar por efecto de los triglicéridos de cadena de longitud media-larga, mientras que el ácido retinoico, los ácidos grasos poliinsaturados (BjØrneboe *et al.*, 1990; Church *et al.*, 2003), y el etanol la reducen, éste último como consecuencia del daño hepático provocado por el consumo de alcohol (Kayden y Traber, 1993). La vitamina E se encuentra estrechamente relacionada otros nutrientes. La cistina, por ejemplo, previene la necrosis hepática de animales alimentados con dietas deficientes en vitamina E; si el individuo tiene deficiencia de vitamina E, la administración de una dosis normal de hierro podría causar incluso la muerte (Church *et al.*, 2003); en tanto que el selenio protege contra el estrés oxidativo, y previene la distrofia muscular, necrosis renal y lesiones al miocardio (Hill *et al.*, 2001); a su vez, la vitamina C favorece el reciclaje de vitamina

E donando electrones al radical α -tocoferoxil (May, 1999); por último, la vitamina E puede prevenir lesiones hepáticas causadas por peroxidación lipídica en casos de deficiencia de colina (Church *et al.*, 2003), y cuando se suministra a la dieta de vacas, se incrementan los niveles plasmáticos de α -tocoferol (Pinotti *et al.*, 2003).

Aproximadamente 99% del α -tocoferol en la linfa se transporta en los quilomicrones al hígado, todas las formas tienen esta ruta (BjØrneboe *et al.*, 1990). Posteriormente, el α -tocoferol aparece casi exclusivamente en plasma, mientras las formas β -, γ -, y δ - se secretan en la bilis o son excretadas en las heces (Brigelius-Flohé y Traber, 1999). En plasma, el α -tocoferol es transportado también por los eritrocitos. El almacenamiento y distribución en el organismo es muy amplio, llevándose a cabo en el hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, corazón, pulmón, riñón, bazo, páncreas, adrenales, cerebro y testículos (BjØrneboe *et al.*, 1990; Church *et al.*, 2003). Estos dos últimos órganos contienen menos α -tocoferol por gramo de tejido que el resto de los órganos, lo cual contribuye a que los principales signos de deficiencia de vitamina E sean fallas reproductivas y disfunción cerebral (BjØrneboe *et al.*, 1990). Por otro lado, aun cuando la transferencia placentaria de vitamina E es ineficiente (a pesar de que los ácidos grasos sí son capaces de atravesarla más eficientemente), la presencia en la leche de especies rumiantes y no rumiantes depende, básicamente, de su consumo en la dieta (Church *et al.*, 2003).

4.6.3. Funciones

Antioxidante. La vitamina E funciona como un eliminador de radicales biológicos libres, manteniendo la integridad (compartimentación y permeabilidad) de las membranas celulares: plasmática y mitocondrial (Church *et al.*, 2003; Brigelius-Flohe y Traber, 1999). Debido a esta función antioxidante, al α -tocoferol se le confiere la capacidad de reducir la aterosclerosis, al evitar la peroxidación de las denominadas lipoproteínas de baja densidad en la pared arterial, lo cual se ha estudiado tanto en *in vitro* (Upston *et al.*, 1999), como en modelos animales (Schwenke *et al.*, 2002) y humanos; en este último caso, dosis elevadas de vitamina E (1200 UI/d durante dos años) redujeron el estrés oxidativo y la inflamación, implicados en la aterosclerosis

(Devaraj *et al.*, 2007). Además, aun cuando se le incluye en el grupo de las vitaminas liposolubles, la vitamina E presenta pocos efectos tóxicos en dosis elevadas, al respecto Hatchcock *et al.* (2005) mencionan que dosis hasta de 1600 UI al día son seguras para humanos.

Reproducción y mastitis. La mastitis, junto con otras enfermedades como laminitis, son problemas comunes que causan importantes pérdidas económicas en los hatos lecheros y pueden, incluso ser causa de desecho de animales valiosos (O'Rourke, 2009). La vitamina E favorece un mejor desempeño de neutrófilos poliformonucleares hacia la glándula mamaria cuando ésta es invadida por patógenos (Cambell y Miiler, 1998). Además, mejora la calidad embrionaria (Sales *et al.*, 2008).

Estabilidad oxidativa de la leche. Como se mencionó anteriormente, se ha ligado el consumo de grasas saturadas con enfermedades coronarias en el ser humano, y la grasa de la leche de vaca posee un elevado contenido de ellas. La concentración y composición de la grasa de la leche puede modificarse con determinadas estrategias dietéticas, con el objetivo primordial de incrementar el contenido de grasas mono y poliinsaturadas, disminuyendo así la concentración de grasa saturada presente en ella (Ashes *et al.*, 1997). Esta estrategia permite lograr un producto que satisfaga las demandas nutricionales de los consumidores. Sin embargo, dichos productos son más susceptibles a la oxidación (o rancidez) debido a su mayor contenido de tales ácidos grasos insaturados, por lo que su vida en anaquel puede verse seriamente reducida. Al respecto, la vitamina E juega un papel sumamente importante como antioxidante, tanto cuando se agrega directamente en la leche (van Aardt *et al.*, 2005), como cuando es adicionada a la dieta de las vacas (Focant *et al.*, 1998; Al-Mabruk *et al.*, 2004).

Incremento en la concentración de grasa en la leche. Algunos reportes indican que dosis mayores de 9000 UI de vitamina E al día, en dietas que incluyen aceites vegetales poliinsaturados, pueden incrementar el contenido de grasa en la leche de vaca (Focant *et al.*, 1998; Pottier *et al.*, 2006). Lo anterior probablemente se debe a que la vitamina E también mejora la digestión de la fibra en el rumen en presencia de ácidos grasos insaturados. En rumiantes, no se recomiendan las dietas que

incluyen elevadas concentraciones de aceites insaturados (Ahnadi *et al.*, 2002) debido a que disminuyen la digestibilidad de la fibra en el rumen (Ashes *et al.*, 1997). Si la insaturación de los ácidos grasos es mayor, aumentan los efectos adversos en la fermentación ruminal; como ejemplo de esto se encuentra la disminución del contenido de grasa en la leche por efecto de la adición de aceites poliinsaturados (aceites de linaza, soya, girasol, canola, pescado) en la dieta de las vacas. Sin embargo, se ha reportado que la adición de α -tocoferol y β -caroteno a un cultivo de líquido ruminal mejora el crecimiento bacteriano en presencia de ácidos grasos poliinsaturados y, además, se mejora la digestión de la celulosa por efecto de un mayor crecimiento de bacterias celulolíticas ruminales (Hino *et al.*, 1993), mismas que están relacionadas con las producción de ácidos grasos *trans* como el ácido vaccénico y el ácido linoleico conjugado, los cuales tienen efectos benéficos en la salud de quienes los consumen. El mecanismo de acción de la vitamina E sobre las bacterias del rumen aún no se conoce a detalle; sin embargo, se han identificado algunos derivados de α -tocoferol en cultivos de *Butyrivibrio fibrisolvens*: el α -tocoferinolquinona y el α -tocoferinolquinol. Tales compuestos actúan en el proceso de biohidrogenación como donadores de electrones durante la reducción del ácido linoleico conjugado a ácido vaccénico, eliminando el doble enlace *cis*-9 del ácido linoleico conjugado (Huges and Tove, 1980, 1982). En su caso, la vitamina E actuaría de diferentes maneras para que *Butyrivibrio fibrisolvens* haga frente al exceso de ácidos grasos insaturados: como donador de electrones en la misma reacción que sus derivados, metabolizándose en los derivados anteriores o como donador de electrones para restaurar dichos derivados (Pottier *et al.*, 2006).

4.7. Microencapsulación de nutrientes

Aun cuando se considera que es de reciente creación, la microencapsulación tuvo sus orígenes en 1931 cuando Bungen Burg de Jong y Kan prepararon esferas de gelatina (Venkatesan *et al.*, 2009). La microencapsulación es una tecnología ampliamente utilizada en la industria farmacéutica, pero también tiene otras aplicaciones como en la industria de alimentos y en agricultura. La microencapsulación consiste en encerrar sólidos, líquidos e incluso gases en

partículas con un diámetro de 1 a 1000 μm , con algún polímero biodegradable o biocompatible. En el caso de sistemas para usarse por vía parenteral, se requiere que el diámetro de las microcápsulas sea menor a 125 μm (Ahmad *et al.*, 2011). Sus objetivos son muchos, en algunos casos es proteger la sustancia de interés del ambiente, estabilizarla en un medio determinado, liberarla de manera controlada o, incluso enmascarar algún olor o sabor desagradable (Venkatesan *et al.*, 2009).

La microencapsulación del CLA, tiene por objetivo evitar su biohidrogenación en el rumen, permitiendo su liberación postruminal. Además, el CLA es susceptible a la oxidación, por lo que protegerlo del contacto con oxígeno mantiene su estabilidad por un mayor tiempo (Moon *et al.*, 2008). La microencapsulación del CLA para uso en rumiantes consiste en una mezcla de metil ésteres de CLA unidos a una matriz de sílice, cubiertos por aceite de soya hidrogenado (Perfield *et al.*, 2004).

5. Literatura citada

- AbuGhazaleh A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, and F.K. Kalscheur. 2003a. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *Journal of Dairy Science*, 86:944-953.
- AbuGhazaleh A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, and F.K. Kalscheur. 2003b. Conjugated linoleic acid and vaccenic acid in rumen, plasma, and milk of cows fed fish oil and fats differing in saturation of 18 carbon fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 86:3648-3660.
- AbuGhazaleh A.A., D.J. Schingoethe, A.R. Hippen, and F.K. Kalscheur. 2004. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *Journal of Dairy Science*, 87:1758-1766.
- Ahmad M., A. Madni, M. Usman, A. Munir, N. Akhtar, and H.M.S. Khan. 2011. Pharmaceutical microencapsulation technology for development of controlled released drug delivery systems. *World Academy Science, Engineering and Technology*, 75:384-387.

- Ahnadi C. E., N. Beswick L. Delbecchi, J. J. Kennelly, and P. Lacasse. 2002. Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *Journal of Dairy Research*. 69:521-531.
- Al-Mabruk M.R., N.F.G. Beck, and R.J. Dewhurst. 2004. Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability of milk. *Journal of Dairy Science*, 87:406-412.
- Amendola R. D. 2002. A dairy system based on forages and grazing in temperate México. Chapingo University. Animal Science Department. México. PhD thesis Wageningen University, The Netherlands. 269 pp.
- Ashes J.R., S.K. Gulati, and T.W. Scott. 1997. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *Journal of Dairy Science*, 80:2204-2212.
- Azain M.J. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *Journal of Animal Science*, 82: 916-924.
- Badinga L., K.T. Selberg, A.C. Dinges, C.W. Comer, and R.D. Miles. 2003. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipids content and fatty acid composition in broilers chickens. *Poultry Science*, 82:111-116.
- 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*. 1-15.
- Bauman D.E. and J.M. Griinari. 2001. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr*, 23:203–227.
- Bauman D.E., I.H. Mather, R.J. Wall and A.L. Lock. 2006. Major advances associated with biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, 89:1235-1243.
- Baumgard L.H., B.A. Corl, D.A. Dwyer, A. SaebØ, D.E. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278:R179-R184.
- Baumgard L.H., E. Matitashvili, B.A. Corl, D.A. Dwyer, and D.E. Bauman. 2002. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and

- expression of genes involved in milk synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85:2155-2163.
- Bell J.A., J.M. Griinari, and J.J. Kennelly. 2006. Effects of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*, 89:733-748.
- Belury M.A. K.P. Nickel, C.E. Bird, and Y. Wu. 1996. Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion. *Nutrition and Cancer*, 26:149-157.
- Berk Z. 1980. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. Editorial Manual Moderno. México. pp. 244-247.
- Björneboe A., G.E. Björneboe, and C.A. Drevon. 1990. Absorption, transport y distribution of vitamin E. *Journal of Nutrition*, 120:233-242.
- Blaschke F., Y. Takata, E. Caglayan, R.E. Law, and W.A. Hsueh. 2006. Obesity, peroxisome proliferator-activated receptor, and atherosclerosis in type 2 diabetes. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 26:28-40.
- Bontempo V., D. Sciannimanico, G. Pastorelli, R. Rossi, F. Rosi, and Carlo Corino. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *Journal of Nutrition*, 134:817-824.
- Brigelius-Flohe R., and M.G. Traber. 1999. Vitamin E: function and metabolism. Content and function in the rat retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 35:91-100.
- Bush R.A., A. Malnoë, C.E. Remé and T. Williams. 1994. Dietary deficiency of N-3 fatty acids alters rhodopsin content and function in rat retina. *Investigative Ophthalmology and visual Science*, 35:91-100.
- Campbell M.H., and J.K. Miller. 1998. Effects of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *Journal of Dairy Science*, 81:2693-2699.
- Carey H., M.T. Andrews, and S.L. Martin. 2003. Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature. *Physiological Reviews*, 83:1153-1181.

- Castañeda-Gutiérrez E., M.J. de Veth, A.L. Lock, D.A. Dwyer, K.D. Murphy, and D.E. Bauman. 2007. Effect of supplementation with calcium salts of fish oil on n-3 fatty acids in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 90:4149-4156.
- Chin S.F., J.M. Storkson, W. Liu, J.K. Albright, and M.W. Pariza. 1992. Conjugated linoleic acid (9,11- and 10,12- octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid. *Journal of Nutrition*, 124:694-701.
- Cho H.J., W.K. Kim, E.J. Kim, K.C. Jung, S. Park, H.S. Lee, A.L. Tyner, and J.H.Y. Park. 2003. Conjugated linoleic acid inhibits cell proliferation and ErbB3 signaling in HT-29 human colon cell line. *Gastrointestinal and Liver Physiology*, 284:G996-G1005.
- Chouinard P., L. Courneau, R. Butler, Y. Chilliard, J.K. Drackley, and D.E. Bauman. 2000. Effect of dietary lipids source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 84:680-690.
- Church C.D., W.G. Pond, and K.R. Pond. 2003. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animals*. Editorial Limusa Wiley. México. pp. 253-258.
- Clandinin M.T., S. Cheema, C.J. Field, M.L. Garg, J. Venkatraman, and T.R. Clandinin T.R. 1991. Dietary fat: exogenous determination of membrane structure and cell function. *The FASEB Journal*, 5:2761-2769.
- Davidson A. P. And G. H. Stabenfeldt. 1999. La glándula mamaria. p. 542-560. In J.G. Cunningham (ed) *Fisiología veterinaria*. Traducción al español de Fuentes H.V. y Planas G.H. 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana, México.
- Devaraj S., R.Tang, B. Adams-Huet, A. Harris, T., Seenivasan, J.A. de Lemos, and I. Jialal. 2007. Effect of high-dose α - tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86:1392-1398.
- De Veth M.J., S.K. Gulati, N.D. Lichini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 88:1685-1693.

- Dhiman T.R., G.R. Anand, L.D. Satter, and M.W. Pariza. 1999a. Conjugated linoleic acid content from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82:2146-2156.
- Dhiman T.R., E.D. Helmink, D.J. McMahon, R.L. Fife, and M.W. Pariza. 1999b. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *Journal of Dairy Science*, 82: 412-419.
- Dillehay D.L., S.K. Webb, E.M. Schmelz, and A.H. Merrill. 1994. Dietary sphingomyelin inhibits 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in CF1 mice. *Journal of Nutrition*, 124:615-620.
- Field C.J., and P.D. Schley. 2004. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n-3 fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:1190S-1198S.
- Focant M., E. Mignolet, M. Marique, F. Clabots, T. Breyne, D. Dalemans, and Y. Larondelle. 1998. The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapessed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *Journal of Dairy Science*, 81:1095-1101.
- Gaullier J.M., J. Halse, K. Høy, K. Kristiansen, H. Fagertun, H. Vik, and O. Gudmundsen. 2004. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:1118-1125.
- Gilbert K.M., R. Wahid, N.P. Fecher, J.P. Freeman, and E.K. Fifer. 2000. Potential clinical use of butyric acid derivatives to induce antigen-specific T cell inactivation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 294:1146-1153.
- Graves F.E., A.D. Beaulieu, and J.K. Drackley. 2007. Factors affecting the concentration of sphingomyelin in bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 90:706-715.
- Griinari J.M., B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V.V. Nurmela, and D.E. Bauman. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *Journal of Nutrition*, 130:2285-2291.

- Gulati S.K., C. Wijesundera, E. Byers, and T.W. Scott. 2003. Rumen protected conjugated linoleic acid (CLA) methyl esters decrease milk fat and increase CLA concentration in goat milk. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21:838-844.
- Hargrave K.M., B.J. Meyer, C. Li, M.J. Azain, C.A. Baile, and J.L. Miner. 2004. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obesity Research*, 12: 1435-1444.
- Hathcock J.N., A. Azzi, J. Blumberg, T. Bray, A. Dickinson, B. Frei, I. Jallal, C.S. Johnston, F.J. Kelly, K. Kraemer, L. Packer, S. Pathasarathy, H. Sies, and M.G. Traber. 2005. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81:736-745.
- Hill E.K., A.K. Motley, X. Li, J.M. May, and R.F. Burk. 2001. Combined selenium and vitamin E deficiency causes fatal myopathy in guinea pigs. *Journal of Nutrition*, 131:1798-1802.
- Hino T., N. Andoh, H. and Ohgi. 1993. Effects of β -carotene and α -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long chain fatty acids and cellulose. *Journal of Dairy Science*, 76: 600-605.
- Hu, F.B., J.E. Manson, and W.C. Willett. 2001. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *Journal of American College of Nutrition*, 20: 5-19.
- Hughes P. and S. Tove. 1980. Identification of an endogenous electron donor for biohydrogenation as α -tocopherol. *Journal of Biological Chemistry*, 255:4447-4452.
- Hughes P. and S. Tove. 1982. Occurrence of α -tocopherolquinone and α -tocopherolquinol in microorganisms. *Journal of Bacteriology*, 151:1397-1402.
- INEGI. 2010. Defunciones generales totales por principales causas de mortalidad. En: www.inegi.org.mx. Consultada el 18 de septiembre de 2012).
- Ip C., S.F. Chin, J.A. Scimeca, and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer preventive by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, 51:6118-6124.
- Jenkins T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 76:3851-3863.

- Jensen R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85:295–350.
- Jongh R.T., E.H. Serné, R.G. Ijzerman, G. de Vries, C.D.A. Stehouwer. 2004. Free fatty acid levels modulate microvascular function. Relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes*, 53:2873-2882.
- Kalmijn S., E.J.M. Feskens, L.J. Launer, and D. Kromhout. 1997. Polyunsaturated fatty acids, antioxidants and cognitive function in very old men. *American Journal of Epidemiology*, 145:33-41.
- Kayden J.H., and M.G. Traber. 1993. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *Journal of Lipid Research*, 34:343-358.
- 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, 86: 2588-2597.
- Kepler C.R. K.P. Hirons, J.J. McNeill, and S.B. Tove. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry*, 241:1350-1354.
- Kew S., T. Banerjee, A.M. Minihane, Y.E. Finnegan, C.M. Williams, and P.C. Calder. 2003. Relations between the fatty acid composition of peripheral blood mononuclear cells and measures of immune cell function in healthy, free-living subjects aged 25-72 y. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77:1278-1286.
- Kim Y.J., R.H. Liu, J.L. Rychlik, and J.B. Russell. 2002. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. *Journal of Applied Microbiology*, 92:976-982.
- Kramer J.K.G., C. Cruz.Hernández, Z. Deng, J. Zhou, G. Jahreis, and M. Dugan. 2004. Analysis of conjugated linoleic acid and *trans* 18:1 isomers in synthetic and animal products. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(suppl):1137S-1145S.
- Kurahashi N., M. Inoue, M. Iwasaki, S. Saszuki, and S. Tsugane. 2008. Dairy product, saturated fatty acid, and calcium intake and prostate cancer in a

- prospective cohort of Japanese men. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 17:930-937.
- Larsen T.M., S. Toubro, O. Gudmundsen, and Arne Astrup. 2006. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y does not prevent weight or body fat regain. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83:606-612.
- Larsson S.C., L. Bergkvits, and A. Wolk. 2004. Milk and lactose intakes and ovarian cancer risk in the Swedish mammography cohort. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80:1353-1357.
- Lauretani F. R.D. Semba, S. Bandinelli, E.R. Miller, C. Ruggiero, A. Cherubini, J.M. Gularnik, and L. Ferrucci. 2008. Plasma polyunsaturated fatty acids and the decline of renal function. *Clinical Chemistry*, 54:475-481.
- Lehninger A.L., D.L. Nelson, y M.M. Cox. 1995. *Principios de Bioquímica*. Omega. Segunda edición. Barcelona, España.
- Lin J., S.M. Zhang, N.R. Cook, I.M. Lee, and J.E. Buring. 2004. Dietary fat and fatty acids and risk of colorectal cancer in women. *American Journal of Epidemiology*, 160: 1011-1022.
- Lock A.L., B.M. Teles, J.W. Perfield, D.E. Bauman, and L.A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing *trans*-10, *cis*-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep. *Journal of Dairy Science*, 89:1525-1532.
- Loor J.J. and J.H. Herbein. 1998. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *Journal of Nutrition*, 128:2411-2419.
- Loor J.J., K.Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard, and M. Doreau. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:2472-2485.
- Martin S.A. and T.C. Jenkins. 2002. Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed bacteria. *Journal of Animal Science*, 80:3347-3352.
- May M.J. 1999. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *FASEB Journal*, 13: 995-1006.

- McGuire, M. A., and M. K. McGuire. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. Proc Am. Soc. Anim. Sci. 1999. Disponible en: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0938.pdf>.
- Mersmann H.J. 2002. Mechanisms for conjugated linoleic acid-mediated reduction in fat deposition. Journal of Animal Science, 80(E.Suppl. 2):E126-E134.
- Miller A., E. McGrath, C. Stanton, and R. Devery. 2003. Vaccenic acid (t11-18:1) is converted to c9, t11-CLA in MCF-7 and SW480 cancer cells. Lipids, 38:623-632.
- Miller, W.F., J.E. Shirley, E.C. Titgemeyer, and M.J. Brouk. 2009. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle, Journal of Dairy Science, 92:3886-3391.
- Moon H.S., H.G. Lee, C.S. Chung, Y.J. Choi, and C.S. Cho. 2008. Physico-chemical modifications of conjugated linoleic acid for ruminal protection and oxidative stability. Nutrition and Metabolism, 5:16.
- Moorman P.G. and P.D. Terry. 2004. Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature. American Journal of Clinical Nutrition, 80: 5-14.
- Mosley E.E., G.L. Powell, M.B. Riley, and T.C. Jenkins. 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. Journal of Lipid Research, 43:290-296.
- Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004 "Sistema producto leche – Alimento – Lácteo – Leche cruda de vaca – Especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba".
- Onetti S.G., R.D. Shaver, M.A. McGuire, D.L. Palmquist, and R.R. Grummer. 2002. Effect of supplemental tallow on performance of dairy cows fed diets with different corn silage:alfalfa silage ratios. Journal of Dairy Science, 85:632-641.
- O'Rourke D. 2009. Nutrition and udder health in dairy cows: a review. Irish Veterinary Journal, 62:15-20.
- Packer L., S.U. Weber, and G. Rimbach. 2001. Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signaling. Journal of Nutrition, 131:369S-373S.

- Pariza M.W., Y. Park, and M.E. Cook. 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Society for Experimental Biology and Medicine*, 223:8-13.
- Parodi P.W. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Nutrition*, 127: 1055-1060.
- Parodi P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*, 82:1339-1349.
- Parodi P.W. 2005. Dairy products consumption and the risk of breast cancer. *Journal of the American College of Nutrition*, 24:556S-568S.
- Perfield J.W., A.L. Lock, A.M. Pfeiffer, and D.E. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *Journal of Dairy Science*, 87:3010-3016.
- Peterson D.G., L.H. Baumgard, and D.E. Bauman. 2002. Short communication: Milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *Journal of Dairy Science*, 85: 1764-1766.
- Pinotti L., A. Baldi, I. Politis, R. Rebucci, L. Sngalli, and V. Dell'Orto. 2003. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E status. *Journal of Veterinary Medicine Series A-Physiology Pathology Clinical Medic*, 50:18-21.
- Piperova L.S., U. Moallem, B.B. Teter, J. Sampugna, M.P. Yurawecz, K.M. Morehouse, D. Luchini, and R.A. Erdman. 2004. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of *trans*-18-1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:3836-3844.
- Pottier J., M. Focant, C. Debier, G. De Buysser, C. Goffe, E. Mignolet, E. Friodmont, and Y. Larondelle. 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *Journal of Dairy Science*, 89:685-692.
- Ramsay T.G., C.M. Evock-Clover, N.C. Steele, and M.J. Azain. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *Journal of Animal Science*, 79:2152-2161.

- Rodríguez G. 1997. Funciones de la Vitamina E en la nutrición humana. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, 11:46-57.
- Rojas C.I., M.L. Pabón, and Carulla J. 2005. Ácido linoleico conjugado (ALC): factores dietarios que afectan su contenido en leche, in: Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca. Pabón M. y Ossa J. editores. Biogénesis. Colombia.
- SAGARPA. 2004. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Situación actual de la producción de leche de bovino en México. Coordinación General de Ganadería. México. <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg>.
- Sales J.N.S., L.M.K. Dias, A.T.M. Viveiros, M.N. Pereira, and J.C. Souza. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with β -carotene and tocopherol. Animal Reproduction Science, 106:77-89.
- Santora J.E., D.L. Palmquist, and K.L. Roehrig. 1999. Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice. Journal of Nutrition, 130:208-215.
- Schwenke D.C., L.L. Rudel, M.G. Sorci-Thomas, and M.J. Thomas. 2002. α -tocopherol protects against diet induced atherosclerosis in New Zealand white rabbits. Journal of Lipid Research, 43:1927-1938.
- Secretaría de Economía. 2012. Análisis del sector lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas. En: www.economía.gob.mx. Consultado el 23 de septiembre de 2012.
- Secretaría de Salud. 2009. Consume población mexicana 11% más grasas dañinas de lo permitido. Dirección General de Comunicación Social. Comunicado de prensa número 069.
- SIAP, 2011. Resumen Nacional Pecuario: producción, precio, valor, animales sacrificados y peso 2011. En: www.siap.gob.mx. Consultado el 23 de septiembre de 2012.
- Spitsberg V.L. 2005. Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. Journal of Animal Science, 88:2289-2294.
- Steck S.E., A.M. Chalecki, P. Miller, J. Conway, G.L. Austin, J.W. Hardin, C.D. Albright, and P. Thuillier. 2007. Conjugated linoleic acid supplementation for

- twelve weeks increases lean body mass in obese humans. *Journal of Nutrition*, 137:1188-1193.
- 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 concentrate in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *Journal of Dairy Research*, 70:267-276.
- Storey A., J.S. Rogers, F. McArdle, M.J. Jackson, and L.E. Rhodes. 2007. Conjugated linoleic acids modulate UVR-induced IL-8 and PGE₂ in human skin cells: potential of CLA isomers in nutritional photoprotection. *Carcinogenesis*, 28:1329-1333.
- Tanmahasamut P., J. Liu, L.B. Hendry, and N. Sidell. 2004. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. *Journal of Nutrition*, 134:674-680.
- Thiel-Cooper R.L., F.C. Parrish Jr., J.C. Sparks, B.R. Wiegand, and R.C. Ewan. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *Journal of Animal Science*, 79:1821-1828.
- Tolman K.G., V. Fonseca, A. Dalpiaz, and M.H. Tan. 2007. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care*, 30:734-743.
- Turpeinen A.M., M. Mutanen, A. Aro, I. Salminen, S. Basu, D.L. Palmquist, and J.M. Griinari. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76:504-510.
- Upston M.J., A.C. Terentis, and R. Stocker. 1999. Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. *FASEB Journal*, 13:977-994.
- Valle del M.C. y A.G. Álvarez. 1997. La producción de leche en México en la encrucijada de la crisis y los acuerdos del TLCAN. <http://136.142.158.105/LASA97/delvrialvarez.pdf>.
- van Aardt M., S.E. Duncan, J.E. Marcy, T.E. Long, S.F. O'Keefe, and S.R. Nielsen-Sims. 2005. Effect of antioxidant (α -tocopherol and ascorbic acid) fortification on light-induced flavor milk. *Journal of Dairy Science*, 88:872-880.

- Venkatesan P., R. Manavalan, and K. Valliapan. 2009. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 1: 26-35.
- Watkins B.A. and M.F. Seifert. 2000. Conjugated linoleic acid and bone biology. *Journal of the American College of Nutrition*, 19:478S-486S.
- Wijesundera C., Z. Shen, W.J. Wales, and D.E. 2003. Effects of cereal grain and fiber supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Research*, 70:257-265.
- White S.L., J.A. Bertrand, M.R. Wade, S.P. Washburn, J.T. Green Jr., and T.C. Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84:2295-2301.
- Yang H., J. Holcroft, B.W. Clickman, and J.G. de Boer. 2003. Conjugated linoleic acid inhibits mutagenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine in the prostate of Big Blue[®] rats. *Mutagenesis*, 18:195-200.

CAPÍTULO I

LA NANOTECNOLOGÍA APLICADA A LA PRODUCCIÓN ANIMAL¹

1.1. Resumen

La nanotecnología, entendida como aquella tecnología en la cual los materiales y las estructuras se encuentran en escalas nanométricas, posee campos de aplicación e investigación crecientes, ya que los materiales a escala pequeña adquieren propiedades y características distintas que aquellos a escala mayor. Recientemente, ha incrementado la investigación de los usos de la nanotecnología en el área de la biología, especialmente en la administración de fármacos para seres humanos, y existe la necesidad de aplicar dichos conocimientos en el área zootécnica, particularmente lo que concierne a salud animal, con el objetivo de facilitar y optimizar los procesos de producción de alimentos de origen animal. Sin embargo, existe poca o nula investigación al respecto, a pesar que gran parte de la investigación enfocada a la salud humana se realiza con modelos animales. Esto es de particular interés al considerarse animales destinados a consumo humano, donde deben de tenerse en cuenta factores éticos, ambientales y de seguridad alimentaria. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es proporcionar una visión general de la nanotecnología y sus posibles aplicaciones en las áreas de veterinaria y zootecnia, basado en las necesidades actuales de exploración de nuevas áreas de investigación en beneficio de la sociedad.

Palabras clave: nanopartícula; nanomaterial; veterinaria; zootecnia.

¹Artículo publicado en la revista *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, bajo el título: *Nanotechnology on animal production*. 2010. 12(3):423-429.

1.2. Abstract

Nanotechnology, defined as that technology in which materials and structures are found in nanometric scales, has increased his application and research, since small scales materials have different properties and characteristics compared to those at higher scale. Recently, research on nanobiotechnology has been increased, especially that focused on drugs for human health, and there is the need of applying that knowledge on animal health, in order to improve animal production process. However, there is a lack or null information about it, even though research focused on human health is carried out using animal models. It is important to take into consideration that nanotechnology must include ethical, environmental and food safety factors. Therefore, the objective of this review is to offer a general view on nanotechnology and its application on veterinary and animal production, based on the new challenges to explore new research areas according to actual needs to obtain benefits for the society.

Key words: nanoparticle; nanomaterial; veterinary; zootechnics.

1.3. Introducción

La nanotecnología (del latín *nanus*, que significa *enano*) se define como aquella tecnología de los materiales y las estructuras en la que el orden de magnitud se mide en nanómetros, con aplicación en diversas áreas como la física, la química y la biología (RAE, 2001; Buzea *et al.*, 2007). Lo anterior implica un entendimiento y control de la materia con dimensiones de 1 a 100 nm, con capacidad de tener nuevas aplicaciones, ya que en escalas tan pequeñas, las propiedades de la materia pueden diferir considerablemente de aquella en una escala mayor, incluso micras. Para un mejor entendimiento, un nanómetro es la milmillonésima parte de un metro (10^{-9}) y, como referencia, el espesor de una hoja de papel mide 100,000 nm, aproximadamente (NNI, 2009), y la longitud de onda de la luz visible se encuentra entre 400 y 700 nm; además de que muchas estructuras biológicas tienen dimensiones de unos cuantos nanómetros (Cuadro 1) (Scott, 2005). A nivel mundial, el financiamiento para la investigación en esta área proviene de recursos tanto

públicos como privados, siendo Estados Unidos de América, Japón y Alemania los países con mayor inversión pública en nanotecnología (1 606, 1 100, y 413 millones de dólares, respectivamente, en 2005) (NRC, 2006). Ningún país latinoamericano aparece en la lista de los 13 países con el presupuesto más alto para estudios sobre nanotecnología en dicho año.

Cuadro 1. Tamaño de distintas estructuras biológicas (nm).

<i>Estructura biológica</i>	<i>Tamaño, nm</i>
Leucocitos	10,000
Bacterias	1,000 – 10,000
Virus	75-100
Proteína	5-50
DNA (ancho)	~ 2
Átomo	~ 0.1

Fuente: modificado de Scott (2005).

Históricamente, las nanopartículas han existido en el planeta desde tiempos remotos y se han creado por diversos fenómenos naturales, incluyendo reacciones fotoquímicas, erupciones volcánicas o incendios forestales (Buzea *et al.*, 2007); y, aunque de investigación reciente, las aplicaciones de la nanotecnología han estado presentes desde épocas muy antiguas, aunque en ese tiempo no se hacía referencia a ella como tal. Se sabe que, por ejemplo, el pigmento de la porcelana de las diversas dinastías chinas (desde el siglo XVI a.C.) contiene nanopartículas de oro (Hollister *et al.*, 2003). Otro caso es el de la copa Lycurgus (en exhibición en el Museo Británico), creada durante el Imperio Romano (s. IV a.C.), la cual posee una matriz de vidrio que contiene nanopartículas de oro y plata, responsables de crear un efecto óptico en la copa dependiendo de la dirección de la luz: si la copa refleja la luz, ésta se ve color verde, si la transmite, entonces cambia a color rojo (Freestone *et al.*, 2007). En Oriente, también se utilizaron coloides con nanopartículas de oro

para tratar padecimientos óseos como la artritis (Cao, 2004). Posteriormente, a mediados del siglo XX, el físico Feynman (1959) propuso la posibilidad de manipular las cosas átomo por átomo, dejando un campo abierto para el desarrollo de una tecnología a escala atómica y molecular; y en 1975, Ringdorf desarrolló un modelo conjugado fármaco-polímero, haciendo hincapié en que las propiedades de dicho modelo pueden cambiar dependiendo de las propiedades del polímero (Shina *et al.*, 2006).

Las aplicaciones de la nanotecnología son sumamente variadas. Por ejemplo, en electrónica se utiliza en la fabricación de procesadores, discos duros y pilas; en ecología para eliminar ciertos contaminantes del aire y del agua; la industria cosmética elabora productos como bloqueadores solares, maquillajes, tintes para el cabello y cremas con nanopartículas, incluso muchas pinturas y lubricantes industriales contienen este tipo de partículas para obtener productos con características específicas (Buzea *et al.*, 2007), empaques “inteligentes” que alerten al consumidor de que el producto está contaminado (ETC, 2004), y en agricultura con nanofertilizantes, captadores de agua y secuestrantes de sustancias tóxicas (Lal, 2007), entre muchas otras. Sin embargo, una de las aplicaciones más importantes y extensas de la nanotecnología es en el área de medicina humana, que ha permitido el desarrollo de nanopartículas para la liberación controlada de medicamentos contra el cáncer (Sinha *et al.*, 2006), de nutrientes (Ross *et al.*, 2004), de hormonas (Schaffazick *et al.*, 2006), para terapia génica (Bowman y Leong, 2006) y como medio de contraste para estudios de imagen (McNeil, 2005), entre otras. En el área de medicina veterinaria y producción animal existe un creciente interés en aplicar dicha tecnología en sus procesos; sin embargo, la investigación al respecto es aún limitada.

1.4. Diferencias entre los nanomateriales y los materiales voluminosos

Las propiedades físicas, químicas, eléctricas, ópticas, mecánicas y magnéticas (entre otras aún desconocidas) en una escala atómica difieren de aquellas presentes en una escala mayor, incluso comparadas con aquellas presentes una escala en micras (10^{-6}) (Buzea *et al.*, 2007; Cao, 2004). La razón de

que los nanomateriales sean tan diferentes a aquellos más voluminosos se debe, según Roduner (2006), a dos efectos:

1. De superficie. Los átomos de los nanomateriales son menos estables comparados con aquéllos en estructuras más grandes debido a que la energía requerida para unirse a átomos adyacentes es menor. Lo anterior tiene como consecuencia que el punto de fusión de un elemento determinado cambie. Por ejemplo, el punto de fusión de una partícula de oro de 2.5 nm es alrededor de 930K ($\approx 657^{\circ}\text{C}$), valor considerablemente inferior a 1336K ($\approx 1063^{\circ}\text{C}$), presente en el mismo metal con mayor volumen. Al respecto, Cao (2004) menciona que dicho fenómeno es característico de metales, gases inertes, semiconductores y cristales moleculares cuando el tamaño de partícula es menor de 100 nm.
2. De efectos cuánticos. Los puntos cuánticos son un tipo de nanoestructuras de unos pocos nanómetros, los cuales muestran un comportamiento similar a un átomo individual. Su arreglo espacial les permite tener propiedades que no son propias del elemento, por ejemplo, magnetismo en metales como oro y platino cuando se encuentran en forma de nanopartículas.

Además, las nanopartículas poseen una superficie más extensa que las micropartículas. Para ilustrarlo mejor, una micropartícula de carbón con un diámetro de 60 μm tiene una masa de 0.3 μg y una superficie de 0.01 mm^2 ; con la misma masa de carbón se forman 1 billón de nanopartículas de 60 nm en una superficie de 11.3 mm^2 . Ello indica que conforme disminuye el tamaño de la nanopartícula, se incrementa la superficie para reacciones químicas, por lo que la reactividad se incrementa unas 1000 veces (Buzea *et al.*, 2007). Lo anterior se podría comparar con la función de las vellosidades y microvellosidades del tubo intestinal presentes en todas las especies animales, incluyendo el hombre. La mucosa intestinal está cubierta por proyecciones epiteliales denominadas vellosidades, las cuales aumentan el área superficial intestinal hasta 10 a 14 veces, al compararla con la superficie aplanada de un tamaño igual; además, dichas vellosidades están cubiertas por microvellosidades microscópicas que aumentan aún más el área superficial (Cunningham, 1999).

1.5. Preparación y diseño de nanopartículas

Existen diferentes métodos de preparación de nanopartículas. La selección de cualquiera de ellos depende de los objetivos y condiciones particulares de dónde y cómo se requieran aplicar las nanopartículas así obtenidas, por lo que es necesario tomar en cuenta la estabilidad física y química del agente activo, su toxicidad, su perfil de liberación, entre muchas consideraciones. Agnihotri *et al.* (2004) detalla algunos métodos comunes de preparación de nanopartículas como:

1. **Emulsión de enlaces cruzados (cross-linking):** en este método, una emulsión “agua en aceite” (w/o, por las iniciales en inglés de water y oil) se prepara por emulsificación de una solución acuosa en una fase oleosa que al agitarse vigorosamente, separa y endurece las partículas; requiere de agentes que faciliten la unión de los agentes involucrados.
2. **Precipitación/coacervación:** en este caso, las partículas son producidas al “soplar” el agente de interés en una solución alcalina; la separación y purificación de las partículas se realiza por filtración y centrifugación seguida de lavados con agua caliente y fría.
3. **Secado en aerosol (Spray-drying):** es una de las técnicas mejor conocidas para producir polvos, gránulos o aglomerados, además de que es fácil y rápida de realizar. Se basa en el secado de gotas atomizadas en aire caliente compresurizado. Se requiere la utilización de un solvente (por ejemplo, una solución de ácido acético) el cual se evapora instantáneamente permitiendo la formación de partículas.

Otro factor a considerar es la forma que las nanopartículas adquieren, ya que ésta influye fuertemente en su comportamiento biológico. Es importante señalar que no siempre dichas partículas son de forma esférica, como pudiera imaginarse. Existen reportes de innumerables formas, algunas muy peculiares, de nanopartículas: discos rectangulares, conos, bastones, “gusanos”, discos elípticos o circulares, “tacos” , entre muchas más, las cuales pueden presentarse en 1ª , 2ª, o 3ª dimensión, dependiendo del método de preparación y los materiales utilizados. Al respecto, la viscosidad y grosor del material utilizado determina si la partícula presentará terminaciones puntiagudas o aplanadas. Incluso, es posible que las

nanopartículas presenten regiones con diferente curvatura, textura, concavidad, y demás características (Champion *et al.*, 2007).

Además de las cápsulas, se pueden utilizar otros materiales nanoestructurados que tienen el potencial de manipular estructuras u otras partículas. Algunos ejemplos específicos son los **fullerenos** (estructuras de 60-80 átomos de carbón arreglados en forma esférica utilizados para la liberación controlada de medicamentos), **dendrimeros** (moléculas ramificadas las cuales, debido a su estructura, pueden servir como vehículo de un fármaco, liberándolo en un lugar específico), y los puntos cuánticos también llamados “**quantum dots**” (son cristales nanométricos diseñados para aplicaciones ópticas y electrónicas; cuando un punto cuántico es estimulado, emite una fluorescencia de diversa intensidad) (ETC, 2004; Scott, 2005).

1.6. Posibles aplicaciones en producción animal

Gran parte de la investigación de la nanotecnología aplicada a la medicina humana se ha probado en animales de laboratorio (ratas, ratones, conejos, cobayos, entre otras especies), por lo que dichas aplicaciones nanotecnológicas son, sin duda, susceptibles de ser estudiadas en especies de interés zootécnico, fauna silvestre o mascotas, aunque es probable que falte mayor vinculación entre los profesionales de la biotecnología (incluyendo nanotecnólogos, por supuesto) y de la veterinaria, zootecnia, agronomía y áreas afines. Al respecto, Scott (2005) destaca cuatro posibles aplicaciones de la nanotecnología en el área animal: 1) administración de medicamentos, nutrientes, probióticos, suplementos, y demás sustancias, 2) diagnóstico y tratamiento de enfermedades con nanopartículas que permitan detectar y eliminar la causa de la enfermedad sin necesidad de cirugía, 3) registro de identidad que permita dar seguimiento a la historia de un animal y sus productos (carne, leche, huevo, principalmente), y 4) manejo de la reproducción con inmunosensores hormonales.

Un área estrechamente ligada a la ganadería es la agricultura, y de acuerdo con datos del INEGI (2007), más del 60% de la superficie territorial de México tiene actividad agropecuaria o forestal, por lo que los sistemas de producción animal,

tanto estabulados como en pastoreo o bien los denominados agrosilvopastoriles, podrían beneficiarse con esta tecnología utilizando nanofertilizantes que transporten nutrientes a sitios específicos de los forrajes, justo cuando son requeridos y en las cantidades adecuadas, ésto con la ayuda de magnetos (González-Melendi *et al.*, 2008; Lal, 2007) mejorando la captación de agua del suelo con el uso de hidrogeles o zeolitas, utilizando nanomateriales que absorban sustancias tóxicas y con dispositivos que determinen las propiedades del suelo, entre otras (Lal, 2007).

De hecho, ya existe investigación dirigida a animales de interés zootécnico, aunque el número de estudios es bastante reducido. Recientemente Romero (2008) diseñó y evaluó, *in vitro*, nanopartículas de selenito de sodio para uso vía oral en rumiantes utilizando copolímeros de metacrilato sensibles a pH, de tal modo que no pudieran degradarse en el rumen (pH cercano al neutro), pero sí en abomaso, cuyo pH es ácido debido a la secreción de ácido clorhídrico, similar al presente en especies no rumiantes; sin embargo, no se realizaron pruebas *in vivo*. Por otro lado, se probaron sin éxito nanopartículas de plata (con fines antibacteriales) en embriones de pollo, las cuales, a pesar de no afectar el desarrollo embrionario, sí se redujeron el número y tamaño de folículos linfoides de la bolsa de Fabricio (Grodzik y Sawosz, 2006). Además, se han desarrollado inmunosensores basados en nanoestructuras capaces de detectar la concentración de progesterona en la leche de vacas, facilitando la detección de la ovulación en estos animales (Carralero *et al.*, 2007ab); y de clenbuterol, un β -agonista, en el alimento de los animales de engorda, el cual es utilizado como promotor del crecimiento, pero sus residuos en los tejidos pueden tener efectos negativos en los humanos (He *et al.*, 2009).

Un aspecto sumamente importante es el de la sanidad, tanto para protección del propio animal como del humano, por lo que de manera rutinaria a los animales se le vacuna contra diversas enfermedades. Las vacunas, además del antígeno, contienen otras sustancias, entre ellas los adyuvantes, los cuales tienen como objetivo mejorar la respuesta inmunológica del individuo (Baxter, 2007). Sin embargo, algunos como el hidróxido de aluminio tienen la desventaja de tener efectos secundarios desfavorables tales como irritación tisular, inflamación en el sitio de infección, menor inmunidad celular e ineffectividad para crear inmunidad ante

ciertos organismos como los virus. Para evitar lo anterior, se han desarrollado adyuvantes en forma de nanopartículas de fosfato de calcio capaces de crear una efectiva inmunidad antiviral (He *et al.*, 2000); sin embargo, el desarrollo de vacunas contra parásitos no ha tenido éxito debido, básicamente, a la complejidad de estos organismos si se compara con bacterias o virus (Meeusen y Piedrafita, 2003). Los nematodos (gusanos redondos del *filium* de los helmintos) infectan a casi todas las especies vegetales y abundan en toda clase de huéspedes vertebrados. De ellos, *Trichinella spiralis* es el parásito responsable de la enfermedad en humanos conocida como triquinosis, provocada por el consumo de carne de cerdo contaminada y mal cocida y, que en casos graves, puede provocar hasta la muerte del individuo (Jawetz *et al.*, 1996). Al respecto, Deville *et al.* (2005) demostraron la importancia del adyuvante y aquél en forma de nanopartículas mostró una inducción adecuada en la respuesta inmune de ratones contra antígenos de *Trichinella*, y disminución de la carga larvaria en el músculo de los mismos animales, lo cual es un avance de la nanotecnología en la producción animal.

Por otro lado, es un hecho la utilización rutinaria de antibióticos en los sistemas de producción animal, los cuales pueden dejar residuos en los productos que llegan al consumidor final y, aún cuando existe un período de retiro variable antes de que los productos de los animales tratados puedan comercializarse, no siempre se respeta. Sin embargo, con el uso de la nanotecnología podría reducirse dramáticamente la cantidad de antibiótico a utilizar, debido a las propiedades que adquieren las sustancias cuando su tamaño se reduce a unos cuantos nanómetros, lo cual Fattal *et al.* (1989) demostraron en ratones infectados con *Salmonella typhimurium* tratados con diferentes formas y cantidades de ampicilina. Aquellos tratados con ampicilina unida a nanopartículas tuvieron una tasa de supervivencia igual que aquellos tratados con la forma libre, pero con la diferencia de que los primeros requirieron 40 veces menos cantidad de dicho antibiótico para tener el mismo efecto. Además, su distribución en los tejidos fue más específica, lo cual valida la menor cantidad de antibiótico requerida para igualar el resultado.

En el área de nutrición también es posible aplicar la nanotecnología con diversos objetivos como obtención de información de un nutriente o componente

bioactivo, y su liberación en sitios específicos de acción, mayor disponibilidad, mantenimiento de niveles adecuados por períodos más largos de tiempo, evitar su degradación, y menor invasión parenteral (Ross *et al.*, 2004), por lo que también se reduce el estrés que implica el manejo de los animales. Los minerales son uno de los suplementos más ampliamente utilizados en nutrición animal; sin embargo, la forma en la cual se encuentran dichos minerales influye en la biodisponibilidad de los mismos, por lo que si son de baja biodisponibilidad, el animal no los aprovechará correctamente y se eliminarán. Un ejemplo es el hierro, cuya deficiencia continúa siendo un problema en nutrición humana y animal, especialmente en etapas tempranas de la vida, la gestación y en infestaciones parasitarias (Church *et al.*, 2003). Una de las fuentes más biodisponibles de este elemento es como sulfato ferroso (McDowell, 1997); sin embargo tiene el inconveniente de causar sabor metálico a los alimentos, y acelerar el proceso de oxidación de las grasas de los cereales, provocando rancidez (Hurrell, 2002). La alternativa es usar una fuente menos disponible pero más estable como el fosfato férrico (FePO_4). Al respecto, Rohner *et al.* (2007) desarrollaron nanopartículas de fosfato férrico altamente biodisponibles, demostrando que en nanoescala, esta fuente puede incrementar su valor nutricional.

Las mascotas son un área económicamente atractiva debido a la mayor preocupación de los propietarios para ofrecerles una mejor calidad de vida. De acuerdo con Ostrander y Wayne (2005), en Estados Unidos se gastan millones de dólares cada año en la salud canina, muchos de los cuales se destinan a tratamientos contra el cáncer, enfermedades cardíacas y autoinmunes, epilepsia y ceguera. De hecho, los perros desarrollan cáncer dos veces más frecuente que los humanos y, en el sistema urinario, la vejiga es el sitio más común para neoplasias las cuales, por lo general, son malignas. Las neoplasias malignas incluyen carcinoma de células transicionales, fibrosarcoma y adenocarcinoma; pueden afectar cualquier porción de la vejiga, aunque el carcinoma de células transicionales comúnmente afecta la región del trígono vesical, en la cual no se recomienda la remoción quirúrgica del tumor (Cowan, 1996). Al respecto, Lu *et al.* (2004), desarrollaron nanopartículas de paclitaxel (un potente quimioterapéutico) unido a

gelatina para el tratamiento de cáncer de vejiga y, aunque su objetivo son los seres humanos, fueron probadas exitosamente en tejido vesical de perros, por lo que sin duda, son una alternativa para dicha enfermedad.

1.7. Seguridad y toxicidad de los nanomateriales utilizados en animales

Es importante determinar cuál es el fin zootécnico de la especie a la que se le dará un componente nanoparticulado. No es lo mismo si se trata de uno cuyo fin es el de mascota o de exhibición, como sucede con los animales de los zoológicos; o bien, si se destinará, el animal en sí o sus productos, al consumo humano, debido al riesgo de residuos en los tejidos. De manera general, la toxicidad de una nanopartícula depende de varios factores, tales como la dosis, la concentración del agente de interés, el tipo de polímero utilizado para nanoencapsular, entre otros más. Al respecto, Braydich-Stolle *et al.* (2005) encontraron que nanopartículas de plata afectan negativamente la gametogénesis en ratones, por lo que este elemento debería evitarse cuando se trate de animales destinados a la reproducción.

1.8. Conclusiones

La nanotecnología se encuentra en constante desarrollo, y sus aplicaciones son cada vez más variadas y específicas, con un alto potencial para mejorar la producción agropecuaria, y animal en general. El estudio de la nanotecnología en dichas áreas aún es limitado; no obstante, es factible aplicarla y con resultados probablemente alentadores que permitan llevar a cabo los procesos con mayor rapidez, efectividad y, quizá, menor riesgo para el consumidor. Sin embargo se requiere una vasta investigación que avale la efectividad y, principalmente, seguridad de la nanotecnología, evitando afectar el ambiente, o al propio ser humano.

1.9. Literatura citada

Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N., and Aminabhavi, T.M. 2004. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 100:5-28.

- Baxter, D. 2007. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensings. *Occupational Medicine*. 57:552-556.
- Bowman, K., and Leong, K.W. 2006. Chitosan nanoparticles for oral drug and gene delivery. *International Journal of Nanomedicine*. 1:117-128.
- Braydich-Stolle, L., Hussein, S., Schlager, J.J., and Hofmann, M.C. 2005. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germ-line stem cells. *Toxicological Science*. 88:412-419.
- Buzea, C., Pacheco, B.I., and Robbie, K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2(4):1-103.
- Cao, G. 2004. *Nanostructures & nanomaterials: Synthesis, properties & applications*. Imperial College Press. England.
- Carralero, V., González-Cortés, A., Yañez-Sedeño, P., and Pingarrón, J.M. 2007a. Development of a progesterona immunosensor base don a colloidal gold-graphite-teflon composite electrode. *Electroanalysis*. 19:853-858.
- Carralero, V., González-Cortés, A., Yañez-Sedeño, P., and Pingarrón, J.M. 2007b. Nanostructure progesterona immunosensor using a tyrosinase-colloidal-gold-graphite-teflon biosensor as amperometric transducer. *Analytica Chimica Acta*. 596:86-91.
- Cowan, L.A. 1996. *Enfermedades de la vejiga urinaria*. Birchard and Sherding eds. Manual clínico de pequeñas especies Volumen 2. McGraw-Hill Interamericana. México.
- Cunningham, J.G. 1999. *Fisiología veterinaria*. Segunda edición. McGraw-hill Interamericana. México.
- Champion, J.A., Katare, Y.K., and Mitragotri, S. 2007. Making polymeric micro- and nanoparticles of complex shapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104:11901-11904.
- Church, D., Pond, W., and Pond, K. 2003. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. Limusa Wiley. México.
- Deville, S., de Pooter, A., Aucouturier, J., Lainé-Prade, V., Cote, M., Boireau, P., and Vallée, I. 2005. Influence of adjuvant on the induced protection of mice

- immunized with total soluble antigen of *Trichinella spiralis*. *Veterinary Parasitology*. 132:75-80.
- ETC Group. 2004. La invasion invisible del campo. www.etcgroup.org/upload/publication/82/02/invasin_campo.pdf. Consultado el 15 de junio de 2009.
- Fattal, E., Youssef, M., Couvreur, P., and Andremont, A. 1989. Treatment of experimental salmonellosis in mice with ampiciline-bound nanoparticles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 33:1540-1543.
- Feynman, R.P. 1959. There's Plenty of Room at the Bottom, An Invitation to Enter a New Field of Physics, Annual Meeting of the American Physical Society, California Institute of Technology, Dec. 29. www.zyvex.com/nanotech/feynman.html. Consultado el 10 de junio de 2009.
- Freestone, I, Meeks, N., Sax, M., and Higgitt, C. 2007. The Lycurgus Cup-a roman nanotechnology. *Gold Bulletin*. 40:270-277.
- González-Melendi, P., Fernández-Pacheco, R., Coronado, M.J., Corredor, E., Testillano, P.S., Risueño, M.C., Marquina, C., Ibarra, M.R., Rubiales, D. and Pérez-de-Luque, A. 2008. Nanoparticles as smart treatment-delivery systems in plants: assessment of different techniques of microscopy for their visualization in plant tissue. *Annals of Botany*. 101: 187-195.
- Grodzik, M. and Sawosz, E. 2006. The influence of silver nanoparticles on chicken embryo development and bursa of Fabricius morphology. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 15(suppl.1):111-114.
- He, P., Wang, Z., Zhang, L. and Yang, W. 2009. Development of a label-free electrochemical immuno-sensor based on carbon nanotube for rapid determination of clenbuterol. *Food Chemistry*. 112:707-714.
- He, Q., Mitcheli, A.R., Johnson, S.L., Wagner-Bartak, C., Morcol, T., and Bell, S.J.D. 2000. Calcium phosphate nanoparticle adjuvant. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 7:899-903.
- Heyneman, D. 1996. *Parasitología médica*. Jawetz, Melnick, y Adelberg, Eds. *Microbiología Médica. El Manual Moderno*. México.

- Hollister, P., Weener, J.W., Román, C.V., and Harper, T. 2003. Nanoparticles. Científica Technology white papers. Octubre.
- Hurrell, R. 2002. Fortification: Overcoming Technical and practical barriers. Journal of Nutrition. 132:806S-812S.
- INEGI. 2007. Número y superficie de unidades de producción según realización de actividad agropecuaria o forestal por entidad federativa. http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/proyectos/censos/agropecuario2007/Resultados_Agricola/Tabulado_VIII_CAGyF_1.pdf. Consultada el 27 de junio de 2009.
- Lal, R. 2007. Soil science and the carbon civilization. Soil Science Society of American Journal. 71:1425-1437.
- Lu, Z., Yeh, T.K., Tsai, M., Au, L., and Wientjes, M.G. 2004. Paclitaxel-loaded gelatin nanoparticles for intravesical bladder cancer therapy. Clinical Cancer Research. 10:7677-7684.
- McDowell, L.R. 1997. Minerals for grazing ruminants in tropical regions. Tercera edición. Universidad de Florida. Estados Unidos de América.
- McNeil, S. 2005. Nanotechnology for the biologist. Journal of Leukocyte Biology. 78:585-594.
- Meeusen, E.N.T., and Piedrafita, D. 2003. Exploiting natural immunity to helminth parasites for the development of veterinary vaccines. International Journal of Parasitology. 33:1258-1290.
- NNI. 2009. What is nanotechnology? National Nanotechnology Initiative. www.nano.gov/html/facts/whatIsNano.html. Consultada el 30 de mayo de 2009.
- NRC. 2006. A Matter of Size: Triennial Review of the National Nanotechnology Initiative. Capítulo: Public and private investments in nanotechnology. National Research Council. The National Academy Press.
- Ostrander, E.A. and Wayne, R.K. 2005. The canine genome. Genome Research. 15: 1706-1716.
- Real Academia Española. 2001. Diccionario de la Lengua Española. 22.^a edición. www.rae.es. Consultada el 30 de mayo de 2009.

- Roduner, E. 2006. Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Review*. 35:583-592.
- Rohner, F., Ernst, F., Arnold, M., Hilbe, M., Biebinger, R., Ehrensperger, F., Pratsinis, S., Langhans, W., Hurrell, R., Zimmermann, M. 2007. Synthesis, characterization, and biodisponibility in rats of ferric phosphate nanoparticles. *Journal of Nutrition*, 137: 614-619.
- Romero, P.A. 2008. Diseño y evaluación de nanopartículas de selenito de sodio para su uso en rumiantes. Tesis de Maestría. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, estado de México.
- Ross, S.A., Srinivas, P.R., Clifford, A.J., Lee, S.C., Philbert, M.A., and Hettich, R.L. 2004. New technologies for nutrition research. *Journal of Nutrition*. 134:681-685.
- Schaffazick, S.R., Pohlmann, A.R., Mezzalira, G., and Guterres, S.S. 2006. Development of nanocapsule suspensions and nanocapsule spray-dried powders containing melatonin. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 17:562-569.
- Scott, N.R. 2005. Nanotechnology and animal health. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*. 24:425-432.
- Sihna, R., Kim, G., Nie, S., and Shin, D. 2006. Nanotechnology in cancer therapeutics: bioconjugated nanoparticles for drug delivery. *Molecular Cancer Therapeutics*. 5:1909-1917.

CAPÍTULO II

EFFECTO DE LA VITAMINA E EN LA COMPOSICIÓN DE LECHE DE VACAS EN PASTOREO SUPLEMENTADAS CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCAPSULADO²

2.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la vitamina E en la concentración de grasa y perfil de ácidos grasos de leche de vacas en pastoreo suplementadas con ácido linoleico conjugado microencapsulado. Se utilizaron 8 vacas Holstein neozelandesas, en pastoreo rotacional, en un Diseño Crossover asignadas aleatoriamente a cuatro tratamientos: testigo (dieta base con ácido linoleico conjugado microencapsulado y tres niveles de vitamina E (4000, 8000 y 12000 UI/vaca por día). Todas las vacas recibieron un suplemento que aportó 5 g de *cis*-9, *trans*-11 y 5 g de *trans*-10,*cis*-12 de ácido linoleico conjugado; además, recibieron diariamente 4 kg de MS de concentrado y 3.2 kg de MS de ensilado de maíz cada una. No hubo diferencias en el consumo de materia seca, en la producción de leche ni en su composición (grasa, proteína y lactosa) por efecto de la vitamina E y, en todos los tratamientos, la grasa se mantuvo por debajo del 3%. El perfil de ácidos grasos de la leche tampoco se modificó, aunque sí se observó una disminución del 5.7% de las ácidos grasos saturados con los tratamientos que incluyen vitamina E. Tampoco hay beneficios económicos debido a que no hay incrementos en producción de leche ni de grasa. Por lo tanto, bajo las condiciones en que se desarrolló este experimento, se concluye que altas concentraciones de vitamina E en la dieta de vacas en pastoreo no evita la caída en el porcentaje de grasa en la leche asociada del ácido linoleico conjugado, tampoco tiene efecto en el perfil de lípidos de la leche.

² Artículo enviado a la revista *Livestock Science*, bajo el título “*Vitamin E and Microencapsulated Conjugated Linoleic Acid Interaction on Milk Composition of Grazing Cows*”

2.2. Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of vitamin E on the fat content and fatty acid profile of grazing dairy cows supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. Eight New Zealand Holstein cows in a rotational grazing system were used, in a crossover design, randomly assigned to four treatments: control (base diet with microencapsulated conjugated linoleic acid) and three levels of vitamin E (control with 4000, control with 8000, and control with 12000 UI/cow per day). All the cows received a supplement apportioning 5 g of *cis*-9, *trans*-11, and 5 g of *trans*-10, *cis*-12 of conjugated linoleic acid. Moreover, they each received 4 kg DM concentrate and 3.2 kg DM corn silage every day. There were no differences in dry matter intake, milk production, or milk composition (fat, protein, and lactose) as an effect of vitamin E, and fat content remained under 3% in all treatments. The fatty acid profile of the milk was not modified either, although there was a decrease of 5.7% saturated fatty acids in the treatments with vitamin E. There are also no economic benefits since there is no increase in milk or fat production. Therefore, under the conditions that this experiment was carried out, high concentrations of vitamin E in the diet of grazing dairy cows do not inhibit milk fat depression, associated with conjugated linoleic acid. It also has no effect on the fatty acid profile of the milk.

2.3. Introducción

La industria productora de leche de vaca es una de las ramas de la ganadería de mayor relevancia, no sólo por jugar un papel económicamente importante, sino también por el alto valor nutritivo que posee dicho producto (SAGARPA, 2004). La leche de vaca está compuesta de 4.5 % de lactosa, 3.2 % de proteína y 3.3 % de grasa (Jenkins y McGuire, 2006), este último nutriente lo integran varios tipos de lípidos, principalmente el 95% son triglicéridos, de los cuales 65% corresponden a ácidos grasos saturados, 28% a monoinsaturados y 7% a poliinsaturados (Jensen, 2002; Jenkins y McGuire, 2006). Ante esto, existe el interés de reducir el contenido de grasa, así como el grado de saturación, dado que la grasa es el componente de la leche que más fácilmente puede modificarse (Jenkins y McGuire, 2006),

principalmente a través de cambios en la dieta de las vacas como, por ejemplo, manipulando la cantidad y calidad del forraje, la proporción concentrado:forraje, y la concentración, composición y grado de protección ruminal de los suplementos de grasa utilizados en la alimentación animal (Chilliard *et al.*, 2000).

Al respecto, las dietas formuladas con aceites insaturados disminuyen la concentración de grasa en la leche (Ahnadi *et al.*, 2002), y la degradación de la fibra en el alimento; por consiguiente, la producción de acetato en el rumen también disminuye (Ashes *et al.*, 1997). Se ha reportado que los suplementos de ácido linoleico conjugado (CLA) en la dieta reducen la cantidad de grasa en leche de vaca (Baumgard *et al.*, 2000; Piperova *et al.*, 2004; de Veth *et al.*, 2005), oveja (Lock *et al.*, 2006) y cabra (Gulati *et al.*, 2003; Lock *et al.*, 2008), específicamente cuando se incluye el isómero *trans*-10, *cis*-12. Aún con dosis bajas de 1.25 g/d se reduce el porcentaje de grasa en la leche de vaca por debajo del 3% (Peterson *et al.*, 2002). El CLA es un término colectivo que hace referencia a isómeros del ácido linoleico (*cis*-9,12), siendo los principales el *cis*-9, *trans*-11 y el *trans*-10, *cis*-12 (Parodi, 1997), es un ácido graso presente en la grasa de rumiantes y su importancia radica en su capacidad para inhibir el desarrollo tumoral en diversos órganos como glándula mamaria (Ip *et al.*, 1991) y próstata (Yang *et al.*, 2003) en animales de laboratorio; además, mejora el sistema inmune (Bontempo *et al.*, 2004; Field y Schley, 2004), afecta la composición corporal en ratones (Hargrave *et al.*, 2004), pollos (Badinga *et al.*, 2003), y cerdos (Ramsay *et al.*, 2001; Thiel-Cooper *et al.*, 2001), disminuye la formación de ateromas y estimula el crecimiento de ratas jóvenes (Pariza *et al.*, 2000). Estos beneficios hacen del CLA un factor a considerar en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, dado su potencial para disminuir la grasa en leche, es necesario buscar alternativas que minimicen tal efecto, ya que la Norma Mexicana 700 (NMX-F-700-COFOCALEC-2004) establece que el contenido de grasa en leche debe ser, como mínimo, de 30 g/L. Todos los estudios al respecto indican una disminución de la grasa en leche por efecto del CLA, pero ninguno sugiere la forma de evitar esta disminución. Algunos reportes indican que dosis mayores de 9000 UI de vitamina E al día, en dietas que incluyen aceites vegetales poliinsaturados, pueden incrementar el contenido de grasa en la leche de vaca (Focant *et al.*, 1998;

Pottier *et al.*, 2006); sin embargo, dicha vitamina no se ha utilizado para prevenir la disminución de la grasa en la leche por efecto del CLA en la dieta de las vacas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la interacción de la vitamina E y CLA microencapsulado en la concentración de grasa y el perfil de ácido grasos de leche de vacas en pastoreo.

2.4. Materiales y métodos

Localización y fecha. El estudio se realizó del 2 de junio al 11 de septiembre de 2010 en el Módulo de Producción de Leche en Pastoreo de la Universidad Autónoma Chapingo, en el estado de México, localizado a 19°29' latitud norte y 98°54' longitud oeste, a 2240 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación promedio de 620 mm y temperatura promedio anual de 18°C (García, 1988).

Animales, diseño experimental y tratamientos. Se utilizaron 8 vacas de raza Holstein neozelandés en lactancia (117 ± 97.6 días en lactancia y 2.7 ± 1.9 partos; media \pm desviación estándar) que fueron asignadas aleatoriamente a cuatro tratamientos en un Diseño Crossover. Los tratamientos fueron los siguientes: 1) testigo (dieta base con CLA microencapsulado; 2) 4000 (testigo con 8 g de vitamina E al 50%, equivalentes a 4000 UI de vitamina E); 3) 8000 (testigo con 16 g de vitamina E al 50%, equivalentes a 8000 UI de vitamina E); y 4) 12000 (testigo con 24 g de vitamina E al 50%, equivalentes a 12000 UI). Hubo dos vacas en cada tratamiento.

Alimentación y ordeña. Las vacas estuvieron en pastoreo rotacional, en una pradera mixta de alfalfa (*Medicago sativa*) con pasto ovilla (*Dactylis glomerata*). Diariamente también se administraron individualmente 4 kg de concentrado, mitad en cada ordeña; se adicionaron 50 g de una mezcla de ácidos grasos microencapsulados, que aportaron 5 g de *cis*-9,*trans*-11 y 5 g de *trans*-10,*cis*-12 CLA (Lutrell Pure®, BASF, Alemania; tamaño de partícula de 250 a 850 μ m), y 4000, 8000, o 12000 UI de vitamina E (Microvit E Promix 50, ADISSEO, Estados Unidos de América). Posterior a la ordeña, las vacas se alojaron en un corral donde se les ofreció, individualmente, 1.6 kg de materia seca de ensilado de maíz (Cuadro 1). La

cantidad de concentrado y de ensilado de maíz se ajustó con base al consumo de materia seca previo al experimento, de tal manera que las vacas los consumieran en su totalidad. Las ordeñas se realizaron a las 6:30 y 14:30 h. La producción de leche se midió individualmente durante 5 de los 10 días de muestreo. La leche se pesó justo después de cada ordeña y se obtuvo la producción individual de leche por día. Simultáneamente se colectaron muestras de leche de ambas ordeñas en frascos de plástico (120 mL) y se conservaron en congelación hasta su análisis.

Cuadro 1. Composición del concentrado, ensilado de maíz y forraje.

Composición ¹	Concentrado	Ensilado de maíz	Forraje ²	Dieta total
Ingredientes, g/kg				
Sorgo	70			
Gluten de maíz	18			
Melaza	3.6			
Salvado de trigo	5.4			
Mezcla mineral ³	3			
Análisis químico, %				
Proteína cruda	17.3	9.2	24.3	18.4
FDN	29.7	57.2	38.08	40.2
FDA	7.4	30.2	25.3	21.0
Cenizas	5.1	7.3	8.1	7.0
Ca ⁴	0.48	0.28	1.31	0.80
P ⁴	0.33	0.26	0.37	0.30
EM, Mcal/kg MS ⁴	2.83	2.25	2.57	2.60
EN _L , Mcal/kg MS ⁴	1.80	1.40	1.62	1.64

¹ La composición no incluye el suplemento de CLA microencapsulado, el cual aportó 5 g de *cis*-9, *trans* 11, y 5 *trans*-10, *cis*-12 de CLA por vaca al día. El perfil de lípidos (en % de los metil ésteres de ácidos grasos) fue el siguiente: 16:0 10.89%, 18:0 50.31%, 18:1 *cis*-9 10.66%, 18:2 *cis*-9,*trans*-11 11.99%, 18:2 *trans*-10,*cis*-12 11.88%, otros CLA 0.95%, otros ácidos grasos 3.32% (Pappritz *et al.*, 2011).

²La colecta de muestras de forraje se realizó por pastoreo simulado.

³Vitalal Lechero Plus®. Composición: Ca 16%, P 11%, Cl 10.5%, Na 7%, Mg 5%, S 1%, K 0.5%, Zn 6000 ppm, Mn 4000 ppm, Fe 2939 ppm, Cu 1000 ppm, I 500 ppm, Co 60 ppm, Se 50 ppm, vitamina A 500,000 UI/kg, vitamina D 200,000 UI/kg y vitamina E 1000 UI/kg.

⁴Se estimaron a partir de datos del NRC para ganado lechero (2001).

Consumo de forraje. Se usó óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador externo y cenizas insolubles en ácido (CIA) como marcador interno (Geerken *et al.*, 1987). Durante los cuatro períodos experimentales, los animales recibieron 10 g de sesquióxido de cromo (Cr_2O_3) en dos dosis de 5 g, en el alimento concentrado, en cada ordeña. Las heces se obtuvieron durante cuatro días alternos del período experimental directamente del recto del animal; se colocaron en bolsas de polipapel y se congelaron para su análisis correspondiente en el laboratorio. Posteriormente las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y se mezclaron las cuatro muestras de cada vaca y de cada período, para formar una sola muestra compuesta. A las muestras de heces y a cada uno de los componentes de la dieta total (forraje de la pradera, concentrado y ensilado de maíz) se les determinaron cenizas insolubles en ácido. La determinación de cromo se realizó únicamente en las muestras de heces. Aplicando la fórmula descrita por Church (1988), se calculó la producción diaria de materia fecal:

$$\text{Producción fecal, MS (g d}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Dosis del marcador (g d}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración del marcador en heces (g g}^{-1}\text{ MS)}}$$

A continuación, utilizando el resultado anterior, se estimó el consumo de forraje de la pradera (g MS d^{-1}) de cada vaca con la fórmula que proponen Geerken *et al.* (1987):

$$\text{Consumo MS pradera (g d}^{-1}\text{)} = \frac{\{(CIA)_H \times PTH\} - [\{(CIA)_C \times CTC\} - \{(CIA)_M \times CTM\}]}{(CIA)_P}$$

Donde:

$(CIA)_H$ = Concentración de cenizas insolubles en ácido (CIA) en heces ($g\ kg^{-1}\ MS$)

PTH = Producción total de heces, usando Cr_2O_3 como marcador externo ($g\ d^{-1}$)

$(CIA)_C$ = Concentración de CIA del concentrado ($g\ kg^{-1}\ MS$)

CTC = Consumo total del concentrado (g)

$(CIA)_M$ = Concentración de CIA en el ensilado de maíz ($g\ kg^{-1}\ MS$)

CTM = Consumo total de ensilado de maíz ($g\ d^{-1}$)

$(CIA)_P$ = Concentración de CIA en el forraje de la pradera ($g\ g^{-1}\ MS$)

El consumo total de materia seca (MS) se determinó sumando la cantidad de MS del forraje de la pradera, ensilado de maíz y concentrado consumido por vaca⁻¹ día⁻¹. También se tomaron muestras de forraje de cada potrero mediante el método de pastoreo simulado (hand plucking), un día antes del inicio de cada periodo de muestreo. Las muestras se secaron a 60°C por 48 h, y se guardaron para su análisis químico.

Análisis de laboratorio. La determinación de grasa, proteína y lactosa de la leche se realizó con espectrometría infrarroja (Milko-Scan 133B, Foss Electric, Dinamarca), en el laboratorio de Análisis de Lácteos de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Los análisis de la composición química del forraje de la pradera, ensilado de maíz, concentrado y perfil de ácidos grasos de la leche se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados. Las muestras de alimento se molieron con un molino (Willey) a malla de 1 mm. Los análisis de las muestras de alimento fueron: MS, proteína cruda, cenizas (AOAC, 2000), FDN, FDA (Van Soest *et al.*, 1991), y cenizas insolubles en ácido (Van Keulen y Young, 1977). A las muestras de heces se les determinó la concentración de cromo (Williams *et al.*, 1962). La extracción de grasa de la leche se realizó por el método de Folch *et al.* (1956), con las siguientes modificaciones: se tomaron 8 mL de leche y se centrifugaron, a 10000 rpm durante 15 minutos, en tubos de plástico; de la capa superior que se formó, se pesaron 0.125 g en un tubo de vidrio, se agregaron 5 mL de una mezcla de

cloroformo:metanol (2:1 v:v) y se mezclaron en un vórtex durante 5 minutos. Posterior a esto, se agregó 1 mL de NaCl al 0.9% y se agitó en vórtex durante un minuto. El tubo se colocó en una gradilla y se esperó a que se formaran dos capas, se tomó 1 mL de la capa inferior y se depositó en el matraz de un evaporador giratorio (Rotavapor®, Buchi), con baño maría a 55 °C y se secó junto con una bomba de vacío. Una vez seca la muestra, se agregó 1 mL de hexano en el mismo matraz y se colocó en un tubo eppendorf. Se agregaron 100 µL de KOH al 2N disuelto en metanol, se agitó en el vórtex durante un minuto y se centrifugó a 3000 rpm durante cinco minutos. Por último, se tomó únicamente la capa superior y se colocó en un vial para cromatografía de gases. Los metil ésteres de ácidos grasos de la leche se determinaron en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 utilizando una columna capilar de sílice (100 m x 0.25 mm x 0.20 µm de grosor, SP-2560, Supelco). Se utilizó helio como gas acarreador. La temperatura inicial del horno fue de 110°C y se mantuvo por un minuto, luego se incrementó a 160°C, 0.5°C/minuto, durante 5 minutos, posteriormente se incrementó a 198°C, 7.6°C/minuto, durante 20 minutos y, por último, aumentó a 240°C, 8.4°C/minuto, durante 20 minutos. La temperatura del detector fue de 260°C. La tasa de flujo de hidrógeno al detector fue de 35 mL/minuto; el flujo de aire fue de 350 mL/minuto. Los picos se identificaron y cuantificaron usando el estándar F.A.M.E. mix, C4-C24 Unsaturates No. Cat. 18919 de Sigma-Aldrich®.

Diseño experimental. Se utilizó un Diseño Crossover (Conchran *et al.*, 1941), y los resultados se analizaron utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS Institute, 1999). El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + T_j + (P \times T)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta

μ = Media general

P_i = Efecto del período, $i = 4$

T_j = Efecto del tratamiento, $j = 4$

$(P \times T)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el período y el tratamiento

E_{ijk} = Error experimental

2.5. Resultados y discusión

Consumo de materia seca y producción y composición de la leche

El Cuadro 2 presenta los resultados de consumo de MS y de producción y composición de leche. No hubo diferencias estadísticas en el consumo de MS, la producción de leche y el porcentaje de lactosa y proteína por el efecto del suplemento de vitamina E. Lo anterior, coincide con los datos de otros autores, usando vitamina E en dietas adicionadas con aceites poliinsaturados (Focant *et al.*, 1998; Bell *et al.*, 2006; Pottier *et al.*, 2006). Aunque tampoco hubo diferencias entre tratamientos, el promedio en grasa fue de 2.58%, el valor de 3% es el recomendado por la Norma Mexicana 700 (NMX-F-700-COFOCALEC-2004). La disminución de grasa en leche se debió a la inclusión de CLA microencapsulado en la dieta de las vacas, éste incluye el isómero *trans*-10,*cis*-12, responsable de inhibir la síntesis de grasa en leche (Baumgard *et al.*, 2000; 2002). Resultados similares fueron reportados por de Veth *et al.* (2005) y Kay *et al.* (2007) usando suplementos con *trans*-10, *cis*-12 CLA. El isómero disminuye la expresión de genes lipogénicos en tejido mamario que codifican para enzimas involucradas en el transporte y captación de ácidos grasos, la síntesis *de novo* de ácidos grasos y la síntesis de triglicéridos como la acetil CoA carboxilasa, la ácido graso sintetasa, la glicerofosfato aciltransferasa, la acilglicerofosfato aciltransferasa, la lipoproteína lipasa y la Δ^9 desaturasa (Baumgard *et al.*, 2002). Adicionalmente, el isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA también disminuye la expresión de factores de transcripción de genes relacionados con el metabolismo graso, como el SREBP, THRSP, PPAR α y PPAR γ , los cuales regulan la síntesis de las enzimas mencionadas anteriormente (Harvatine y Bauman, 2006; Kadegowda *et al.*, 2010).

En este estudio, la cantidad de CLA (4 g de *cis*-9, *trans*-11 y 4 g de *trans*-10, *cis*-12) en el suplemento ofrecido a las vacas se determinó de acuerdo al estudio de Peterson *et al.* (2002), quienes utilizaron las dosis de *trans*-10, *cis*-12 CLA más bajas reportadas al momento. Ellos mencionan que la grasa en leche disminuyó

significativamente con 2.5g al día del isómero suplementado, aunque con 1.25 g el porcentaje de grasa ya está por debajo del 3%. Al respecto, la cantidad de grasa que consumieron las vacas fue considerablemente menor a otros reportes (50 g de suplemento vs. \approx 1000 g, respectivamente) y, a pesar de ello, no hubo diferencias por efecto de la vitamina E. Ésto hace suponer que los 4 g de *trans*-10,*cis*-12 CLA contenidos en el suplemento que consumieron diariamente las vacas fueron suficientes para que la grasa en leche se mantuviera por debajo del 3%, lo que confirmaría que el isómero inhibió la síntesis o disminuyó la actividad de enzimas involucradas en la síntesis *de novo* y el transporte de ácidos grasos. Pappritz *et al.* (2010) reportaron disminuciones de 7 y 12% en el contenido de grasa en leche de vaca con el suministro 50g (dosis igual a la utilizada en el presente estudio) y 100 g, respectivamente, del suplemento de CLA en comparación con el tratamiento testigo, aunque sólo fue estadísticamente significativa a partir de la semana 8 y hasta la semana 26 de lactancia, momento en el cual cesó el suministro del ácido linoleico conjugado. Resultados similares fueron reportados por Silg *et al.* (2010) quienes no encontraron diferencias en el contenido de grasa en leche al suministrar 20 g de *trans*-10, *cis*-12 CLA durante las primeras 4 semanas de lactancia de las vacas. Lo anterior, es un indicativo de que el *trans*-10, *cis*-12 CLA no afecta significativamente la concentración de grasa en la leche en la lactancia temprana, dado que durante este período, la mayoría de los ácidos grasos en la leche provienen de la movilización de las reservas corporales de la vaca, más que de la síntesis *de novo*, y los efectos del *trans*-10, *cis*-12 CLA son más importantes en la síntesis *de novo* que en la movilización y transporte de ácidos grasos.

Por otro lado, aún bajo condiciones de pastoreo, cuando el forraje se usa como fuente única de alimento, el consumo CLA es capaz de reducir la concentración de grasa en la leche, como lo indicaron Kay *et al.* (2007). Estos autores reportan disminución de la grasa en leche de vaca del 44% al ofrecer 30 g de *trans*-10,*cis*-12 CLA a vacas pastoreando una pradera mayoritariamente de ryegrass (*Lolium perenne*). Además, es importante mencionar que la reducción en la grasa en leche es dependiente de la dosis de CLA, ya que Peterson *et al.* (2002)

observaron que la grasa en leche disminuyó 6.7, 16.7, y 23.1% cuando a las vacas les suministraban 1.25, 2.5 y 5 g/d de *trans*-10,*cis*-12 CLA .

El presente estudio propone una solución a la disminución de la grasa en leche por efecto del *trans*-10, *cis*-12 CLA; sin embargo, el porcentaje de grasa en la leche no se afectó por las dosis de vitamina E utilizadas cuando se suministró *trans*-10, *cis*-12 CLA a la dieta de las vacas. Varios reportes indican el potencial del isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA para disminuir la grasa en leche, sin que existan estudios que mencionen alguna alternativa que minimice tal efecto. Focant *et al.* (1998) y Pottier *et al.* (2006), encontraron incrementos significativos en la grasa de la leche de vaca utilizando cantidades similares de vitamina E a las usadas en esta investigación (9954 y 12,364 UI/d de α -tocoferol, respectivamente), con dietas que incluyeron alrededor de 1 kg de aceites poliinsaturados (mayoritariamente linaza). Incluso, Bell *et al.* (2006) reportan incrementos de 9.8 y 11.1% en la grasa en leche de vacas que consumieron, en promedio, 1.1 kg de aceites de cártamo y de lino, respectivamente, utilizando únicamente 2700 UI de vitamina E/d, en comparación con la dieta sin vitamina E.

Cuadro 2. Efecto de la vitamina E en el consumo de materia seca, producción y composición de leche de vacas en pastoreo suplementadas con ácido linoleico conjugado microencapsulado.

Variable	Vitamina E, UI/vaca/día				P
	CERO	4000	8000	12000	
Consumo de materia seca, kg/d	13.1 ± 0.66	12.9 ± 0.66	13.0 ± 0.66	13.2 ± 0.63	0.99
Producción de leche, kg/d	18.0 ± 1.83	18.3 ± 1.83	18.1 ± 1.83	18.7 ± 1.82	0.52
Composición, %					
Proteína	3.36 ± 0.13	3.26 ± 0.13	3.23 ± 0.13	3.31 ± 0.13	0.32
Grasa	2.66 ± 0.20	2.47 ± 0.20	2.56 ± 0.20	2.65 ± 0.20	0.24
Lactosa	5.00 ± 0.10	4.88 ± 0.10	4.83 ± 0.10	4.90 ± 0.10	0.30

Medias de mínimos cuadrados ± error estándar.

Perfil de ácidos grasos de la leche

Los metil ésteres de ácidos grasos de la leche tampoco se modificaron por efecto de la vitamina E (Cuadro 3), ni individualmente, ni totales, similar a lo reportado en estudios previos a éste (Focant *et al.*, 1998; Pottier *et al.*, 2006). Sin embargo, en este estudio, los ácidos grasos C18:0 y C18:1 se mantuvieron por debajo de lo reportado para leche de vaca (9-14 y 20-30 g/100 de ácidos grasos, respectivamente; Jensen, 2002). Lo anterior se debió al tipo de alimentación (\approx 70% forraje), ya que ni la vitamina E (Focant *et al.*, 1998; Bell *et al.*, 2006; Pottier *et al.*, 2006) ni el CLA (Kay *et al.*, 2007; Pappritz *et al.*, 2010) afectan la concentración de esos ácidos grasos en la leche. La alimentación a base de forrajes es capaz de alterar el perfil de lípidos de la leche, al respecto, White *et al.* (2001) reportaron una disminución de 13% en la concentración de C18:0 en vacas de raza Holstein y Jersey en pastoreo, comparadas con aquellas en estabulación y alimentadas con ración total mezclada.

El total de ácidos grasos saturados e insaturados (*cis*) en la grasa de la leche tampoco se vieron afectados estadísticamente por la vitamina E, lo cual coincide en dietas que utilizan aceites y vitamina E (Bell *et al.*, 2006; Pottier *et al.*, 2006); no obstante, numéricamente hubo una disminución del 5.7% de los ácidos grasos saturados con los tratamientos que incluyen la vitamina, tendencia similar a lo encontrado por Liu *et al.* (2008) aunque sólo cuando la vitamina E se combinó con selenio en dosis elevadas (10000 UI de vitamina E/vaca y 0.3 mg de selenio/kg de MS), lo que indicaría un efecto sinérgico entre ambos. También se ha reportado que la vitamina E tiene efecto en el perfil de ácidos grasos en animales destinados a carne. Al respecto, Mapiye *et al.* (2012) observaron menor concentración de ácidos grasos saturados en tejido adiposo subcutáneo de novillos suplementados con 1740 UI de vitamina E/día, mientras que Chen *et al.* (2010), en grasa muscular de ovinos, reportan disminución de los ácidos grasos saturados e incremento en los insaturados, cuando la dieta incluye 500 UI de vitamina E. La composición de la grasa de la leche es resultado de la interacción de varios factores tales como la alimentación, el tipo de animal, la raza y el ambiente (Kalac y Samková, 2010), que

en esta ocasión pueden estar involucrados en la respuesta; sin embargo, no fueron considerados ya que el objetivo de nuestro estudio fue diferente.

Cuadro 3. Efecto de la vitamina E en la composición de ácidos grasos de leche de vacas en pastoreo suplementadas con ácido linoleico conjugado microencapsulado.

Compuesto, %	Vitamina E, UI/vaca/día				P
	CERO	4000	8000	12000	
4:0	4.97 ± 0.36	4.37 ± 0.37	4.44 ± 0.36	4.03 ± 0.34	0.32
6:0	3.03 ± 0.23	2.75 ± 0.23	2.87 ± 0.23	2.60 ± 0.21	0.58
8:0	1.94 ± 0.24	1.97 ± 0.25	2.19 ± 0.24	2.03 ± 0.23	0.88
10:0	3.85 ± 0.40	3.82 ± 0.42	3.67 ± 0.40	3.76 ± 0.38	0.99
11:0	0.52 ± 0.05	0.49 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.56 ± 0.05	0.40
12:0	4.25 ± 0.39	4.23 ± 0.40	4.23 ± 0.39	4.13 ± 0.37	1.00
13:0	0.42 ± 0.36	0.24 ± 0.34	1.04 ± 0.33	0.41 ± 0.34	0.37
14:0	11.93 ± 0.76	11.95 ± 0.79	12.20 ± 0.76	11.41 ± 0.72	0.89
14:1	1.23 ± 0.13	1.31 ± 0.13	1.20 ± 0.13	1.22 ± 0.12	0.93
15:0	1.70 ± 0.08	1.61 ± 0.09	1.75 ± 0.08	1.69 ± 0.08	0.75
16:0	24.40 ± 0.65	23.48 ± 0.68	23.07 ± 0.65	23.34 ± 0.62	0.52
16:1	1.53 ± 0.13	1.82 ± 0.14	1.60 ± 0.13	1.54 ± 0.13	0.44
17:0	0.96 ± 0.10	0.95 ± 0.10	1.00 ± 0.10	0.87 ± 0.10	0.84
18:0	7.73 ± 0.53	7.36 ± 0.55	7.47 ± 0.53	7.36 ± 0.50	0.95
18:1	13.90 ± 0.96	14.22 ± 1.00	13.34 ± 0.96	13.55 ± 0.92	0.92
18:2 <i>trans</i> -9,12	0.41 ± 0.09	0.31 ± 0.10	0.31 ± 0.10	0.37 ± 0.09	0.82
18:2 <i>cis</i> -9,12	1.47 ± 0.07	1.39 ± 0.07	1.31 ± 0.07	1.37 ± 0.06	0.36
CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0.42 ^a ±0.08	0.50 ^a ±0.08	0.46 ^a ±0.11	0.97 ^b ±0.17	0.05
18:3	0.54 ± 0.04	0.57 ± 0.04	0.52 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.86
22:0	0.29 ± 0.06	0.32 ± 0.06	0.26 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.91
ΣAGS	65.57 ± 2.29	63.50 ± 2.30	63.89 ± 2.29	62.06 ± 2.23	0.32
ΣAGI	19.40 ± 1.12	19.56 ± 1.13	18.57 ± 1.12	18.74 ± 1.08	0.79
>16C	33.45 ± 1.95	32.60 ± 1.96	33.38 ± 1.95	31.49 ± 1.91	0.56
16:0 + 16:1	26.03 ± 0.85	25.31 ± 0.86	24.77 ± 0.85	24.84 ± 0.81	0.55
<16 C	25.40 ± 1.36	24.28 ± 1.36	25.23 ± 1.37	24.46 ± 1.30	0.86

^{a,b} Medias con diferentes superíndices son estadísticamente diferentes (P<0.05). Medias de mínimos cuadrados ± error estándar.

En referencia a la concentración de CLA en la leche, la dosis más alta de vitamina E la incrementa significativamente (Cuadro 3). A la fecha, no existen reportes que evidencien que la vitamina E afecte la concentración de CLA en la grasa de rumiantes, ya sea en la leche o en tejido adiposo, además de que los estudios sobre ello son escasos. Al respecto, Pottier *et al.* (2006), reportaron aumentos en la cantidad de CLA (g/d) en la leche por efecto del aumento en la concentración de grasa en la leche de vacas que se suplementaron con 12,000 UI de vitamina E/d y, aunque la concentración de CLA sí fue mayor en el tratamiento con vitamina E, 1.14% en comparación con 0.95%, estadísticamente no fueron significativos. La misma tendencia fue reportada por Liu *et al.* (2008) cuando las vacas se suplementaron con 10,000 UI, pero no con 5,000 UI de vitamina E/d. Cabe señalar que, si bien hubo incremento significativo en la concentración de CLA por efecto de la vitamina E (0.97%), ésta es considerablemente menor que la obtenida con suplementos en la dieta como el aceite de cártamo (3.36%) (Bell *et al.*, 2006) o de pescado (6.05%) (Castañeda-Gutiérrez *et al.*, 2007).

Impacto económico

En los sistemas de producción, uno de los aspectos de mayor interés es el económico. En este estudio no se tomaron en cuenta costos de depreciación de ganado, servicios, medicamentos o servicio veterinario, sólo fueron considerados la alimentación (concentrado, ensilado de maíz y forraje), así como el costo de los suplementos de ácido linoleico conjugado y de vitamina E. El Cuadro 4 muestra el costo por consumo, sin considerar la vitamina E, es muy similar entre tratamientos. Las variaciones se deben a los pequeños cambios en el consumo de forraje de pradera, ya que el consumo de concentrado y de ensilado de maíz fueron similares para las vacas de los cuatro tratamientos. Sin embargo, el costo total de la dieta se eleva 4, 9 y 14% cuando se incluyen 4000, 8000 o 12000 UI de vitamina E, respectivamente, comparado con el costo de la dieta sin vitamina E.

Cuadro 4. Costos (en dólares) por concepto de alimentación y producción de leche de vacas en pastoreo con diferentes niveles de vitamina E.

Variable	Tratamiento			
	Vitamina E, UI/día			
	CERO	4000	8000	12000
No. Vacas	8	8	8	8
Costo por consumo, día ⁻¹	35.7	35.6	35.6	35.7
Costo por consumo de vitamina E, día ⁻¹	0	1.7	3.4	5.2
Costo total por consumo, día ⁻¹	35.7	37.3	39.0	40.9
Kilos leche total, día ⁻¹	144	146.4	144.8	149.6
Ingreso por venta leche*, día ⁻¹	63.4	64.4	63.7	65.8
Ingreso ² , día ⁻¹	27.7	27.1	24.7	24.9
Ingreso ³ , mes ⁻¹	831.0	813.0	741	747

¹ El precio del litro de leche fue de \$0.44

² Ingreso = ingreso por venta de leche por día – costo dieta por día.

³ Mes de 30 días.

El ingreso por venta de leche se incrementó con los tratamientos que incluyen vitamina E, hasta 4% con 12000 UI por vaca al día, aunque este aumento no fue capaz de cubrir el costo que implica suministrar tales dosis de vitamina E. Todo esto repercute en el ingreso general, ya que con las dietas que incluyen 4000, 8000 y 12000 UI de vitamina E, el ingreso se disminuye en 2, 10.9, 12.6%, respectivamente. Sin embargo, sería conveniente realizar otras determinaciones, como de CLA o de ácidos grasos *trans* C18:1 en la grasa de la leche con fin de establecer el costo:beneficio de la utilización de los suplementos de CLA y vitamina E en la dieta de vacas. Los estudios en los cuales se utilizan suplementos de CLA en la dieta de las vacas reportan incrementos significativos de CLA en la grasa de la leche de esos animales (Perfield *et al.*, 2004; de Veth *et al.*, 2005; Kay *et al.*, 2007), mientras que los estudios con vitamina E en la dieta indican que ésta evita la formación de *trans*-10 C18:1 e incrementa el *trans*-11 C18:1 (denominado ácido vaccénico) tanto en la grasa de leche de vaca (Bell *et al.*, 2006; Pottier *et al.*, 2006) como en la grasa de

carne de bovino (Mapiye *et al.*, 2012). La importancia del ácido vaccénico radica en que, al igual que el CLA, ha mostrado tener propiedades anticancerígenas (Bauman *et al.*, 2006), mientras que el *trans*-10 C18:1 no, además de que el ácido vaccénico puede ser desaturado a CLA en los individuos que lo consumen, incluso humanos (Santora *et al.*, 2000; Turpeinen *et al.*, 2002).

2.6. Conclusiones

La vitamina E en la dieta de vacas en pastoreo no evita la caída en el porcentaje de grasa en la leche por efecto del suplemento de CLA, así como tampoco afecta el perfil de ácidos grasos de la leche, pero sí concentración de CLA; sin embargo, tal incremento no es tan elevado como aquel obtenido con el uso de aceites vegetales o de pescado. Es conveniente realizar más análisis que permitan conocer el contenido de otros ácidos grasos, como los *trans* C18:1. Se requiere más investigación básica con otros suplementos así como con la vitamina E misma, que expliquen su papel en la concentración y disminución de grasa en la leche de vaca por efecto de incluir el *trans*-10, *cis*-12 CLA en la dieta y, de este modo, obtener un producto con mayor beneficio en la salud de los consumidores y que, al mismo tiempo, cumpla con los estándares de calidad actuales.

2.7. Literatura citada

- Ahnadi C. E., N. Beswick L. Delbecchi, J. J. Kennelly, and P. Lacasse. 2002. Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *Journal of Dairy Research*. 69:521-531.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 5^a ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, EE.UU
- Ashes J.R., S.K. Gulati, and T.W. Scott. 1997. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *Journal of Dairy Science*, 80:2204-2212.
- Badinga L., K.T. Selberg, A.C. Dinges, C.W. Comer, and R.D. Miles. 2003. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipids content and fatty acid composition in broilers chickens. *Poultry Science*, 82:111-116.

- Bauman D.E., I.H. Mather, R.J. Wall and A.L. Lock. 2006. Major advances associated with biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, 89:1235-1243.
- Baumgard L.H., B.A. Corl, D.A. Dwyer, A. Saebo y d.e. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal of Physiology*, 278:R179-R184.
- Baumgard L.H., E. Matitashvili, B.A. Corl, D.A. Dwyer, and D.E. Bauman. 2002. *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 2155-2163.
- Bell J.A., J.M. Griinari, and J.J. Kenelly. 2006. Effect of safflower oil flaxseed, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*, 89:733-748.
- Bontempo V., D. Sciannimanico, G. Pastorelli, R. Rossi, F. Rosi, and Carlo Corino. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *Journal of Nutrition*, 134:817-824.
- Chen X.J., H.L. Mao, X.N. Ma, and J.X. Liu. 2010. Effects of dietary corn oil and vitamin E supplementation on fatty acid profiles and expression of acetyl CoA carboxylase and stearoyl-CoA desaturase gene in Hu sheep. *Animal Science Journal*, 81: 165-171.
- 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. *Annales de Zootechnie*, 49:181-205.
- Church D.C. 1988. Fecal composition, mathematics of digestion balances and markers. p. 39-57. In D.C. Church (ed) *The Ruminant Animal Digestive: Physiology and Nutrition*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey USA.
- Conchran W.G., K.M. Autrey and C.Y. Cannon. 1941. A double change over designs for Dairy Cattle feeding experiments. *Journal of Dairy Science*, 24:937-42.
- De Veth M.J., S.K. Gulati, N.D. Lichini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 88:1685-1693.

- Field C.J., and P.D. Schley. 2004. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n-3 fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:1190S-1198S.
- Focant M., E. Mignolet, M. Marique, F. Clabots, T. Breyne, D. Dalemans, and Y. Larondelle. 1998. The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapessed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *Journal of Dairy Science*, 81:1095-1101.
- Folch J., M. Lees, and G.H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497-509.
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. *Enriqueta García de Miranda, México D.F.*, 217 pp.
- Geerken C.M., D. Calzadilla, y R. González. 1987. Aplicación de la técnica de dos marcadores para medir el consumo de pasto y la digestibilidad de la ración de vacas en pastoreo suplementadas con concentrado. *Pastos y forrajes*, 10: 266-273.
- Gulati S.K., C. Wijesundera, E. Byers, and T.W. Scott. 2003. Rumen protected conjugated linoleic acid (CLA) methyl esters decrease milk fat and increase CLA concentration in goat milk. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21:838-844.
- Hargrave K.M., B.J. Meyer, C. Li, M.J. Azain, C.A. Baile, and J.L. Miner. 2004. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obesity Research*, 12: 1435-1444.
- Harvatine K.J., and D.E. Bauman. 2006. SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. *Journal of Nutrition*, 136: 2468-2474.
- Hino T., N. Andoh, H. and Ohgi. 1993. Effects of β -carotene and α -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long chain fatty acids and cellulose. *Journal of Dairy Science*, 76: 600-605.

- Ip C., S.F. Chin, J.A. Scimeca, and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer preventive by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, 51:6118-6124.
- Jenkins T.C., and M.A. McGuire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, 89:1302-1320.
- Jensen R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85:295-350.
- Kadegowda A.K., E.E. Connor, B.B. Teter, J. Sampugna, P. Delmonte, L.S. Piperova, and R.A. Erdman. 2010. Dietary *trans* fatty acid isomers differ in their effects on mammary lipid metabolism as well as lipogenic gene expression in lactating mice. *Journal of Nutrition*, 140: 919-924.
- Kalac P., and E. Samková. 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 55:521-537.
- Kay J.K., T.R. Mackie, D.E. Bauman, N.A. Thomson, and L.H. Baumgard. 2007. Effects of a supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on bioenergetics and milk production parameters in grazing dairy cows offered ad libitum or restricted pasture. *Journal of Dairy Science*, 90:721-730.
- Lock A.L., B.M. Teles, J.W. Perfield, D.E. Bauman, and L.A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep. *Journal of Dairy Science*, 89:1525-1532.
- Lock A.L.; Rovai M., Gipson T.A, de Veth M.J., and Bauman D.E. 2008. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 91:3291-3299.
- Mapiye C, M. E. R. Dugan, M. Juárez, J. A. Basarab, V. S. Baron, T. Turner, X. Yang, N. Aldai and J. L. Aalhus. 2012. Influence of α -tocopherol supplementation on *trans*-18:1 and conjugated linoleic acid profiles in beef from steers fed a barley-based diet. *Animal*, Available on <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731112000730>. Publicado en línea: 3 de abril de 2012.

- NMX-F-700-COFOCALEC-2004 “Sistema producto leche – Alimento – Lácteo – Leche cruda de vaca – Especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba”.
- NRC. 2001. Nutrient requirement of dairy cattle. 7th revised edition. National Research Council, National Academy Press. Washington D.C., U.S.A.
- Pappritz J., U. Meyer, R. Kramer, E.M. Weber, G. Jahreis, J. Rehage, G. Flachowsky, and S. Dänicke. 2011. Effects of long-term supplementation of dairy cow diet with rumen protect conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. Archives of Animal Nutrition, 65:89-107.
- Pariza M.W., Y. Park, and M.E. Cook. 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. Society for Experimental Biology and Medicine, 223:8-13.
- Parodi P.W. 1997. Cow’s milk fat components as potential anticarcinogenic agents. Journal of Nutrition, 127:1055-1060.
- Peterson D.G., L.H. Baumgard, and D.E. Bauman. 2002. Short communication: Milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). Journal of Dairy Science, 85: 1764-1766.
- Piperova L.S., U. Moallem, B.B. Teter, J. Sampugna, M.P. Yurawecz, K.M. Morehouse, D. Luchini, and R.A. Erdman. 2004. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of *trans*-18-1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 87:3836-3844.
- Pottier J., M. Focant, C. Debier, G. De Buysser, C. Goffe, E. Mignolet, E. Friodmont, and Y. Larondelle. 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. Journal of Dairy Science, 89:685-692.
- Ramsay T.G., C.M. Evoke-Clover, N.C. Steele, and M.J. Azain. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. Journal of Animal Science, 79:2152-2161.

- SAGARPA. 2004. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Situación actual de la producción de leche de bovino en México. Coordinación General de Ganadería. México. <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg>.
- Santora J.E., D.L. Palmquist, and K.L. Roehring. 2000. Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice. *Journal of Nutrition*, 130:208-215.
- SAS Institute. 1999. *SAS User's Guide: Statistics*. 8th ed. Sas Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Sigl T, G. Schlamberger, H.Kienbergen, S.Wiedemann, H.H.D. Meyer y M. Kaske. 2010. Rumen-protected conjugated linoleic acid supplementation to dairy cows in late pregnancy and early lactation: effects on milk composition, milk yield, blood metabolites and gene expression in liver. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52:16.
- Thiel-Cooper R.L., F.C. Parrish Jr., J.C. Sparks, B.R. Wiegand, and R.C. Ewan. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *Journal of Animal Science*, 79:1821-1828.
- Turpeinen A.M., M. Mutanen, A. Aro, I. Salminen, S. Basu, D.L. Palmquist, and M. Griinari. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans, *American Journal of Clinical Nutrition*, 76:504-510.
- Van Keulen J., and B.A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44:282-287.
- Van Soest P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
- Weiss W.P. and D.J. Wyatt. 2003. Effect of dietary fat and vitamin E on α -tocopherol in milk from dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86:3582-3591.
- White S.L., J.A. Bertrand, M.R. Wade, S.P. Washburn, J.T. Green Jr., and T.C. Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and

Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84:2295-2301.

Williams C.H., D.J. David, and O. Lisma. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science (Camb.)*, 59: 381-382.

Yang H., J. Holcroft, B.W. Glickman, and J.G. de Boer. 2003. Conjugated linoleic acid inhibits mutagenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol[4,5-b] pyridine in the prostate of Big Blue ® rats. *Mutagenesis*, 18:195-200.

CAPÍTULO III

EFFECTO DE LA VITAMINA E EN LA DIGESTIÓN DE NUTRIENTES EN NOVILLOS SUPLEMENTADOS CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO MICROENCAPSULADO

3.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la vitamina E en la digestión de nutrientes en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado microencapsulado. Se utilizaron 4 novillos Holstein canulados ruminal y duodenalmente en un Diseño experimental en Cuadro Latino 4 x 4, asignados aleatoriamente a cuatro tratamientos: testigo (dieta base con ácido linoleico conjugado microencapsulado) y tres niveles de vitamina E (4000, 8000 y 12000 UI/novillo por día). A todos los novillos se les colocó intraruminalmente el suplemento que aportó 5 g de *cis*-9, *trans*-11 y 5 g de *trans*-10,*cis*-12 de ácido linoleico conjugado, y la dosis de vitamina E de acuerdo al tratamiento asignado. El consumo de MS se restringió al 2.1% del PV inicial. No hubo diferencias estadísticas significativas en el pH ruminal y la producción de ácidos grasos volátiles por efecto de la vitamina E. La digestión de nutrientes tampoco de afectó estadísticamente; sin embargo, numéricamente ($P < 0.15$), la digestión ruminal de la FDN mejoró en el tratamiento con 12000 UI de vitamina E, y de la FDA ($P < 0.25$) en los tratamientos con 4000, 8000 y 12000 UI de vitamina E; así mismo, la digestión postruminal de la MO mejoró numéricamente ($P < 0.17$), al igual que la digestión total de la MO ($P < 0.27$) y la proteína ($P < 0.21$) en los tratamientos con 8000 y 12000 UI de vitamina E. Por lo tanto, se concluye la vitamina E mejora la digestión ruminal, postruminal y total de algunos nutrientes, sin afectar considerablemente el pH ruminal y la producción de ácidos grasos volátiles. Se necesita aún más investigación que explique el papel de la vitamina E en la digestión de nutrientes a lo largo de todo el tubo digestivo.

3.2. Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of vitamin E on the digestion of nutrients in steers supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. Four Holstein steers cannulated in the rumen and duodenum were used in a 4 x 4 Latin Square design, randomly assigned to four treatments: control (basal diet with microencapsulated CLA) and three levels of vitamin E (4000, 8000 and 12000 IU/steer per day). A supplement providing 5 g of *cis*-9, *trans*-11 and 5 g of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid, and the dose of vitamin E according to treatment was intraruminally delivered. Dry matter intake was restricted to 2.1% of initial BW. There were no statistically significant differences in ruminal pH and volatile fatty acid production by the effect of vitamin E. The digestion of nutrients was not statistically affected either, but there was a trend to improve ruminal digestion of NDF ($P < 0.15$) in the treatment with 12000 IU of vitamin E, and ADF ($P < 0.25$) in treatments with 4000, 8000 and 12000 IU of vitamin E. There was also a trend to improve post-ruminal digestion of OM ($P < 0.17$) and total digestion of OM ($P < 0.27$) and protein ($P < 0.21$) in treatments with 8000 and 12000 IU of vitamin E. It is concluded that vitamin E improves ruminal, post-ruminal and total digestion of some nutrients, but does not affect ruminal pH and volatile fatty acid production. Further research is needed to explain the role of vitamin E on the digestion of nutrients throughout the gastrointestinal tract.

3.3. Introducción

La vitamina E se conoce desde 1922 como un nutriente esencial para la reproducción, y en la actualidad es conocida como antioxidante (Brigelius-Flohé y Traber, 1999). En ganado bovino, la vitamina E mejora el estatus inmunológico (Rivera *et al.*, 2002; Weiss *et al.*, 2009) y la función reproductiva al incrementar la viabilidad embrionaria (Sales *et al.*, 2008) y reduce la incidencia de retenciones placentarias (LeBlanc *et al.*, 2002). Además, disminuye la prevalencia y severidad de infecciones intramamarias (Rezamand *et al.*, 2007; Nyman *et al.*, 2008), previene la oxidación de la grasa de la leche (Al-Mabruk *et al.*, 2004; van Aardt *et al.*, 2005) y de la carne (Roeber *et al.*, 2001), incrementando su vida en anaquel, especialmente

cuando la dieta de los animales incluye aceites vegetales poliinsaturados. Adicionalmente, la vitamina E reduce la formación de aminas heterocíclicas aromáticas, conocidos mutágenos y carcinógenos formados durante la cocción de la carne a temperaturas elevadas (Juárez *et al.*, 2010), y mejora la digestión de la celulosa en dietas adicionadas con aceites vegetales (Hino *et al.*, 1993).

La literatura indica que la vitamina E no es sintetizada por microorganismos del rumen (Persson-Waller *et al.*, 2007), pero algunos de sus derivados, como el α -tocoferolquinona y el α -tocoferolquinol, sí son sintetizados por *Butyrivibrio fibrisolvens* (Huges y Tove, 1982), bacteria ruminal involucrada en la fermentación de sustratos fibrosos, como la celulosa y hemicelulosa (Varga y Kolver, 1997); además, esta bacteria es la encargada de realizar la biohidrogenación del ácido linoleico, proceso en el cual interviene el α -tocoferolquinol como donador de electrones. Al oxidarse dos moléculas de α -tocoferolquinol, se aportan los electrones requeridos para la reducción de las uniones *cis* de un ácido graso, transformándolo a una configuración *trans*, dando lugar al *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoato, conocido comúnmente como ácido linoleico conjugado (CLA) (Huges y Tove, 1980).

El CLA es un término colectivo que hace referencia a isómeros del ácido linoleico (*cis*-9,12), siendo los principales el *cis*-9, *trans*-11 y el *trans*-10, *cis*-12 (Parodi, 1997). Es un ácido graso presente en la grasa de rumiantes y su importancia radica en la capacidad que posee para inhibir el desarrollo tumoral en diversos órganos como glándula mamaria (Ip *et al.*, 1991) y próstata (Yang *et al.*, 2003); mejorar el sistema inmune (Bontempo *et al.*, 2004; Field y Schley, 2004), disminuir el tejido adiposo (Badinga *et al.*, 2003; Hargrave *et al.*, 2004; Ramsay *et al.*, 2001), y estimular el crecimiento de individuos jóvenes (Pariza *et al.*, 2000). Estos beneficios hacen del CLA un factor a considerar en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, es susceptible a la biohidrogenación por parte de las bacterias ruminales cuando se incluye como suplemento en la dieta y no se protege adecuadamente, ya sea en forma de sales de calcio (Perfield *et al.*, 2002), con formaldehído (de Veth *et al.*, 2005), unido a amidas (Moon *et al.*, 2008) o microencapsulado (Silg *et al.*, 2010), incrementando la cantidad de radicales libres por peroxidación de los ácidos grasos. Aun así, en todos los organismos se generan

radicales libres que son producto del metabolismo normal de las células, lo cual también ocurre en el rumen (Miller y Brezeinska-Slebodizinska, 1993). En este punto, debido a su acción antioxidante, la vitamina E disminuiría la generación de radicales libres y evitaría daños en las membranas de las bacterias del rumen mejorando, básicamente, la digestibilidad de la fibra y la fermentación ruminal en general (Hino *et al.*, 1993; Vázquez-Añón y Jenkins, 2006), al disminuir el estrés del ambiente ruminal (Holovská *et al.*, 2002). Sin embargo, la información disponible de los efectos de la vitamina E en la digestión de nutrientes de rumiantes es escasa. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la vitamina E en la digestión de nutrientes en novillos suplementados con CLA.

3.4. Materiales y métodos

Localización y fecha. El estudio se realizó del 1 de noviembre de 2009 al 20 de febrero de 2010 en la Unidad Metabólica de Rumiantes del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en el km 36.5 de la Carretera México- Texcoco, Montecillo, Código Postal 56230, estado de México, en las coordenadas geográficas 19° 28' latitud norte y 98° 53' longitud oeste con una altitud de 2250 m (García, 1988).

Animales, diseño experimental y tratamientos. Se utilizaron 4 novillos Holstein machos (PV inicial promedio de 450 ± 93 kg), canulados ruminal y duodenalmente (Zinn y Plascencia, 1993), asignados aleatoriamente en un Diseño Experimental en Cuadro Latino 4 x 4. La cánula duodenal fue insertada en la parte proximal del duodeno. Antes de iniciar con el primer período experimental, a los cuatro novillos se les aplicó una bacterina-toxoide (Bobact 8[®], Intervet/Schering Plough Animal Health), y se desparasitaron con ivermectina (Ivomec-F[®], Merial). Los animales se alojaron en corrales individuales de 10 m², con piso de concreto, con libre acceso al agua en bebederos de concreto, localizados al frente de cada corral, junto al comedero.

Tratamientos. Los tratamientos fueron los siguientes: 1) testigo (dieta base con 50 g de CLA microencapsulado (Lutrell Pure[®], BASF, Alemania; tamaño de partícula de 250 a 850 µm), 2) 4000 (testigo + 4000 UI de vitamina E); 3) 8000

(testigo + 8000 UI de vitamina E); y 4) 12000 (testigo + 12000 UI de vitamina E). La vitamina E que se utilizó fue como DL-acetato de tocoferol (Microvit E Promix 50, ADISSEO, Estados Unidos de América). En todos los tratamientos se incluyó sesquióxido crómico al 0.3% de consumo de alimento (base seca) como marcador para la determinación de la digestibilidad de nutrientes. El CLA microencapsulado, la vitamina E, y el sesquióxido crómico se colocaron directamente en el rumen, una vez al día, a la misma hora como se detalla a continuación: diariamente, durante la alimentación matutina, se destapó cuidadosamente la cánula ruminal evitando que el contenido del rumen saliera. Posteriormente, se colocaron manualmente en la región ventral del rumen bolsas de papel que contenían, por separado, el CLA microencapsulado, la vitamina E y el sesquióxido crómico previamente pesados (utilizando una báscula analítica), de acuerdo al tratamiento asignado. Una vez realizado lo anterior, inmediatamente se tapó la cánula, con el objetivo de minimizar la entrada de aire en el rumen.

Alimentación. La composición de la dieta, que fue la misma para todos los novillos, se muestra en el Cuadro 1. El consumo se restringió al 2.1% del peso vivo de cada uno de los animales al inicio del experimento, dividido en dos tomas a intervalos de 12 horas (0700 y 1900). La restricción en el consumo se hizo con el objetivo de mantener constante el consumo para evitar variaciones en la excreción (Merchen, 1993). El suplemento de CLA microencapsulado (50 g) aportó, por lo menos, 5 g de CLA microencapsulado *cis*-9, *trans*-11 y 5 g de *trans*-10, *cis*-12. El perfil de lípidos (en % de los metil ésteres de ácidos grasos) de este suplemento fue: 10.89% de ácido palmítico (16:0), 50.31% de ácido esteárico (18:0), 10.66% de ácido oleico (18:1), 11.88% de *cis*-9, *trans*-11 (CLA 18:2), 11.99% de *trans*-10, *cis*-12 (CLA 18:2), 0.95% de otros CLA, y 3.32% de otros ácidos grasos (Pappritz *et al.*, 2011).

Cuadro 1. Ingredientes y composición de la dieta base.

Ingredientes	Porcentaje, % (base seca)
Maíz hojuelado	58.87
Alfalfa deshidratada	18.24
Paja de avena	13.68
Melaza	5.39
Pasta de soya	1.49
Carbonato de calcio	0.91
Urea	0.75
Minerales traza ¹	0.50
Óxido de magnesio	0.16
Composición	
PC, %	13.27
FDN, %	33.53
FDA, %	12.08
Cenizas, %	7.69
ENm, Mcal/kg ²	1.83
ENg, Mcal/kg ²	1.19
Ca, % ²	0.72
P, % ²	0.25
Mg, % ²	0.27

¹Los minerales contienen lo siguiente: CoCO_3 , 0.030%; CuSO_4 , 1.04%; FeSO_4 , 3.57%; ZnO , 1.24%; MnSO_4 , 1.07%; KI , 0.052%; NaCl , 92.96.

²Se estimaron a partir de datos del NRC para ganado bovino de engorda (1996).

Muestreo. Los cuatro períodos experimentales consistieron en 10 días de adaptación a la administración de CLA y vitamina E vía ruminal, seguido de 4 días de colección de muestras. Durante el período de muestreo se colectaron muestras de líquido duodenal y heces, dos veces al día, a los cuatro novillos, en los siguientes horarios: día 1, 0800 y 1400; día 2, 0950 y 1550; día 3, 1100 y 1700; día 4, 0650 y 1250. Cada muestra individual consistió en 750 mL de líquido duodenal y 400 g (base húmeda) de heces. Las muestras de cada novillo dentro de cada período de colección se mezclaron para obtener una muestra compuesta. En el último día de colección, se tomaron muestras de líquido ruminal (vía cánula ruminal), y de sangre 5 horas después de la alimentación de la mañana. La determinación de pH de líquido ruminal se realizó en la muestra fresca, utilizando un potenciómetro. Para conservar las muestras de líquido ruminal hasta su análisis, éstas se colaron, se les agregó ácido meta-fosfórico al 25%, en una proporción 4:1, respectivamente, y se

almacenaron a -6°C para el análisis de ácidos grasos volátiles (AGV's). Además, se tomaron muestras de alimento dentro de cada período experimental para su análisis.

Análisis de las muestras. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados. Todas las muestras, excepto líquido ruminal, se analizaron para MS (en estufa a 100° C hasta llegar a peso constante), cenizas, N (microKjeldahl) (AOAC, 2000), FDN, y FDA (Van Soest *et al.*, 1991). A las muestras de líquido duodenal y heces se les determinó cromo por espectrofotometría de absorción atómica (Williams *et al.*, 1962). A las muestras de líquido ruminal se les determinó AGV's en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer 500 (Wellesley, Massachussets, Estados Unidos de América) equipado con un detector de ionización de flama y una columna capilar Elite FFAP (15 m x 0.25 mm). Se utilizó hidrógeno como gas acarreador con un flujo de 15 mL/min, a 60 psi. La temperatura inicial del horno fue de 140°C y se incrementó a 250°C con una rampa de 2°C. La temperatura del detector fue de 250°C.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño en Cuadro Latino 4 x 4 y se utilizó el procedimiento PROC GLM del programa SAS (1999) para el análisis estadístico de los datos. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + P_j + T_k + E_{ijk},$$

Donde:

B_i = efecto del novillo, $i = 4$

P_j = efecto del período, $j = 4$

T_k = efecto del tratamiento, $k = 4$

E_{ijk} = error experimental.

3.5. Resultados y discusión

En el Cuadro 2 se muestra el efecto de la vitamina E en el pH y producción de AGV's en el rumen de novillos suplementados con CLA. Se observa que la proporción acetato:propionato:butirato se encuentra dentro de lo reportado para bovinos que consumen una dieta alta en forraje (70:20:10, respectivamente) (Herdt, 1999) y, excepto para el porcentaje de butirato, no existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Este resultado concuerda con el reportado por Vázquez-Añón y Jenkins (2007), utilizando etoxiquina y terbutil-hidroxiquinona (0.02%) como antioxidantes en un cultivo de líquido ruminal adicionado con 3% de grasa. Sin embargo, Naziroglu *et al.* (2002) reportaron que los niveles de acetato y propionato se incrementaron en un estudio *in vitro* con líquido ruminal (100 mL) que contenía 0.8 mg de vitamina E. Además, aunque estadísticamente no es significativo, la cantidad de acetato y propionato tiende a disminuir con la inclusión de vitamina E, en especial con 4000 y 8000 UI, lo cual se refleja en la disminución de 9.7, 10.1 y 8.5 % el total de los tres principales AGV's, cuando se incluyen 4000, 8000 y 12000 UI de vitamina E, respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo. Este comportamiento sugiere que otros AGV's, como isobutirato, isovalerato, y 2-metilbutirato, tenderían a aumentar, y dado que están involucrados en la síntesis bacteriana de lípidos a nivel de membrana y de aminoácidos ramificados (Bryant, 1970), es un aspecto positivo a considerar. Al respecto, Vázquez-Añón y Jenkins (2007) indican que la cantidad de isobutirato (mmol/d) se redujo en un cultivo ruminal adicionado con etoxiquina y terbutil-hidroxiquinona al 0.02%, usados como antioxidantes; desafortunadamente, tal AGV no fue sujeto de análisis en este estudio y no existen reportes que indiquen el efecto de la vitamina E sobre la producción de AGV's de cadena ramificada.

Cuadro 2. Efecto de la vitamina E en el pH y perfil de ácidos grasos volátiles en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado.

Variable	Vitamina E, UI/d				CV	P
	CERO	4000	8000	12000		
pH ruminal	5.96	5.98	6.04	5.90		0.84
AGV's, mol/100 mol						
Acetato	70.4	64.5	64.3	65.5	12.8	0.78
Propionato	17.6	16.8	16.2	15.2	19.5	0.86
Butirato ^x	8.3	6.6	7.0	8.1	15.3	0.12
Σ ^c	96.3	87.8	87.5	88.8	13.6	0.80
AGV's, %						
Acetato	73.1	73.5	73.7	73.8	1.9	0.99
Propionato	18.2	19.0	18.2	17.3	8.6	0.44
Butirato ^{xy}	8.6 ^{ab}	7.5 ^a	8.0 ^{ab}	9.0 ^b	8.5	0.02

^{a,b}Valores con diferente superíndice son estadísticamente diferentes, P<0.05.

^x4000 vs 8000 y 12000, P < 0.05.

^y8000 vs 12000, P < 0.05.

^cΣ= acetato+propionato+butirato

Los resultados de la digestión de nutrientes se muestran en el Cuadro 3. No hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Estos resultados contrastan con los reportado por Hino *et al* (1993) y Vázquez-Añón y Jenkins (2007), en estudios *in vitro*, quienes encontraron incrementos en la digestión ruminal de la celulosa, y de la FDN y FDA, cuando adicionaron α-tocoferol y β-caroteno, y etoxiquina y terbutil-hidroquinona, respectivamente, en cultivos que contenían grasa, lo que indica que los antioxidantes mejoran la digestión de la fibra al favorecer la actividad celulolítica de las bacterias del rumen en presencia de lípidos, mecanismo que aún no se conoce a detalle pero que varía dependiendo del tipo de antioxidante y del tipo de grasa. En este estudio se mejoró la digestión ruminal de la FDN (P<0.15) en el tratamiento con 12000 UI de vitamina E, y de la FDA (P<0.25) en los tratamientos con 4000, 8000 y 12000 UI de vitamina E, resultados que respaldan lo reportado por los autores antes mencionados con la diferencia que nuestro estudio fue llevado a cabo *in vivo*. Además, es importante señalar que todos los animales de todos los tratamientos incluyeron un suplemento de CLA microencapsulado con la intención de incrementar el flujo de este ácido graso hacia duodeno. El microencapsulado del CLA es un mecanismo de protección contra el

ataque de las bacterias del rumen, por lo que su efecto a nivel ruminal es prácticamente nulo, contrario a los estudios antes mencionados los cuales tuvieron por objetivo mejorar la digestión ruminal de nutrientes en presencia de lípidos, debido a que, cuando se les incluye en la dieta (grasa, aceites de oleaginosas y granos de destilería), producen radicales libres (Andrews *et al.*, 2006) y afectan el metabolismo ruminal, en especial de la fibra (Hino *et al.*, 1993). En un futuro, nuestro objetivo será evaluar la capacidad del CLA microencapsulado para llegar a intestino delgado, ser absorbido y depositado en los tejidos de interés.

Respecto a digestión postruminal de la MO, ésta también mejoró ($P < 0.17$), sugiriendo que el efecto de la vitamina E no se limita al rumen, sino actúa a nivel intestinal. Lo anterior es posible si se considera que la absorción de vitamina E es similar a la de lípidos (dada su característica de vitamina liposoluble), siendo el intestino delgado donde se lleva a cabo la mayor parte de su absorción (Church *et al.*, 2003). Sin embargo, la mayor parte de la investigación sobre la absorción, metabolismo y excreción de vitamina E se ha realizado principalmente en ratas y, en menor medida, en humanos (Bjorneboe *et al.*, 1990; Kayden y Traber, 1993). El mecanismo por el cual la vitamina E mejora la digestión de la fibra en el rumen aún no se conoce con certeza, pero las hipótesis al respecto indican que mejora las condiciones para las bacterias ruminales involucradas en la degradación de la fibra, en especial de *Butyrivibrio fibrisolvens*, ya que actúa como precursor o restaurador de α -tocoferolquinona y el α -tocoferolquinol. Ambos intermediarios de la vitamina E se requieren para que *Butyrivibrio fibrisolvens* realice adecuadamente la biohidrogenación del ácido linoleico (Huges y Tove, 1980, 1982). Lo anterior repercutiría en la cantidad de CLA disponible que llega a intestino delgado. Por lo anterior, sería interesante conocer el papel de la vitamina E en el proceso de biohidrogenación de ácidos grasos en el rumen, ya que existen reportes que indican que incrementa el contenido de ácido vaccénico en la grasa de la carne bovino (Juárez *et al.*, 2010), el cual es precursor de CLA a nivel tisular (Santora *et al.*, 2000). Por otro lado, se ha demostrado que la vitamina E incrementa el contenido de grasa en la leche de vaca (Pottier *et al.*, 2006); sin embargo, no existen reportes que indiquen cómo la vitamina E afecta la digestión o flujo de nutrientes a nivel intestinal

o la producción de ácidos grasos en rumen, por lo que se requieren más estudios que ayuden a elucidar tal mecanismo.

Cuadro 3. Efecto de la vitamina E en la digestión de nutrientes en novillos que recibieron un suplemento de ácido linoleico conjugado.

Variable	Vitamina E, UI/d				CV	P
	CERO	4000	8000	12000		
Consumo, g/d						
MS	9440	9440	9440	9440	--	--
MO	7317	7317	7317	7317	--	--
Proteína	1253	1253	1253	1253	--	--
FDN	3165	3165	3165	3165	--	--
FDA	1140	1140	1140	1140	--	--
Flujo a duodeno, g/d						
MS	5520	5422	4430	4763	33.1	0.76
MO	3759	3641	2981	3202	32.9	0.74
Proteína	151.3	158.7	126.8	141.1	30.2	0.70
FDN	902.1	923.8	750.6	774.0	35.0	0.79
FDA	220.1	214.2	191.9	172.2	27.4	0.69
Digestión ruminal, %						
MS	44.0	42.2	42.5	41.9	17.1	0.97
MO	49.2	48.1	46.6	45.4	14.3	0.86
Proteína	17.8	10.4	16.0	18.3	27.2	0.35
FDN	48.7	45.3	43.4	64.7	5.83	0.15
FDA	32.7	49.8	43.1	49.5	21.9	0.25
Excreción fecal, g/d						
MS	3033	3027	2551	2818	38.0	0.90
MO	1995	1936	1639	1808	37.9	0.89
Proteína	110.9	126.5	96.7	116.4	31.6	0.71
FDN	614.2	657.8	556.0	557.2	40.3	0.91
FDA	306.3	274.7	280.2	224.1	39.6	0.57
Digestión postruminal, %						
MS	36.2	38.5	48.7	44.7	22.1	0.31
MO	32.1	34.7	47.2	44.0	23.6	0.17
Proteína	45.1	45.6	53.8	48.5	17.7	0.51
FDN	18.3	35.8	32.3	29.7	44.9	0.34
FDA	49.0	51.6	32.34	49.9	33.0	0.34
Digestión total, %						
MS	64.3	65.1	70.5	68.3	6.9	0.29
MO	65.6	66.8	71.9	70.0	6.4	0.27
Proteína	52.2	50.8	60.2	54.8	10.7	0.21
FDN	55.8	55.6	62.2	61	11.1	0.41
FDA	20.2	29.4	25.0	31.6	42.9	0.68

3.6. Conclusiones

La vitamina E mejora parcialmente la digestión ruminal y postruminal de algunos nutrientes, sin afectar el pH ruminal y la producción de AGV's, lo que indica cambios en el metabolismo de las bacterias del rumen, favoreciendo a aquellas con actividad celulolítica. Se requiere más investigación que explique el papel de la vitamina E en la digestión de nutrientes a lo largo de todo el tubo digestivo, ya que la mayor parte de los reportes se limitan a estudios de digestión ruminal *in vitro*. También se necesita más investigación que indique cómo la vitamina E actúa en la biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos. Eso traería, consecuentemente, una mejor explicación en el comportamiento productivo animal.

3.7. Literatura citada

- Al-Mabruk M.R., N.F.G. Beck, and R.J. Dewhurst. 2004. Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability of milk. *Journal of Dairy Science*, 87:406-412.
- Andrews J., M. Vázquez-Añón, and G. Bouman. 2006. Fat stability and preservation of fatty acids with AGRADO[®] antioxidant in feed ingredients used in ruminant rations. *Journal of Dairy Science*, 89(Suppl. 1). (Abstr.)
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 5^a ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, EE.UU
- Badinga L., K.T. Selberg, A.C. Dinges, C.W. Comer, and R.D. Miles. 2003. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipids content and fatty acid composition in broilers chickens. *Poultry Science*, 82:111-116.
- Bontempo V., D. Sciannimanico, G. Pastorelli, R. Rossi, F. Rosi, and Carlo Corino. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *Journal of Nutrition*, 134:817-824.
- Brigelius-Flohé R., and Traber M. 1999. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB Journal*, 13: 1145-1155.
- Bryant M.P. 1970. Normal flora – rumen bacteria. *American Journal of Clinical Nutrition*, 23: 1440-1445.

- De Veth M.J., S.K. Gulati, N.D. Luchini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 88:1685-1693.
- Field C.J., and P.D. Schley. 2004. Evidence for potential mechanisms for the effect of conjugated linoleic acid on tumor metabolism and immune function: lessons from n-3 fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:1190S-1198S.
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Enriqueta García de Miranda, México D.F., 217 pp.
- Hargrave K.M., B.J. Meyer, C. Li, M.J. Azain, C.A. Baile, and J.L. Miner. 2004. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obesity Research*, 12: 1435-1444.
- Herdt T. 1999. Digestión: procesos fermentativos. En *Fisiología Veterinaria*. Segunda edición. McGraw-Hill Interamericana. México.
- Hino T., N. Andoh, H. and Ohgi. 1993. Effects of β -carotene and α -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long chain fatty acids and cellulose. *Journal of Dairy Science*, 76: 600-605.
- Holovská K., V. Lenártová, K. Holovská, P. Pristas, and P. Javorský. 2002. Are ruminal bacteria protected against environmental stress by plant antioxidants?. *Letters in Applied Microbiology*, 35:301-304.
- Huges P.E., and S.B. Tove. 1980. Identification of an endogenous electron donor for biohydrogenation as alpha-tocopherolquinol. *Journal of Biological Chemistry*, 255:4447-4452.
- Huges P.E., and S.B. Tove. 1982. Occurrence of α -tocopherolquinone and α -tocopherolquinol in microorganisms. *Journal of Bacteriology*, 151:1397-1402.
- Ip C., S.F. Chin, J.A. Scimeca, and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer preventive by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, 51:6118-6124.
- Juárez M., Dugan M., Aldai N., Aalhus J., Basarab J., Baron V. and McAllister T. 2010. Dietary vitamin E inhibits the trans 10-18:1 shift in beef backfat. *Canadian Journal of Animal Science*, 90:9-12.

- Kayden H.J. and M.G. Traber. 1993. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *Journal of Lipid Research*, 34: 343-358.
- LeBlanc S.J., T.F. Duffield, K.E. Leslie, K.G. Bateman, J. TenHag, and W.H. Johnson. 2002. The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85:1416-1426.
- Merchen, N. R. 1993. Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. En: D. C. Church (Ed.). *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición*. Tomo I. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 191 - 223.
- Miller, J. and E. Brezeinska-Slebodizinska. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *Journal of Dairy Science*, 76:2812-2823.
- Moon H.S., H.G. Lee, C.S. Chung, Y.J. Choi, and C.S. Cho. 2008. Physico-chemical modifications of conjugated linoleic acid for ruminal protection and oxidative stability. *Nutrition and Metabolism*, 5:16.
- Naziroglou M., T. Güler, and A. Yüce. 2002. Effect of vitamin E on ruminal fermentation *in vitro*. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 49:251-255.
- National Research Council. 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nyman A.K., U. Emanuelson, K. Holtenius, K.L. Ingvarsen, T. Larsen, and K. Persson Waller. 2008. Metabolites and immune variables associated with somatic cell counts of primiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91:2996-3009.
- Papritz J., U. Meyer, R. Kramer, E.M. Weber, G. Jahreis, J. Rehage, G. Flachowsky, and S. Dänicke. 2011. Effects of long-term supplementation of dairy cow diet with rumen protect conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. *Archives of Animal Nutrition*, 65:89-107.
- Pariza M.W., Y. Park, and M.E. Cook. 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation.
- Parodi P.W. 1997. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 60: 1550-1533.

- Pearson Waller K., C.H. Sandgren, U. Emanuelson, and S.K. Jensen. 2006. Supplementation or *RRR*- α -tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. *Journal of Dairy Science*, 90:3640-3646.
- Perfield J.W. A.L. Lock, A.M. Pfeiffer, and D.E. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *Journal of Dairy Science*, 87:3010-3016.
- Ramsay T.G., C.M. Evock-Clover, N.C. Steele, and M.J. Azain. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *Journal of Animal Science*, 79:2152-2161.
- Rezamand P., T.A. Hoagland, K.M. Moyes, L.K. Silbart, and S.M. Andrew. 2007. Energy status, lipid-soluble vitamins and acute phase proteins in periparturient Holstein and Jersey dairy cows with or without subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 90:5097-5107.
- Rivera J.D., G.C. Duff, M.L. Galyean, D.A. Walker, and G.A. Nunnery. 2002. Effects of supplemental vitamin E on performance, health, and humoral immune response of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 80:933-941.
- Roeber D.L., K.E. Belk, J.D., Tatum, J.W. Wilson, and G.C. Smith. 2001. Effects of three levels of α -tocopheryl acetate supplementation to feedlot cattle on performance of beef cuts during retail display. *Journal of Animal Science*. 79:1814–1820.
- Pottier J., M. Focant, C. Debier, G. De Buysser, C. Goffe, E. Mignolet, E. Friodmont, and Y. Larondelle. 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *Journal of Dairy Science*, 89:685-692.
- Sales J.N.S., L.M.K. Dias, A.T.M. Viveiros, M.N. Pereira, and J.C. Souza. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with β -carotene and tocopherol. *Animal Reproduction Science*, 106:77-89.
- SAS Institute. 1999. *SAS User's Guide: Statistics*. 8th ed. Sas Inst. Inc., Cary, NC, USA.

- Sigl T, G. Schlamberger, H.Kienbergen, S.Wiedemann, H.H.D. Meyer y M. Kaske. 2010. Rumen-protected conjugated linoleic acid supplementation to dairy cows in late pregnancy and early lactation: effects on milk composition, milk yield, blood metabolites and gene expression in liver. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52:16.
- de Veth M.J., S.K. Gulati, N.D. Luchini, and D.E. Bauman. 2005. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 88:1685-1693.
- van Aardt M., S.E. Duncan, J.E. Marcy, T.E. Long, S.F. O'Keefe, and S.R. Nielsen-Sims. 2005. Effect of antioxidant (α -tocopherol and ascorbic acid) fortification on light-induced flavor milk. *Journal of Dairy Science*, 88:872-880.
- Van Soest P.J., J.B. Robertson, and B.A Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
- Varga G.A. and E.S. Kolver. 1997. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. *Journal of Nutrition*, 127:819S-823S.
- Vázquez-Añón M., and T. Jenkins. 2006. Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen and fatty acid metabolism. *Journal of Dairy Science*, 90:4361-4368.
- Weiss W.P., J.S. Hogan, and D.J. Wyatt. 2009. Relative bioavailability of all-rac and RRR vitamin E based on neutrophil function and total α -tocopherol and isomer concentrations in periparturient dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, 92:720-731.
- Williams C.H., D.J. David, and O. Lisma. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science (Camb.)*, 59: 381-382.
- Yang H., J. Holcroft, B.W. Glickman, and J.G. de Boer. 2003. Conjugated linoleic acid inhibits mutagenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol[4,5-b] pyridine in the prostate of Big Blue [®] rats. *Mutagenesis*, 18:195-200.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

La vitamina E en la dieta de vacas en pastoreo no evitó la caída en la concentración de grasa en la leche por efecto del suplemento de CLA microencapsulado. La concentración de CLA en la leche se incrementó a causa de la vitamina E pero no se afectó su composición a pesar de que hubo incrementos en la digestión ruminal y postruminal de la materia seca, materia orgánica y fibras detergente neutra y ácida en el estudio realizado con los novillos canulados. Lo anterior es un indicativo de que la vitamina E tiende a mejorar la digestión ruminal y postruminal de algunos nutrientes por cambios en el metabolismo de las bacterias del rumen, favoreciendo a aquellas con actividad celulolítica, por lo que convendría hacer estudios al respecto incluyendo análisis de ácidos grasos *trans* C18:1, con énfasis en el ácido vaccénico (*trans*-11 C18:1) no solo para conocer cómo la vitamina E afecta la producción de ácidos grasos específicos a nivel ruminal, sino también en la grasa de la leche e, incluso, en la grasa de carne de bovino, por lo que sería interesante hacer estudios con ganado de engorda.

Asimismo, se requiere más investigación que proponga alternativas viables que permitan mantener el contenido de la grasa en la leche por arriba de los estándares nacionales a la vez que se ofrece un producto con mayor contenido de sustancias benéficas para el ser humano. También se necesita más investigación que explique el papel de la vitamina E en la digestión de nutrientes a lo largo de todo el tubo digestivo, ya que la mayor parte de los reportes se limitan a estudios *in vitro* de digestión ruminal.