



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA OCASIONADO
POR EL ISÓMERO *TRANS*-10, *CIS*-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO
CONJUGADO EN VACAS EN PASTOREO: RESPUESTA A LA
ADICIÓN DE ÁCIDO PALMÍTICO

LORENZO DANILO GRANADOS RIVERA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

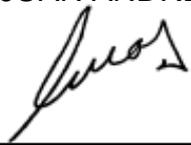
MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO. DE MÉXICO

2017

La presente tesis titulada: **SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA OCASIONADO POR ISÓMERO EL TRANS-10, CIS-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS EN PASTOREO: RESPUESTA A LA ADICIÓN DE ÁCIDO PALMÍTICO**, realizada por el alumno Lorenzo Danilo Granados Rivera, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, fue aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 _____ DR. OMAR HERNÁNDEZ MENDO
ASESOR	 _____ DR. SERGIO SEGUNDO GONZÁLEZ MUÑOZ
ASESOR	 _____ DR. GERMÁN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ
ASESOR	 _____ DR. JUAN ANDRÉS BURGUEÑO FERREIRA
ASESOR	 _____ DR. CARLOS MANUEL ARRIAGA JORDÁN
ASESOR	 _____ DR. JOSÉ SATURNINO MORA FLORES

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto 2017.

SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA OCASIONADO POR EL ISÓMERO *TRANS*-10, *CIS*-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS EN PASTOREO: RESPUESTA A LA ADICIÓN DE ÁCIDO PALMÍTICO

Lorenzo Danilo Granados Rivera, D.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

El síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL) es un fenómeno observado en vacas lactantes, con mayor frecuencia en estabulación, y se caracteriza por reducir hasta en 50 % el contenido de grasa en leche y ácidos grasos (AG), principalmente de cadena corta y media, aspecto no benéfico para la industria lechera porque reduce el rendimiento de derivados lácteos. El SDGL es provocado por el isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado (τ 10, c 12 ALC) que inhibe coordinadamente la expresión génica de enzimas lipogénicas en la glándula mamaria. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la adición de ácido palmítico (AP) en dieta para vacas en lactancia en la disminución de la grasa en leche provocado por el isómero τ 10, c 12 ALC. Para ello, se realizaron cuatro experimentos, cuyos resultados se presentan y discuten en la presente tesis.

El Capítulo uno es una revisión bibliográfica, en la cual se discute el SDGL, y los factores involucrados.

En el Capítulo dos se describen dos experimentos usando vacas en pastoreo, en inicios y finales de lactancia. Estos experimentos se realizaron en un rancho privado en el municipio de Huimanguillo, Tabasco (17° 38' 38.2" N; 93° 23' 36.9" O; 20 msnm), durante la época de lluvia. El clima en la región se clasifica como cálido húmedo, lluvioso en verano y otoño. La lluvia promedio anual es 2 295 mm año⁻¹, húmedo de junio a octubre con 70 % de la lluvia anual, y seco de noviembre a mayo; la temperatura máxima, media y mínima registrada 35, 25 y 15 °C, respectivamente, con 77.4 % de humedad relativa.

Para el experimento 1, se utilizaron seis vacas 3/4 Pardo Suizo Americano x Cebú, distribuidas en 3 grupos de 2 vacas cada uno. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada uno de los tres grupos en un Diseño Cruzado: 1) Testigo; 2) ALC (6 g de τ 10, c 12 ALC) 3) ALC + AP (6 g de τ 10, c 12 ALC + 412 g de AP). Para el experimento 2 se utilizaron cuatro vacas 3/4 Pardo Suizo Americano x Cebú, los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada una de las cuatro vacas en un Diseño Cruzado: 1) Testigo; 2) ALC (6 g de τ 10, c 12 ALC; 3) AP (412 g de AP) y 4) ALC + AP (6 g de τ 10, c 12 ALC + 412 g de AP). En ambos experimentos el análisis de varianza fue a través del modelo mixto y la comparación de medias con la prueba de Tukey, se declararon diferencias

cuando $P \leq 0.05$. La inclusión del isómero Δ^{10} , Δ^{12} ALC en la dieta para vacas en la lactancia disminuyó ($P \leq 0.05$) la concentración de grasa en leche, en independencia de la etapa de la lactancia. En tanto que el ácido palmítico mitigó la reducción de grasa en leche de vacas en inicios de la lactancia ($P \leq 0.05$), en vacas a final de la lactancia no hubo tal caída ($P \leq 0.05$). Se concluye que es posible reducir el síndrome de depresión de grasa láctea con la inclusión de ácido palmítico en la dieta. Sin embargo, no se conoce el destino final de la energía no utilizada para sintetizar grasa, por lo cual se realizó un experimento utilizando cabras lactantes, como modelo animal, cuya descripción se presenta en el Capítulo tres.

El Capítulo tres refiere el tercer experimento, cuyo objetivo fue determinar el destino final de la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea a consecuencia del isómero Δ^{10} , Δ^{12} ALC. Para ello se utilizaron como modelo animal 15 cabras locales del noroeste de México, en condiciones de estabulación al inicio de la lactancia, en un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron: 1) Testigo (Dieta base); 2) ALC 50 g (Dieta base + 6 g de Δ^{10} , Δ^{12} ALC); 3) ALC 90 g (Dieta base + 11 g de Δ^{10} , Δ^{12} ALC), y la dieta base fue: grano de sorgo (17.1 %), grano de maíz (17.1 %), salvado de trigo (9 %), harina de soya (9 %), urea (1.2 %), melaza (4.8 %), vitaminas y minerales (1.8 %), rastrojo de maíz (8 %), heno de alfalfa (32 %). El análisis de varianza fue a través del modelo lineal general y la prueba de comparación de medias fue Tukey, se declararon diferencias cuando $P \leq 0.05$. El requerimiento de EN_L para la producción de leche se redujo ($P \leq 0.05$) en cabras cuya dieta contenía el isómero Δ^{10} , Δ^{12} ALC. Asimismo, dicho isómero aumentó ($P \leq 0.05$) la producción de leche, disminuyó el consumo de MS ($P \leq 0.05$), y mejoró el balance energético ($P \leq 0.05$). Además, se observó una tendencia a menor utilización de reservas corporales ($P = 0.08$). Estos resultados sugieren que parte de la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea, fue usada para mejorar los procesos descritos.

El Capítulo 4 refiere un experimento realizado con el objetivo de evaluar el efecto del AP en rendimiento en queso crema tropical cuando se utiliza leche baja en grasa a consecuencia del isómero Δ^{10} , Δ^{12} ALC. Para ello, se utilizó leche de las seis vacas usadas en el experimento 1. En cada uno de los últimos cuatro días en los 3 periodos experimentales del experimento 1, se obtuvieron 10 L de leche de cada vaca, para elaborar quesos individuales, sumando un total de 72 quesos. El análisis de varianza fue a través del modelo mixto y la comparación de medias con la prueba de Tukey, se declararon diferencias cuando $P \leq 0.05$. El menor rendimiento de queso se obtuvo de la leche de vacas con el tratamiento 2 (solo ALC) ($P \leq 0.05$), comparado con el tratamiento testigo y ALC + AP que no difirieron entre sí ($P > 0.05$). En conclusión, la adición de ácido palmítico en la dieta para vacas con baja concentración de grasa en leche debido al isómero Δ^{10} , Δ^{12} ALC, aumenta el rendimiento de queso crema tropical.

En el Capítulo 5 se describe un análisis económico que se realizó para determinar el costo por litro de leche sin y con la inclusión del ALC o AP. Para ello se utilizaron los registros de ingresos y costos totales de producción. Con el costo total se calculó el costo por litro de leche en cada tratamiento del experimento 1 y 2. El costo del litro de leche fue de \$ 5.20 para el tratamiento testigo, \$ 5.62 para el ALC, \$ 5.79 para el AP y \$ 6.17 para el ALC + AP. Dado que el precio de venta por litro de leche fue de \$ 6.00, la leche producida por vacas en el tratamiento ALC + AP debe ser vendida a un precio mayor a \$ 6.00 para obtener una ganancia económica.

La conclusión general es que la inclusión de ácido palmítico en dieta para vacas en lactancia, en las condiciones descritas, mitiga la caída de grasa en leche provocada por el isómero α 10, α 12 ALC, y no disminuye el rendimiento en queso crema tropical elaborado con la leche obtenida durante los experimentos. Usando cabras como modelo animal, se determinó que una parte de la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea se usaría para aumentar la producción de leche, disminuir el consumo de materia seca y la movilización de reservas corporales y mejorar el balance energético. Los efectos negativos del síndrome de depresión de grasa láctea pueden mitigarse a través del ácido palmítico, pero aumenta el costo de producción de leche.

Palabras clave: Grasa en leche, energía de lactación, rendimiento en queso, análisis económico.

**MILK FAT DEPRESSION SYNDROME CAUSED BY ISOMER TRANS-10,
CIS-12 OF LINOLEIC ACID CONJUGATED IN GRAZING COWS:
RESPONSE TO ADDITION OF PALMITIC ACID**

**Lorenzo Danilo Granados Rivera, D.C.
Colegio de Postgraduados, 2017**

ABSTRACT

Milk fat depression (MFD) is observed in lactating cows, most frequently in indoor cows, and is characterized by reducing up to 50 % fat content in milk and fatty acids (FA), mainly short- and medium-chain, aspect not beneficial for the dairy industry because it reduces the yield of dairy products. MFD is caused by the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid (*t*10, *c*12 CLA) that coordinately inhibits the gene expression of lipogenic enzymes in the mammary gland. Therefore, the objective of the present research was to evaluate the effect of the addition of palmitic acid (PA) on diet for lactating cows in the reduction of fat in milk caused by the *t*10, *c*12 CLA isomer. For this, four experiments were performed; the results are presented and discussed in the present thesis.

Chapter 1 is a review, whereby the MFD is discussed, and the factors involved.

Chapter 2 describes two experiments using grazing cows at early and late lactation. These experiments were carried out in a private farm in the municipality of Huimanguillo, Tabasco (17 ° 38'38.2 "N, 93 ° 23'36.9" W, 20 masl), during the rainy season. The climate in the region is classified as hot humid, rainy in summer and fall. The average annual rainfall is 2 295 mm year⁻¹, humid from June to October with 70 % of annual rainfall, and dry from November to May. The maximum, average and minimum temperature recorded 35, 25 and 15 ° C, respectively, with 77.4 % relative humidity.

Experiment 1, six 3/4 American Brown Swiss x Cebu cows were used, distributed in 3 groups of 2 cows each. Treatments were randomly assigned to each of the three groups in a Cross-Over Design: 1) Control; 2) CLA (6 g of *t*10, *c*12 CLA) 3) CLA + PA (6 g of *t*10, *c*12 CLA + 412 g of PA). For Experiment 2, four cows ¾ American Swiss Brown x Cebu were used, treatments were randomly assigned to each of the four cows in a Cross-Over Design: 1) Control; 2) CLA (6 g of *t*10, *c*12 CLA; 3) PA (412 g of PA) and 4) CLA + PA (6 g of *t*10, *c*12 CLA + 412 g of PA). In both experiments the analysis of variance was through the mixed model and the comparison of means with the Tukey test. Differences were declared when $P \leq 0.05$. The inclusion of the *t*10, *c*12 CLA isomer in the diet for lactating cows decreased ($P \leq 0.05$) the fat concentration in milk, independently of the stage of lactation. While palmitic acid mitigated the reduction of fat in cow's milk at early lactation ($P \leq 0.05$), the fat cow's milk at late lactation, that fat milk decline was not observed ($P \leq 0.05$). It is concluded that it is possible to reduce the MFD of milk fat with the inclusion of palmitic acid in the diet. However, the final

destination of energy not used to synthesize fat is not known, whence an experiment was carried out using lactating goats as an animal model, the description of which is presented in Chapter 3.

Chapter 3 refers to the third experiment, whose objective was to determine the final destination of energy not used to synthesize milk fat because of the isomer t10, c12 ALC . For this purpose, 15 local goats from the northwest of Mexico were used as animal model, under indoor conditions at early lactation, in a completely randomized design. The treatments were: 1) Control (Base diet); 2) CLA 50 g (Base Diet + 6 g t10, c12 CLA); 3) CLA 90 g (Base diet + 11 g t10, c12 CLA). The base diet was composed by sorghum grain (17.1%), corn grain (17.1%), wheat bran (9%), soybean (9%), urea (1.2%), molasses (4.8%), vitamins and minerals (1.8%), maize straw (8%), and alfalfa hay (32%). The analysis of variance was through the general lineal model and the comparison test of means was Tukey. Differences were declared when $P \leq 0.05$. The EN_L requirement for milk production was reduced ($P \leq 0.05$) in goats, whose diet had the t10, c12 CLA isomer. In addition, this isomer increased ($P \leq 0.05$) milk production, decreased DMI ($P \leq 0.05$), and improved energy balance ($P \leq 0.05$). Additionally, there was a trend towards lower utilization of body reserves ($P 0.08$). These results suggest that part of the energy not used to synthesize milk fat was used to improve the described processes.

Chapter 4 reports an experiment carried out with the objective of evaluating the effect of PA on yield in tropical cream cheese when using low-fat milk because of the t10, c12 CLA isomer. For this purpose, milk from the six cows used on experiment 1 was used. In each of the last four days in the three experimental periods of experiment 1, 10 L of milk were obtained from each cow to make individual cheeses, being a total of 72 cheeses. The analysis of variance was through the mixed model and the comparison of means with the Tukey test. Differences were declared when $P \leq 0.05$. The lowest cheese yield was obtained from milk from cows with treatment 2 (only CLA) ($P \leq 0.05$), compared to the control and CLA + PA treatments that did not differ from each other ($P > 0.05$). In conclusion, the addition of palmitic acid in the diet for cows with low milk fat concentration due to the t10, c12 CLA isomer increases the yield of tropical cream cheese.

Chapter 5 describes an economic analysis that was performed to determine the cost per liter of milk without and with the inclusion of CLA or PA. For this, the records of income and total costs of production were used. The cost per liter of milk was calculated for each treatment of experiment 1 and 2. The cost of the liter of milk was \$ 5.20 for the control treatment, \$ 5.62 for the CLA, \$ 5.79 for the PA and \$ 6.17 for the CLA + PA. Since the sale price per liter of milk was \$ 6.00, milk produced by cows in the CLA + PA treatment must be sold at a price greater than \$ 6.00 to obtain an economic gain.

The general conclusion is that the inclusion of palmitic acid in the diet for lactating cows, under the described conditions, mitigates the fat drop in milk caused by the t10, c12 ALC isomer and does not decrease the yield in tropical cream cheese made with milk obtained during the experiments. Using goats as an animal model, it was determined that a portion of energy not used to synthesize dairy fat would be used to increase milk production, decrease dry matter intake, mobilize body reserves, and improve energy balance. The negative effects of milk fat depression syndrome can be alleviated through palmitic acid, but the cost of milk production increases.

Key words: Milk fat, lactation energy, cheese yield, economic analysis.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por el apoyo económico para realizar mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de formar de realizar mis estudios de Doctorado.

Al INIFAP Campo Experimental Huimanguillo y Campo Experimental La Laguna por facilitar sus instalaciones y equipos de laboratorio para la realización de la presente investigación.

Al Dr. Omar Hernández Mendo por su apoyo, paciencia, sencillez con la que dirigió mi formación académica. Pero sobre todo por darme su amistad y confianza.

A los profesores Dr. Sergio S. González Muñoz, Dr. Germán David Mendoza Martínez, Dr. Juan Andrés Burgueño Ferreira, Dr. Carlos M. Arriaga Jordán y Dr. Saturnino Mora Flores por formar parte de mi Consejo Particular y por sus apreciaciones críticas que contribuyeron a mejorar esta investigación.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván y a la Ing. Elsa Margarita Crosby Galván por su apoyo en la fase de laboratorio.

A todos mis compañeros y amigos del programa de Ganadería. En especial a Yuri, gracias totales.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Literatura citada.....	2
CAPÍTULO I	3
SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA PROVOCADO POR EL ISÓMERO <i>TRANS</i>-10, <i>CIS</i>-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS LACTANTES	3
Resumen.....	3
Abstract.....	3
Introducción.....	4
Síntesis de grasa en leche	5
<i>Origen de la grasa láctea</i>	5
<i>Síntesis de novo de ácidos grasos</i>	6
<i>Absorción y transferencia de ácidos grasos a grasa en leche</i>	7
Ácido linoleico conjugado (ALC)	7
Síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL)	9
<i>Teoría de biohidrogenación</i>	10
<i>Isómero trans-10, cis-12 ALC en la teoría de biohidrogenación</i>	10
<i>Mecanismos de acción del trans-10, cis-12 ALC en el SDGL</i>	12
Efecto del SDGL en la industria lechera	13
Estrategias nutricionales en la mitigación del SDGL	14
Conclusión	15
Literatura citada.....	15
CAPÍTULO II	25
ÁCIDO PALMÍTICO EN LA MITIGACIÓN DEL SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA PROVOCADO POR EL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS EN PASTOREO A INICIOS Y HACIA EL FINAL DE LA LACTANCIA¹	25
Resumen.....	25
Introducción.....	26
Materiales y métodos	27
<i>Localización y fecha</i>	27
<i>Experimento 1</i>	27
<i>Vacas, diseño experimental y tratamientos</i>	27
<i>Experimento 2</i>	27

<i>Manejo de las vacas en ambos experimentos</i>	28
<i>Alimentación y ordeña</i>	28
<i>Producción y composición de leche</i>	28
<i>Consumo de forraje</i>	29
<i>Análisis de laboratorio</i>	30
<i>Cálculos</i>	31
<i>Análisis estadístico</i>	31
Resultados	32
<i>Experimento 1</i>	32
<i>Experimento 2</i>	33
Discusión	35
Conclusión	39
Literatura citada	39
CAPÍTULO III	43
DESTINO DE LA ENERGÍA NO UTILIZADA PARA SINTETIZAR GRASA EN GLÁNDULA MAMARIA DEBIDO AL ISÓMERO <i>TRANS</i>-10, <i>CIS</i>-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO	43
Resumen	43
Abstract	44
Introducción	45
Materiales y métodos	46
<i>Localización</i>	46
<i>Cabras, diseño experimental y tratamientos</i>	46
<i>Alimentación y ordeña</i>	46
<i>Peso de las cabras</i>	47
<i>Producción y composición de leche</i>	47
<i>Matanza de las cabras</i>	47
<i>Análisis de laboratorio</i>	48
<i>Cálculos</i>	49
<i>Análisis estadístico</i>	49
Resultados	50
<i>Peso vivo, consumo de materia seca y producción de leche</i>	50
<i>Concentración y rendimiento de grasa, proteína y lactosa en leche</i>	50
<i>Reservas corporales y composición química de la carne de cabras</i>	52
<i>Perfil de AG en leche</i>	52

<i>Balance de energía</i>	54
Discusión	54
<i>Peso vivo y consumo de materia seca</i>	54
<i>Producción de leche</i>	55
<i>Grasa en leche</i>	55
<i>Reservas corporales y composición química de la carne</i>	56
<i>Perfil de AG en leche</i>	56
<i>Balance de energía</i>	57
Conclusión	58
Literatura citada	58
Capítulo IV	26
RENDIMIENTO DE QUESO CREMA TROPICAL MEXICANO UTILIZANDO LECHE BAJA EN GRASA INDUCIDO POR EL ISÓMERO <i>TRANS</i>-10, <i>CIS</i>-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO: EFECTO DEL ÁCIDO PALMÍTICO¹	26
Resumen	26
Abstract	26
Introducción	62
Materiales y métodos	63
<i>Procedimiento experimental y animales</i>	63
<i>Elaboración del queso</i>	63
<i>Rendimiento en queso</i>	63
<i>Análisis de laboratorio</i>	63
<i>Perfil de ácidos grasos en leche y queso</i>	64
<i>Análisis estadístico</i>	64
Resultados	65
<i>Composición de leche</i>	65
<i>Composición y rendimiento en queso</i>	65
<i>Perfil de ácidos grasos en leche y queso</i>	65
Discusión	67
<i>Composición de leche</i>	67
<i>Composición y rendimiento en queso</i>	67
<i>Perfil de ácidos grasos en leche y queso</i>	68
Conclusión	69
Literatura citada	69
CAPÍTULO V	72

ANÁLISIS ECONÓMICO DEL USO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO Y ÁCIDO PALMÍTICO EN LA DIETA DE VACAS LECHERAS	72
Resumen.....	72
Abstract.....	72
Introducción.....	73
Materiales y métodos	74
Resultados y discusión	75
Conclusión	76
Literatura citada.....	76
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	79

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Isómeros del ácido linoleico conjugado reportados en grasa láctea, queso y carne de bovinos.....	10
---	----

CAPÍTULO II

Cuadro 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de los componentes de la dieta.....	28
--	----

Cuadro 2. Efecto del ácido linoleico conjugado y ácido palmítico en el consumo de materia seca, producción y composición química de la leche de vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en pastoreo en lactancia temprana.....	32
--	----

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG) de la leche de vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en lactancia temprana en pastoreo complementadas con ácido palmítico y el ácido linoleico conjugado.....	33
--	----

Cuadro 4. Efecto del ácido linoleico conjugado y ácido palmítico en el consumo de materia seca, producción y composición química de la leche de vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en pastoreo en lactancia tardía.....	34
--	----

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG) de la leche de vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en lactancia tardía en pastoreo complementadas con ácido palmítico y el ácido linoleico conjugado.....	35
--	----

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta base.....	45
---	----

Cuadro 2. Composición de ácidos grasos (g100 g ⁻¹ AG) de la dieta y el suplemento.....	46
---	----

Cuadro 3. Peso corporal, consumo de MS, producción, composición y rendimiento de leche de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.....	49
---	----

Cuadro 4. Reservas corporales y composición química de carne de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.....	51
---	----

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ del total de AG) de leche de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.....	52
---	----

Cuadro 6. Balance energético de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.....	53
---	----

CAPÍTULO IV

Cuadro 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de los componentes de la dieta.....	64
Cuadro 2. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado en la composición de leche y el rendimiento del queso crema tropical.....	65
Cuadro 3. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado en el isómero <i>cis-9, trans-11</i> ALC y la sumatoria de AG saturados e insaturados en leche y queso crema tropical.....	66
Cuadro 4. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado sobre el perfil de ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG) del queso crema tropical.....	66

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1. Síntesis del ácido linoleico conjugado en rumiantes.....11
- Figura 2. Concentración de grasa en leche durante la infusión abomasal de isómeros del ácido linoleico conjugado (ALC). La infusión duró cuatro días y los tratamientos fueron: testigo, *cis*-9, *trans*-11 ALC (10 g d⁻¹) y *trans*-10, *cis*-12 ALC (10 g d⁻¹).....13
- Figura 3. Modelo de decaimiento exponencial que establece la relación entre el cambio en rendimiento de grasa en leche de vaca y la dosis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC. Los valores del modelo para $y = \% \text{ del rendimiento de grasa en leche}$ y $x = \text{dosis del isómero trans-10, cis-12 ALC}$; $P \leq 0.001$14

CAPÍTULO III

- Figura 1. Variación semanal del consumo de MS y producción de leche de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹).....50
- Figura 2. Variación semanal de la concentración de lactosa en leche de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹).....50
- Figura 3. Variación semanal del rendimiento de lactosa y proteína en leche de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹).....51
- Figura 4. Variación semanal de la concentración en leche de los isómeros *c*9, *t*11 ALC y *t*10, *c*9 ALC de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o un suplementado con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹).....53

INTRODUCCIÓN GENERAL

La leche bovina contiene, en promedio 4.6 % de lactosa, 3.6 % de proteína y 4.2 % de grasa. En la grasa hay 98 % de triglicéridos sintetizados en glándula mamaria, de los cuales 70 % son ácidos grasos (AG) saturados, 25 % AG monoinsaturados y 5 % AG poliinsaturados (2.3 %) y *trans* (2.7 %) (Lindmark, 2008). Las grasas son importantes en la salud humana, por lo cual es necesario considerar los factores involucrados para mejorar la calidad de leche. El énfasis debe estar en el perfil de AG (Harvatine *et al.*, 2009), en particular en los que tienen otra función además de la nutricional, como el ácido linoleico conjugado (ALC), que puede prevenir diversos tipos de cáncer (Kelley *et al.*, 2007) y reduce grasa en tejidos (Racine *et al.*, 2010). Estos beneficios se atribuyen de manera principal a los isómeros *cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12* del ALC (Yang *et al.*, 2015), por lo que su incremento en leche es deseable. Al respecto, el pastoreo es la técnica más económica para incrementar la concentración del ALC en grasa láctea (Lahlou *et al.*, 2014), pero no la más eficiente porque depende de la calidad del forraje (León-Ceviedes *et al.*, 2011). Una alternativa es adicionar a la dieta de vacas lactantes, isómeros *cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12* protegidos de la fermentación ruminal, lo cual aumenta la concentración del ALC en la leche. Pero el *trans-10, cis-12* ALC se asocia con el síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL), en el cual la grasa disminuye hasta 50 %, sin cambios en la producción de leche ni en concentración de proteína ni lactosa (Bauman *et al.*, 2011). El SDGL se debe a que el isómero *trans-10, cis-12* ALC inhibe la expresión de enzimas involucradas en la síntesis de AG *de novo*, y en el transporte intracelular y absorción mamaria de AG preformados provenientes de la sangre (Bauman *et al.*, 2011).

Para la industria lechera el SDGL es perjudicial, debido a un rendimiento menor de subproductos como queso y mantequilla (Schiavon *et al.*, 2016), y para el productor representa menor precio por la leche. Por tanto, es necesario proponer estrategias para producir leche enriquecida con ALC, sin afectar el rendimiento de subproductos lácteos. Al respecto, el AP es una opción viable, ya que la inclusión de fuentes purificadas en la dieta para vacas lactantes, aumentan la producción de leche y el rendimiento de grasa (Piantoni *et al.*, 2013). Además influye en la reposición del peso corporal perdido durante los periodos de balance negativo de energía (Loften *et al.*, 2014). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de proporcionar AP a vacas lactantes, cuyas dietas contienen ALC, sobre la producción de leche, composición química y perfil graso en leche y queso.

Literatura citada

Bauman D.E., Harvatine K.J. and Lock A.L. 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 31: 299-319.

Harvatine K.J., Boisclair Y.R. and Bauman D.E. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*, 3:40–540.

Kelley N.S., Hubbard N.E. and Erickson K.L. 2007. Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *Journal of Nutrition*, 137: 2599–2607.

Lahlou M.N., Kanneganti R., Massingill L.J., Broderick G.A., Park Y., Pariza M.W., Ferguson J.D. and Wu Z. 2014. Grazing increases the concentration of CLA in dairy cow milk. *Animal*, 8: 1191–1200

León-Ceviedes J.M., Pabón M.L. and Carulla J.E. 2011. Relación entre las características de la pastura y el contenido de ácido linoleico conjugado (ALC) en la leche. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 24 (1).

Lindmark M.H. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food and Nutrition Research*, 52. Published on line June 11th, 2008. doi:10.3402/ fnr.v52i0.1821.

Loften R.J., Lin G.J., Drackley K.J., Jenkins C.T., Soderholm, G.C. and Kertz, F.A. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97: 4661–4674.

Piantoni P., Lock A.L. and Allen M.S. 2013. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 96:7143–7154.

Racine N., Watras M., Carrel A.C., Allen A.L., McVean D.B., Clark J.J., O'Brien R.R., O'Shea A.R., Scott M. and Schoeller D.A. 2010. Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 1157–1164.

Schiavon S., Cesaro G., Cecchinato A., Cipolat-Gotet C., Tagliapietra F., Bittante G. 2016. The influence of dietary nitrogen reduction and conjugated linoleic acid supply to dairy cows on fatty acids in milk and their transfer to ripened cheese. *Journal of Dairy Science*, 99: 1–20

Yang B., Chen H., Stanton C., Ross R.P., Zhang H., Chen Y. Q. and Chen W. 2015. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal Functional Foods*. 15: 314–325.

CAPÍTULO I

SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA PROVOCADO POR EL ISÓMERO *TRANS*-10, *CIS*-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS LACTANTES

Resumen

El objetivo de esta revisión bibliográfica fue discutir el efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado (ALC) en el síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL) en vacas, caracterizado por reducir hasta en 50.0 % la concentración de grasa en leche. Este síndrome causa menor rendimiento de derivados lácteos, por lo que el productor recibe menor pago por la leche. El SDGL se origina por alimentar a las vacas lactantes con dietas de baja proporción de fibra detergente neutro o una inclusión alta de ácidos grasos (AG) insaturados, lo cual propicia mayor producción de AG *trans*, que inhiben enzimas necesarias para la síntesis de AG en glándula mamaria, con lo cual se presenta dicho síndrome. El isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC es uno de los principales responsables de la presencia del SDGL, cuyo mecanismo de acción no es claro aún, pero dicho isómero suprime factores de transcripción que regulan la síntesis de grasa en leche.

Palabras clave: Ácidos grasos, síntesis de grasa, biohidrogenación, industria lechera.

Abstract

The objective of this review is to discuss the effect of *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) in the milk fat depression syndrome (MFD) in cows characterized by reducing up to 50.0 % fat concentration in milk. This syndrome causes lower yield of dairy products, and the farmer receives less payment for milk. Several theories explain the presence of MFD, with biohydrogenation being the better supported, where it states that low proportion of neutral detergent fiber or high inclusion of unsaturated fatty acids (FA) in the diet of lactating cows leads to alterations in ruminal biohydrogenation. This gives rise to increased *trans* FA production, which inhibits enzymes necessary for the synthesis of FA in the mammary gland. The *trans*-10, *cis*-12 isomer of ALC is one of the main responsible for the presence of MFD, whose mechanism of action is not clear yet, but it is known that said isomer suppresses transcription factors that regulate the synthesis of fat in milk.

Key words: Fatty acids, fat synthesis, biohydrogenation, dairy industry.

Introducción

La leche bovina tiene un elevado valor nutricional y su composición promedio es 4.6 % de lactosa, 3.6 % de proteína y 4.2 % de grasa. Esta última fracción está compuesta de 98 % de triglicéridos, los cuales están integrados por ácidos grasos (AG) de cadena corta (C4 a C8; 19 %), media (C10 a C14; 19 %) y larga (> C16; 62 %). Los AG de C4:0 a C14:0 y la mitad del C16:0 se sintetizan *de novo*, y los otros AG, incluyendo la segunda mitad del C16:0, provienen de la transferencia de AG preformados presentes en la sangre (Jensen, 2002). La síntesis de AG *de novo* en glándula mamaria se generan a partir de acético y butírico (Harvatine *et al.*, 2009), y cuerpos cetónicos como acetoacetato y β -hidroxibutirato (Houten y Wanders, 2010). En la síntesis por transferencia, los AG son transportados en quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, como AG preformados no esterificados, transferidos desde el intestino delgado provenientes de la dieta o por movilización del tejido adiposo (Chilliard y Ferlay, 2004). Entonces, modificaciones en la producción de ácido acético y butírico en el rumen, así como el tipo de AG en la dieta, determinan la composición de AG en leche, y la grasa láctea es el componente de la leche más fácilmente modificable (Jenkins y McGuire, 2006). Al respecto, la síntesis de grasa es muy sensible al cambio de dieta, la cual si tiene más de 60 % de concentrado o más de 5 % de AG poliinsaturados, pueden inducir un síndrome caracterizado por un bajo contenido de grasa en leche (Harvatine *et al.*, 2009), y la grasa láctea se reduce hasta en 50 % (Peterson *et al.*, 2003), fenómeno conocido como síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL) (Bauman *et al.*, 2011). El SDGL es también inducido por la adición de ALC en la dieta, y el isómero *trans*-10, *cis*-12 del ALC es el principal responsable (Hussein *et al.*, 2013; Bionaz *et al.*, 2015).

El ALC es un conjunto de 26 isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico con enlaces dobles en posición conjugada (Bauman y Griinari, 2003), y se produce en el rumen como intermediario en el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico, por acción de bacterias (Bauman *et al.*, 2008) como *Butirivibrio fibrisolvens* (Griinari *et al.*, 2000) y *Megasphaera elsdenii* (Kim *et al.*, 2002). El ALC también puede ser sintetizado de forma endógena en los tejidos de rumiantes, a partir de ácido vaccénico (C18: 1 *trans*-11), por acción de la esteril-CoA desaturasa (Griinari *et al.*, 2000). La importancia del ALC radica en su potencial efecto anticancerígeno y por la reducción de grasa en tejido adiposo y muscular, atribuido a sus isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (Yang *et al.*, 2015). En particular, el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC se asocia con una disminución en la concentración de grasa en leche (SDGL) (Bauman *et al.*, 2011). En el SDGL se reduce la síntesis de todos los AG presentes en la leche de rumiantes, y es mayor en la síntesis *de novo* de AG respecto a la absorción de AG preformados (Bauman y Griinari, 2003). Lo anterior afecta más a los AG de cadena corta y media respecto a los de cadena larga (Kadegowda *et al.*, 2010), porque los primeros son sintetizados *de novo* mientras que los segundos en su mayoría son absorbidos desde la sangre como AG preformados (Bauman

et al., 2006). Para la industria lechera el SDGL no es conveniente debido a un menor rendimiento de subproductos como queso y mantequilla, y para el productor representa menor precio por la leche. Las condiciones de alimentación que causan SDGL están establecidas (Harvatine *et al.*, 2009; Jordana-Rivero y Anrique, 2015), por lo que se puede predecir el nivel de caída de la grasa en leche con relativa facilidad (Bauman *et al.*, 2011). Sin embargo, los mecanismos que causan SDGL no están del todo claros (Bionaz *et al.*, 2015), por lo que es necesario generar información para proponer estrategias de alimentación que ayude a contrarrestar este problema. Al respecto, se han propuesto explicaciones para el SDGL, por lo que el objetivo de esta revisión bibliográfica es discutir dicha información y recopilar los avances más relevantes de los mecanismos que causan el SDGL para ayudar a generar propuesta de solución a este problema.

Síntesis de grasa en leche

Origen de la grasa láctea

La grasa láctea en rumiantes tiene mayor proporción de AG saturados respecto a la de animales monogástricos (Jensen, 2002), que depende de modificación de lípidos dietarios durante la fermentación ruminal (Jenkins *et al.*, 2008). Estos lípidos en rumiantes siguen dos rutas principales, la lipólisis y la biohidrogenación ruminal. La primera consiste en la acción de lipasas presentes en el rumen sobre los enlaces éster que unen los AG y los alcoholes, que al ser hidrolizados liberan los AG al medio (Jenkins *et al.*, 2008). La segunda consiste en una serie de reacciones secuenciales enzimáticas, que incluyen isomerización e hidrogenación, saturando los AG insaturados, y las bacterias *Butirivibrio fibrisolvens* y *Megasphaera elsdenii* son las principales responsables del proceso (Lourenço *et al.*, 2010). Durante la biohidrogenación se forma el ácido esteárico (Jenkins *et al.*, 2008), por lo que los AG absorbidos en intestino delgado de origen dietario son mayormente AG saturados (70%), y únicamente 10 a 15 % de AG insaturados escapa a la biohidrogenación ruminal (Givens *et al.*, 2006). Ello explica la alta proporción de AG saturados en grasa láctea de rumiantes, aunque en leche de vaca, los AG no depende exclusivamente de los AG dietarios, también son sintetizados *de novo* (Jensen, 2002). Al respecto, Harvatine *et al.* (2009) reporta que aproximadamente el 40 % de AG en leche bovina se origina de la síntesis *de novo*, y el 60 % restante proviene de la absorción y transferencia de AG preformados procedentes en su mayoría de la dieta. En general, la grasa láctea está integrada por 70 % de AG saturados, 26 % AG monoinsaturados, y 4 % AG poliinsaturados, que se componen por AG de cadena corta (C4 a C8), media (C10 a C14) y larga (> C16) (Jensen, 2002). Los AG de cadena corta y media (entre 4 y 14 átomos de carbono) y la mitad del AP se sintetizan *de novo* (Harvatine *et al.*, 2009), y el resto de AP y los AG de cadena larga, en particular C18:0 y C18:1, proceden de lípidos circulantes en sangre, provenientes de la dieta, grasa microbiana y grasa movilizada de reservas corporales (Chilliard y Ferlay, 2004).

Síntesis de novo de ácidos grasos

La síntesis *de novo* de AG requiere la producción de acetil CoA y su conversión a malonil CoA, la elongación de la cadena carbonada a través de la enzima ácido graso sintetasa, y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (NADPH+H⁺) como donadora de electrones para las etapas reductoras del proceso (Jump, 2011). La síntesis inicia en la mitocondria, a partir de la generación de acetil CoA, la cual se obtiene por oxidación de los ácidos acético y butírico (Palmquist, 2006), provenientes de fermentación ruminal de los carbohidratos en la dieta, en tanto los grupos de dos carbonos necesarios en la elongación, provienen de los cuerpos cetónicos acetoacetato y β -hidroxibutirato producidos en el hígado por β -oxidación mitocondrial (Houten y Wanders, 2010). Debido a que la membrana mitocondrial es impermeable al paso de la acetil CoA, se requiere que sea convertida en citrato, acción realizada por la enzima citrato sintasa (Nunes-Nesi *et al.*, 2013), permitiendo su entrada al citoplasma celular. Dentro del citoplasma, a través de la enzima ATP-citrato liasa el citrato es reconvertido en acetil CoA (Brownsey *et al.*, 2006), allí es activada por carboxilación a través de una unión con el HCO₃⁻ sanguíneo, reacción catalizada por la acetil CoA carboxilasa y biotina, dicha reacción consume ATP, y origina malonil CoA, precursor necesario para sintetizar AG (Saggerson, 2008). Además, la reconversión de acetil CoA en el citoplasma genera oxaloacetato, que es reducido por la enzima malato deshidrogenasa a malato, el cual es convertido en piruvato por medio de la enzima málica, produciendo el NADPH+H⁺ que donará los electrones para la síntesis de AG (Dashty, 2013). Otro precursor de NADPH+H⁺ usado en la síntesis *de novo* de AG es la glucosa, la cual se sintetiza en el hígado a partir del propionato y aminoácidos glucogénicos. El NADPH+H⁺ se sintetiza en la ruta de la pentosa fosfato al deshidrogenar la glucosa-6-fosfato a través de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Dashty, 2013). Alrededor del 50 % de NADPH+H⁺ producido en los rumiantes es por la vía de la pentosa fosfato utilizando glucosa como sustrato (Hötger *et al.*, 2013).

Una vez sintetizado malonil CoA, la síntesis de AG se realiza por elongación o alargamiento de la cadena carbonada, mediante el complejo enzimático ácido graso sintasa, a través de reacciones sucesivas de condensación decarboxilativa de moléculas de acetil CoA (o butiril CoA) con malonil CoA (Hiltunen *et al.*, 2010). Durante la elongación se van añadiendo grupos de dos carbonos al AG, los cuales son donados por los cuerpos cetónicos acetoacetato y β -hidroxibutirato, obteniendo como producto final ácido palmítico (C16:0) (Heid y Keenan, 2005). El C16:0 puede ser desaturado o elongado para sintetizar otros AG (MacGibbon y Taylor, 2006). La desaturación se realiza por las enzimas Δ^5 , 6 y 9-estearoil-CoA desaturasa, al incluir enlaces dobles *cis* entre los carbonos (Jacobs *et al.*, 2013). En la glándula mamaria los AG de C4:0 a C10:0 son sintetizados *de novo*, mientras que AG de C12:0 a C16:0 son sintetizados *de novo* y por absorción y transferencia de AG preformados presentes en la sangre mediante unión no

covalente con la albúmina sérica (Bauman *et al.*, 2006), proceso que se describe a continuación.

Absorción y transferencia de ácidos grasos a grasa en leche

En la glándula mamaria de la vaca, no es posible la condensación sucesiva de acetil CoA con malonil CoA para alargar la cadena de AG a más de 16 carbonos (Chilliard *et al.*, 2001), debido a que no existen las enzimas necesarias para la elongación (Harvatine *et al.*, 2009). Entonces, los AG C16:0 y C18:0 en la glándula mamaria tienen dos orígenes: 1) triglicéridos transportados en quilomicrones y en lipoproteínas de muy baja densidad de origen intestinal (Nafikov y Beitz, 2007), o 2) AG no esterificados, en particular, AP, esteárico, y oleico, movilizados desde el tejido adiposo (Chilliard y Ferlay, 2004). Los triglicéridos provenientes de la dieta se adhieren a quilomicrones y son hidrolizados por la enzima lipoproteína lipasa, separando a los AG y al glicerol (Lock y Bauman, 2004). Los AG libres y el glicerol son absorbidos en las células alveolares del tejido mamario, y son utilizados para la síntesis de grasa en leche (Moore y Christie 1979). Del total de AG absorbidos en el intestino delgado a partir de la dieta, entre 50 y 60 % son transferidos a la leche (Lock y Bauman, 2004), y menos del 10 % de AG movilizados de reservas corporales son transferidos a la leche, aunque esto puede aumentar, en particular cuando las vacas están en balance energético negativo (Bauman y Griinari, 2001).

Ácido linoleico conjugado (ALC)

El término ALC describe un conjunto de 26 isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico (Cuadro 1), los cuales poseen enlaces dobles en posición conjugada (Collomb *et al.*, 2006), de éstos dos resaltan por su potencial efecto benéfico para la salud, el *cis-9, trans-11* asociado a efectos anticancerígenos, y el *trans-10, cis-12* asociado a reducción de grasa en tejidos (Yang *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Isómeros del ácido linoleico conjugado reportados en grasa láctea, queso y carne de bovinos.

<i>Cis/Trans-18:2</i>	<i>Cis/Cis-18:2</i>	<i>Trans/Trans-18:2</i>
<i>trans-6,cis-8</i>	<i>cis-7,cis-9</i>	<i>tran-6,trans-8</i>
<i>cis-7,trans-9</i>	<i>cis-8,cis-10</i>	<i>tran-7,trans-9</i>
<i>tran-7,cis9</i>	<i>cis-9,cis-11</i>	<i>trans-8,trans-10</i>
<i>cis-8,trans-10</i>	<i>cis-10,cis-12</i>	<i>trans-9,trans-11</i>
<i>trans-8,cis-10</i>	<i>cis-11,cis-13</i>	<i>trans-10,trans-12</i>
<i>cis-9,trans-11</i>	<i>cis-12,cis-14</i>	<i>trans-11,trans-13</i>
<i>trans-9,cis-11</i>		<i>trans-12,trans-14</i>
<i>cis-10,trans-12</i>		<i>trans-13,trans-15</i>
<i>tran-10,cis-12</i>		
<i>cis-11,trans-13</i>		
<i>cis-12,trans-14</i>		
<i>tran-11,cis-13</i>		

Adaptado de Harvatine *et al.* (2009) y Bauman *et al.* (2011).

La síntesis de los isómeros *cis-9, trans-11* y *trans-10, cis-12* en rumiantes ocurre después de la ingesta de los alimentos (Figura 1). Una vez en el rumen, los

lípidos de la dieta son hidrolizados dando origen a AG libres y glicerol. La hidrólisis ocurre por acción de enzimas extracelulares llamadas lipasas microbianas (Buccioni *et al.*, 2012). Enseguida se lleva a cabo una isomerización del enlace *cis*-12 a *trans*-11, donde interviene la linoleato isomerasa, enzima capaz de formar dobles ligaduras conjugadas a partir de la estructura del ácido linoleico y linolénico, y como resultado, se obtienen proporciones variables de los isómeros *cis*-9, *trans*-11, *trans*-9, *cis*-12, y *trans*-10, *cis*-12, de los cuales el *cis*-9, *trans*-11, denominado ácido ruménico por su origen ruminal, corresponde al 11 % del total de AG producidos en rumen. El ácido ruménico se degrada a ácido vaccénico (C18:1 *trans*-11), por efecto del proceso de hidrogenación del enlace *cis*-9, y dada la lentitud de esta fase, se acumula ácido vaccénico, ocasionando que parte de éste escape del rumen y esté disponible para absorción intestinal (Kim *et al.*, 2008).

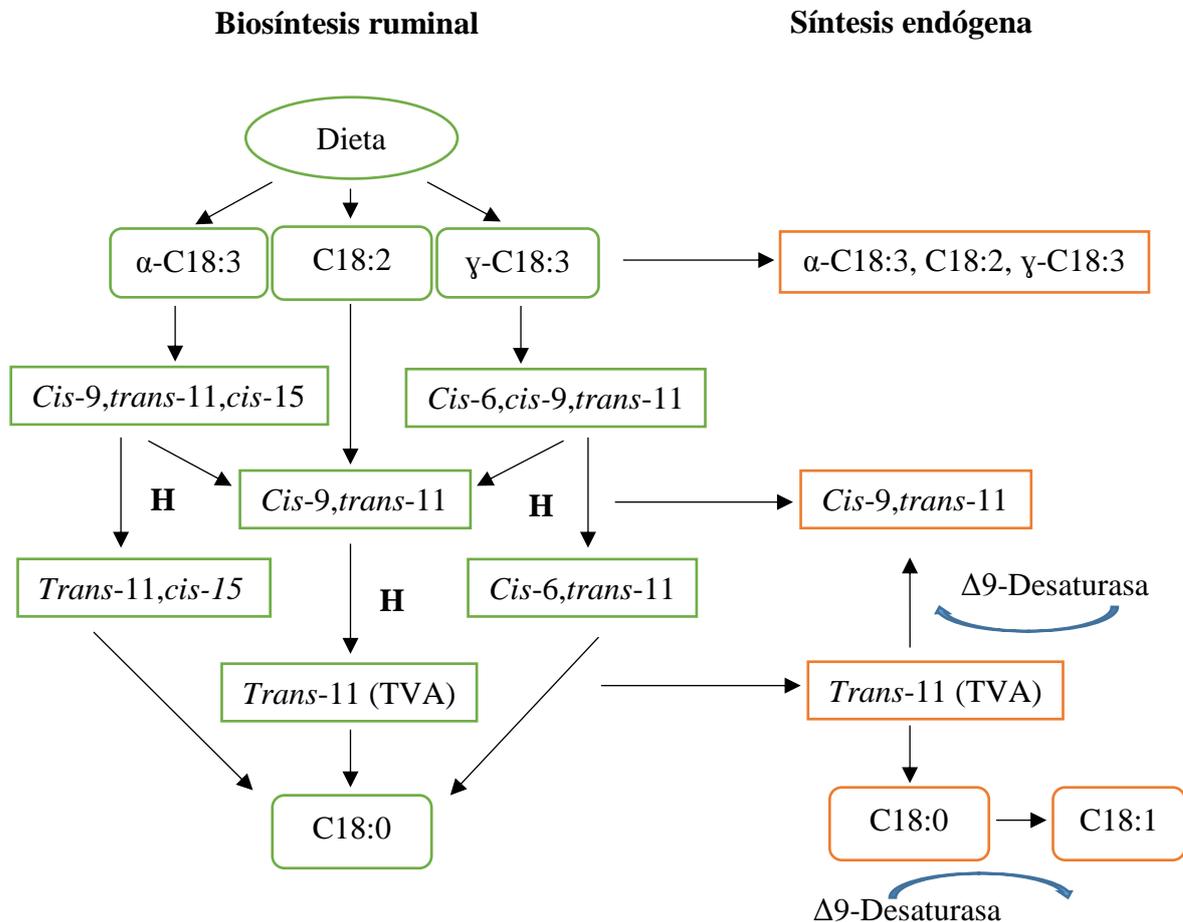


Figura 1. Síntesis del ácido linoleico conjugado en rumiantes (Adaptado de Collomb *et al.*, 2006).

El ALC también se sintetiza de forma endógena, a través de la desaturación del ácido vaccénico por acción de la enzima Δ^9 -desaturasa, que se encuentra en la glándula mamaria y tejido adiposo (Griinari *et al.*, 2000). La síntesis endógena

del ALC es la principal vía de producción del isómero *cis*-9, *trans*-11 (Raes *et al.*, 2003), y la principal síntesis del isómero *trans*-10, *cis*-12 se lleva a cabo en rumen, por medio del isómero *trans*-10, cuando éste no sintetiza ácido vaccénico, siendo ésta la única vía de producción del isómero *trans*-10, *cis*-12, ya que en tejido animal no existe la enzima desaturasa que sintetiza un doble enlace (*cis*-12) en el isómero *trans*-10 (Kim *et al.*, 2002).

Síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL)

Los componentes en la dieta, especialmente los lípidos, afectan la población bacteriana en el rumen (Kim *et al.*, 2008) y esto provoca cambios en la proporción de los AG volátiles (Husseini *et al.*, 2013), lo que a su vez determina la concentración y composición de la grasa en leche (Shingfield y Wallace, 2014), y el SDGL es un ejemplo de ello (Shingfield *et al.*, 2013). El SDGL se observa en vacas lactantes y se caracteriza por reducir hasta en 50 % la concentración de grasa en leche (Bauman *et al.*, 2011), de igual forma se modifica la composición de AG en leche (Harvatine *et al.*, 2009), y se reducen principalmente AG de cadena corta y media (Kadegowda *et al.*, 2010). Además, se observa poco o ningún cambio en proteína y lactosa en leche (Bauman *et al.*, 2011). Las condiciones de alimentación que provocan este síndrome requieren dietas con niveles bajos de FDN (las cuales se obtienen cuando el concentrado en la dieta es superior a 60 %) (Jordana-Rivero y Anrique, 2015), o dietas con niveles superiores a 5 % de AG poliinsaturados (Bauman *et al.*, 2011). Dietas con bajo contenido de FDN promueven menor síntesis de ácidos lipogénicos (acético y butírico) (Jenkin *et al.*, 2006), y los AG poliinsaturados promueven la generación de AG *trans* a través de la biohidrogenación ruminal (Maia *et al.*, 2010), dichos factores condicionan el SDGL (Bauman *et al.*, 2011; Jordana-Rivero y Anrique, 2015).

Se han descrito cambios metabólicos en la vaca lactante que pudieran explicar la presencia del SDGL. Al respecto, se ha propuesto que el aumento en la proporción de ácido propiónico y disminución del ácido acético y butírico en rumen resulta en síntesis menor de β -hidroxibutirato, precursor necesario en la síntesis de AG, lo cual induce menor concentración de grasa en leche (Harvatine *et al.*, 2009). También, que el aumento del ácido propiónico estimula mayor secreción pancreática de insulina, y debido a que la insulina está implicada en la regulación de la partición de nutrientes a través de la regulación de la glucosa y el suministro de energía hacia los tejidos, concentraciones elevadas de insulina en sangre causarían mayor suministro de energía hacia tejidos como muscular, adiposo o sanguíneo, lo cual crearía una competencia por nutrientes entre glándula mamaria y otros tejidos, y en consecuencia se captarían menor cantidad de precursores de AG en glándula mamaria, ocasionando menor concentración de grasa en leche (Harvatine *et al.*, 2009). Sin embargo estas explicaciones han tenido poco apoyo de evidencia científica (Bauman *et al.*, 2011), siendo la teoría

de biohidrogenación propuesta por Bauman y Griinari (2001) la que tiene mayor sustento científico.

Teoría de biohidrogenación

La teoría de biohidrogenación establece que las condiciones alimenticias como baja proporción de FDN o alta inclusión de AG insaturados en la dieta de vacas lactantes propician alteraciones en la biohidrogenación ruminal que dan origen a producción mayor de AG *trans*, los cuales son capaces de inhibir enzimas necesarias para la síntesis de AG en glándula mamaria (Harvatine, 2016). Al respecto, el estudio de Griinari *et al.* (1998) estableció las bases de la teoría de biohidrogenación, al indicar que son necesarias dos condiciones en rumen para observar el SDGL en vacas lactantes, 1) alta disponibilidad de ácido linoleico o α -linolénico y 2) un cambio en los procesos microbianos en el rumen. Ambas condiciones favorecen la producción a través de la biohidrogenación ruminal del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, principal responsable del SDGL (Bauman *et al.*, 2011). Los AG linoleico y α -linolénico dan origen al isómeros *trans*-10, *cis*-12 ALC a través de isomerización enzimática, por lo que una disponibilidad alta en el rumen de dichos AG promueve mayor concentración del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en rumen, lo que a su vez permite una mayor tasa de escape de este isómero hacia la glándula mamaria (Kim *et al.*, 2002), ocasionado disminución de grasa en leche. También, una dieta baja en FDN provoca reducción del pH en rumen, con lo cual se favorece el crecimiento de la bacterias *Megasphaera elsdenii*, que es responsables de la síntesis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC (Kim *et al.*, 2002).

Isómero trans-10, cis-12 ALC en la teoría de biohidrogenación

El SDGL causa en leche aumento de los isómeros *trans* de los AG C18:1 y C18:2, dentro de los cuales se incluye el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, esta observación permitió obtener los primeros indicios del mecanismo de acción para la presencia del SDGL (Bauman *et al.*, 2011). Con base en ello, se infundieron duodenalmente (para evitar alteraciones por bacterias ruminales) isómeros puros del AG C18:2 con el objetivo de relacionarlos con la caída de grasa en leche (Harvatine *et al.*, 2009). Al respecto Baumgard *et al.* (2000) infundieron los isómeros del ALC *trans*-10 *cis*-12 y *cis*-9 *trans*-11 y observaron que el primero reducía la concentración de grasa en leche, y el segundo no tenía ningún efecto (Figura 2). Posteriormente, de Veth *et al.* (2004) reportaron que la caída de grasa en leche a causa del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC se ajusta a una curva de decaimiento exponencial, con reducción de 50 % de grasa en leche a 7.5 g d⁻¹ y un máximo de respuesta medio a 3.5 g d⁻¹ (Figura 3), resultados similares fueron reportados por Shingfield y Griinari (2007).

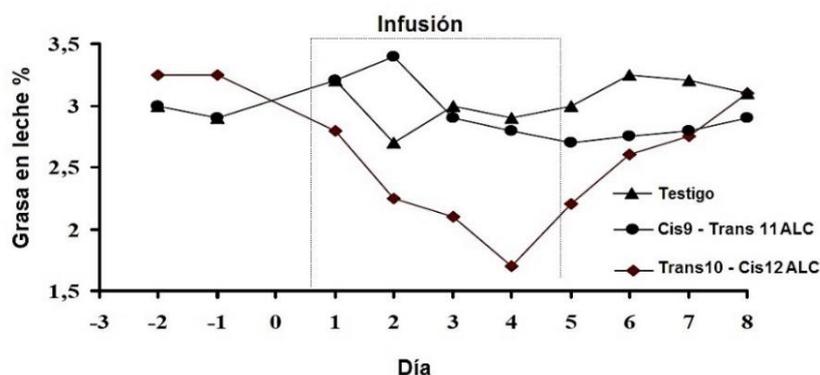


Figura 2. Concentración de grasa en leche durante la infusión abomasal de isómeros del ácido linoleico conjugado (ALC). La infusión duró cuatro días y los tratamientos fueron: testigo, *cis*-9, *trans*-11 ALC (10 g d⁻¹) y *trans*-10, *cis*-12 ALC (10 g d⁻¹). Fuente: Baumgard *et al.* (2000).

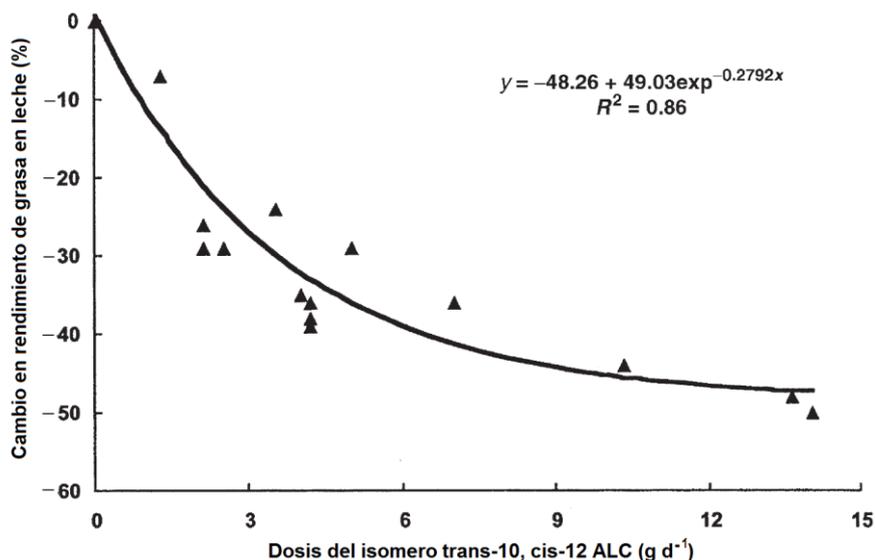


Figura 3. Modelo de decaimiento exponencial que establece la relación entre el cambio en rendimiento de grasa en leche de vaca y la dosis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC. Los valores del modelo para $y = \% \text{ del rendimiento de grasa en leche}$ y $x = \text{dosis del isómero isómero } trans\text{-10, } cis\text{-12 ALC}$; $P < 0.001$. Fuente de Veth *et al.* (2004).

Los estudios donde se infundió duodenalmente a vacas lactantes el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC han sido de corta duración (< 7 d) (Baumgard *et al.* 2000). Pero estos resultados son similares a los obtenidos con dietas que inducen SDGL, en donde la concentración de grasa en leche ha disminuido hasta 50 % y se observa aumento del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en leche (Bauman *et al.*, 2011). En este mismo sentido, y debido a las propiedades potencialmente benéficas para la salud humana del ALC, se han desarrollado suplementos que

contienen los isómeros de *cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12* ALC protegidos de la fermentación del rumen para su comercialización, y ello ha permitido la realización de estudios en vacas lactantes donde se suministra el isómero *trans-10 cis-12* en periodos desde 6 a 20 semanas (Harvatine *et al.*, 2009), los cuales han mostrado que la reducción de grasa en leche persiste durante todo el período experimental (Kay *et al.*, 2007; Glasser *et al.*, 2010; Ramirez-Mella *et al.*, 2013) y la concentración de grasa en leche vuelve a la normalidad cuando cesa el suministro (Pappritz *et al.*, 2012). No obstante, las dietas de vacas lactantes donde se han incluido aceites de pescado o en general aceites de origen marino, los cuales son ricos en AG insaturados, causan en la grasa láctea de las vacas poco o ningún aumento del isómero *trans-10, cis-12* ALC (Bauman *et al.*, 2011), aunque se observa reducción de la concentración de grasa en leche (Bichi *et al.*, 2013). Lo cual sugiere que otros isómeros producidos por biohidrogenación ruminal intervienen en la inhibición de la síntesis de grasa en leche (Bionaz y Loo, 2008; Kadegowda *et al.*, 2010). Por ejemplo, incluir isómeros *cis-10, trans-12* ALC (Saebo *et al.*, 2005) y *trans-9, cis-11* ALC (Perfield *et al.*, 2007) en dietas de vacas lactantes, reduce la concentración de grasa en leche, aunque en estos estudios solo se consideró un solo nivel de tales isómeros, por lo que habrá que tener mucha precaución al extrapolar los resultados. Además, la caída de grasa en leche provocada por dichos isómeros no fue tan pronunciada respecto a la provocada por el *trans-10, cis-12* ALC (Harvatine *et al.*, 2009). Es por ello que los estudios para determinar los mecanismos de acción de los isómeros que llevan a la presencia del SDGL se han enfocado en el isómero *trans-10, cis-12* ALC.

Mecanismos de acción del trans-10, cis-12 ALC en el SDGL.

La síntesis *de novo* y la síntesis por absorción y transferencia de AG preformados, requieren la labor coordinada de un complejo enzimático implicado en el transporte de precursores de AG a la glándula mamaria, la desaturación, esterificación y formación de triglicéridos, y finalmente la deposición de AG en leche (Bauman *et al.*, 2006). Es a través de la inhibición de este complejo enzimático que el isómero *trans-10, cis-12* ALC causa la presencia del SDGL en vacas lactantes (Bauman *et al.*, 2011). Al respecto, las principales enzimas inhibidas por el isómero *trans-10, cis-12* ALC implicadas en el proceso de reducción de grasa en leche son ácido ribonucleico mensajero (mARN) de AG sintetasa, acetil Co-A carboxilasa, lipasa lipoproteínica, $\Delta 9$ -desaturasa, AG acetil-CoA-ligasa, glicerol-fosfato-aciltransferasa, y acil-glicerol-fosfato-acil-transferasa (Kadegowda *et al.*, 2010, Vyas *et al.*, 2013).

A pesar de que los mecanismos de acción del isómero *trans-10, cis-12* ALC que reducen la grasa en leche no están claros aun (Kadegowda *et al.*, 2013), la evidencia científica apunta a que este proceso está regulado por supresión de fragmentos nucleares en la proteína 1 unida al elemento de respuesta de los esteroides (FREP1) (Bauman *et al.*, 2011). El FREP1 es un regulador global de la

síntesis de grasa en leche (Bionaz *et al.*, 2015), implicado en la regulación de genes lipogénicos en el tejido epitelial mamario (Harvatine *et al.*, 2009), en particular a los asociados con la síntesis *de novo* (Angulo *et al.*, 2012). Al respecto, el grado de supresión de FREP1 es directamente proporcional a la magnitud de la caída en grasa láctea provocada por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC (Bauman *et al.*, 2011). Sin embargo, los cambios en la expresión del FREP1 no han podido explicar totalmente el mecanismo de acción para la presencia del síndrome de depresión de grasa láctea (Kadegowda *et al.*, 2010; Bionaz *et al.*, 2015), lo cual sugiere que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC afecta otros factores de transcripción que regulan la síntesis de grasa en leche (Bionaz y Loor, 2008, Vyas *et al.*, 2013). Al respecto, dietas que provocan SDGL e infusiones obomasales con *trans*-10, *cis*-12 ALC modifican la expresión de la hormona tiroidea conocido como S14 (Anderson *et al.*, 2009), así como los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) (Bionaz y Loor, 2008; Kadegowda *et al.*, 2010), que son factores de transcripción que regulan la síntesis de grasa en leche (Bionaz *et al.*, 2015). Hasta el momento la evidencia científica indica que los factores de transcripción afectados por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, y que explican la reducción de la síntesis de grasa en leche son FREP1, S14 y PPARs. No obstante, es posible existan otras rutas no identificadas (Toral *et al.*, 2016), y gran parte de la investigación respecto al estudio del SDGL está orientada hacia la identificación de dichas rutas (Harvatine, 2016).

Efecto del SDGL en la industria lechera

La industria lechera, en particular la de Estados Unidos, es afectada por el SDGL, debido a la implementación en ese país de un sistema de fijación de precios a productos lácteos por el departamento de agricultura en 2000 (Manchester y Blayney, 2001). Este sistema cambio el pago a productores no solo por concepto de volumen de producción, sino que se incrementó el pago a la leche con mayor concentración de grasa y proteína. En consecuencia, los productores del sistema lechero estadounidense han encaminado su producción usando estrategias nutricionales para lograr tal objetivo (Erdman, 2008). En el caso de México, no existe regulación por parte del gobierno en los precios de los productos lácteos (Secretaría de Economía, 2012). Sin embargo, algunas empresas lecheras del país pagan incentivos económicos a productores por mayor concentración de grasa y proteína en leche, incrementando de 3.0 a 8.0 % el pago por la leche (CANILEC, 2011). La importancia de ofrecer altas concentraciones de grasa y proteína en leche es debido a la relación positiva de dichos componentes y el rendimiento de subproductos como el queso (Fekadu *et al.*, 2005). Al respecto, los factores más importantes que afecta el rendimiento en queso son la concentración de grasa y caseína en leche, que en conjunto representan alrededor del 94.0 % de la MS del queso (Fox *et al.*, 2016), cuyo rendimiento aumenta linealmente con las concentraciones de grasa y caseína en leche. En particular, la concentración de grasa láctea se correlaciona positivamente ($r=$

0.79) con el rendimiento en queso (Fekadu *et al.*, 2005). Este comportamiento sugiere que la reducción de grasa láctea causada por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, reduce de manera significativa el rendimiento en queso. Al respecto, Schiavon *et al.* (2016) complementaron la dieta de vacas con 5.5 g d⁻¹ de *trans*-10, *cis*-12, reduciendo 13.0 % la concentración de grasa en leche, y consecuentemente observaron reducción de 11.0 % del rendimiento en queso. Chen *et al.* (2009), al complementar la dieta de cabras con 6 g d⁻¹ de *trans*-10, *cis*-12, observaron reducción de 23.2 % en la concentración de grasa en leche, y reducción de 10.2 % en rendimiento en queso. Además, la reducción de grasa en leche de vacas por el isómero *trans*-10, *cis*-12 aumenta el tiempo de coagulación de la leche, lo cual reduce la firmeza del queso (Schiavon *et al.*, 2016), aspecto que desfavorece la aceptabilidad del queso por los consumidores (Fox *et al.*, 2016). Con base en estos antecedentes, se asume que el SDGL afecta la industria lechera al reducir el rendimiento en queso, por lo que el productor al ofertar leche con bajo contenido de grasa recibe menor pago por la misma. Ante esto, es necesario generar estrategias de alimentación que mitiguen la caída de grasa en leche a causa del SDGL.

Estrategias nutricionales en la mitigación del SDGL

En dietas para vacas en lactancia con contenido alto de aceites poliinsaturados (> 5 %), la vitamina E a dosis mayores de 9000 UI d⁻¹ incrementa la concentración de grasa en leche (Pottier *et al.*, 2006), a consecuencia de una mejora en la digestión de la fibra en el rumen (Ahnadi *et al.*, 2002). Además estabiliza el pH ruminal (Pottier *et al.*, 2006), lo cual pudiera ayudar a regular el crecimiento de la población de bacterias *Megasphaera elsdenii*, responsables de la síntesis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC (Kim *et al.*, 2002). Con base en ello, Ramírez-Mella *et al.* (2013) propusieron utilizar vitamina E para incrementar la concentración de grasa en leche disminuida a consecuencia del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC. Sin embargo, no lograron recuperar la concentración de grasa en leche al incluir vitamina E. Aunque, observaron un pequeño incremento del isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC, aspecto que es interesante seguir estudiando para determinar el papel que juega la vitamina E en la síntesis de este isómero del ALC.

Por otro lado, durante el SDGL se reduce la síntesis de todos los AG en la leche de vaca, aunque esta disminución es mayor en la síntesis de AG de cadena corta y media (Bauman y Griinari, 2003), lo cual implica que la síntesis *de novo* es mayormente afectada respecto a la absorción y transferencia de AG preformados (Bauman *et al.*, 2011; Pappritz *et al.*, 2012). Apoyados con este antecedente, Kadegowda *et al.* (2008) y Vyas *et al.* (2013) formularon la hipótesis que en vacas lactantes se podría recuperar la concentración de grasa disminuida durante el SDGL, al suministrarles en su dieta una mezcla de AG de cadena corta y media, bajo el supuesto que el SDGL es producto de una reducción drástica de la síntesis de AG *de novo*. Sin embargo, en ambos estudios no se logró la recuperación de la grasa en leche, concluyendo que la dosis usada de

la mezcla de AG fue insuficiente, y que el SDGL provocado por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC es causado por algo más que una reducción en la síntesis *de novo* de AG en glándula mamaria. En los citados estudios, la recuperación de la grasa en leche no se logró debido a que la mayoría de los AG suplementados no se transfirió a la leche, excepto el ácido palmítico (C16:0), y en promedio su eficiencia de transferencia a la leche fue de 50 % (Rico *et al.*, 2014). Lo cual implica que inclusiones mayores del C16:0 a vacas lactantes en el SDGL, podrían ayudar a recuperar la concentración de grasa en leche. Al respecto, el C16:0 es un AG importante en la síntesis de triglicéridos en la glándula mamaria, con mayor potencial para incrementar la biosíntesis de lípidos en glándula mamaria (Hansen y Knudsen, 1987). Al respecto, la síntesis de triglicéridos consiste en la acilación sucesiva del esqueleto de glicerol-3-fosfato en sus tres átomos de carbono (sn 1, sn 2, sn 3), donde en la primera acilación en el sn 1, el sustrato principal de la enzima glicerol-fosfato-acil-transferasa es el C16:0; esta acilación resulta en la formación de ácido lisofosfatídico, el cual es el punto de partida de la síntesis de triglicéridos (Kinsella y Gross, 1973). Por lo tanto, el aumento en la disponibilidad de C16:0 en la glándula mamaria, estimula la síntesis de triglicéridos en leche, lo que en consecuencia incrementa la concentración de grasa en leche (Rico *et al.*, 2014). Dada la importancia del C16:0 en la síntesis de triglicéridos en glándula mamaria, se han desarrollado complementos con más del 85 % de C16:0, los cuales suministrados a vacas lactantes han incrementado la concentración de grasa en leche (Loften *et al.*, 2014). Entonces el C16:0 pudiera ser una opción viable para recuperar la concentración de grasa en leche disminuida por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC.

Conclusión

El síndrome de depresión de grasa láctea se produce por cambios en la biohidrogenación ruminal que favorece mayor producción de metabolitos que inhiben enzimas involucradas en la síntesis de ácidos grasos. Uno de estos metabolitos es el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, el cual ha tenido atención mayor, y a partir de su estudio se ha consolidado la teoría de biohidrogenación, teoría que explica con mayor solides el SDGL. Este síndrome, afecta la industria lechera al reducir los rendimientos de subproductos lácteos por lo que el productor recibe menor pago por la leche, por lo cual son necesarios estudios para encontrar los mecanismos que lo provocan y diseñar estrategias alimenticias que mitiguen sus efectos negativos.

Literatura citada

Ahnadi CE, Beswick N, Delbecchi L, Kennelly JJ, Lacasse P. 2002 Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *J Dairy Res*; 69:521–31

Anderson GW, Zhu Q, Metkowsky J, Stack MJ, Gopinath S, Mariash CN. 2009. The Thrsp null mouse and diet-induced obesity. *Mol Cell Endocrinol*; 302:99–107

- Angulo J, Mahecha L, Nuernberg K, Nuernberg G, Dannenberger D, Olivera M, Boutinaud M, Leroux C, Albrecht E, Bernard L. 2012. Effects of polyunsaturated fatty acids from plant oils and algae on milk fat yield and composition are mediated by mammary lipogenic and SREBF1 gene expression. *Animal*; 6:1961-72.
- Bauman DE, Griinari JM. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr*; 23:203–27
- Bauman DE, Griinari JM. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest Prod Sci*; 70:15–29
- Bauman DE, Harvatine KJ, Lock AL. 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr*; 31:299-319.
- Bauman DE, Mather IH, Wall RJ, Lock AL. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J Dairy Sci*; 89:1235–43
- Bauman DE, Perfield JWII, Harvatine KJ, Baumgard LH. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *J Nutr*; 138:403–9
- Baumgard LH, Corl BA, Dwyer DA, Saebo A, Bauman DE. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 278:R179–84
- Bichi E, Hervás G, Toral PG, Looor J J, Frutos P. 2013. Milk fat depression induced by dietary marine algae in dairy ewes: Persistency of milk fatty acid composition and animal performance responses. *J Dairy Sci*; 96:524-532.
- Bionaz M, Looor JJ. 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics*; 9:366
- Bionaz M, Osorio J, Looor JJ. 2015. Nutrigenomics in dairy cows: Nutrients, transcription factors, and techniques. *J Anim Sci*; 93:5531–5553.
- Brownsey RW, Boone AN, Elliott JE, Kulpa JE, Lee WM. 2006. Regulation of acetyl- CoA carboxylase. *Biochem Soc Trans*; 34: 223-227.
- Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim Feed Sci Tech*; 174: 1-25.
- CANILEC. 2011. El libro blanco de la leche y los productos lacteos. Camara Nacional de Industriales de la Leche. Editorial Litho Offset.
- Chen SX, Rovai AL, Lock DE, Bauman TA, Gipson FZ, Zeng SS. 2009. Short communication: Effects of milk fat depression induced by a dietary supplement

containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on properties of semi-hard goat cheese. *J Dairy Sci*; 92:2534–2538

Chilliard Y, Ferlay A. 2004 Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod Nutr Dev*; 44:467-92.

Chilliard Y, Ferlay, A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest Prod Sci*; 70, 31–48.

Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler D, Ryhänen EL. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. –*Int Dairy J*; 16:1347-1361.

Dashty M. 2013. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clin Biochem*; 46: 1339-1352.

de Veth MJ, Griinari JM, Pfeiffer AM, Bauman DE. 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis in dairy cows: comparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids, and relationships among studies. *Lipids*; 39:365–72

Erdman RA. 2008. Feeding for and the cost of producing milk components: milk fat. *Proc. 6th Mid-Atlantic Nutr. Conf. Timonium MD*.

Fekadu B, Soryal K, Zeng S, VanHekken D, Bah B, Villaquiran M. 2005. Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheese. *Small Ruminant Res*; 59:55.

Fox PF, Timothy P, Guinee TP, Cogan M, Paul L, Mcsweeney H. 2016. *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition Springer New York.

Givens DI, Kliem KE, Gibbs RA. The role of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Sci* 2006; 74 209-218.

Glasser F, Ferlay A, Doreau M, Looor JJ. 2010. t10, c12–18:2-Induced milk fat depression is less pronounced in cows fed high-concentrate diets. *Lipids*; 45:877–87

Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KV, Bauman DE. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta9-desaturase. *J Nutr*; 130:2285–91

Griinari JM, Dwyer DA, McGuire MA, Bauman DE, Palmquist DL, Nurmela KVV. 1998. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 81: 1251–1261.

- Hansen HO, Knudsen J. 1987. Effect of exogenous long-chain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *J Dairy Sci*; 70:1350–1354.
- Harvatine KJ, Boisclair YR, Bauman DE. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*; 3:40–54
- Harvatine KJ, Perfeld JW, Bauman DE. 2009. Expression of Enzymes and Key Regulators of Lipid Synthesis Is Upregulated in Adipose Tissue during CLA-Induced Milk Fat Depression in Dairy Cows. *J Nutr*; 139: 821–5
- Harvatine KJ. 2016. Managing Milk Fat Depression. Florida Ruminant Nutrition Symposium 27th Annual Meeting. Gainesville, Florida.
- Heid HW, Keenan TW. 2005. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur J Cell Biol*; 84: 245-258.
- Hiltunen JK, Chen Z, Haapalainen AM, Wierenga RK, Kastaniotis AJ. 2010. Mitochondrial fatty acid synthesis-an adopted set of enzymes making a pathway of major importance for the cellular metabolism. *Prog Lipid Res*; 49: 27-45.
- Hötger K, Hammon HM, Weber C, Görs S, Tröscher A, Bruckmaier RM, Metges CC. 2013. Supplementation of conjugated linoleic acid in dairy cows reduces endogenous glucose production during early lactation. *J Dairy Sci*; 96: 2258-2270.
- Houten SM, Wanders RJ. 2010. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation. *J Inher Metab Dis*; 33: 469-477.
- Hussein M, Harvatine KJ, Weerasinghe WMPB, Sinclair LA, Bauman DE. 2013. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. *J Dairy Sci*; 96 3825–3834
- Jacobs AA, Dijkstra J, Liesman JS, Vandehaar MJ, Lock AL, van Vuuren AM, Hendriks WH, van Baal J. 2013. Effects of short-and long-chain fatty acids on the expression of stearoyl-CoA desaturase and other lipogenic genes in bovine mammary epithelial cells. *Animal*; 7: 1508-1516.
- Jenkins TC, Abughazaleh A, Freeman S, Thies EJ. 2006. The production of 10-hydroxystearic and 10-ketostearic acids is an alternative route of oleic acid transformation by the ruminal microbiota in cattle. *J Nutr*; 136:926-931.
- Jenkins TC, McGuire MA. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J Dairy Sci*; 89: 1302-1310

- Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. 2008. Board-invited review: recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J Anim Sci*; 86:397-412.
- Jensen RG. 2002 The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci*; 85:295–350
- Jordana-Rivero M, Anrique R. 2016. Milk fat depression syndrome and the particular case of grazing cows: A review. *Acta Agric Scand A Anim Sci*; 1-13.
- Jump DB. 2011. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 14: 115-120.
- Kadegowda AK, Burns TA, Miller MC, Duckett SK. 2013. Cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid is endogenously synthesized from palmitelaidic (C16:1 trans-9) acid in bovine adipocytes. *J Anim Sci*; 91: 1614-1623.
- Kadegowda AK, Connor EE, Teter BB, Sampugna J, Delmonte P, Piperova, LS, Erdman RA. 2010. Dietary trans fatty acid isomers differ in their effects on mammary lipid metabolism as well as lipogenic gene expression in lactating mice, *J Nutr*; 140, 919–924
- Kadegowda AKG, Piperova LS, Delmonte P, Erdman RA. 2008. Abomasal infusion of butterfat increases milk fat in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 91:2370–2379.
- Kim EJ, Huws SA, Lee MRF, Wood JD, Muetzel SM, Wallace RJ, Scollan N D. 2008. Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and trans-11 18: 1 and decreases 18 : 0 in steers via changes in the rumen bacterial community. *J Nutr*; 138, 889–896.
- Kim YJ, Liu RH, Rychlik JL, Russell JB. 2002. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid. *J Appl Microbiol*; 92, 976–982.
- Kinsella JE, Gross M. 1973. Palmitic acid and initiation of mammary glyceride synthesis via phosphatidic acid. *Biochim Biophys Acta*; 316: 109–113.
- Lock AL, Bauman DE. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*; 39:1197–206
- Loften RJ, Lin GJ, Drackley KJ, Jenkins CT, Soderholm GC, Kertz FA. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 97, 4661–4674.
- Lourenço ME, Ramos-Morales A, Wallace RJ. 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*; 4:1008-1023.

MacGibbon AKH, Taylor MW. 2006 Composition and structure of bovine milk lipids. In: Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. *Advanced dairy chemistry: lipids*. 3a ed. Springer Science. Cork, Ireland.

Maia MRG, Chaudhary LC, Bestwick CS, Richardson AJ, McKain N, Larson TR, Graham IA, Wallace RJ. 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiol* 10:52.

Manchester, A.C., and D.P. Blayney. 2001. Milk Pricing in the United States. Agriculture Information Bulletin No. 761, Market and Trade Economics Division, Economic Research Service, U.S. Department of Agriculture. <http://www.ers.usda.gov/publications/aib761/aib761fm>. Accessed Sep 26, 2016.

Moore JH, Steele W. 1968. Dietary fat and milk fat secretion in cow. *Proc Nutr Soc*; 27:66–70.

Nafikov RA, Beitz DC. 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J Nutr*; 137: 702-705.

Nunes-Nesi A, Araujo WL, Obata T, Fernie AR. 2013. Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle. *Curr Opin Plant Biol*; 16: 335-343.

Palmquist DL. 2006. Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. *Advanced dairy chemistry: lipids*. 3a ed. Springer Science. Cork. Ireland.

Pappritz J, Meyer U, Kramer R, Weber EM, Jahreis G, Rehage J, Flachowsky G, Danicke S. 2012. Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. *Arch Anim Nutr*; 65:89–107.

Perfield JW, Lock AL, Griinari JM, Saebo A, Delmonte P, Dwyer DA, Bauman DE. 2007. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 90:2211-2218.

Pottier J, Focant M, Debier C, Buysse De, Goffe G, Mignolet C, Friedmont E, Larondelle Y. 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *J Dairy Sci*; 89, 685–692

Raes K, De Smet S, Balcaen A, Claeys E, Demeyer D. 2003. Effect of diets rich in N-3 polyunsaturated fatty acids on muscle lipids and fatty acids in Belgian Blue double-musled young bulls. *Reprod Nutr Dev*; 43: 331-345.

Ramírez-Mella M, Hernández-Mendo O, Ramírez-Bribiesca EJ., Améndola-Massiotti RD., Crosby-Galván MM, Burgueño-Ferreira JA. 2013. Effect of vitamin E on milk composition of grazing dairy cows supplemented with

microencapsulated conjugated linoleic acid. *Trop Anim Health Pro*; 45:1783–1788.

Saebo A, Saebo PC, Griinari JM, Shingfield KJ. 2005. Effect of abomasal infusions of geometric isomers of 10, 12 conjugated linoleic acid on milk fat synthesis in dairy cows. *Lipids*; 40:823–32

Saggerson D. 2008. Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. *Annu Rev Nutr*; 28: 253-272.

Schiavon S, Cesaro G, Cecchinato A, Cipolat-Gotet C, Tagliapietra F, Bittante G. 2016. The influence of dietary nitrogen reduction and conjugated linoleic acid supply to dairy cows on fatty acids in milk and their transfer to ripened cheese. *J Dairy Sci*; 99:1–20

Secretaría de Economía. 2012. “Análisis del sector lácteo en México”. http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSetorial/analisis_sector_lacteo.pdf. Consultado Oct 17 2016.

Shingfield KJ and Wallace RJ, 2014. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. Chapter 1. RSC Catalysis Series No. 19. *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*. Edited by Bert Sels and An Philippaerts. The Royal Society of Chemistry.

Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*; 7:132-162.

Shingfield KJ, Griinari JM. 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *Eur J Lipid Sci Technol*; 109:799-816.

Toral PG, Hervás G, Carreño D, Frutos P. 2016. Does supplemental 18:0 alleviate fish oil-induced milk fat depression in dairy ewes? *J Dairy Sci*; 99: 1133–1144.

Vyas D, Moallem U, Teter BB, Fardin-Kia ARK, Erdman RA. 2013. Milk fat responses to butterfat infusion during conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 96: 2387–2399.

Yang B, Chen H, Stanton C, Ross RP, Zhang H, Chen YQ, Chen W. 2015. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Funct. Foods*; 15, 314–325.

CAPÍTULO II

ÁCIDO PALMÍTICO EN LA MITIGACIÓN DEL SÍNDROME DE DEPRESIÓN DE GRASA LÁCTEA PROVOCADO POR EL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN VACAS EN PASTOREO A INICIOS Y HACIA EL FINAL DE LA LACTANCIA¹

Resumen

El isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado (ALC) en vacas lactantes reduce la concentración de grasa en leche, aspecto perjudicial para la industria lechera, ya que reduce el rendimiento de subproductos lácteos. Para resolver este problema, una opción viable es el ácido palmítico (AP) que aumenta la concentración de grasa en leche. Entonces el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de proporcionar AP protegido a vacas en pastoreo a inicios y finales de la lactancia que recibieron un suplemento con ALC, en la producción de leche, composición química y perfil graso en leche. Para ello se realizaron dos experimentos en un rancho privado en el municipio de Huimanguillo, Tabasco (17° 38' 38.2" N; 93° 23' 36.9" O; 20 msnm), durante la época de lluvia. El clima en la región se clasifica como cálido húmedo, lluvioso en verano y otoño. La lluvia promedio anual es 2 295 mm año⁻¹, húmedo de junio a octubre con 70 % de la lluvia anual, y seco de noviembre a mayo; la temperatura máxima, media y mínima registrada 35, 25 y 15 °C, respectivamente, con 77.4 % de humedad relativa. El experimento 1, con seis vacas ¾ Suizo Americano x Cebú al inicio de la lactancia, y fueron distribuidas en tres grupos de dos vacas cada uno. Tres tratamientos fueron asignados aleatoriamente a cada grupo, utilizando un Diseño Cruzado: 1) Testigo (Dieta base= pastoreo + ensilado de sorgo + alimento concentrado), 2) ALC (dieta base + 50 g de ALC, y 3) ALC + AP (dieta base + 50 g de ALC + 412 g de AP). Experimento 2, con cuatro vacas ¾ Suizo Americano x Cebú a finales de la lactancia, y cuatro tratamientos fueron asignados aleatoriamente a cada vaca, utilizando un Diseño Cruzado: 1) Testigo (Dieta base), 2) ALC (dieta base + 50 g de ALC), 3) AP (dieta base + 412 g de AP) y 4) ALC + AP (dieta base + 50 g de ALC + 412 g de AP). Todas las vacas estuvieron en pastoreo rotacional intensivo tecnificado, durante 20 horas por día, sin becerro, en una pradera mixta de *Cynodon plectostachyus*, *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria brizantha*. Durante el proceso de ordeño cada vaca recibió 4 kg d⁻¹ de alimento concentrado y posterior al ordeño en corraletas individuales 8 kg d⁻¹ de ensilado de sorgo. Las variables evaluadas fueron consumo de forraje, producción de leche, concentración de proteína, grasa y lactosa en leche, y perfil graso de la leche. El análisis de varianza fue a través del modelo mixto y la comparación de medias con la prueba de Tukey, se declararon diferencias cuando $P \leq 0.05$. En ambos experimentos no hubo diferencias entre tratamientos en consumo de forraje ($P > 0.05$), pero con la

¹El experimento 1 escrito en este capítulo fue enviado a la revista Archives of Animal Nutrition bajo el título "Palmitic Acid on the Mitigation of Milk Fat Depression Syndrome Caused by *Trans*-10, *Cis*-12 Conjugated Linoleic Acid in Grazing Dairy Cows".

adición de AP en la dieta para las vacas aumentó ($P \leq 0.05$) la producción de leche, rendimiento de proteína y lactosa, y concentración de grasa. El perfil de ácidos grasos *de novo* fue menor al incluir AP en la dieta ($P \leq 0.05$). La adición de AP en la dieta para vacas a inicios de la lactancia mitiga la caída de grasa en leche reducida por la inclusión de ALC en la dieta, mientras que en vacas a finales de la lactancia hay una recuperación total de esta caída.

Palabras clave: Lechería tropical, síntesis de ácidos grasos, calidad de leche

Abstract

The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) in lactating cows reduces the concentration of fat in milk, detrimental to the dairy industry, as it reduces the yield of dairy by-products. To solve this problem, a viable option is palmitic acid (PA) which increases the fat concentration in milk. The objective of this study was to evaluate the effect of providing protected AP on grazing cows at early and late lactation that were supplemented with ALC in milk production, chemical composition and milk fat profile. For this, two experiments were carried out in a private farm in the municipality of Huimanguillo, Tabasco (17 ° 38'38.2 "N, 93 ° 23'36.9" W, 20 m), during the rainy season. The climate in the region is classified as hot humid, rainy in summer and autumn. The average annual rainfall is 2 295 mm year⁻¹, humid from June to October with 70% of annual rainfall, and dry from November to May; The maximum, average and minimum temperature recorded 35, 25 and 15 ° C, respectively, with 77.4% relative humidity. Experiment 1, with six cows $\frac{3}{4}$ Swiss American x Cebu at early lactation, and were distributed in three groups of two cows each. Three treatments were randomly assigned to each group, using a Cross-over Design: 1) Control (Base diet = grazing + sorghum silage + concentrated feed), 2) ALC (base diet + 50g ALC, and 3) Base diet + 50 g of ALC + 412 g of AP). Experiment 2, with four cows $\frac{3}{4}$ Swiss American x Cebu at late lactation, and four treatments were randomly assigned to each cow, using a Cross-over Design: 1) control (diet based), 2) ALC), 3) AP (base diet + 412 g AP) and 4) ALC + AP (base diet + 50 g ALC + 412 g AP). All cows were under intensive technical rotational grazing, for 20 hours per day, without calves, in a mixed prairie of *Cynodon plectostachyus*, *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria brizantha*. During the milking process, each cow received 4 kg d⁻¹ of concentrated feed and after milking in individual 8 kg d⁻¹ of sorghum silage. The variables evaluated were forage intake, milk production, protein concentration, milk fat and lactose, and milk fat profile. The analysis of variance was through the mixed model and the comparison of means with the Tukey test, differences were declared when $P \leq 0.05$. In both experiments there were no differences between treatments in forage consumption ($P > 0.05$), but with the addition of AP in the diet for cows increased ($P \leq 0.05$) milk yield, protein and lactose yield, and fat. The *de novo* fatty acid profile was lower by including

26

¹El experimento 1 escrito en este capítulo fue enviado a la revista Archives of Animal Nutrition bajo el título "Palmitic Acid on the Mitigation of Milk Fat Depression Syndrome Caused by *Trans*-10, *Cis*-12 Conjugated Linoleic Acid in Grazing Dairy Cows".

AP in the diet ($P \leq 0.05$). The addition of AP in the diet for cows at early lactation mitigates fat drop in milk reduced by the inclusion of ALC in the diet, whereas in cows at late lactation there is a total recovery of this drop.

Key words: Tropical dairy, fatty acid synthesis, milk quality

Introducción

La grasa en leche de vaca se modifica con facilidad, su concentración depende en particular de la alimentación (Hanuš *et al.*, 2016), y disminuye con niveles bajos de FDN o niveles superiores a 5 % de ácidos grasos (AG) poliinsaturados en la dieta. Estas condiciones nutricionales favorecen la reducen de grasa en leche debido a dos cambios en la fermentación ruminal. El primero, existe menor síntesis de ácido acético, precursor de síntesis de grasa en la glándula mamaria (Griinari *et al.*, 1998). El segundo, favorece la síntesis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC que inhibe la expresión de enzimas involucradas en la síntesis de AG *de novo* y en el transporte intracelular y absorción de AG preformados provenientes de la sangre en la glándula mamaria. Dicho isómero es considerado el principal responsable de la reducción de grasa en leche de vacas, fenómeno conocido como síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL), caracterizado por una reducción hasta 50 % de la concentración de grasa en leche (Bauman *et al.*, 2011). Asimismo, se reducen los AG de cadena corta y media (Schiavon *et al.*, 2016). El SDGL se presenta con mayor frecuencia en condiciones de confinamiento respecto a condiciones de pastoreo. En este último sistema, se presenta aun cuando la dieta no incluya alimentos concentrados o AG poliinsaturados (Jordana-Rivero y Anrique, 2015). En vacas en pastoreo el SDGL es más común en primavera, cuando el forraje consumido por las vacas es más disponible y con mayor calidad nutricional. En consecuencia, la vaca consume un pasto con bajo nivel de FDN, lo cual facilita el SDGL (Jordana-Rivero y Anrique, 2015).

La desventaja del SDGL se basa en un menor rendimiento de subproductos como queso y mantequilla (Schiavon *et al.*, 2016), por lo que para el productor representa menor precio por la leche (Manchester y Blayney, 2001). Ante este escenario, se propusieron alternativas para aliviar el SDGL en vacas confinadas (Vyas *et al.*, 2013) y en pastoreo (Ramírez-Mella *et al.*, 2013), cuando éste fue inducido por la inclusión en la dieta del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC ruminal protegido, con resultados no satisfactorios. Entonces, se requieren alternativas nutricionales nuevas que contribuyan a la disminución del SDGL. Al respecto, el AP es una opción viable porque incrementa la producción de leche y la concentración y rendimiento de grasa láctea (Mosley *et al.*, 2007; Piantoni *et al.*, 2013). Con base en este antecedente, la hipótesis de nuestro estudio fue que la adición de fuentes purificadas de AP en dietas para vacas en pastoreo, donde se incluye el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, podría disminuir el SDGL, sin afectar el comportamiento productivo, objetivo principal de la presente investigación.

-

Materiales y métodos

Dado que la magnitud de la caída de grasa en leche a causa del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC es diferente en la fase inicial respecto a la fase final de la lactancia, es posible que la respuesta a la inclusión de AP sea también diferente. Por tanto se realizaron dos experimentos con vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano x Cebú; en el primero con vacas en la fase inicial de la lactancia (31 ± 7 d en leche y 2.3 ± 0.8 partos; media \pm desviación estándar), y el segundo en la fase final (284 ± 12 d en leche y 3.8 ± 1.6 partos; media \pm desviación estándar).

Localización y fecha

Ambos experimentos se realizaron en un rancho privado ubicado en el municipio de Huimanguillo, Tabasco ($17^{\circ} 38' 38.2''$ N; $93^{\circ} 23' 36.9''$ O; 20 msnm), en la época de lluvias. El clima en la región se clasifica como cálido húmedo, lluvioso en verano y otoño. La lluvia promedio anual es $2\ 295$ mm año⁻¹, húmedo de junio a octubre con 70 % de la lluvia anual, y seco de noviembre a mayo; la temperatura máxima, media y mínima registrada 35, 25 y 15 °C, respectivamente, con 77.4 % de humedad relativa (INEGI, 2007).

Experimento 1

Vacas, diseño experimental y tratamientos

Se utilizaron seis vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en inicios de lactancia (31 ± 7 d en leche y 2.3 ± 0.8 partos; media \pm desviación estándar), distribuidas en 3 grupos de 2 vacas cada uno. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada uno de los tres grupos, en un Diseño Cruzado. Las vacas tuvieron un periodo de adaptación de 14 d y tres periodos experimentales de 21 d, y las muestras de leche se obtuvieron en los últimos 4 d de cada periodo. Los tratamientos fueron: 1) Testigo (Dieta base= pastoreo + alimento concentrado + ensilado de sorgo; Cuadro 1); 2) ALC (dieta base + 50 g de ALC; 3) ALC + AP (dieta base + 50 g de ALC + 412 g de AP). El ALC fue una mezcla de AG microencapsulados, que aportaron 6 g de *cis*-9, *trans*-11 y 6 g de *trans*-10, *cis*-12 ALC, (Lutrell Pure ®, BASF, Alemania); el AP fue una mezcla de AG microencapsulados > 85 % de AP, (Jefo Dairy Fat 99% ®, JEFO, Canadá).

Experimento 2

Se utilizaron cuatro vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú a finales de la lactancia (284 ± 12 d en leche y 3.8 ± 1.6 partos; media \pm desviación estándar). Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada uno de las cuatro vacas, en un Diseño Cruzado. Las vacas tuvieron un periodo de adaptación de 14 d y cuatro periodos experimentales de 21 d, y las muestras de leche se obtuvieron en los últimos 4 d de cada periodo. Los tratamientos fueron: 1) Testigo (dieta base); 2) ALC (dieta base + 50 g de ALC; 3) AP (dieta base + 412 g de AP) y 4) ALC + AP (dieta base + 50 g de ALC + 412 g de AP).

Manejo de las vacas en ambos experimentos

Alimentación y ordeña

Las vacas estuvieron en pastoreo rotacional intensivo tecnificado, en 43 potreros separados con cerco eléctrico, el periodo de ocupación fue de 12 h, y 21 d de descanso. La pradera fue mixta de *Cynodon plectostachyus* (18 %), *Brachiaria decumbens* (12 %) y *Brachiaria brizantha* (70 %). El consumo de forraje se calculó utilizando óxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador externo y cenizas insolubles en ácido como marcador interno (Geerken *et al.*, 1987). Cada vaca recibió 4 kg d⁻¹ de concentrado (mitad en cada ordeño; 05:00 y 16:00 h) y se mezclaba con el ALC y AP para el tratamiento correspondiente. Después de cada ordeña cada vaca recibió 4 kg d⁻¹ de ensilado de sorgo.

Cuadro 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de los componentes de la dieta.

	Forraje	Ensilado	Concentrado	ALC*	AP**
Composición química %					
Materia seca	22.55	32.12	92.50	---	---
Materia orgánica	83.10	89.62	95.11	---	---
Proteína cruda	10.12	6.88	17.3	---	---
Fibra detergente neutro	70.42	63.14	22.63	---	---
Fibra detergente ácido	44.18	39.14	6.90	---	---
Energía neta para lactación ¹	1.54	1.11	1.80	2.46	3.07
Ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG)					
≤ C11:0	---	---	---	3.11	---
C12:0	---	---	9.13	---	0.47
C14:0	0.79	1.35	3.79	0.45	2.28
C15:0	0.36	0.72	---	---	---
C16:0	24.36	23.68	15.47	11.60	86.53
C16:1n7	1.13	1.30	0.45	---	---
C17:0	0.87	1.08	---	---	---
C18:0	2.20	3.38	2.32	46.42	3.57
C18:1n9	1.97	12.57	26.45	12.08	6.17
C18:2n6	16.24	28.93	40.86	1.01	0.98
C18:3n3	50.95	24.56	---	---	---
<i>Cis</i> -9, <i>Trans</i> -11 ALC	---	---	---	12.03	---
<i>Trans</i> -10, <i>Cis</i> -12 ALC	---	---	---	12.26	---
C20:0	0.26	1.22	0.32	0.56	---
C22:0	0.87	1.21	1.21	0.48	---

*ALC = Ácido linoleico conjugado; **Ácido palmítico; ¹Calculado de acuerdo a las fórmulas del NRC (2001) para vacas lecheras.

Producción y composición de leche

La producción de leche se midió en cada vaca (Waikato MK, Nueva Zelanda) en los últimos 4 d de cada periodo experimental. De cada vaca en cada ordeña se obtuvieron muestras de leche que se almacenaron en viales de plástico (120 ml) y se conservaron en refrigeración a 5 °C para después analizar su composición química.

Consumo de forraje

Para determinar el consumo de forraje se utilizó óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador externo y cenizas insolubles en ácido como marcador interno (Geerken *et al.*, 1987). Durante los tres periodos experimentales, las vacas recibieron 6 g de sesquióxido de cromo (Cr_2O_3) en dos dosis de 3 g en el alimento concentrado, en cada ordeña. Las heces se obtuvieron durante 4 d alternos del periodo experimental directamente del recto de la vaca y se congelaron para su análisis en el laboratorio. Las muestras se descongelaron a 24 °C y se mezclaron las cuatro muestras de cada vaca y de cada periodo, para formar una muestra compuesta. La determinación de cromo se realizó solo en las muestras de heces.

La producción fecal diaria se calculó con la fórmula de Church (1988):

$$\text{Dosis de } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ (g d}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Producción fecal, MS (g d}^{-1}\text{)} = \text{-----}$$

$$\text{Concentración de } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces (g g}^{-1}\text{ MS)}$$

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

$$\{(\text{CIA})_H \times \text{PTH}\} - \{[(\text{CIA})_C \times \text{CTC}] - [(\text{CIA})_S \times \text{CTM}]\}$$

$$\text{Consumo MS pradera (g d}^{-1}\text{)} = \text{-----}$$

$$(\text{CIA})_P$$

Donde:

$(\text{CIA})_H$ = 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})

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

CTC = Consumo total del concentrado (g)

$(\text{CIA})_S$ = Concentración de CIA en el ensilado de sorgo (g kg^{-1} MS)

CTM = Consumo total de ensilado de sorgo (g d^{-1})

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

El consumo total de MS se determinó sumando la cantidad de MS del forraje de la pradera, ensilado de sorgo y concentrado consumido por vaca⁻¹ d⁻¹.

Análisis de laboratorio

La determinación de grasa, proteína y lactosa en leche se realizó por espectrometría infrarroja (LactiCheck, EE.UU) en el laboratorio de lácteos del INIFAP, en Huimanguillo Tabasco. Los análisis de la composición química del forraje de la pradera, ensilado de sorgo, concentrado, y perfil de AG de los componentes de la dieta y la leche se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las muestras de alimento se molieron con un molino Willey con malla de 1 mm. Los análisis de las muestras de alimento fueron: MS, proteína cruda, cenizas (AOAC, 1984), FDN, FDA (Van Soest *et al.*, 1991), y cenizas insolubles en ácido (Van Keulen y Young, 1977). En las muestras de heces se determinó cenizas insolubles en ácido y concentración de cromo.

La extracción de AG de la leche se realizó según la metodología de Feng *et al.* (2004). El perfil de AG de los componentes de la dieta y la leche se determinó utilizando la técnica de metilación, modificada de Palmquist y Jenkins (2003) y Jenkins (2010), en el cual los AG se presentan en forma de metil ésteres. Para los componentes de la dieta se tomaron 0.5 g de muestra. En la leche se tomaron 50 μ L de los lípidos extraídos de ella. La muestra de alimento o los lípidos de la leche se colocaron en tubos de polipropileno, se agregaron 3 mL de metóxido de sodio (0.5 M en metanol para proteger el proceso de isomerización de los AG insaturados), y se agitaron por 1 min con vórtex. Luego los tubos se colocaron en un vaso de precipitado con agua destilada a 50 °C por 10 min, los tubos se retiraron del vaso, se enfriaron por 5 min. Después en los tubos se agregaron 3 mL de ácido clorhídrico metanólico al 5 % para extraer la grasa total de la muestra y se agitaron 1 min con vórtex. Los tubos fueron colocados dentro del vaso de precipitado con agua destilada, a 80 °C por 10 min, los tubos se retiraron del vaso, se dejaron enfriar por 10 min, se agregaron 3.5 mL de hexano para disolver y extraer solo la grasa, y 5 mL de carbonato de potasio al 6 % para saponificar y liberar los AG, los cuales se agitaron 1 min con vórtex, y se centrifugaron por 5 min a 2500 x g. Después se extrajo la fracción de hexano, ubicada en la parte superior en el tubo, y se depositó en tubos de polipropileno, los cuales contenían 0.5 g de sodio para eliminar el exceso de humedad y 0.1 g de carbón activado para eliminar impurezas, se agitaron con vórtex y se centrifugaron a 1500 x g por 5 min. Luego se extrajo la primera fase de hexano, y se filtró a través de un acrodisco (Thermo Scientific, titan 44513-NN, filtro verde de 17 mm y membrana nylon de 0.45 μ m; para asegurar una muestra libre de impurezas) y se colocó en un vial donde se almacenó a – 5 °C hasta su análisis por cromatografía de gases. Los metil ésteres de AG se determinaron en un cromatógrafo Hewlett Packard 6890 con inyector automático con una columna capilar de sílice (100 m x 0.25 mm x 0.20 μ m de grosor, Sp-2560, Supelco). La identificación de los AG se realizó comparando los tiempos retención de cada pico obtenido del cromatograma, con un estándar de 37 componentes de metil

ésteres de AG, y un estándar específico para isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 de la compañía Nu-Check.

Cálculos

La producción de leche se corrigió por energía con la ecuación del NRC (2001): Producción de leche corregida por energía (ECM; kg d⁻¹) = [0.327 x producción de leche (kg d⁻¹)] + [12.95 x grasa (kg d⁻¹)] + [7.65 x proteína (kg d⁻¹)].

El consumo de energía neta (EN_i; MJ d⁻¹) se calculó multiplicando el consumo de MS por la densidad energética de los ingrediente de la dieta (NRC, 2001). La EN para mantenimiento (EN_M; MJ d⁻¹) se calculó como el peso metabólico (PV^{0.75}) x 0.08 x 4.184 (NRC, 2001). La EN requerida para la lactancia (EN_L; MJ d⁻¹) se calculó como la producción de leche (kg) x [(0.00929 x grasa g kg⁻¹) + (0.00563 x proteína g kg⁻¹) + (0.00395 x lactosa g kg⁻¹)] x 4.184 (NRC, 2001). Dado que las vacas estaban en pastoreo, se consideró el gasto energético por actividad física (EN_W; MJ d⁻¹), calculado como la distancia de recorrido diario [(km x 0.0019 x PV) + (0.0050 x PV)] (NRC, 2001). El balance de energía se calculó como EN_i - (EN_M + EN_L + EN_W) y se expresa en MJ d⁻¹.

Análisis estadístico

El diseño experimental fue un Diseño Cruzado, y los resultados se analizaron utilizando el procedimiento MIXED de SAS (2008). Las medias se compararon con la prueba de Tukey, se declararon diferencias cuando $P \leq 0.05$.

Resultados

Experimento 1

El consumo de forraje y MS total no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos, pero la producción de leche aumentó ($P \leq 0.05$) 1.17 y 1.07 kg d⁻¹ al proporcionar a las vacas ALC + AP respecto al tratamiento testigo y ALC, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto del ácido linoleico conjugado y ácido palmítico en el consumo de materia seca, producción y composición química de la leche de vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en pastoreo en lactancia temprana.

	Tratamientos			
	Testigo	ALC	ALC+AP	EEM*
Consumo de MS (kg d ⁻¹)				
Concentrado	3.7	3.6	3.7	---
Ensilado	7.3	6.9	7.4	---
Forraje	3.13	3.37	3.49	0.38
Consumo total	14.13	13.87	14.59	0.43
Producción de leche (kg d ⁻¹)	15.47 ^b	15.21 ^b	16.38 ^a	0.37
ECM (kg d ⁻¹)	16.94 ^a	14.43 ^b	17.70 ^a	0.65
Composición química de la leche (g kg ⁻¹)				
Grasa	38.6 ^a	28.3 ^c	36.4 ^b	0.46
Proteína	33.2	33.1	32.8	0.02
Lactosa	48.0	47.9	47.5	0.03
Rendimiento de componentes en leche (g d ⁻¹)				
Grasa	606.93 ^a	433.69 ^b	614.32 ^a	14.49
Proteína	516.89 ^b	501.74 ^b	553.40 ^a	11.89
Lactosa	750.46 ^b	714.38 ^b	842.04 ^a	19.31
Eficiencia alimenticia ¹	1.15 ^a	0.95 ^b	1.18 ^a	0.06
Balance de energía (MJ d ⁻¹)	-3.35 ^c	-0.30 ^b	2.82 ^a	1.16

^{abc} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.05$).¹Eficiencia alimenticia= ECM/CMS; *Error estándar de la media; ALC = Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico.

Hubo diferencias ($P \leq 0.05$) en el rendimiento de proteína y lactosa en leche. La proteína en leche de vacas con ALC + AP fue mayor 6.6 % y 9.3 %, respecto a los tratamientos testigo y ALC, respectivamente. Asimismo, la lactosa en leche de vacas alimentadas con ALC + AP aumentó ($P \leq 0.05$) 10.9 % y 15.2 % respecto al testigo y ALC, respectivamente. La concentración de grasa en leche con los tratamientos ALC + AP y ALC disminuyeron 5.7 % y 26.7 % respecto al tratamiento testigo. Esta diferencia implica que la inclusión de AP en la dieta para vacas en pastoreo disminuyó en 76.7 % la caída de grasa en leche causado por la adición de ALC en la dieta. La grasa en leche del tratamiento con solo ALC fue menor ($P \leq 0.05$) respecto al testigo y ALC + AP. No hubo diferencias ($P > 0.05$) en el rendimiento de grasa láctea entre el tratamiento testigo y el ALC + AP. La eficiencia alimenticia de las vacas con el tratamiento testigo y con ALC+AP fue mayor ($P \leq 0.05$) respecto a las vacas que solo recibieron ALC. El balance energético fue diferente ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, la adición de ALC + AP causó un balance positivo (2.82 MJ d⁻¹) en las vacas, comparadas con el balance negativo de las vacas en los tratamiento testigo (-3.35 MJ d⁻¹) y ALC (-0.30 MJ d⁻¹). La concentración de AG de cadena corta y media (C4:0 a C14:0)

en la leche de vacas complementadas con ALC + AP fueron menores ($P \leq 0.05$) respecto a los tratamientos testigo y ALC.

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos (g 100 g⁻¹ AG) de la leche de vacas ^{3/4} Pardo Suizo Americano X Cebú en lactancia temprana en pastoreo complementadas con ácido palmítico y el ácido linoleico conjugado.

Ácido graso	Tratamientos			
	Testigo	ALC	ALC+AP	EEM*
C4:0	1.91 ^a	1.85 ^{ab}	1.50 ^b	0.16
C6:0	1.85 ^a	1.76 ^a	1.32 ^b	0.14
C8:0	1.25 ^a	1.34 ^a	0.89 ^b	0.12
C10:0	2.59 ^a	2.81 ^a	1.81 ^b	0.21
C11:0	0.36 ^a	0.35 ^{ab}	0.26 ^b	0.04
C12:0	3.28 ^a	3.44 ^a	2.41 ^b	0.20
C13:0	0.18 ^a	0.16 ^{ab}	0.13 ^b	0.02
C14:0	11.59 ^a	10.83 ^a	8.93 ^b	0.55
C14:1	1.39	1.12	1.15	0.15
C15:0	1.22 ^a	1.26 ^a	1.03 ^b	0.04
C16:0	31.72 ^b	26.16 ^c	39.5 ^a	0.61
C16:1 <i>cis</i> - 9	2.26 ^a	1.77 ^b	2.43 ^a	0.13
C17:0	0.77 ^a	0.85 ^a	0.63 ^b	0.49
C17:1	0.41	0.33	0.28	0.06
C18:0	9.05 ^a	9.84 ^a	7.32 ^b	0.54
C18:1 <i>cis</i> - 9	24.37 ^b	29.28 ^a	25.08 ^b	0.88
C18:1 <i>trans</i> - 11	0.62	0.63	0.61	0.03
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>cis</i> - 12	3.11 ^a	3.19 ^a	2.03 ^b	0.27
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>trans</i> - 11	1.12 ^c	1.68 ^a	1.54 ^b	0.03
C18:3 <i>cis</i> - 9, <i>cis</i> - 12, <i>cis</i> - 15	0.38 ^b	0.65 ^a	0.29 ^b	0.08
C20:0	0.10	0.11	0.10	0.02
∑AGS [¶]	69.28 ^a	64.26 ^b	68.44 ^a	0.88
∑AGMI [§]	28.91 ^b	33.29 ^a	29.32 ^b	0.85
∑AGPI ^ϕ	1.81 ^b	2.45 ^a	2.23 ^a	0.09
< C16:0	25.62 ^a	24.96 ^a	19.46 ^b	1.32
C16:0 + <i>cis</i> - 9 C16:1	33.98 ^b	27.94 ^c	42.18 ^a	0.69
> C16:0	40.39 ^a	47.08 ^b	38.36 ^a	1.29

^{abc} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.01$). * EEM: Error estándar de la media; ALC= Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico; [¶] AGS = ácidos grasos saturados; [§] AGMI = ácidos grasos monoinsaturados; ^ϕ AGPI = ácidos grasos polinsaturados.

El AP aumentó 19.70 % y 33.77 % respecto a los tratamientos testigo y ALC, respectivamente. Asimismo, la concentración de ALC fue diferente ($P \leq 0.05$) entre todos los tratamientos, la leche de vacas del tratamiento ALC mostró la mayor concentración (1.68 g 100 g⁻¹ AG) respecto a leche en los tratamientos ALC + AP (1.54 g 100 g⁻¹ AG) y testigo (1.12 g 100 g⁻¹ AG) (Cuadro 3).

Experimento 2

Los datos de consumo de forraje y MS total se muestran en el Cuadro 4, sin diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre tratamientos. Incluir AP en la dieta de las vacas aumentó ($P \leq 0.05$) la producción de leche. La concentración de grasa en leche fue mayor en el tratamiento con AP, y menor en el tratamiento con ALC. La grasa en leche de vacas al incluir ALC + AP no fue diferente ($P > 0.05$) al tratamiento testigo, indicando que añadir AP en la dieta de vacas hacia el final

de la lactancia que fueron complementadas con ALC recupera la caída de grasa en leche en su totalidad.

Cuadro 4. Efecto del ácido linoleico conjugado y ácido palmítico en el consumo de materia seca, producción y composición química de la leche de vacas ³/₄ Pardo Suizo Americano X Cebú en pastoreo en lactancia tardía.

	Tratamientos				EEM*
	Testigo	ALC	AP	ALC+AP	
Consumo de MS (kg d ⁻¹)					
Concentrado	3.8	3.6	3.9	3.8	-
Ensilado	7.8	7.7	7.8	7.9	-
Forraje	4.6	4.1	3.9	4.5	0.37
Consumo total	16.1	15.3	15.7	16.3	0.35
Producción de leche (kg d ⁻¹)	9.1 ^b	9.2 ^b	9.7 ^a	9.9 ^a	0.17
ECM (kg d ⁻¹)	9.8 ^b	8.7 ^c	11.4 ^a	10.8 ^a	0.36
Composición química de la leche (g kg ⁻¹)					
Grasa	39.1 ^b	33.7 ^c	46.2 ^a	38.8 ^b	0.12
Proteína	33.6	33.1	31.8	34.5	0.72
Lactosa	48.2	49.2	48.5	49.4	0.06
Rendimientos de componentes en leche (g d ⁻¹)					
Grasa	354.9 ^c	309.7 ^d	446.5 ^a	383.2 ^b	15.96
Proteína	308.5 ^b	307.5 ^b	307.1 ^b	338.7 ^a	7.25
Lactosa	439.2 ^c	451.8 ^b	464.6 ^b	482.9 ^a	3.81
Eficiencia alimenticia ¹	0.63 ^b	0.58 ^b	0.78 ^a	0.69 ^{ab}	0.04
Balance de energía (MJ d ⁻¹)	4.71 ^c	5.19 ^b	7.54 ^a	7.62 ^a	0.76

^{abcd} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.05$).¹Eficiencia alimenticia= ECM/CMS; *Error estándar de la media; ALC = Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico.

La eficiencia alimenticia fue mayor ($P \leq 0.05$) en vacas a las que se les ofreció AP. Incluir AP y ALC en la dieta de las vacas mejoró su balance energético (Cuadro 4).

En el perfil de AG de leche, el C16:0 mostró diferencias ($P \leq 0.05$) entre tratamientos. La adición de AP causó la mayor concentración de C16:0 en leche respecto a los otros tratamientos. En tanto, la inclusión de ALC aumentó ($P \leq 0.05$) el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC en la grasa láctea con respecto al tratamiento testigo y AP (Cuadro 5).

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos (g 100 g⁻¹ AG) de la leche de vacas ³/₄ Pardo Suizo Americano X Cebú en lactancia tardía en pastoreo complementadas con ácido palmítico y el ácido linoleico conjugado.

Ácido graso	Testigo	ALC	AP	ALC+AP	EEM*
C4:0	1.58	1.74	1.54	1.25	0.23
C6:0	1.65	1.59	1.40	1.18	0.18
C8:0	1.28 ^a	0.92 ^b	0.87 ^b	0.78 ^b	0.12
C10:0	2.91 ^a	2.11 ^b	1.84 ^b	1.66 ^b	1.21
C11:0	0.41 ^a	0.26 ^b	0.26 ^b	0.27 ^b	0.03
C12:0	3.56 ^a	2.84 ^b	2.15 ^c	2.38 ^c	0.16
C13:0	0.23 ^a	0.14 ^b	0.14 ^b	0.16 ^b	0.02
C14:0	11.84 ^a	10.38 ^b	8.52 ^c	9.33 ^{bc}	0.47
C14:1	1.74 ^a	1.20 ^b	1.38 ^{ab}	1.56 ^{ab}	0.18
C15:0	1.34 ^a	1.32 ^a	1.06 ^b	1.17 ^b	0.05
C16:0	29.55 ^c	25.93 ^d	40.32 ^a	37.10 ^b	0.93
C16:1 <i>cis</i> -9	2.11 ^b	1.91 ^b	2.89 ^a	2.70 ^a	0.19
C17:0	0.85 ^a	0.91 ^a	0.65 ^b	0.68 ^b	0.05
C17:1	0.30	0.30	0.27	0.29	0.03
C18:0	9.07 ^a	8.83 ^a	7.02 ^b	7.09 ^b	0.31
C18:1 <i>cis</i> -9	24.54 ^b	29.92 ^a	24.0 ^b	26.20 ^b	0.98
C18:1 <i>trans</i> -11	0.13 ^{ab}	0.16 ^a	0.10 ^b	0.07 ^b	0.02
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	3.57 ^a	4.06 ^a	2.51 ^b	2.52 ^b	0.30
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	1.11 ^b	1.72 ^a	1.06 ^b	1.60 ^a	0.09
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0.16	0.15	0.14	0.22	0.05
C20:0	0.33 ^a	0.34 ^a	0.27 ^a	0.22 ^b	0.03
∑AGS [¶]	67.86 ^a	61.05 ^b	68.29 ^a	65.59 ^a	1.03
∑AGMI [§]	30.12 ^b	36.27 ^a	29.88 ^b	32.05 ^b	1.04
∑AGPI ^ϕ	2.02 ^{bc}	2.68 ^a	1.83 ^c	2.35 ^{ab}	0.14
< C16:0	26.55 ^a	22.55 ^b	19.16 ^{bc}	19.75 ^c	1.16
C16:0 + <i>cis</i> - 9 C16:1	41.79 ^b	49.64 ^a	37.62 ^c	40.44 ^{bc}	1.12
> C16:0	31.66 ^c	27.84 ^d	43.22 ^a	39.81 ^b	0.97

^{abcd} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.01$). * EEM: Error estándar de la media; ALC= Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico; [¶] AGS = ácidos grasos saturados; [§] AGMI = ácidos grasos monoinsaturados; ^ϕ AGPI = ácidos grasos polinsaturados.

Discusión

El uso del ALC en la alimentación de vacas lactantes ha sido estudiado por Ramirez-Mella *et al.* (2013) y Piantoni *et al.* (2013), y de AP por Rico *et al.* (2014a), quienes no reportan afectos significativos en consumo de MS, el resultado de nuestro estudio es similar. Pero, Pappritz *et al.* (2011) y von Soosten *et al.* (2012) con ALC, y Lock *et al.* (2013) con AP reportaron que el consumo de MS se redujo, y que Shingfield *et al.* (2004) y Mosley *et al.* (2007) reportaron incrementos en el consumo de MS por la adición de dichos ácidos grasos en la dieta. Sin embargo, a pesar de estas inconsistencias, donde varios factores están involucrados, el consumo de MS (14.20 kg d⁻¹ Experimento 1; 15.85 kg d⁻¹ Experimento 2) encontrado para las vacas de nuestro estudio, está dentro del rango propuesto por el NRC (2001) para vacas con producción de leche inferior

a 20 kg d⁻¹. Más aún, la producción máxima de leche en nuestro estudio fue 16.38 kg d⁻¹, por lo cual no se esperaría un consumo de MS superior a 16 kg d⁻¹ (NRC, 2001), y los resultados de nuestro estudio siguen este comportamiento.

En ambos experimentos, la producción de leche aumentó en vacas que recibieron AP comparadas con las del tratamiento testigo y ALC. Este resultado es similar a los reportados por Piantoni *et al.* (2013) y Mosley *et al.* (2007) quienes proporcionaron 384 g y 545 g de AP a vacas, comparado con 400 g de dicho AG usado en nuestro estudio. Sin embargo, Lock *et al.* (2013) y Rico *et al.* (2014a) no observaron cambios en la producción de leche por efecto del AP, a pesar de haber usado cantidades de AP similares. De acuerdo a Rico *et al.* (2014a), este comportamiento se debe a diferencias en la partición de la energía suministrada por el AP, que puede seguir dos rutas, hacia la síntesis de grasa láctea o la síntesis de leche. En nuestro estudio, el incremento en la producción de leche con los tratamientos AP se debió al mayor aporte de energía en la dieta por la adición de AP (Cuadro 1). Al respecto, se ha reportado que los microorganismos del rumen no son afectados por niveles altos de AG saturados en la dieta, y dado que el AP es un AG saturado, escapa del rumen como un AG inerte y puede ser absorbido en intestino delgado, y en consecuencia existe disponibilidad mayor de EN para la producción de leche (Warntjes *et al.*, 2008). Por otro lado, el aumento en la producción de leche de las vacas complementadas con ALC + AP, se debió también a un uso más eficiente de glucosa (Hötger *et al.*, 2013), dado que el uso de AG de cadena larga, como el ALC, en la dieta de vacas lecheras se ha relacionado con una eficiencia mayor de glucosa para la síntesis de lactosa (Hötger *et al.*, 2013). Esto se debe a que la reducción de síntesis de *novo* de AG en glándula mamaria provocado por AG de cadena larga, disminuye el uso oxidativo de glucosa en la ruta metabólica de la pentosa fosfato, al inhibir la acetil CoA carboxilasa (Palmquist y Jenkins, 1980). Asimismo, la glucosa es necesaria para la síntesis de grasa láctea, ya que ésta provee el NADPH empleado en la síntesis *de novo* (Bauman y Griinari, 2003). Por tanto, al reducirse la síntesis *de novo* de AG, existe ahorro de glucosa, misma que puede ser usada para sintetizar más lactosa (Hötger *et al.*, 2013), y considerando que la lactosa es el principal osmo-regulator en la captación mamaria de agua (Rigout *et al.*, 2002), entonces es de esperarse que la producción de leche aumente, como observamos en nuestro estudio. Consecuentemente, la eficiencia alimenticia en las vacas con los tratamientos AP o ALC + AP fue mejor respecto los otros tratamientos. El hecho que las vacas de dichos tratamientos tuvieran mejor eficiencia alimenticia y un probable ahorro de glucosa, conduce a un uso más eficiente de la EM, lo cual deriva en un balance de energía positivo (von Soosten *et al.*, 2012).

La concentración promedio de grasa en leche de las vacas en el experimento 1 fue 38.6 (testigo), 36.4 (ALC+AP) y 28.3 (ALC) g kg⁻¹, en tanto en el experimento 2 fue 39.1 (testigo), 46.2 (AP), 38.8 (ALC+AP) y 33.7 (ALC) g kg⁻¹. En los

tratamientos con solo ALC, la grasa fue menor ($P \leq 0.05$) respecto a los tratamientos testigo y AP. Esto indica transferencia positiva del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC de la dieta a leche. Al respecto, cuando suplementos alimenticios con isómeros *trans*-10, *cis*-12 ALC microencapsulados son incluidos en la dieta de vacas, 65 % de dicho isómero llega a duodeno, evitando a la biohidrogenación ruminal (Perfield *et al.*, 2004). De este porcentaje, solo 25 % se trasfiere de duodeno a la grasa en leche (Maxin *et al.*, 2010; Pappritz *et al.*, 2011). Esta baja transferencia implica que en vacas confinadas y alimentadas con 6 g d⁻¹ de *trans*-10, *cis*-12 ALC, la grasa en leche se reduce 15 % (Pappritz *et al.*, 2011; Hötger *et al.*, 2013). Sin embargo en nuestro estudio, donde las vacas estuvieron en pastoreo y alimentadas con la misma cantidad de *trans*-10, *cis*-12 ALC, la reducción en grasa fue 27 %, similar al reportado (26 %) por Medeiros *et al.* (2010) en leche de vacas en pastoreo bajo el mismo tratamiento. Estas diferencias podrían deberse a que la cantidad de enzimas necesarias para sintetizar grasa en glándula mamaria es mayor en vacas confinadas que en pastoreo. Por ejemplo, en nuestro estudio, como en el de Medeiros *et al.* (2010), la producción de leche fue baja (≈ 15 kg d⁻¹), ocasionando bajo rendimiento de grasa en leche (≈ 0.5 kg d⁻¹), respecto a vacas confinadas (≈ 1.30 kg d⁻¹) (Pappritz *et al.*, 2011; Hötger *et al.*, 2013). Este comportamiento sugiere mayor producción de enzimas necesarias para sintetizar grasa en glándula mamaria en vacas confinadas comparadas con vacas en pastoreo (McManaman, 2009), y debido a que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC reduce la grasa en leche, al reducir la cantidad de enzimas involucradas en el transporte y captación de AG, y la síntesis *de novo* de AG (Vyas *et al.*, 2013), en consecuencia, en vacas en pastoreo se necesita mayor cantidad de dicho isómero para causar la misma reducción de grasa en leche que la encontrada en vacas confinadas.

Por otro lado, la grasa en leche de vacas complementadas con ALC en ambos experimentos disminuyó respecto al tratamiento testigo (Cuadro 2 y Cuadro 4), con mayor disminución en el experimento 1 (26.7 %) respecto al experimento 2 (13.8 %). Ello se debe, a que las vacas del experimento 1 se encontraban a inicios de la lactancia y las vacas del experimento 2 hacia finales de la lactancia (Odens *et al.*, 2007). En inicios de la lactancia, los AG en leche son sintetizados en su mayoría *de novo* (Palmquist, 2006), síntesis en particular más afectada por el isómero *tran*-10, *cis*-12 ALC (Griinari y Bauman, 2006), lo que llevó a que la disminución de grasa en leche de vacas a inicios de la lactancia por efecto del ALC fuese mayor que en vacas a finales de la lactancia. Esto también provocó respuestas diferentes a la inclusión de AP en la dieta de vacas complementadas con ALC. En el experimento 1 la recuperación de la caída de grasa en leche por efecto del AP fue de 76.7 % (Cuadro 2), y en el experimento 2 la recuperación fue total (Cuadro 4), evidenciando que las diferencias en el efecto del isómero *tran*-10, *cis*-12 ALC en las etapas de lactancia ocasionan diferentes respuesta a la inclusión del AP en la dieta de las vacas complementadas con ALC.

El isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC no afecta la cantidad de grasa en leche en las primeras etapas de la lactancia (Pappritz *et al.*, 2011), debido a que durante este período, los AG presentes en la leche provienen mayormente 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 ALC son más importantes en la síntesis *de novo* que en la movilización y transporte de AG (Baumgard *et al.*, 2002). Por tanto, el mayor efecto a la síntesis *de novo* indica el porqué de la eficiencia del AP en la reducción de la caída de grasa por efecto de incluir ALC en la dieta. Esto se debe a que incluir suplementos de AP en la dieta para vacas, como en este estudio, incrementan la disponibilidad de AP en la glándula mamaria. En consecuencia, se reduce la síntesis *de novo* debido a que la síntesis de grasa láctea a partir de AG dietarios resulta en una ruta metabólica de mayor eficiencia (Loften *et al.*, 2014). Asimismo, el AP estimula la síntesis de triglicéridos en glándula mamaria de vacas (Hansen y Knudsen, 1987). Debido a lo anterior, la concentración de grasa en leche se incrementa (Piantoni *et al.*, 2013; Lock *et al.*, 2013; Rico *et al.*, 2014 a,b).

Incluir en la dieta para vacas lactantes AP es más eficiente en estimular la síntesis de AG durante el SDGL provocado por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, debido a que la transferencia del AP a leche (Vyas *et al.*, 2013) es hasta del 50 %. Al respecto, Kadegowda *et al.* (2008) y Vyas *et al.* (2013) reportan que suplementar con AG no mitiga el SDGL provocado por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, nuestros resultados son diferentes a los de ellos debió a que la concentración (86.0 %) de AP que utilizamos fue mayor respecto a la utilizada por ellos (27.5 %), lo que llevó a que en nuestro estudio si se mitigara el SDGL. Asimismo, aunque en el presente estudio no se evaluó la transferencia del AP a leche, en ambos experimentos, la inclusión de AP en las dietas de las vacas en promedio aumentó 29.0 % la concentración de dicho AG en grasa láctea respecto al tratamiento testigo, indicando transferencia positiva del AP complementado, lo que consecuentemente provocó incremento en la concentración de grasa en leche.

En el presente estudio, la concentración de AP en leche de vacas complementadas con AP fue de 39.5 % (Experimento 1) y 40.3 % (Experimento 2), similar al reportado por Piantoni *et al.*, 2013; Lock *et al.*, 2013 y Rico *et al.* (2014 a,b), quienes suplementaron AP a vacas lecheras confinadas. Es interesante observar que a pesar que la dosis de AP en dietas de vacas lecheras fluctúa de 500 g a 1,500 g, la concentración de AP en la grasa láctea no rebasa el 40.0 %, aspecto importante a considerar, ya que un valor superior afectaría negativamente la fluidez de la leche dentro de la glándula mamaria (Loften *et al.*, 2014). De manera que para evitar rebasar el 40.0 % de AP en leche, la síntesis de triglicéridos se realiza bajo una combinación tal, que la sumatoria permita un punto de fusión inferior a 39°C, temperatura corporal de la vaca (Jensen, 2002). Considerando que el AP presenta un punto de fusión elevado (62.9 °C), la

síntesis de triglicéridos dentro de la glándula mamaria, restringe la incorporación de AG con puntos de fusión menores (C4:0 a C14:0 y C18:1), con el objetivo de mantener la fluidez de la leche, y evitar infecciones dentro de glándula mamaria por acumulación de grasa láctea (Timmen y Patton, 1988). Sin embargo, esta necesidad de mantener la fluidez en leche, trae como consecuencia disminución de la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC en la leche (Mosley *et al.* 2007; Rico *et al.*, 2014 b,c), razón por la cual, en nuestro estudio, la concentración de dicho isómero en la leche de vacas del tratamiento ALC + AP, fue 8.3 % (Experimento 1) y 6.9 % (Experimento 2) menor respecto al tratamiento ALC. Al respecto, Mosley *et al.* (2007) observaron disminución lineal de la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC en leche de vacas complementadas con cantidades crecientes (500, 1000 y 1500 g d⁻¹) de AP. Sin embargo, al comparar la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC con el tratamiento testigo, fue superior en 72.7 % (Experimento 1) y 69.3 % (Experimento 2). Esto indica que la adición de AP a la dieta de vacas complementadas con ALC, incrementa la concentración de ambos AG en la leche, respecto al tratamiento testigo, permitiendo ofrecer al consumidor una leche con un perfil lipídico con mayor potencial funcional.

Conclusión

- de ácido palmítico en la dieta de vacas $\frac{3}{4}$ Suizo Americano X Cebú en pastoreo en inicios y finales de lactancia mitiga la caída de grasa en leche provocado por la inclusión de ácido linoleico conjugado en la dieta de las vacas. Además aumenta el rendimiento de proteína y lactosa en leche, mejora la eficiencia alimenticia y propicia un balance de energía positivo, pero no cambia el consumo de materia seca ni la concentración de proteína ni lactosa en leche.

Literatura citada

Bauman, D. E., and J. M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15–29.

Castañeda-Gutierrez, E., Overton T. R., Butler W. R., Bauman D. E. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 88:1078–89.

Church, D.C., 1988. Fecal composition, mathematics of digestion balances and markers. In: D.C. Church (ed) *The ruminant animal digestive: physiology and nutrition*, Prentice Hall, Englewood Clifs, New Jersey USA, 39–57

Feng, S., A. L. Lock, and P. C. Garnsworthy. 2004. A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87:3785–3788.

Geerken, C.M., Calzadilla, D. y González, R., 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

Griinari, J. M. and Bauman D.E. 2006. Milk fat depression: concepts, mechanisms and management applications. In *Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress* (ed. K. Sejrsen, T. Hvelplund and M.O. Nielsen), pp. 389–417. Wageningen Academic, Wageningen, The Netherlands.

Gross, J., H. A. van Dorland, R. M. Bruckmaier, and F. Schwarz. 2011. Milk fatty acid profile related to energy balance in dairy cows. *J. Dairy Res.* 78:479–488.

Hansen, H. O., and J. Knudsen. 1987. Effect of exogenous long-chain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *J. Dairy Sci.* 70:1350–1354.

Hötger, K., H. M. Hammon, C. Weber, S. Görs, A. Tröscher, R. M. Bruckmaier, and C. C. Metges. 2013. Supplementation of conjugated linoleic acid in dairy cows reduces endogenous glucose production during early lactation. *J Dairy Sci.* 96(4):2258-2270.

Jenkins, T. C. 2010. Technical note: Common analytical errors yielding inaccurate results during analysis of fatty acids in feed and digesta samples. *J. Dairy Sci.* 93(3): 1170-1174.

Jensen, R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85:295–350.

Kadegowda, A. K. G., L. S. Piperova, P. Delmonte, and R. A. Erdman. 2008. Abomasal infusion of butterfat increases milk fat in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:2370–2379.

Lock, A. L., C. L. Preseault, J. E. Rico, K. E. DeLand, and M. S. Allen. 2013. Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. *J. Dairy Sci.* 96:6650–6659.

Loften, R.J., Lin, G.J., Drackley, K.J., Jenkins, C.T., Soderholm, G.C. &Kertz, F.A. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 4661–4674.

Mosley, S. A., E. E. Mosley, B. Hatch, J. I. Szasz, A. Corato, N. Zacharias, D. Howes, and M. A. McGuire. 2007. Effect of varying levels of fatty acids from palm oil on feed intake and milk production in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90:987–993.

NRC. 2001. *Nutritional Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

- Odens, L. J., Burgos R., Innocenti M., van Baale M. J., Baumgard L. H. 2007. Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *J Dairy Sci.* 90:293–305.
- Palmquist, D. L., and Jenkins, T. C. 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* 81(12): 3250-3254.
- Palmquist, D. L., and T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63:1–14.
- Pappritz, J., U. Meyer, R. Kramer, E. M. Weber, G. Jahreis, J. Rehage, G. Flachowsky, and S. Danicke. 2011. Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. *Arch. Anim. Nutr.* 65:89–107.
- Piantoni, P., A. L. Lock, and M. S. Allen. 2013. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 96:7143–7154.
- Ramírez-Mella M., Hernández-Mendo O., Ramírez-Bribiesca E, J., Améndola-Massiotti R. D., Crosby-Galván M. M. and Burgueño-Ferreira J. A. 2013. Effect of vitamin E on milk composition of grazing dairy cows supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. *Trop. Anim. Health Pro.* 45:1783–1788.
- Rico, D. E., Y. Ying, and K. J. Harvatine. 2014b. Comparison of enriched palmitic acid and calcium salts of palm fatty acids distillate fat supplements on milk production and metabolic profiles of high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:1–8.
- Rico, J. E., M. S. Allen, and A. L. Lock. 2014a. Compared with stearic acid, palmitic acid increased the yield of milk fat and improved feed efficiency across production level of cows. *J. Dairy Sci.* 97:1057–1066.
- Rigout S, Lemosquet S, Van Eys JE, Blum JW, Rulquin H. 2002 Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:595–606.
- Shingfield, K. J., D. E. Beever, C. K. Reynolds, S. K. Gulati, D. J. Humphries, B. Lupoli, G. Hervas, and J. M. Griinari. 2004. Effect of rumen protected conjugated linoleic acid on energy metabolism of dairy cows during early to mid-lactation. *J Dairy Sci* 87 (Suppl. 1):307 (Abstr.).
- Timmen, H., and S. Patton. 1988. Milk fat globules: Fatty acid composition, size and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids* 23:685– 689.

Van Keulen J., and Young B. A. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.* 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. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597.

von Soosten, D., U. Meyer, M. Piechotta, G. Flachowsky, and S. Dänicke. 2012. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:1222–1239.

Vyas, D., U. Moallem, B. B. Teter, A. R. K. Fardin-Kia, and R. A. Erdman. 2013. Milk fat responses to butterfat infusion during conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96: 2387–2399.

Warntjes, J. L., P. H. Robinson, E. Galo, E. J. DePeters, and D. Howes. 2008. Effects of feeding supplemental palmitic acid (C16:0) on performance and milk fatty acid profile of lactating dairy cows under summer heat. *Anim. Feed Sci. Technol.* 140:241–258.

Yang, B., Chen H., Stanton C., Ross R. P., Zhang H., Chen Y. Q. and Chen W. 2015. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Funct. Foods* 15, 314–325.

CAPÍTULO III

DESTINO DE LA ENERGÍA NO UTILIZADA PARA SINTETIZAR GRASA EN GLÁNDULA MAMARIA DEBIDO AL ISÓMERO *TRANS-10*, *CIS-12* DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

Resumen

El isómero *trans-10*, *cis-12* del ácido linoleico conjugado reduce la concentración de grasa en leche, lo cual disminuye la demanda de energía para sintetizar grasa en la glándula mamaria, y en consecuencia decrece el requerimiento en energía neta de lactación (ENL). Ante esta situación, surge la interrogante del destino final de la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea. Para dar respuesta a esta pregunta, se realizó un estudio en el cual fue necesario sacrificar cabras lactantes las cuales fueron utilizadas como modelo, porque usar vacas eleva significativamente el costo de investigación. Este experimento se realizó en la unidad experimental caprina del INIFAP Campo Experimental La Laguna en el municipio de Matamoros, Coahuila, México. La altitud es 1100 msnm, el clima es cálido seco, con temperatura y precipitación media anual de 22.6 °C y 215.5 mm respectivamente. Se utilizaron 15 cabras locales del Noroeste de México en inicios de lactancia a las cuales se les asignó uno de tres tratamientos: 1) Testigo (Dieta base); 2) ALC 50 g (Dieta base + 6 g de *t10*, *c12* ALC); 3) ALC 90 g (Dieta base + 11 g de *t10*, *c12* ALC) y la dieta base fue: grano de sorgo (17.1 %), grano de maíz (17.1 %), salvado de trigo (9 %), harina de soya (9 %), urea (1.2 %), melaza (4.8 %), vitaminas y minerales (1.8 %), rastrojo de maíz (8 %), heno de alfalfa (32 %). Las cabras tuvieron un periodo de adaptación de 2 semanas y 7 semanas experimentales. Las variables evaluadas fueron peso vivo, consumo de MS, producción de leche, composición química y rendimiento de grasa, proteína y lactosa en leche, y perfil de AG en leche. Los datos se analizaron de acuerdo con un diseño completamente al azar y para un arreglo en mediciones repetidas con el procedimiento MIXED y prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Asimismo, se evaluaron las variables balance de energía, peso de grasa omental y perirrenal, espesor de la grasa dorsal y composición química de la carne. El análisis estadístico fue similar al ya descrito pero sin arreglo para mediciones repetidas. En leche de cabras de los tratamientos con el isómero *t10*, *c12* ALC se redujo ($P \leq 0.05$) la grasa láctea respecto al tratamiento testigo, indicando reducción del requerimiento en ENL. Además, en dichos tratamientos el consumo de MS disminuyó desde la cuarta semana experimental ($P \leq 0.05$), y se mejoró el balance en energía. En las cabras tratadas con 11 g de *t10*, *c12* ALC aumentó la producción de leche ($P \leq 0.05$) y concentración de lactosa en leche ($P \leq 0.05$). Estos resultados sugieren que la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea, fue usada para reducir el consumo de MS, aumentar producción de leche y mejorar el balance energético.

Palabras clave: Energía neta de lactación, síntesis de grasa, balance de energía

Abstract

The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid (*t*10, *c*12 CLA) reduces the concentration of fat in milk, whereby decreases the energy demand to synthesize fat in the mammary gland, and consequently decreases the requirement on net lactation energy (EN_L). Faced with this situation, the question arises as to the final destination of energy not used to synthesize milk fat. To answer this question, a study was conducted in which it was necessary to sacrifice lactating goats, which were used as a model, because using cows significantly raises the cost of research. This experiment was carried out in the experimental unit of INIFAP La Laguna Experimental Campus in the municipality of Matamoros, Coahuila, México. The altitude is 1100 masl; the climate is warm dry, with average annual precipitation and temperature of 22.6 ° C and 215.5 mm respectively. Fifteen local goats from the Northwest of Mexico were used at early lactation to which they were assigned one of three treatments: 1) Control (Base diet); 2) CLA 50 g (Base diet + 6 g *t*10, *c*12 CLA); 3) CLA 90 g (Base diet + 11 g *t*10, *c*12 CLA). The base diet was composed by sorghum grain (17.1%), corn grain (17.1%), wheat bran (9%), soybean meal (9%), urea (1.2%), molasses (4.8%), vitamins and minerals (1.8%), maize straw (8%), and alfalfa hay (32%). Goats had an adaptation period of 2 weeks and 7 experimental weeks. The variables evaluated were body weight, DMI, milk yield, and fat, protein and lactose yield, and FA milk profile. The analysis of the data were analyzed as repeated measures using the PROC MIXED procedure and Tukey test ($P \leq 0.05$). The variables energy balance, omental and perirenal fat weight, dorsal fat thickness and chemical composition of milk and meat, were also evaluated. Statistical analysis was similar to that already described but without arrangement for repeated measurements. In milk of goats from the treatments with the isomer *t*10, *c*12 CLA was reduced ($P \leq 0.05$) the milk fat with respect to the control treatment, indicating reduction of the requirement in EN_L. In addition, in these treatments the DMI decreased from the fourth experimental week ($P \leq 0.05$), and the energy balance was improved. In goats treated with 11 g of *t*10, *c*12 CLA increased milk yield ($P \leq 0.05$) and lactose concentration in milk ($P \leq 0.05$). These results suggest that energy not used to synthesize dairy fat was used to reduce DMI, increase milk yield and improve energy balance.

Key words: Net lactation energy, fat synthesis, energy balance

Introducción

Durante el inicio de la lactancia en vacas, la energía derivada del consumo de MS no satisface los requerimientos energéticos, ya que la demanda de energía neta de lactación (EN_L) y mantenimiento (EN_M) exceden la energía metabolizable (EM) (NRC, 2001). En consecuencia, en la vaca hay movilización de reservas corporales para mantener la producción de leche (Wenk *et al.*, 2001), provocando balance de energía negativo. Una opción para mejorar el balance energético en la vaca, es reducir la concentración de grasa en leche (Bauman *et al.*, 2011), debido a que la síntesis de grasa en la glándula mamaria representa aproximadamente 50 % de la demanda de EN_L (Palmquist, 2006), y a través de ello es posible mejorar el balance energético en la vaca (Shingfield *et al.*, 2010). Se ha reportado que incluir el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC (*t*10, *c*12 ALC) en dieta de vacas (Bauman *et al.*, 2011), ovejas (Sinclair *et al.*, 2007) y cabras (Ghazal *et al.*, 2012, 2014) lactantes reduce la concentración de grasa en leche. Este fenómeno se debe al isómero *t*10, *c*12 ALC que inhibe coordinadamente la expresión génica de enzimas lipogénicas en la glándula mamaria, resultando en una reducción de grasa en leche (Hussein *et al.*, 2013), y por tanto, existe menor demanda de EN_L (Shingfield *et al.*, 2010), por lo tanto, se esperaría que la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea, fuese utilizada para otros procesos como aumentar la producción de leche, concentración de proteína o lactosa en leche, mejorar el balance energético en la vaca o disminuir el consumo de materia seca (Bauman *et al.*, 2011). Sin embargo, de acuerdo a Bernal-Santos *et al.* (2003), Ramírez-Mella *et al.* (2013) y Vyas *et al.* (2013), esto no sucedió en vacas lactantes de sus respectivos estudios al incluir en la dieta para las vacas el isómero *t*10, *c*12 ALC. Ante este escenario, existe la interrogante del destino de tal energía. Al respecto von Soosten *et al.* (2012) sugieren que dicha energía puede utilizarse en la reducción de movilización de reservas corporales o para aumentar concentración de proteína en masa corporal. Los mismos autores sugieren sacrificar la vida de vacas lactantes para determinar en detalle el destino final de la energía consumida por la vaca. No obstante, hacerlo aumenta significativamente los costos de la investigación. Ante esta situación, usar animales menos costosos y más fácilmente manipulables puede ser una opción viable en este tipo de estudios, usándolos como modelos animal, tal es el caso de cabras lactantes, en particular porque el efecto del isómero *t*10, *c*12 ALC es similar entre ambas especies (Bauman *et al.*, 2011). Con base en estos antecedentes, en el presente estudio se utilizaron cabras como modelo animal para determinar el destino de la energía no usada para sintetizar grasa en glándula mamaria a consecuencia de reducción en grasa láctea provocada por el isómero *t*10, *c*12 ALC.

Materiales y métodos

Localización

El estudio se realizó en la unidad experimental caprina del INIFAP, Campo Experimental La Laguna, localizado en el municipio de Matamoros, Coahuila, México. La altitud del sitio es 1100 msnm. El clima, se clasifica como cálido seco (BWh), con temperatura y precipitación media anual de 22.6 °C y 215.5 mm respectivamente (CONAGUA, 2014).

Cabras, diseño experimental y tratamientos.

Se utilizaron 15 cabras locales del Noroeste de México (Montaldo *et al.*, 2010), no gestantes, de tercer parto y con 34.82 kg (\pm 1.61 kg) de peso vivo, con 11 (\pm 7) días en leche. Las cuales fueron distribuidas aleatoriamente en tres grupos de 5 cabras cada uno. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada grupo, usando un diseño completamente al azar. Las cabras tuvieron un periodo de adaptación de 2 semanas y 7 semanas experimentales. Los tratamientos fueron 1) dieta base (formulada para cubrir los requerimientos nutricionales de las cabras de acuerdo al NRC (2007); 2) dieta base + 50 g de ALC; 3) dieta base + 90 g de ALC. La dieta base se describe en el Cuadro 1. El ALC fue una mezcla de AG microencapsulados, que aportaron en el tratamiento ALC 50 g, 6 g de c9, t11 y 6 g de t10, c12 ALC, y en el tratamiento ALC 90 g, 11 g de c9, t11 y 11 g de t10, c12 ALC (Lutrell Pure®, BASF, Cuadro 2).

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

Ingredientes (% MS)	
Grano de sorgo	17.1
Grano de maíz	17.1
Salvado de trigo	9.0
Harina de soya	9.0
Urea	1.2
Melaza	4.8
Vitaminas y minerales ^a	1.8
Rastrojo de maíz	8.0
Heno de alfalfa	32.0
Composición química (% MS)	
Materia seca	90.2
Proteína cruda	11.4
FDN	35.4
FDA	20.5
EM ^b (Mcal kg MS ⁻¹)	2.6

^a Premezcla de minerales y vitaminas (Ca 24 %, P 3 %, Mg 2 %, Na 8 %, Cl 12 %, K 0.50 %, S 0.50 % y antioxidante 0.50 % Cl; lasolacida 2000 ppm, Cr 5 ppm, Mn 4000 ppm, Fe 2000 pp, Zn 5000 ppm, I 100 ppm, Se 30 ppm y Co 60 ppm; vitamina A 500 000 UI, vitamina D 150 000 UI, vitamina E 1000 UI. ^b Calculado de acuerdo al NRC (2007).

Alimentación y ordeña.

Las cabras fueron alojadas en corrales individuales de 2 x 3 m, provistas de sombra, comederos y bebederos con agua *ad libitum*. Se le ofreció 2.5 kg d⁻¹ de la dieta base en fresco, repartida equitativamente en dos tomas al día (8:00 am y 14:00 pm), y el ALC se mezcló con el alimento según correspondía. Las cabras fueron ordeñadas una vez por día a mano (9:00 am).

Cuadro 2. Composición de ácidos grasos (g 100 g⁻¹ AG) de la dieta y el suplemento.

Ácidos grasos	Dieta base	Suplemento ^a
<C16:0	2.55	3.56
C16:0	24.54	11.60
C16:1	1.50	nd
C18:0	2.94	46.42
C18:1 <i>n</i> -9	16.68	12.08
C18:2 <i>n</i> -6	18.74	1.01
C18:3 <i>n</i> -3	32.28	nd
<i>Cis</i> -9, <i>Trans</i> -11 ALC ^b	nd	12.03
<i>Trans</i> -10, <i>Cis</i> -12 ALC	nd	12.26
C20:0	0.77	0.56
C22:0	nd	0.48

nd= No detectado; ^a Suplemento= Lutrell Pure®, BASF; ^b ALC= Ácido linoleico conjugado

Peso de las cabras

Las cabras se pesaron una vez por semana durante el periodo experimental con una báscula portátil (Torrey®, capacidad 200 kg ± 10 g).

Consumo de materia seca (MS).

El alimento ofrecido y rechazado se registró cada día durante el periodo experimental, y por diferencia se determinó el consumo diario de MS.

Producción y composición de leche.

La producción de leche se midió individualmente con una báscula portátil (Torrey®, capacidad 10 kg ± 1 g) durante todo el periodo experimental. Asimismo, individualmente se determinó la concentración de grasa, proteína y lactosa en la leche. Durante el periodo experimental se obtuvieron muestras de leche de cada cabra una vez por semana, las cuales fueron colectadas en frascos con rosca (100 ml) y congeladas (- 20 ° C) para realizar después el análisis de perfil de AG.

Matanza de las cabras

Se midieron las variables pesos de grasa omental y perirrenal, espesor de la grasa dorsal (reservas corporales) y composición química de la carne. Para ello, el día posterior de concluir el periodo experimental, las cabras fueron trasladadas al rastro municipal de Matamoros, Coahuila. Allí, fueron sacrificadas por aturdimiento y degollación. Una vez sacrificadas, los depósitos de grasa omental y perirrenal fueron diseccionados y pesados. El espesor de la grasa dorsal se midió entre la 10^{va} y 11^{va} vertebra torácica con un vernier (Sommet Inox: 6 pulg/150 mm). De cada cabra se tomaron muestras de carne del musculo *Longissimus dorsi*, las cuales fueron congeladas (-20 ° C) para su posterior análisis químico.

Análisis de laboratorio

Análisis en leche

La concentración de proteína, grasa y lactosa en leche se determinó a través de ondas sonoras con un equipo automatizado (Milkoscope Expert®, Scope Electric).

Análisis en carne

El contenido de materia seca, proteína y grasa en carne se determinó por infrarrojo cercano con un equipo automatizado (FOSS NirSystems).

Análisis dieta

En el alimento se determinó MS, MO, proteína, extracto etéreo (AOAC, 2000), FDN y FDA (Van Soest *et al.*, 1991).

Perfil de ácidos grasos en leche

Para determinar el perfil de AG en leche, se extrajo la grasa en leche de acuerdo a la metodología de Feng *et al.* (2004) y la metilación con la técnica modificada de Palmquist y Jenkins (2003) y Jenkins (2010), en el cual los AG se presentan en forma de metil ésteres. Para los componentes de la dieta se tomaron 0.5 g de muestra. En la leche se tomaron 50 μ L de los lípidos extraídos de ella. La muestra de alimento o los lípidos de la leche se colocaron en tubos de polipropileno, se agregaron 3 mL de metóxido de sodio (0.5 M en metanol para proteger el proceso de isomerización de los AG insaturados), y se agitaron por 1 min con vórtex. Luego los tubos se colocaron en un vaso de precipitado con agua destilada a 50 °C por 10 min, los tubos se retiraron del vaso, se enfriaron por 5 min. Después en los tubos se agregaron 3 mL de ácido clorhídrico metanólico al 5 % para extraer la grasa total de la muestra y se agitaron 1 min con vórtex. Los tubos fueron colocados dentro del vaso de precipitado con agua destilada, a 80 °C por 10 min, los tubos se retiraron del vaso, se dejaron enfriar por 10 min, se agregaron 3.5 mL de hexano para disolver y extraer solo la grasa, y 5 mL de carbonato de potasio al 6 % para saponificar y liberar los AG, los cuales se agitaron 1 min con vórtex, y se centrifugaron por 5 min a 2500 x g. Después se extrajo la fracción de hexano, ubicada en la parte superior en el tubo, y se depositó en tubos de polipropileno, los cuales contenían 0.5 g de sodio para eliminar el exceso de humedad y 0.1 g de carbón activado para eliminar impurezas, se agitaron con vórtex y se centrifugaron a 1500 x g por 5 min. Luego se extrajo la primera fase de hexano, y se filtró a través de un acrodisco (Thermo Scientific, titan 44513-NN, filtro verde de 17 mm y membrana nylon de 0.45 μ m; para asegurar una muestra libre de impurezas) y se colocó en un vial donde se almacenó a - 5 °C hasta su análisis por cromatografía de gases. Los metil ésteres de AG se determinaron en un cromatógrafo Hewlett Packard 6890 con inyector automático con una columna capilar de sílice (100 m x 0.25 mm x 0.20 μ m de grosor, Sp-2560, Supelco). La identificación de los AG se realizó comparando los tiempos retención de cada pico obtenido del cromatograma, con

un estándar de 37 componentes de metil ésteres de AG, y un estándar específico para isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 de la compañía Nu-Check.

Cálculos

Se calcularon las variables valor energético en leche y balance de energía.

El valor energético en leche (VEL) (NRC, 2001), se calculó usando los valores de concentración de grasa, proteína y lactosa, cuya ecuación es: $VEL \text{ (Mcal/kg)} = 0.0929 \times \text{grasa (\%)} + 0.0547 \times \text{proteína (\%)} + 0.0395 \times \text{lactosa (\%)}$.

El balance de energía de las cabras se calculó (NRC, 2001) solo para las semanas 1, 4, y 7 del periodo experimental, con la siguiente ecuación: $\text{Balance de energía (Mcal/día)} = \text{consumo de EM} - (\text{EM}_M + \text{EM}_L)$. Para calcular el consumo de energía, se obtuvieron de cada ingrediente de la dieta sus valores de nutrientes digestibles totales (NDT) (Weiss *et al.*, 1993). Posteriormente, se convirtieron a valores de EM (NRC, 2007) a través de la ecuación: $\text{EM (Mcal/kg)} = (1 \text{ kg de NDT} = 4.4 \text{ Mcal de energía digestible}) \times 0.82$. El consumo de EM, se calculó multiplicando el consumo de MS por la EM de la dieta, más la EM del ALC (Lutrell Pure ®, BASF, 9.2 Mcal de EM/kg). El requerimiento de EM_M , se calculó con la siguiente ecuación: $\text{EM}_M \text{ (Mcal/día)} = 110 \text{ kcal} \times \text{BW}^{0.75}$ (NRC, 1989). En tanto, para el requerimiento de EM_L , se utilizó un factor de eficiencia de utilización de EM_L , obtenido con la siguiente ecuación: $\text{EM}_L \text{ (Mcal/día)} = (\text{Producción de leche} \times (0.3512 + (0.0962 \times \text{grasa en la leche (\%)))) / 0.589$ (Nsahlai *et al.*, 2004).

Análisis estadístico

Las variables peso vivo, consumo de MS, producción de leche, composición química y rendimiento de grasa, proteína y lactosa en leche, y perfil de AG en leche, se analizó como un diseño completamente al azar en arreglo con mediciones repetidas, utilizando el procedimiento MIXED (SAS Institute, 2008). En particular para el análisis de la variable perfil de AG en leche se utilizaron solo los datos de las semanas 1, 4, y 7. El análisis del resto de las variables se utilizó datos de todo el periodo experimental. Los valores de cada variable en el período de adaptación se usaron para realizar un análisis de covarianza. El modelo contenía los efectos del tratamiento, semana y la interacción entre ambos. La cabra fue el efecto aleatorio, y el tratamiento, la semana y su interacción efectos fijos. Se obtuvieron los criterios de información Bayesiano de Schwarz y Akaike, con lo que se determinó la estructura de covarianza más adecuada para cada variable. La comparación de medias de mínimos cuadrados se realizó a través de la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Las variables balance de energía, peso de grasa omental y perirrenal, espesor de la grasa dorsal y composición química de la carne se analizó como un diseño completamente al azar, a través del procedimiento GLM (SAS Institute, 2008). La comparación de medias de mínimos cuadrados se realizó a través de la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados

Peso vivo, consumo de materia seca y producción de leche

Peso vivo y consumo de MS no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre tratamientos. Pero la producción de leche fue más alta ($P = 0.04$) en las cabras complementadas con 90 g d⁻¹ de ALC (Cuadro 3).

Concentración y rendimiento de grasa, proteína y lactosa en leche

Hubo diferencias en concentración de grasa ($P= 0.03$) y lactosa ($P= 0.02$) en leche. La concentración de grasa en leche fue más baja en cabras de los tratamientos con ALC. El rendimiento y concentración de lactosa aumentó en leche de cabras complementadas con ALC. Asimismo, el rendimiento de proteína fue más alto en leche de cabras complementadas con 90 g d⁻¹ de ALC (Cuadro 3).

Cuadro 3. Peso corporal, consumo de MS, producción, composición y rendimiento de leche de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.

Variable	Tratamiento				P	
	Testigo	ALC ¹ 50g	ALC 90g	EEM*	ALC	ALC x Semana
Peso corporal (kg)	36.63	37.42	38.20	2.54	0.40	0.64
Consumo de MS (kg d ⁻¹)	2.37	2.29	2.05	0.10	0.12	0.04
Producción de leche (kg d ⁻¹)	0.96 ^b	1.20 ^{ab}	1.53 ^a	0.13	0.04	0.03
VEL ² (Mcal kg ⁻¹)	0.77 ^a	0.71 ^b	0.69 ^b	0.01	0.03	0.01
Composición de leche (%)						
Grasa	4.13 ^a	3.55 ^b	3.28 ^c	0.06	0.03	0.53
Proteína	3.37	3.38	3.33	0.04	0.63	0.29
Lactosa	4.87 ^b	5.06 ^a	5.12 ^a	0.05	0.02	0.04
Rendimiento (g d ⁻¹)						
Grasa	39.83	42.06	50.60	4.94	0.24	0.34
Proteína	32.2 ^b	40.62 ^b	50.50 ^a	4.54	0.04	0.05
Lactosa	46.6 ^c	61.06 ^b	79.1 ^a	6.90	0.02	0.02

*EEM= Error estándar de la media; ¹ALC= Ácido linoleico conjugado; ²VEL= Valor energético en leche

El consumo de MS de cabras complementadas con ALC disminuyó ($P= 0.04$) desde la semana 4 del periodo experimental, y la producción de leche en cabras alimentadas con ALC aumentó ($P= 0.03$) desde la semana 3 del periodo experimental (Figura 1).

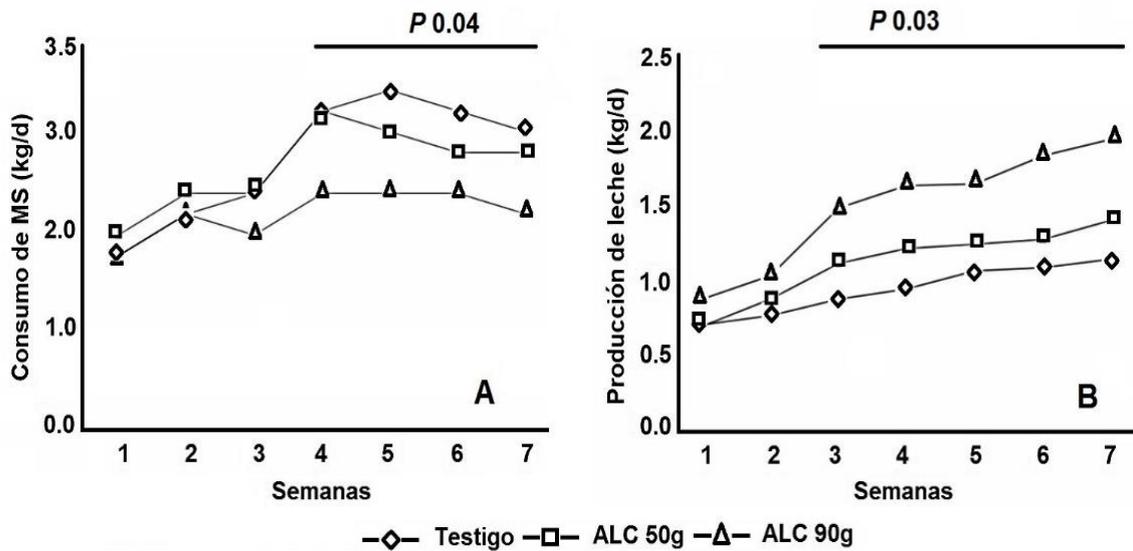


Figura 1. Variación semanal del consumo de MS (A) y producción de leche (B) de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹). $P < 0.05$ indica interacción tratamiento x semana.

La concentración de lactosa (Figura 2) en leche de cabras complementadas con ALC aumentó desde la semana 4, y su rendimiento (Figura 3) desde la semana 3 del periodo experimental.

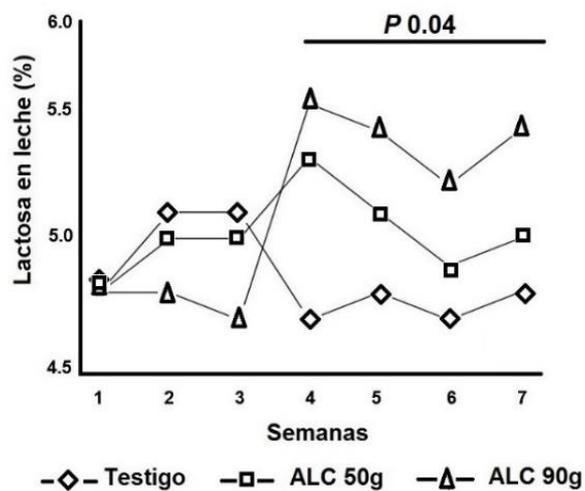


Figura 2. Variación semanal de la concentración de lactosa en leche de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹). $P < 0.05$ indica interacción tratamiento x semana.

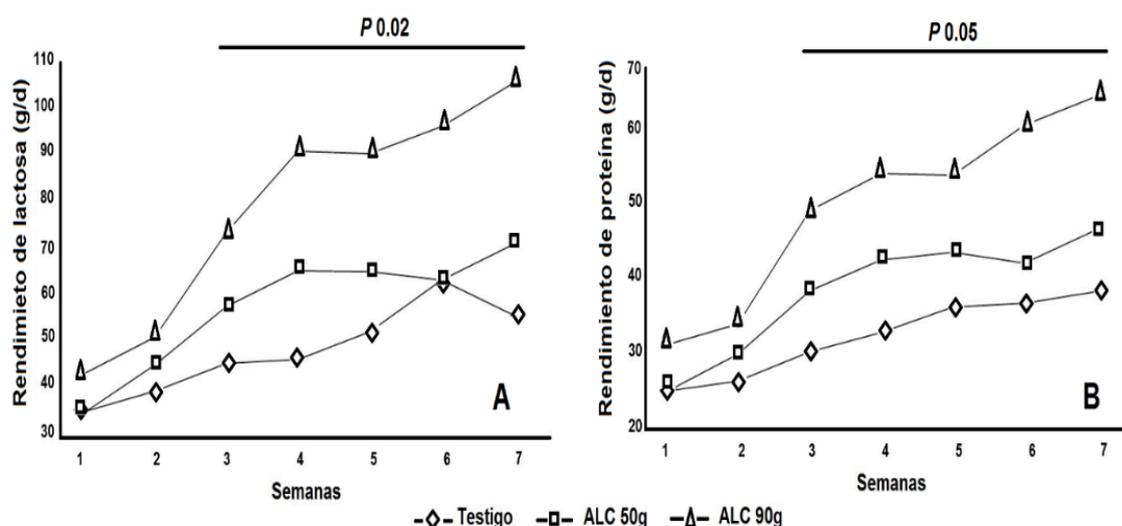


Figura 3. Variación semanal del rendimiento de lactosa (A) y proteína (B) en leche de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹). P < 0.05 indica interacción tratamiento x semana.

Reservas corporales y composición química de la carne de cabras

Las reservas corporales y composición química de la carne de cabras no fueron modificadas por efecto del ALC (Cuadro 4). Sin embargo, hubo una tendencia (P= 0.08) de menor movilización de la grasa omental en las cabras alimentadas con ALC.

Cuadro 4. Reservas corporales y composición química de carne de cabras complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.

Variable	Tratamiento			EEM*	P
	Testigo	ALC ¹ 50 g	ALC 90 g		
Reservas corporales					
Grasa omental (kg)	0.47	0.63	0.83	0.05	0.08
Grasa perirrenal (kg)	0.33	0.48	0.48	0.06	0.56
Grasa dorsal (mm)	3.00	3.18	3.10	0.05	0.47
Composición química de la carne (%)					
Materia seca	28.76	29.50	28.51	0.58	0.79
Materia orgánica	97.40	97.72	98.10	0.16	0.21
Grasa	6.56	6.69	6.98	0.44	0.93
Proteína	21.32	21.07	21.81	0.29	0.59

*EEM= Error estándar de la media; ¹ALC= Ácido linoleico conjugado

Perfil de AG en leche

El perfil de AG en leche cambió por efecto del isómero t10, c12 ALC (Cuadro 5). Los AG sintetizados *de novo* (<C16) disminuyeron en leche de cabras complementadas con ALC. Contrariamente, los AG preformados provenientes de la sangre (> C16), aumentaron por efecto del ALC (Cuadro 5).

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos (g 100 g⁻¹ del total de AG) de leche de cabras lactantes complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.

Ácido graso	Tratamientos			EEM*	P	
	Testigo	ALC ¹ 50g	ALC 90g		ALC	ALC X Semana
C4:0	1.32 ^b	2.44 ^a	2.52 ^a	0.09	<0.001	0.61
C6:0	2.13 ^a	1.80 ^b	1.59 ^c	0.04	<0.0001	0.08
C8:0	2.90 ^b	2.22 ^a	2.09 ^a	0.05	<0.0001	0.05
C10:0	10.50 ^a	8.04 ^b	7.87 ^b	0.17	<0.001	0.27
C11:0	0.41 ^a	0.23 ^b	0.17 ^b	0.04	<0.01	0.54
C12:0	4.31 ^a	3.51 ^b	3.38 ^c	0.02	<0.001	0.06
C13:0	0.20 ^b	0.21 ^b	0.24 ^a	0.01	0.04	0.77
C14:0	10.10	10.07	9.96	0.12	0.83	0.96
C14:1	1.41 ^a	1.04 ^b	0.86 ^c	0.02	<0.001	0.05
C15:0	0.33 ^b	0.36 ^{ab}	0.43 ^a	0.01	<0.01	0.82
C16:0	27.30 ^a	25.23 ^b	24.09 ^c	0.23	<0.0001	0.01
C16:1	1.72 ^a	0.83 ^b	0.69 ^c	0.01	<0.001	0.07
C17:0	1.15	1.28	1.38	0.42	0.91	0.93
C17:1	0.49 ^a	0.38 ^{ab}	0.31 ^b	0.04	<0.01	0.48
C18:0	7.05 ^b	14.46 ^a	14.80 ^a	0.81	<0.0001	0.01
C18:1 <i>t</i> 11	2.32 ^c	3.08 ^b	3.71 ^a	0.09	<0.0001	<0.01
C18:1 <i>c</i> 9	19.41 ^b	18.24 ^a	18.20 ^a	0.07	<0.001	0.02
C18:2	1.91	1.64	1.89	0.42	0.58	0.43
C18:2 <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 ALC	0.83 ^c	1.06 ^b	1.53 ^a	0.03	<0.001	0.05
C18:2 <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 ALC	0.03 ^c	0.28 ^b	0.37 ^a	0.01	<0.001	0.05
C18:3	0.26	0.21	0.18	0.32	0.96	0.88
C20:0	0.30 ^b	0.37 ^a	0.41 ^a	0.02	0.05	0.63
C20:4	0.72	0.56	0.51	0.09	0.38	0.48
No identificados	2.90	2.46	2.82	0.10	0.79	0.96
<C16:0	33.61 ^a	29.92 ^b	29.11 ^c	0.18	<0.0001	<0.001
C16:0 + C16:1	29.02 ^a	26.06 ^b	24.78 ^c	0.28	<0.0001	<0.001
>C16	34.47 ^c	41.56 ^b	43.29 ^a	0.32	<0.0001	<0.001

*EEM= Error estándar de la media; ¹ALC= Ácido linoleico conjugado

La concentración de los isómero *c*9, *t*11 ALC y *t*10, *c*12 ALC en cabras complementadas con ALC aumentó desde la semana 4 del periodo experimental (Figura 4).

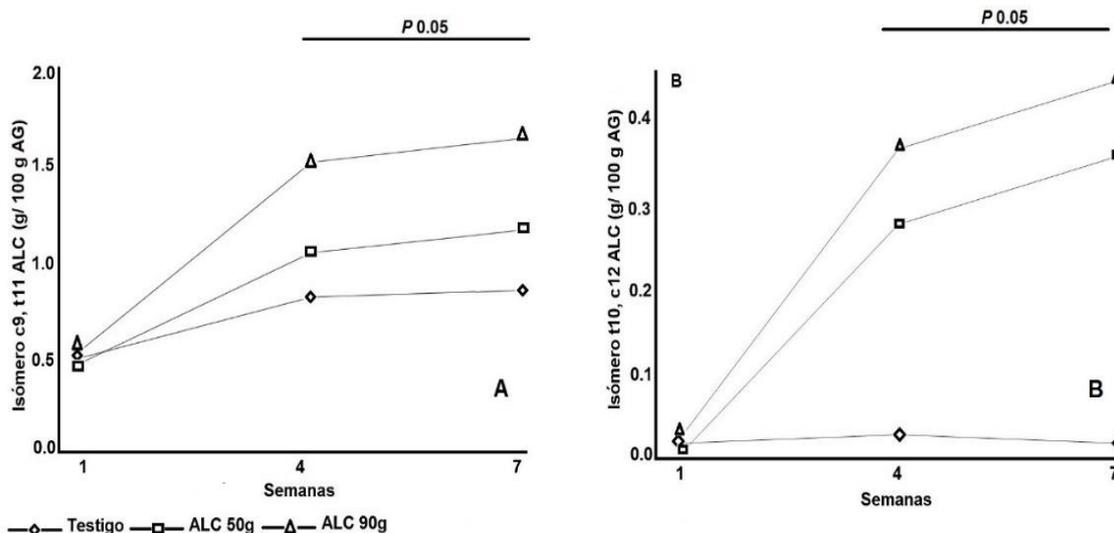


Figura 4. Variación semanal de la concentración en leche de los isómero c9, t11 ALC (A) y t10, c12 ALC (B) de cabras lactantes alimentadas con una dieta control o suplementadas con dos dosis de ALC (50 y 90 g d⁻¹). P < 0.05 indica interacción tratamiento x semana.

Balance de energía

Las cabras en todos los tratamientos al inicio del período experimental presentaron balance de energía negativo. Sin embargo, en las cabras complementadas con ALC mejoró el balance de energía en la semana 4 y semana 7 del período experimental respecto a las cabras testigo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Balance energético de cabras complementadas con dos niveles de ácido linoleico conjugado.

Balance de energía (Mcal d ⁻¹)	Tratamiento			EEM*	P
	Testigo	ALC ¹ 50 g	ALC 90 g		
Semana 1 (día 0)	- 0.41	- 0.36	- 0.54	0.54	0.12
Semana 4 (día 28)	- 0.02 ^b	0.73 ^a	1.09 ^a	0.12	<0.01
Semana 7 (día 49)	0.34 ^c	1.06 ^b	1.54 ^a	0.06	<0.01

*EEM= Error estándar de la media; ¹ALC= Ácido linoleico conjugado

Discusión

Peso vivo y consumo de materia seca

En nuestro estudio, complementar la dieta de cabras lactantes con los isómeros c9, t11 ALC y t10, c12 ALC ruminal protegidos (ALCp), no tuvo efecto significativo en peso corporal y consumo de MS. Resultados análogos a los reportados por Lock *et al.* (2008) y Ghazal *et al.* (2012, 2014) en estudios similares con cabras, del mismo modo que Baldin *et al.* (2014 a, b) y Fernandes *et al.* (2014), donde los isómeros mencionados se incluyeron sin protección ruminal. Es importante resaltar que no hubo efecto en peso corporal o consumo de MS, aun cuando la concentración de grasa en leche disminuyó por efecto del isómero t10, c12 ALC, consecuentemente se reduce el requerimiento en EN_L debido a que se necesita cantidad menor de energía para sintetizar grasa en glándula mamaria (Bauman *et al.*, 2011). Por tal motivo, se esperaría aumento de peso corporal o reducción

en consumo de MS (Shingfield *et al.*, 2010). Sin embargo, si estas variables no se modifican debido a la reducción de grasa en leche, se esperaría aumento en producción de leche o componentes en leche (proteína y lactosa), o mejora del balance energético (Harvatine *et al.*, 2009). Tal como sucedió en nuestro estudio, donde la reducción de grasa en leche ocasionada por el isómero *t*10, *c*12 ALC, redujo el requerimiento en ENL, y debido a ello, aumentó la producción de leche y la concentración de lactosa en leche, igualmente, mejoró el balance energético de las cabras. Adicionalmente, el consumo de MS se redujo, pero solo a partir de la cuarta semana experimental, después de que las cabras habían consumido durante tres semanas 90 g/día de ALC.

Producción de leche

La producción de leche en nuestro estudio aumentó en las cabras complementadas con ALC. Esto fue debido a que en dichas cabras aumentó la concentración de lactosa en leche (Cuadro 3), principal osmo-regulador de la captación mamaria de agua, y por ende de producción de leche (Rigout *et al.*, 2002). La concentración mayor de lactosa en leche de cabras complementadas con ALCp, se debió a un ahorro en glucosa por efecto de la reducción de grasa láctea a consecuencia del isómero *t*10, *c*12 ALC (Hötger *et al.*, 2013). Dicho ahorro en glucosa puede generarse a través de dos rutas metabólicas. La primera, debido a la reducción en síntesis *de novo* de AG en glándula mamaria, disminuye el uso oxidativo de glucosa en la ruta metabólica de la pentosa fosfato, al inhibir la acetil CoA carboxilasa (Palmquist y Jenkins, 1980), generando ahorro en glucosa. La segunda, dado la glucosa es necesaria para la síntesis de grasa en glándula mamaria, ya que provee el NADPH empleado en la síntesis *de novo* (Bauman y Griinari, 2003), al reducirse la síntesis *de novo* de AG, se promueve un ahorro en glucosa. En consecuencia, la reducción de la síntesis de grasa láctea por efecto del isómero *t*10, *c*12 ALC genera ahorro en glucosa, misma que puede ser usada para sintetizar más lactosa (Hötger *et al.*, 2013), y en consecuencia aumenta la captación de agua en glándula mamaria, y finalmente aumenta la producción de leche, como lo observado en el presente estudio.

Grasa en leche

La reducción en concentración de grasa en leche de cabras complementadas con ALCp en este estudio, fue similar a otros estudios con cabras (Lock *et al.*, 2008; Ghazal *et al.*, 2012, 2014) y vacas (von Soosten *et al.*, 2012; Vyas *et al.*, 2013) lactantes alimentadas con ALCp. Esta reducción en grasa, se debe a que hubo transferencia positiva de la dieta a la leche del isómero *t*10, *c*12 ALC (Schmidely *et al.*, 2017). En nuestro estudio, es posible suponer transferencia positiva del mencionado isómero de la dieta a la leche, debido a que este aumentó en la leche de cabras complementadas con ALCp (Cuadro 5). Es importante mencionar que una transferencia positiva de la dieta a la leche del isómero *t*10, *c*12 ALC, sugiere reducción en concentración de grasa en leche, ya que debido a ello, existe disponibilidad mayor de dicho isómero en glándula

mamaria (Schmidely *et al.*, 2017), donde este inhibe coordinadamente la expresión génica de enzimas lipogénicas (Hussein *et al.*, 2013), y finalmente provoca reducción en concentración de grasa en leche (Shingfield *et al.*, 2010), igual a lo sucedido en el presente estudio.

Reservas corporales y composición química de la carne

El peso de la grasa perirrenal, espesor de la grasa dorsal y composición química de la carne no fueron modificados por efecto del ALCp. Sin embargo, la grasa omental en cabras complementadas con ALCp tuvo una tendencia ($P = 0.09$) a ser menos movilizada. Este efecto puede explicarse por la reducción de la grasa en leche a consecuencia del isómero Δ^{10} , c_{12} ALC, el cual genera menor demanda en ENL (Bauman *et al.*, 2011), sugiriendo cantidad mayor de energía disponible para aumentar producción de leche, disminuir movilización de reservas corporales como grasa omental y mejorar el balance energético (Shingfield *et al.*, 2010), como lo observado en nuestro estudio. Al respecto, resultados similares han sido reportados con cabras, donde la inclusión en la dieta del isómero Δ^{10} , c_{12} ALC indujo menor demanda en ENL, y en consecuencia incrementó del peso corporal (Baldin *et al.*, 2014 a), la concentración de lactosa en leche (Baldin *et al.*, 2014 b) y mejora del balance energético en las cabras (Fernandes *et al.*, 2014). Asimismo, nuestros resultados son similares a estudios con vacas, donde la menor demanda en ENL provocada por el isómero Δ^{10} , c_{12} ALC indujo aumento en producción de leche (Bauman *et al.*, 2011), concentración de proteína (Medeiros *et al.*, 2010) y lactosa en leche (Hötger *et al.*, 2013), menor movilización de reservas corporales (von Soosten *et al.*, 2012) y mejora del balance energético en las vacas (Shingfield *et al.*, 2010).

Perfil de AG en leche

Los resultados del presente estudio muestran que la concentración de la mayoría de AG en leche se redujo por efecto de incluir en la dieta de las cabras ALCp, particularmente aquellos $\leq C_{16:0}$ (AG sintetizados *de novo*). Resultados similares se han reportado con cabras (Baldin *et al.*, 2014 a, b; Ghazal *et al.*, 2012, 2014) y vacas (Bauman *et al.*, 2011) lactantes. Esta mayor reducción en la síntesis de AG *de novo* se debe al isómero Δ^{10} , c_{12} ALC (Hussein *et al.*, 2013) que bloquea factores de transcripción implicados en la síntesis de AG en glándula mamaria (Peterson *et al.*, 2004), como el denominado fragmentos nucleares en la proteína 1, unida al elemento de respuesta de los esteroides (FREP-1c) (Bionaz *et al.*, 2015), el cual está implicado en la regulación de genes lipogénicos en el tejido epitelial mamario (Harvatine *et al.*, 2009). Consecuentemente, al boquear la actividad del FREP-1c se genera reducción en la abundancia de ARNm de genes lipogénicos, los cuales codifican enzimas clave implicadas en la síntesis de AG *de novo*, absorción y transporte de AG preformados y síntesis de triglicéridos (Hussein *et al.*, 2013). No obstante, el FREP-1c se asocia en mayor grado con la síntesis de AG *de novo* (Angulo *et al.*,

2012), motivo por el cual, los AG sintetizados *de novo* son mayormente afectados por el isómero $t10, c12$ ALC.

Balance de energía

En nuestro estudio incluir el isómero $t10, c12$ ALC en la dieta de las cabras, ocasionó reducción del valor energético en leche (Cuadro 3). Consecuentemente disminuyó el requerimiento en EN_L (Bauman *et al.*, 2011), siendo este el motivo de la mejora del balance energético en cabras alimentadas con ALCp. Estos resultados son consistentes con estudios en cabras (Baldin *et al.*, 2014 a, b; Fernandes *et al.*, 2014) y vacas (von Soosten *et al.*, 2012) lactantes alimentadas con el mismo isómero del ALC. La reducción del valor energético en leche de cabras (Baldin *et al.*, 2014 a, b) y vacas (Odens *et al.*, 2007; von Soosten *et al.*, 2012) debido al isómero $t10, c12$ ALC, generalmente se acompaña por disminución en plasma sanguíneo de ácidos grasos no esterificados (AGNE), esto se relaciona con menor movilización de reservas corporales, y consecuentemente con mejora del balance energético (Adewuyi *et al.*, 2005). La tendencia ($P = 0.08$) en reducción de la movilización de grasa omental en cabras complementadas con ALCp en el presente estudio, sugeriría una menor pérdida de reservas corporales por efecto del isómero $t10, c12$ ALC, explicando con ello la mejora del balance energético en cabras complementadas con ALCp.

El efecto similar del isómero $t10, c12$ ALC en cabras y vacas lactantes, permitió utilizar cabras como modelo animal para determinar el destino final de la energía no utilizada para la síntesis de grasa. Inicialmente, la inclusión del isómero $t10, c12$ ALC en la dieta de cabras redujo la síntesis de grasa en leche, igual a lo reportado para vacas complementadas con el mismo isómero (Bauman *et al.*, 2011), causando reducción del valor energético en leche, y con ello menor demanda en EN_L (Shingfield *et al.*, 2010). Nuestra hipótesis respecto a que la energía no utilizada para sintetizar grasa en glándula mamaria podría ser utilizada para procesos como aumentar producción de leche, concentración de proteína en leche o carne, reducir la movilización de reservas corporales, mejorar el balance energético o disminuir el consumo de materia seca (Bauman *et al.*, 2011) fue comprobada con los resultados del presente estudio. En las cabras alimentadas con el isómero $t10, c12$ ALC aumentó la producción de leche, hubo tendencia ($P 0.08$) a menor movilización de la grasa omental, mejoró el balance energético y disminuyó el consumo de MS desde la cuarta semana experimental, pero no hubo cambios en peso de grasa perirrenal, espesor de grasa dorsal, ni en composición química de la carne. Estos resultados son similares a los reportados por de Veth *et al.* (2006), Odens *et al.* (2007) y von Soosten *et al.* (2012), donde la mayoría de las variables mencionadas anteriormente mejoraron cuando se complementó con el isómero $t10, c12$ ALC a vacas. Este comportamiento en resultados hace suponer que la energía no utilizada para sintetizar grasa en glándula mamaria fue utilizada para mejorar tales procesos. No obstante, los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de lo

reportado por Bernal-Santos *et al.* (2003), Ramírez-Mella *et al.* (2013) y Vyas *et al.* (2013), quienes no encontraron ningún cambio en las variables antes mencionadas, a pesar de que la grasa en leche disminuyó por efecto del isómero Δ^{10} , c_{12} ALC. En dichos estudios no se sacrificaron las vacas, por lo que es posible que la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea fuese utilizada para aumentar la concentración de proteína en la masa corporal (von Soosten *et al.*, 2012). Por tanto, es necesario aún más investigación para entender la función del isómero Δ^{10} , c_{12} ALC en el metabolismo energético de vacas lactantes.

Conclusión

Bajo las condiciones experimentales del presente estudio, la reducción de grasa en leche a consecuencia del isómero Δ^{10} , c_{12} del ácido linoleico conjugado ocasionó menor valor energético en leche, en consecuencia se redujo la demanda en energía neta de lactación. Esto sugiere que la energía no utilizada para sintetizar grasa láctea fue utilizada para aumentar producción de leche, reducir la movilización de reservas corporales, mejorar balance energético y reducir el consumo de materia seca a partir de la cuarta semana de haber consumido el isómero Δ^{10} , c_{12} del ácido linoleico conjugado.

Literatura citada

Adewuyi A. A., E. Gruys, and F. J. C. M. van Eerdenburg. 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly* 27(3):117–126.

Angulo J, L. Mahecha, K. Nuernberg, G. Nuernberg, D. Dannenberger, M. Olivera, M. Boutinaud. C. Leroux, E. Albrecht, and L. Bernard. 2012. Effects of polyunsaturated fatty acids from plant oils and algae on milk fat yield and composition are mediated by mammary lipogenic and SREBF1 gene expression. *Animal*; 6:1961-72.

AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Baldin M., M. A. S. Gama, R. Dresch, K. J. Harvatine, and D. E. Oliveira. 2014 b. A rumen unprotected conjugated linoleic acid supplement inhibits milk fat synthesis and improves energy balance in lactating goats. *J. Anim. Sci.* 91: 3305–3314.

Baldin M., R. Dresch, J. Souza, D. Fernandes, M.A.S. Gama, K. J. Harvatine, and D. E. Oliveira. 2014 a. CLA induced milk fat depression reduced dry matter intake and improved energy balance in dairy goats. *Small Ruminant Research* 116 44– 50.

Bauman, D. E., and J. M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23:203–227.

Bauman, D.E., Harvatine, K.J., Lock, A.L., 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Ann. Rev. Nutr.* 31, 299–319.

Bernal-Santos, G., J. W. Perfield, D. M. Barbano, D. E. Bauman, and T. R. Overton. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:3218–3228.

Bionaz M., J. Osorio, and J. J. Loo. 2015. Nutrigenomics in dairy cows: Nutrients, transcription factors, and techniques. *J. Anim. Sci.* 2015; 93:5531–5553.

CONAGUA. 2014. Estación Automática Torreón, Coahuila. Servicio Meteorológico Nacional. Comisión Nacional del Agua. Revisado 21-02-2017; Disponible en <http://www.conagua.gob.mx>.

de Veth, M. J., E. Castañeda-Gutiérrez, D. A. Dwyer, A. M. Pfeiffer, D. E. Putnam, and D. E. Bauman. 2006. Response to conjugated linoleic acid in dairy cows differing in energy and protein status. *J. Dairy Sci.* 89:4620–4631.

Feng, S. A., L. A. Lock, and P. C. Garnsworthy. 2004. A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87:3785–3788.

Fernandes D., M. A. S. Gama, C. V. D. M. Ribeiro, F. C. F. Lopes and D. E. De Oliveira. 2014. Milk fat depression and energy balance in stall-fed dairy goats supplemented with increasing doses of conjugated linoleic acid methyl esters. *Animal* 8: 587–595.

Ghazal, S., V. Berthelot, N. C. Friggens, and P. Schmidely. 2012. Influence of a supplement containing conjugated linoleic acid on dairy performance, milk fatty acid composition, and adipose tissue reactivity to lipolytic challenge in mid-lactation goats. *J. Dairy Sci.* 95:7308–7318.

Harvatine, K.J., Perfield, J.W., Bauman, D.E., 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis is upregulated in adipose tissue during CLA-induced milk fat depression in dairy cows. *J. Nutr.* 139,849–854.

Hötger K. H., M. Hammon, C. Weber, S. Görs, A. Tröscher, R.M. Bruckmaier, and C. C. Metges. 2013. Supplementation of conjugated linoleic acid in dairy cows reduces endogenous glucose production during early lactation. *J. Dairy Sci.* 96:2258-2270.

Hussein, M., K. H. Harvatine, W. M. P. B. Weerasinghe, L. A. Sinclair, and D. E. Bauman. 2013. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. *J. Dairy Sci.* 96:3825–3834.

- Jenkins T. C. 2010. Technical note: Common analytical errors yielding inaccurate results during analysis of fatty acids in feed and digesta samples. *J. Dairy Sci.* 93:1170-1174.
- Lock, A.L., Rovai, M., Gipson, T.A., de Veth, M.J., Bauman, D.E., 2008. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 91, 3291–3299.
- Medeiros, S.R., Oliveira, D.E., Aroeira, J.M., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Lanna, D.P.D., 2010. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid to grazing cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 93, 1126–1137.
- NRC, 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, Natl. Acad. Sci., 6th rev. ed. National Academic Press, Washington, DC.
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, Natl. Acad. Sci., 7th rev. ed. National Research Council, Washington, DC.
- NRC, 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*, Natl. Acad. Sci., 1st ed. National Academic Press, Washington, DC.
- Nsahlai, I. V., A. L. Goetsch, J. Luo, Z. B. Johnson, J. E. Moore, T. Sahlu, C. L. Ferrell, M. L. Galyean, and F. N. Owens. 2004. Energy requirements for lactation of goats. *Small Rumin. Res.* 53:253–273.
- Odens, L. J., R. Burgos, M. Innocenti, M. J. VanBaale, and L. H. Baumgard. 2007. Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *J. Dairy Sci.* 90:293–305.
- Palmquist D. L. (2006) Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. *Advanced Dairy Chemistry 2: Lipids*, (eds. P. F. Fox & P. L. H. McSweeney), 3rd edn., pp. 43–92, Springer, New York.
- Palmquist D. L. and T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J Dairy Sci.* 63, 1–14.
- Palmquist D.L. and Jenkins T.C., 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* 81, 3250-3254.
- Ramírez-Mella M., O. Hernández-Mendo, E. J. Ramírez-Bribiesca, R. D. Améndola-Massiotti, M. M. Crosby-Galván, J. A. Burgueño-Ferreira. 2013. Effect of vitamin E on milk composition of grazing dairy cows supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. *Trop. Anim. Health.* 45: 1783–1788.

- Rigout S., S. Lemosquet, J. E. Van Eys, J. W. Blum, and H. Rulquin. 2002. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 595–606.
- Schmidely P., S. Ghazal, and V. Berthelot. 2017. Effect of rumen-protected conjugated linoleic acid on ruminal biohydrogenation and transfer of fatty acids to milk in dairy goats. *Livestock Science* 199: 7–13.
- Shingfield, K. J., L. Bernard, C. Leroux, and Y. Chilliard. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4:1140–1166.
- Sinclair, L. A., W. M. P. B. Weerasinghe, R. G. Wilkinson, M. J. de Veth, and D. E. Bauman. 2010. A supplement containing trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid reduces milk fat yield but does not alter organ weight or body fat deposition in lactating ewes. *J. Nutr.* 140:1949–1955.
- Statistical Analysis System, SAS/STAT. 2008. In: *User's Guide (Release 9.3)*. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute. 956.
- 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. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.
- von Soosten, D., U. Meyer, M. Piechotta, G. Flachowsky, and S. Dänicke. 2012. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:1222–1239.
- Vyas D., U. Moallem, B. B. Teter, A. R. Fardin-Kia, and R. A. Erdman. 2013. Milk fat responses to butterfat infusion during conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:2387–2399.
- Weiss, W. P. 1993. Method estimates available energy value for ruminants. *Feedstuffs* 9:13–14.
- Wenk, C., P. C. Colombani, J. van Milgen, and A. Lemme. 2001. Glossary: Terminology in animal and human energy metabolism. Pages 409–421 in *Proc. 15th Symp. Energy Metab. Anim.*, Snekkersten, Denmark. A. Chwalibog and K. Jakobsen, ed. Wageningen Pers, Wageningen, the Netherlands.

Capítulo IV

RENDIMIENTO DE QUESO CREMA TROPICAL MEXICANO UTILIZANDO LECHE BAJA EN GRASA INDUCIDO POR EL ISÓMERO *TRANS*-10, *CIS*-12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO: EFECTO DEL ÁCIDO PALMÍTICO¹

Resumen

El isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado (ALC) en vacas lactantes reduce la grasa en leche, ocasionando menor rendimiento de queso, fenómeno que podría mitigarse adicionando ácido palmítico (AP) en la dieta, ya que éste estimula la síntesis de grasa en leche. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de adicionar AP a la dieta para vacas lactantes en pastoreo alimentadas con el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en el rendimiento y perfil graso de queso crema tropical mexicano. Se utilizó leche de seis vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano x Cebú, distribuidas en tres grupos de dos vacas. Tres tratamientos fueron asignados aleatoriamente a cada grupo, utilizando un Diseño Cruzado: Testigo, ALC, y ALC+AP. Diariamente durante los últimos cuatro días de cada periodo experimental, se obtuvieron 10 L de leche/vaca, para elaborar quesos individuales de aproximadamente 1.2 kg, siendo 72 quesos en total. El menor rendimiento de queso crema tropical fue el del tratamiento con sólo ALC ($P \leq 0.05$), comparado con el tratamiento testigo y ALC + AP que no difirieron ($P > 0.05$) entre sí. En los quesos con ALC aumentó la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 ($P \leq 0.05$). Incluir en la dieta para vacas AP, cuando la concentración de grasa en leche es baja debido al isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, mitiga la reducción del rendimiento en queso. El proceso de elaboración del queso no modifica el perfil de ácidos grasos, por lo que el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC complementado se transfiere al queso, dándole valor agregado al queso crema tropical mexicano.

Palabras clave: Depresión de grasa láctea, síntesis de grasa, alimento funcional.

Abstract

The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) reduces milk fat in dairy cows, causing a lower yield in cheese. This could be mitigated by adding palmitic acid (PA) to the diet, as it stimulates fat synthesis in mammary gland. The objective of this study was to evaluate the effect of adding PA to the diet of grazing dairy cows complemented with *trans*-10, *cis*-12 CLA on the yield and fatty acid profile of Mexican tropical cream cheese. The lowest cheese yield was that on the treatment with CLA alone. Supplementing palmitic acid to the cows with low fat concentration in their milk, from the effect of the *trans*-10, *cis*-12 isomer, mitigates the decrease in cheese yield. The process of cheese making does not

¹Manuscrito enviado a la revista CyTA - Journal of Food bajo el título "Mexican Tropical Cream Cheese Yield Using Low-Fat Milk Induced by *trans*-10, *cis*, 12 Conjugated Linoleic Acid: Effect of Palmitic Acid".

modify the profile of fatty acids, so the supplemented cis-9, trans-11 CLA isomer transfers to the cheese, giving added value to the Mexican tropical cream cheese.

Key words: Depression of milk fat, fat synthesis, functional food, traditional cheese.

Introducción

El queso crema tropical es tradicional de mexicano, y se clasifica como de pasta blanda, fresca y prensada. Es originario de los estados de Chiapas y Tabasco, donde su consumo anual aparente es de 2.1 kg por habitante (Cervantes y Villegas, 2012). Dicho consumo aunado a su valor nutritivo, potencializa a este queso como un medio adecuado para incorporar ingredientes que le den valor de alimento funcional, tal es el caso del ácido linoleico conjugado (ALC), considerado funcional debido a su potencial efecto anticancerígeno y su capacidad de reducir grasa en tejidos adiposo y muscular, atribuido a los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (Yang *et al.*, 2015). Esto se puede lograr adicionando a la dieta de vacas lactantes suplementos con ambos isómeros de ALC (Bauman *et al.*, 2011), con lo cual se incrementarían dichos isómeros en la leche y en consecuencia en el queso. Sin embargo, el isómero *trans*-10, *cis*-12 inhibe la síntesis de grasa, lo cual reduce la concentración de grasa en leche (Schiavon *et al.*, 2016), afectando negativamente el rendimiento de queso (Chen *et al.*, 2009), debido a que la grasa después de la caseína, es el componente más importante en la composición de la MS del queso (Guinee *et al.*, 2007). Además, esta disminución de grasa en leche por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC incrementa la relación proteína:grasa (RPG) (Chen *et al.*, 2009), la cual debe ubicarse entre 0.70 a 0.90, pues valores fuera de este rango reducen la firmeza del queso y favorece la pérdida de grasa hacia el suero lácteo. Al respecto, Guinee *et al.* (2007) reportan que por cada 0.1 puntos de aumento en la RPG, el rendimiento en queso disminuye 4 %. Ante este problema, es necesario proponer alternativas que aumenten la concentración de ALC en leche y en consecuencia en queso, sin que el rendimiento del mismo sea afectado. El AP puede ser una opción viable, ya que de acuerdo a Loften *et al.* (2014), la inclusión de dicho ácido en la dieta para vacas lactantes aumenta la concentración de grasa en leche, lo cual podría reducir la caída de grasa láctea por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12, y en consecuencia podría lograr que el rendimiento en queso no disminuya. Con base en ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de complementar AP a vacas lactantes en pastoreo a las que se indujo baja concentración de grasa en leche a través del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en rendimiento, composición química y perfil de ácidos grasos del queso crema tropical Mexicano.

Materiales y métodos

Procedimiento experimental y animales

El estudio se realizó en un rancho privado ubicado en el municipio de Huimanguillo, Tabasco (17° 38' 38.2" N; 93° 23' 36.9" O; 20 msnm). La leche con la que se elaboraron los quesos se obtuvo de seis vacas $\frac{3}{4}$ Pardo Suizo Americano X Cebú en lactancia (31 \pm 7 d en leche y 2.3 \pm 0.8 partos; media \pm desviación estándar), distribuidas en 3 grupos de 2 vacas cada uno. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada uno de los tres grupos, en un Diseño Cruzado. Las vacas tuvieron un periodo de adaptación de 14 d y tres periodos experimentales de 21 d. Los tratamientos fueron 1) Testigo (Dieta base= Pastoreo + ensilado de sorgo + alimento concentrado)(Cuadro 1); 2) ALC (Dieta base + 50 g de ALC), y 3) ALC + AP (Dieta base + 50 g de ALC + 412 g de AP). El ALC fue una mezcla de AG microencapsulados, que aportaron 6 g de *cis*-9, *trans*-11 y 6 g de *trans*-10, *cis*-12 ALC (Lutrell Pure ®, BASF, Alemania). El AP fue una mezcla de AG microencapsulados > 85 % de AP (Jefo Dairy Fat 99% ®, JEFO, Canadá). En cada día durante los últimos cuatro días de cada periodo experimental se obtuvieron de cada vaca 10 L de leche para la elaboración del queso, siendo un total de 8 quesos por tratamiento, 24 quesos por periodo experimental, con un total de 72 quesos, constituyendo así el número total de muestras utilizadas en este estudio.

Elaboración del queso.

El queso se elaboró con leche sin pasteurizar, simulando el proceso artesanal, utilizando 10 L de leche a los cuales se les agregó 1 ml de cuajo microbiano (fuerza 1:10 000; Fromase 750, México). La leche se dejó en reposo de 12 a 18 h (pH 4.9-5.3), se cortó la cuajada y se dejó escurriendo por 12 h a 4 °C. A la cuajada se agregó NaCl en una proporción de 4 % de leche, se prensó durante 4 h y se empacó en papel de polietileno, y se refrigeró a 4 C.

Rendimiento en queso.

El rendimiento que considera la fracción húmeda del queso es el rendimiento real y se calculó de acuerdo a la ecuación de Hu *et al.* (2013). En tanto, el que excluye dicha fracción es el rendimiento ajustado por materia seca y se obtuvo siguiendo la ecuación de Fenelo y Guinee (1999).

Análisis de laboratorio

Para determinar la composición química de la dieta muestras de forraje de la pradera, ensilado de sorgo y concentrado fueron molidas (1 mm), y se les determinó materia seca, proteína total, cenizas (AOAC, 2000), FDN y FDA (Van Soest *et al.*, 1991).

La determinación de la concentración de grasa, proteína y lactosa en leche se realizó por espectrometría infrarroja (LactiCheck, EE.UU), y la caseína utilizando la metodología de AOAC (2000).

En las muestras de queso se determinó humedad, proteína total, grasa (AOAC 2000) y pH (Kuchroo y Fox, 1982).

Cuadro 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de los componentes de la dieta.

	Forraje	Ensilado	Concentrado	ALC*	AP**
Composición química %					
Materia seca	22.55	32.12	92.50	---	---
Materia orgánica	83.10	89.62	95.11	---	---
Proteína cruda	10.12	6.88	17.3	---	---
Fibra detergente neutro	70.42	63.14	22.63	---	---
Fibra detergente ácido	44.18	39.14	6.90	---	---
Energía neta para lactación ¹	1.54	1.11	1.80	2.46	3.07
Ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG)					
≤ C11:0	---	---	---	3.11	---
C12:0	---	---	9.13	---	0.47
C14:0	0.79	1.35	3.79	0.45	2.28
C15:0	0.36	0.72	---	---	---
C16:0	24.36	23.68	15.47	11.60	86.53
C16:1n7	1.13	1.30	0.45	---	---
C17:0	0.87	1.08	---	---	---
C18:0	2.20	3.38	2.32	46.42	3.57
C18:1n9	1.97	12.57	26.45	12.08	6.17
C18:2n6	16.24	28.93	40.86	1.01	0.98
C18:3n3	50.95	24.56	---	---	---
<i>Cis</i> -9, <i>Trans</i> -11 ALC	---	---	---	12.03	---
<i>Trans</i> -10, <i>Cis</i> -12 ALC	---	---	---	12.26	---
C20:0	0.26	1.22	0.32	0.56	---
C22:0	0.87	1.21	1.21	0.48	---

*ALC = Ácido linoleico conjugado; **Ácido palmítico; ¹Calculado de acuerdo a las fórmulas del NRC (2001) para vacas lecheras

Perfil de ácidos grasos en leche y queso

Para determinar el perfil de ácidos grasos en leche y queso se utilizó la técnica de metilación propuestas por Palmquist y Jenkins (2003), en el cual los ácidos grasos se presentan en forma de metil ésteres. Los metil ésteres de AG se determinaron en un cromatógrafo Hewlett Packard 6890 con inyector automático con una columna capilar de sílice (100 m x 0.25 mm x 0.20 µm de grosor, Sp-2560, Supelco). La identificación de los AG se realizó comparando los tiempos de retención de cada pico obtenido del cromatograma, con un estándar de 37 componentes de metil ésteres de AG (Supelco 37 Componentes FAME), y un estándar específico para isómeros C18:1 *trans* 11 (Sigma-Aldrich) y *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (Nu-Check-Prep).

Análisis estadístico.

Se utilizó un Diseño Cruzado, y los resultados se analizaron utilizando el procedimiento MIXED de SAS (2008). Las medias se compararon con la prueba de Tukey. Se consideró diferencia estadística cuando $P \leq 0.05$.

Resultados

Composición de leche

La concentración de proteína, lactosa y caseína en leche no difirió ($P > 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, la grasa láctea de vacas del tratamiento ALC disminuyó 26.9 % respecto al tratamiento con ALC + AP y 31.1 % respecto al tratamiento testigo (Cuadro 2). La reducción de grasa en leche de vacas complementadas con solo ALC provocó aumentos ($P \leq 0.05$) en la relación proteína:grasa y caseína:grasa respecto a los otros dos tratamientos (Cuadro 2).

Composición y rendimiento en queso

La humedad, pH y concentración de proteína en queso no difirió ($P > 0.05$) entre tratamientos, pero la concentración de grasa fue menor en quesos del tratamiento ALC ($P \leq 0.05$), los cuales disminuyeron 13.8 % respecto al tratamiento ALC+AP y 14.8 % respecto al tratamiento testigo. Los quesos del tratamiento ALC fueron los de menor rendimiento ($P \leq 0.05$), real y ajustado por MS (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado en la composición de leche y el rendimiento del queso crema tropical.

	Tratamientos			
	Testigo	ALC	ALC+PA	EEM*
Composición de leche (%)				
Proteína	3.32	3.31	3.28	0.02
Lactosa	4.80	4.79	4.75	0.04
Grasa	3.86 ^a	2.83 ^c	3.64 ^b	0.06
Caseína	2.66	2.66	2.59	0.03
Relación				
Caseína:Proteína	0.80	0.80	0.79	0.01
Proteína:Grasa	0.86 ^b	1.17 ^a	0.90 ^b	0.06
Caseína:Grasa	0.69 ^b	0.94 ^a	0.71 ^b	0.05
Composición de queso (%)				
Humedad	40.85	40.63	41.03	0.13
Proteína	25.15	25.09	24.87	0.11
Grasa	26.59 ^a	22.66 ^b	26.28 ^a	0.15
Rendimiento en queso				
Real (kg queso/ 100 kg leche)	14.13 ^a	12.81 ^b	14.04 ^a	0.30
Ajustado por materia seca (%)	8.39 ^a	7.62 ^b	8.29 ^a	0.13
pH	5.44	5.39	5.41	0.03

^{abc} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.05$). * EEM: Error estándar de la media; ALC= Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico.

Perfil de ácidos grasos en leche y queso

El perfil de AG de la leche fue similar al del queso (Cuadro 3). Incluir en la dieta para vacas ALC redujo ($P \leq 0.05$) la proporción de AG de longitud $<C16:0$ y aumentó ($P \leq 0.05$) los AG $> C16$ respecto a los tratamientos ALC+AP y testigo. Además, en queso hubo aumento de la concentración del isómero *cis-9*, *trans-11* en 37.1 % respecto al tratamiento testigo (Cuadro 4).

Cuadro 3. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado en el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC y la sumatoria de AG saturados e insaturados en leche y queso crema tropical.

Ácido graso (AG) (g 100 g ⁻¹ de AG)	Testigo	ALC	ALC+AP	EEM*
Leche				
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>trans</i> - 11 ALC	1.12 ^c	1.68 ^a	1.54 ^b	0.03
AG Saturados	69.28 ^a	64.26 ^b	68.44 ^a	0.88
AG Mono-insaturados	28.91 ^b	33.29 ^a	29.32 ^b	0.85
AG Poli-insaturados	1.81 ^b	2.45 ^a	2.23 ^a	0.09
Queso				
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>trans</i> - 11 ALC	1.11 ^c	1.64 ^a	1.53 ^b	0.04
AG Saturados	69.25 ^a	64.19 ^b	68.17 ^a	0.74
AG Mono-insaturados	27.77 ^b	32.00 ^a	28.19 ^a	0.75
AG Poli-insaturados	2.98 ^b	3.83 ^a	3.64 ^a	0.17

^{abc} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($P \leq 0.05$). * EEM: Error estándar de la media; ALC= Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico.

Cuadro 4. Efecto del ácido palmítico y ácido linoleico conjugado sobre el perfil de ácidos grasos (g 100 g⁻¹ AG) del queso crema tropical.

Ácido graso	Tratamientos			EEM*
	Testigo	ALC	ALC+PAL	
C4:0	1.52 ^a	1.29 ^b	1.07 ^c	0.08
C6:0	2.15 ^a	1.68 ^b	1.40 ^b	0.12
C8:0	1.35 ^a	0.98 ^b	0.78 ^b	0.09
C10:0	2.72 ^a	2.13 ^b	1.50 ^c	0.20
C11:0	0.40 ^a	0.32 ^{ab}	0.21 ^b	0.04
C12:0	3.35 ^a	2.90 ^a	2.05 ^b	0.19
C13:0	0.17 ^a	0.15 ^{ab}	0.12 ^b	0.01
C14:0	11.59 ^a	10.83 ^a	8.93 ^b	0.56
C14:1	1.34 ^a	0.99 ^b	1.10 ^b	0.08
C15:0	1.17 ^b	1.28 ^a	1.01 ^c	0.03
C16:0	31.38 ^b	27.39 ^c	39.96 ^a	0.70
C16:1 <i>cis</i> - 9	2.03 ^b	1.86 ^b	2.70 ^a	0.13
C17:0	0.81 ^a	0.86 ^a	0.65 ^b	0.04
C17:1	0.28	0.32	0.31	0.04
C18:0	10.16 ^b	11.71 ^a	8.03 ^c	0.47
C18:1 <i>cis</i> - 9	22.79 ^c	28.48 ^a	25.08 ^b	0.83
C18:1 <i>trans</i> - 11	0.22	0.27	0.22	0.03
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>cis</i> - 12	3.49 ^a	3.43 ^a	2.32 ^b	0.38
C18:2 <i>cis</i> - 9, <i>trans</i> - 11	1.02 ^b	1.64 ^a	1.53 ^a	0.05
C18:3 <i>cis</i> - 9, <i>cis</i> - 12, <i>cis</i> - 15	0.31	0.33	0.27	0.03
C20:0	0.11	0.13	0.11	0.01

^{abc} Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($P \leq 0.05$). * EEM: Error estándar de la media; ALC= Ácido linoleico conjugado; AP= Ácido palmítico.

Discusión

Composición de leche

La concentración de proteína, lactosa y caseína en leche no fue ($P > 0.05$) diferente entre tratamientos, pero la grasa disminuyó ($P \leq 0.01$) en muestras de leche de vacas complementadas con ALC y ALC+AP, debido al efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC. Dicho isómero inhibe la expresión de enzimas involucradas en la síntesis de AG *de novo* y en el transporte intracelular y absorción en glándula mamaria de AG preformados provenientes de la sangre (Schiavon *et al.*, 2016), reduciendo la concentración de grasa en leche, la cual fue 76.7 % menor en leche bajo el tratamiento ALC+AP respecto al tratamiento ALC. Este comportamiento se debe a la inclusión del AP, debido a que aumentar su disponibilidad en la glándula mamaria, estimula la síntesis de triglicéridos (Hansen y Knudsen, 1987) y en consecuencia se incrementa la concentración de grasa en leche (Piantoni *et al.*, 2013). Esto indica que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC no afecta la incorporación del AP dietario a la grasa en leche, debido a que tal incorporación es a través de la captura y transporte del AP como un AG preformado hacia la glándula mamaria (Loften *et al.*, 2014), y el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC inhibe principalmente la síntesis *de novo* de AG, y no la de captación de AG preformados (Bauman *et al.*, 2011).

La RPG en leche de vacas del tratamiento ALC fue mayor ($P \leq 0.01$) debido a la caída de grasa en leche por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12, lo cual ocasionó disminución en el rendimiento del queso de este tratamiento (Guinee *et al.*, 2007).

Composición y rendimiento en queso

Dado el elevado valor de la RPG (1.17) en los quesos del tratamiento ALC, con respecto a los otros tratamientos (ALC + AP = 0.90; testigo = 0.86), fueron los de menor rendimiento real y ajustado por MS. Este comportamiento es debido a que al aumentar la RPG se ocasiona tasa mayor de sinéresis (Fox *et al.*, 2016), lo cual ocasiona reducción en el rendimiento y la firmeza del queso (Guinee *et al.*, 2007). Asimismo existe correlación inversa ($r = -0.88$) entre la RPG y el rendimiento en queso (Guinee *et al.*, 2007), lo cual explica el rendimiento menor en quesos del tratamiento ALC. El hecho de que la grasa en leche disminuyera a consecuencia del isómero *trans*-10, *cis*-12 en el tratamiento ALC, representó que los quesos derivados de esta leche fueran los de menor rendimiento, ya que la caseína y grasa láctea en conjunto suman más del 85 % de la materia seca del queso (Fox *et al.*, 2016). Al respecto, Fekadu *et al.* (2005) indican que existe una correlación positiva ($r = 0.79$) entre la concentración de grasa y el rendimiento en queso, lo que significa que a mayor concentración de grasa, mayor rendimiento en queso o viceversa. Por ejemplo, Schiavon *et al.* (2016), quienes complementaron a vacas con 5.5 g d^{-1} de *trans*-10, *cis*-12, reportaron reducción 13.0 % de la concentración de grasa en leche, y en consecuencia el rendimiento en queso decreció en 11.0 %. Por su parte, Chen *et al.* (2009), al complementar

a cabras lactantes con 6 g d⁻¹ de *trans*-10, *cis*-12, observaron reducción en la concentración de grasa en leche (23.2 %), ocasionando que el rendimiento en queso disminuyera 10.2 %. En nuestro estudio, la complementación a las vacas con 6 g d⁻¹ de *trans*-10, *cis*-12 en el tratamiento ALC causó reducción de grasa en leche en 26.7 %, en tanto el rendimiento en queso disminuyó 9.4 % respecto al tratamiento testigo. Sin embargo, nuestros resultados difieren de los de Sinclair *et al.* (2007, quienes incluyeron en la dieta para ovejas lactantes un suplemento con el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, y observaron disminución en la concentración de grasa en leche, pero no en rendimiento en queso. Esta diferencia en resultados pudiera estar relacionada al hecho que la reducción en grasa láctea que reporta Sinclair *et al.* (2007) provocó un incremento en la RPG de 0.15 puntos, mientras que en nuestro estudio, dicho incremento fue de 0.31 puntos cuando la grasa láctea disminuyó por la adición del ALC, y por tanto, hubo reducción del rendimiento en queso.

El rendimiento en queso en los tratamientos testigo y ALC + AP no fueron diferentes ($P < 0.05$) entre sí, evidenciando que la inclusión del AP mitigó la caída de grasa en leche por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12, causando que la RPG entre el tratamiento testigo y el ALC+AP (0.86; testigo, 0.90; ALC+AP) no se modificaran ($P > 0.05$), y por tanto, el rendimiento en queso bajo ambos tratamientos tampoco difiriera.

Perfil de ácidos grasos en leche y queso

En la grasa láctea de las vacas complementadas con ALC aumentó el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC (Cuadro 3). La eficiencia de transferencia de dicho isómero a grasa en leche con el tratamiento ALC fue 9.3 %, mientras que en el tratamiento ALC + AP fue 7.0 %, valores dentro del rango (4 a 10 %) de transferencia del *cis*-9, *trans*-11 cuando éste se suministra a vacas lactantes de forma protegida (Giesy *et al.*, 2002).

El perfil de AG del queso fue similar al de la leche (Cuadro 3), aspecto que lleva a pensar que el proceso de elaboración del queso no fue factor determinante en la composición del perfil de AG. Al respecto, Luna *et al.* (2007) indican que los procesos estándar de elaboración de queso fresco no cambian el perfil de AG incluyendo los isómeros de ALC. Asimismo, sólo se han observado modificaciones de la estructura carbonada de los AG por efecto de calor. Sin embargo para que esto ocurra, el proceso de elaboración de queso debe darse a temperaturas superiores a 63 °C y tiempos de exposición mayor a 30 minutos (Herzallah *et al.*, 2005). En nuestro estudio los quesos fueron elaborados con leche sin pasteurizar, por lo que el factor calor no fue determinante en ninguna etapa de la elaboración del queso, razón por la cual los AG en queso no fueron modificados.

En los quesos con el tratamiento ALC y ALC + AP disminuyeron los AG de cadena corta y media y aumentó la sumatoria de AG insaturados. Este resultado

se debe al isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, que causa el mismo efecto en el perfil de AG de leche (Schiavon *et al.*, 2016). Esto, sumado al hecho que el proceso de elaboración no modificara el perfil de AG de leche al queso, ocasionó que en quesos de los tratamientos ALC y ALC+AP aumentara el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC, lo cual permite que estos quesos tengan un perfil de AG con potencial mayor de alimento funcional (Yang *et al.*, 2015).

Conclusión

Bajo las condiciones experimentales de este estudio, incluir AP en la dieta para vacas lactantes que tienen baja concentración de grasa en leche por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC ocasiona que el rendimiento en queso no disminuya. Además, el proceso de elaboración del queso no modifica su perfil de ácidos grasos, por lo que el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC complementado en la dieta se transfiere al queso, dándole valor agregado al queso crema tropical mexicano.

Literatura citada

AOAC International. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 17th edition. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities.

Bauman, D. E., K. J. Harvatine, and A. L. Lock. 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 31:299-319.

Cervantes-Escoto, F. and Villegas-de Gante, A. 2012. "La leche y los quesos artesanales en México", Miguel Ángel Porrúa Librero Editor, Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM), Universidad Autónoma Chapingo, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México.

Chen, S. X., Rovai, M., Lock, A.L. Bauman, D.E. Gipson, T.A., Ren, F.Z. and Zeng S.S. 2009. Short communication: Effects of milk fat depression induced by a dietary supplement containing *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on properties of semi-hard goat cheese. *J. Dairy Sci.* 92:2534–2538

Fekadu B, Soryal K, Zeng S, VanHekken D, Bah B, Villaquiran M 2005. Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheese. *Small Ruminant Res.*, 59:55.

Fenelon M A, Guinee TP. 1999. The effect of milk fat on Cheddar cheese yield and its prediction, using modifications of the Van Slyke cheese yield formula. *J Dairy Sci* 82:2287–99.

Fox PF, Timothy P, Guinee TP, Cogan M, Paul L and Mcsweeney H. 2016. *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition Springer New York.

- Giesy, J. G., McGuire, M. A., Shafil, B. and Hanson, T. W. 2002. Effect of dose of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on percentage and fatty acid content of milk fat in midlactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2023-2029.
- Guinee T.P., Mulholland E.O., Kelly J., Callaghan D.J.O., 2007. Effect of protein-to-fat ratio of milk on the composition, manufacturing efficiency, and yield of Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 90, 110-123.
- Hansen, H. O., and J. Knudsen. 1987. Effect of exogenous long-chain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *J. Dairy Sci.* 70:1350–1354.
- Herzallah, S.M., M.A. Humeid and K.M. Al-Ismail, 2005. Effect of heating and processing methods of milk and dairy products on conjugated linoleic acid and trans fatty acid isomer content. *J. Dairy Sci.*, 88: 1301-1310.
- Hu Y, Ge K, Jiang L, Guo H, Luo J, Wang F, Ren F. 2013. Effect of transglutaminase on yield, compositional, and functional properties of low-fat Cheddar cheese. *Food Sci Technol Res* 19:359–67.
- Jenkins, T. C. 2010. Technical note: Common analytical errors yielding inaccurate results during analysis of fatty acids in feed and digesta samples. *J. Dairy Sci.* 93(3): 1170-1174.
- Kuchroo CN, Fox PF. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft* 37:331–35.
- Loften, R.J., Lin, G.J., Drackley, K.J., Jenkins, C.T., Soderholm, G.C. & Kertz, F.A. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 4661–4674.
- Luna, P., Juarez, M., & De la Fuente, M. A. 2007. Conjugated linoleic acid content and isomer distribution during ripening in three varieties of cheeses protected with designation of origin. *Food Chemistry*, 103, 1465–1472.
- Palmquist, D. L., and Jenkins, T. C. 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* 81(12): 3250-3254.
- Piantoni, P., A. L. Lock, and M. S. Allen. 2013. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 96:7143–7154.
- Schiavon, S., Cesaro, G., Cecchinato, A., Cipolat-Gotet, C., Tagliapietra, F. and Bittante, G. 2016. The influence of dietary nitrogen reduction and conjugated linoleic acid supply to dairy cows on fatty acids in milk and their transfer to ripened cheese. *J. Dairy Sci.* 99:1–20

Sinclair, L. A., A. L. Lock, R. Early, and D. E. Bauman. 2007. Effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on ovine milk fat synthesis and cheese properties. *J. Dairy Sci.* 90:3326–3335.

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. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597.

Yang, B., Chen H., Stanton C., Ross R. P., Zhang H., Chen Y. Q. and Chen W. 2015. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Funct. Foods* 15, 314–325.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS ECONÓMICO DEL USO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO Y ÁCIDO PALMÍTICO EN LA DIETA DE VACAS LECHERAS

Resumen

El éxito de una empresa agropecuaria radica en obtener beneficios económicos. Para lograr lo anterior, entre otras cosas es necesario conocer el costo de producción a fin de poder determinar el precio de venta del producto. Con base en ello, se realizó un análisis económico para determinar el costo por litro de leche sin y con la inclusión del ácido linoleico conjugado o ácido palmítico. Se utilizaron los registros de ingresos y costos totales de producción. Con el costo total se calculó el costo por litro de leche en cada tratamiento del experimento 1 y 2. El costo del litro de leche fue de \$ 5.20 para el tratamiento testigo, \$ 5.62 para el ALC, \$ 5.79 para el AP y \$ 6.17 para el ALC + AP. Dado que el precio de venta por litro de leche fue de \$ 6.00, la leche producida por vacas en el tratamiento ALC + AP debe ser vendida a un precio mayor a \$ 6.00 para obtener una ganancia económica.

Palabras clave: Rentabilidad, costo del litro de leche, valor agregado.

Abstract

The success of an agricultural business is to obtain economic profit. To achieve this, among other things it is necessary to know the cost of production in order to be able to determine the selling price of the product. Based on this, an economic analysis was performed to determine the cost per liter of milk without and with the inclusion of conjugated linoleic acid or palmitic acid. Records of income and total production costs were used. The cost per liter of milk was calculated for each treatment of experiment 1 and 2. The cost of the liter of milk was \$ 5.20 for the control treatment, \$ 5.62 for the CLA, \$ 5.79 for the PA and \$ 6.17 for the CLA + PA. Since the sale price per liter of milk was \$ 6.00, milk produced by cows in the CLA + PA treatment must be sold at a price greater than \$ 6.00 to obtain an economic profit.

Key words: Profitability cost of the liter of milk, value added.

Introducción

Las ganancias económicas en empresas dedicadas a producción de leche se basan en un manejo cuidadoso, eficiente y rentable del hato (Espinosa-García *et al.*, 2004), donde el precio de venta por encima del precio de producción garantiza el éxito (Romo *et al.*, 2014). Dos factores son claves para que la empresa lechera adquiera mayor poder de negociación y en consecuencia incremente el precio de venta. Primero, ofertar cantidad mayor de leche, y segundo, ofertar leche con algún valor agregado (Bartl *et al.*, 2009), este último de mucha importancia últimamente, dado el cambio de patrón de consumo a productos con mayor valor nutricional e inocuos (Godfray *et al.*, 2010). Derivado de ello, existe la disponibilidad del consumidor por pagar más por alimentos que contribuyan a mejorar su salud (van Rijswijk y Frewer, 2012), como es el caso de leche con ácido linoleico conjugado (ALC), que potencialmente inhibe la carcinogénesis, reduce síntomas de diabetes mellitus tipo II y grasa en tejidos, efectos atribuidos particularmente a sus isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (Yang *et al.*, 2015). El contenido de ALC puede manipularse a través de diferentes estrategias nutricionales (Siurana y Calsamiglia, 2016), siendo el pastoreo la estrategia alimenticia más económica para aumentar la concentración del ALC en grasa láctea (Lahlou *et al.*, 2014), aunque no la más eficiente, ya que ello depende del contenido de grasa en los pasto (León-Ceviedes *et al.*, 2011). Por tanto, una alternativa es adicionar a la dieta de vacas lactantes, isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 protegidos de la fermentación ruminal, aumentado así la concentración del ALC en leche (Bauman *et al.*, 2011). No obstante, el *trans*-10, *cis*-12 ALC se asocia con una síntesis menor de grasa en leche, pudiendo reducir la grasa láctea hasta 50 % (Bauman *et al.*, 2011). Esto no es conveniente para la industria lechera, debido a que la grasa y caseína en leche determinan aproximadamente el 85 % del rendimiento de los derivados lácteos (Fox *et al.*, 2016). Para resolver este problema, se ha propuesto la inclusión de ácido palmítico en la dieta de las vacas, que ha mostrado aumentar la concentración de grasa en leche (Loften *et al.*, 2014). Sin embargo, es necesario considerar el incremento en el costo de producción de leche al adicionar dichos ingredientes, a fin de garantizar la rentabilidad de la empresa lechera. Por tanto, el objetivo de este análisis económico es determinar el costo de producción de leche enriquecida con ácido linoleico conjugado cuando se incluye ácido palmítico para evitar la caída de grasa en leche a consecuencia del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC.

Materiales y métodos

Se utilizaron registros de costos e ingresos generados durante un año de la unidad de producción donde se realizó el Experimento 1 y 2 descrito en el Capítulo dos de la presente tesis. El análisis económico incluyó todos los componentes del costo total (CT): inversión, administración, mano de obra, alimentación (alimento concentrado, ensilado y pasto), medicamentos, utensilios y equipo, mantenimiento, combustible, energía eléctrica y gas. A partir del CT se calcularon los costos unitarios (CU) y éstos fueron clasificados en las categorías de variables (CV) y fijos (CF) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Promedio de costos de producción (\$) del rancho.

Concepto	Rancho	Leche	Becerras	Sementales	Vacas
	Partición de ingreso (%)				
	100.0	74.7	14.8	7.0	3.5
	Costos variables (61.4 %)				
Mano de obra	160,984.7	120,255.6	23,825.7	11,268.9	5,634.5
Minerales y urea	7,123.1	5,321.0	1,054.2	498.6	249.3
Alimentación	25,1330.7	18,7744.0	37,196.9	17,593.1	8,796.6
Medicamentos	8,120.1	6,065.7	1,201.8	568.4	284.2
Gas	11,404.9	8,519.5	1,687.9	798.3	399.2
Utensilios	1,016.9	759.6	150.5	71.2	35.6
Mantenimiento	7,588.6	5,668.7	1,123.1	531.2	265.6
Refacciones	558.2	417.0	82.6	39.1	19.5
Combustible	1,263.0	943.5	186.9	88.4	44.2
Energía eléctrica	1,794.5	1,340.5	265.6	125.6	62.8
Ensilaje	67,253.8	50,238.6	9,953.6	4,707.8	23,53.9
Costos Variables	533,595.0	39,8595.5	78,972.1	37,351.7	18,675.8
	Costos fijos (38.6 %)				
Depreciación	138,775.2	103,665.1	20,538.7	9,714.3	4,857.1
Administración	28,665.4	21,413.1	4,242.5	2,006.6	1,003.3
Costos Fijos	167,440.4	125,078.0	24,781.2	11,720.8	5,860.4
Costos Totales	868,475.8	648,751.4	128,534.4	60,793.3	30,396.7

Del mismo modo se obtuvo el ingreso económico por concepto de venta de leche, becerros, sementales y vacas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ingreso promedio por venta de leche y animales en el rancho.

	Leche (L)	Becerras	Sementales	Vacas
Productos generados	124,006.4	20	2	2
Precio de venta (\$)	6.0	7,350.0	35,000.0	12,500.0
Ingresos total (\$)	744,038.4	147,000.0	70,000.0	25,000.0

El cálculo del costo del litro de leche y producción de becerros, sementales y vacas se realizó a través de la metodología propuesta por Schaefer (1982). Es preciso aclarar que el costo de cada animal producido se calculó únicamente con el objetivo de no sobreestimar el costo de producción por litro de leche. Con esta

información se estimó la estructura de costos e ingresos, de donde se generó el costo unitario por productos generado (CUG), utilidad neta, utilidad por producto generado (UPG; leche, becerros, sementales y vacas de desecho (Cuadro 3), utilizando las siguientes formulas:

$$CUG = \frac{\text{Costos totales de producción}}{\text{Producción total del producto generado}}$$

$$UPG = \text{Precio de venta del productor} - \text{Costo unitario del producto}$$

Cuadro 3. Indicadores económicos del rancho.

Concepto	Rancho	Leche	Beceros	Sementales	Vacas
Ingreso total (\$)	996,038.4	744,038.4	147,000.0	70,000.0	35,000.0
Costos totales (\$)	868,475.8	648,751.4	128,534.4	60,793.3	30,396.7
Unidades producidas		124,006.40	20.00	3.0	3.0
Costo unitario de producción (\$)		5.2	6,426.7	20,264.4	10,132.2
Precio de venta (\$)		6.0	7,350.0	25,000.0	12,500.0
Utilidad por unidad producida (\$)		0.8	923.3	4,735.6	2,367.8

Finalmente, a partir del costo unitario de producción de leche \$ 5.20 por litro (Cuadro3), se determinó el costo por litro de leche en los tratamientos ALC, AP y ALC + AP, sumándoles el costo de cada suplemento alimenticio: ALC = \$ 130 kg; AP = \$ 24 kg.

Resultados y discusión

El costo de litro de leche se incrementó en los tratamientos ALC (8.1 %), AP (11.3 %) y ALC + AP (18.6 %) respecto al tratamiento testigo, ocasionando que la utilidad por litro de leche se redujera en los mismos tratamientos, llegando a ser negativa en el tratamiento ALC + AP (Cuadro 4).

Cuadro 4. Costo del litro de leche de vacas complementadas solo en combinación con ALC o AP.

	Testigo	ALC ¹	AP ²	ALC+AP
Producción de leche (L/día)	15.47	15.21	16.20	16.38
Concentración de grasa en leche (%)	3.86	2.83	4.62	3.64
Concentración del isómero <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 ALC	1.12	1.68	1.06	1.54
Costo del suplemento por día (\$)	-----	6.50	9.60	15.85
Costo del suplemento por litro de leche (\$)	-----	0.42	0.59	0.97
Costo del litro de leche (\$)	5.20	5.62	5.79	6.17
Utilidad por litro de leche (\$)	0.80	0.38	0.21	-0.17

¹ALC= Ácido linoleico conjugado; ²AP=Ácido palmítico

Al comparar la utilidad del tratamiento testigo con la de los demás tratamientos, ésta disminuyó 52.5 % (ALC), 73.7 % (AP) y 121.2 % (ALC+AP). Por tanto, si se quisiera igualar la utilidad actual del rancho (\$ 0.80 pesos por litro de leche) sería necesario cambiar el pago por litro de leche de \$ 6.00 (pago actual) a \$ 6.42 en el tratamiento ALC, \$ 6.59 en tratamiento AP y \$ 6.97 en el tratamiento ALC+AP.

Dicho cambio en precio implica incremento de 16.3 % en el pago de leche del tratamiento ALC + AP, respecto al pago actual de la leche. Consecuentemente, si el interés es producir leche enriquecida con ALC sin baja concentración de grasa, es preciso aumentar más allá de 16.3 % el pago de la leche respecto al pago actual. Con ello, se obtendría utilidad positiva, haciendo atractiva la producción de leche con estas características. Es pertinente mencionar que el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina en conjunto con una empresa privada desarrollaron leche enriquecida con ALC, que comercializan como categoría “*Premium*” con un incremento de 85 % en el precio de venta respecto a la leche entera de categoría estándar (Cámpora *et al.*, 2016). Asimismo, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos otorga la certificación USDA ORGANIC ® a empresas en ese país que produzcan alimentos sin uso de aditivos químicos de fabricación industrial, o que tengan en su composición nutricional ingredientes funcionales, situación que algunas empresas como Organic Valley ® y Traders Point Creamery ® han aprovechado, obteniendo la certificación USDA ORGANIC ® por ofertar leche con alto contenido de ALC (USDA, 2013), y con lo cual generan mayores ganancias por litro de leche debido a que ofertan un producto con valor agregado (van Rijswijk y Frewer, 2012). Esto se basa en el hecho de que los consumidores están dispuestos a pagar más por leche, queso o yogur con alto contenido de ALC debido a sus potenciales efectos positivos en salud (Maynard y Franklin, 2003), particularmente familias integradas por niños y jóvenes (Peng *et al.*, 2006). Adicionalmente, la leche enriquecida con ALC puede ser un medio para atraer nuevamente consumidores que han optado por no consumir leche y sus derivados, debido a la fuerte difusión del impacto negativo de la grasa láctea en la salud (Wham y Worsley, 2003). En este contexto, el desarrollo de productos lácteos con alto contenido de ALC no sólo puede mejorar la salud del consumidor, pero también puede ayudar a la industria láctea a obtener ventajas competitivas en el mercado (West y Larue, 2004). Por tanto, para que los productores estén interesados en desarrollar leche enriquecida con ALC es necesario incentivarlos a través del pago de un sobreprecio por leche con alto contenido de ALC (Maynard y Franklin, 2003).

Conclusión

La complementación de vacas lactantes con ácido linoleico conjugado más ácido palmítico protegido, originó leche enriquecida con ácido linoleico conjugado sin bajo contenido en grasa. No obstante el costo de producción de este tipo de leche requiere mayor inversión por concepto de alimentación, por lo que el precio de venta debe considerar dicha inversión, a fin de garantizar ganancias económicas.

Literatura citada

Bartl K., Mayer C., Gómez A., Muñoz E., Hess D. and Holmann F. 2009. Economic evaluation of current and alternative dual-purpose cattle systems for

smallholder farms in the central Peruvian highlands, *Agricultural Systems*, 101: 152–161.

Bauman D.E., Harvatine K.J. and Lock A.L. 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 31: 299-319.

Cámpora M. S. 2016. Alimentos funcionales: tecnología que hace la diferencia. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42: 131-137.

Espinosa-García J.A., Wiggins S., González A.T. and Aguilar B.U. 2004. Sustentabilidad Económica a Nivel de Empresa: aplicación a unidades familiares de producción de leche en México. *Técnica Pecuaria en México*, 42: 55-70.

Fox P.F., Timothy P., Guinee T.P., Cogan M., Paul L. and Mcsweeney H. 2016. *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition Springer New York.

Godfray H.J., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F., Pretty J., Robinson S., Thomas S. and Toulmin C. 2010. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327: 812-818.

Lahlou M.N., Kanneganti R., Massingill L.J., Broderick G.A., Park Y., Pariza M.W., Ferguson J.D. and Wu Z. 2014. Grazing increases the concentration of CLA in dairy cow milk. *Animal*, 8: 1191–1200.

León-Caviedes J.M., Pabón-Restrepo M.L. and Carulla-Fornaguera J.E. 2011. Pasture traits and conjugated linoleic acid (CLA) content in milk. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24: 63-73.

Loften R.J., Lin G.J., Drackley K.J., Jenkins C.T., Soderholm, G.C. and Kertz, F.A. 2014. Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97: 4661–4674.

Maynard L.J. and Franklin S.T. 2003. Functional foods as a value-added strategy: The commercial potential of “Cancer-Fighting” dairy products. *Review of Agricultural Economics*, 25: 316–31.

Peng Y., West G.E. and Wang C. 2006. Consumer Attitudes and Acceptance of CLA-Enriched Dairy Products. *Canadian Journal of Agricultural Economics*, 54: 663–684.

Romo C., Valdivia A., Carranza R., Cámara J., Zavala M., Flores E. and Espinosa J. 2014. Brechas de rentabilidad económica en pequeñas unidades de producción de leche en el antiplano central mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5: 273-290.

Schaefer K. W. 1982. Metodología de análisis de las inversiones en explotaciones agrícolas. Materiales de Capacitación del Instituto de Desarrollo Económico. Banco Mundial. Washington, D.C. USA. p. 342-352.

Siurana A. and Calsamiglia S. 2016. A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Animal Feed Science and Technology*, 217: 13–26.

USDA. 2013. USDA Departmental Guidance on Organic Agriculture, Marketing and Industry. Office of the Secretary Washington, D.C. 20250. Disponible en: <https://www.usda.gov/sites/default/files/documents/usda-departmental-guidance-organic-agriculture.pdf>. Descargado 08-06-2017.

Van Rijswijk W. and Frewer L.J. 2012. Consumer needs and requirements for food and ingredient traceability information. *International Journal of Consumer Studies*, 36, 282-290.

West G.E. and Larue B. 2004. Profiling consumer trend-setters in the Canadian healthy foods market. *Current Agriculture and Resource*, 5: 65–82.

Wham C. and Worsley A. 2003. New Zealander's attitudes to milk: Implications for public health. *Public Health Nutrition*, 6: 73–8.

Yang B., Chen H., Stanton C., Ross R.P., Zhang H., Chen Y. Q. and Chen W. 2015. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J Funct Foods*, 15: 314–325.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Incluir ácido palmítico en la dieta para vacas lactantes en pastoreo mitiga la caída de grasa en leche provocada por el isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado, en independencia de la etapa de lactancia. Esta reducción de grasa causa menor requerimiento energético para la producción de leche. En consecuencia, se incrementa la producción de leche, disminuye la movilización de reservas corporales, y mejora el balance energético. Además, disminuye el consumo de MS. No obstante, la concentración de proteína en carne no se modifica por efecto del isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado, aun cuando se esperaba aumentara debido al mencionado isómero. Por lo tanto, es necesario más investigación que explique el papel del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en el metabolismo energético de vacas lactantes.

La elaboración de queso crema tropical con leche de vacas complementadas con ácido palmítico permitió que no se redujera el rendimiento en queso por efecto de utilizar leche baja en grasa debido al isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado. Además, el proceso de elaboración del queso no modificó el perfil de AG de la leche al queso, por tanto, el isómero *cis*-9, *trans*-11 del ácido linoleico conjugado incluido en la dieta de las vacas, se transfirió de la dieta a la leche y posteriormente al queso, otorgándole característica de alimento funcional al queso. Es preciso aclarar que de la misma forma hubo transferencia positiva del ácido palmítico. Por tanto, en el queso se aumentó dicho AG que es saturado y no benéfico para la salud humana. Entonces, es necesario realizar estudios complementarios que determinen la dosis de ácido palmítico mínima a utilizar para mitigar los efectos negativos del síndrome de depresión de grasa láctea, pero evitando en lo posible aumento de ácidos grasos saturados en leche y consecuentemente en queso.

Todo esto conlleva a la conclusión general que los efectos negativos del síndrome de depresión de grasa láctea pueden mitigarse a través del uso del ácido palmítico en la dieta de las vacas, con la desventaja del incremento del costo de producción de la leche. Ante esto, entonces se vislumbran dos posibles escenarios, buscar otras alternativas al ácido palmítico, o la búsqueda de mercado para este tipo de leche, donde necesariamente debe existir un sobreprecio a fin de que este sistema de producción de leche sea rentable, y existan beneficios no solo al productor, pero al consumidor.