

## Determinación de ácidos grasos en leche bubalina (*Bubalus bubalis*) producida en Corrientes, Argentina\*

Patiño, E.M.<sup>1</sup>; Judis, M.A.<sup>2</sup>; Guanziroli Stefani, C.<sup>1</sup>; Pochon, D.O.<sup>3</sup>; Cedrés, J.F.<sup>1</sup>; Doval, M.M.<sup>2</sup>; Romero, A.<sup>2</sup>; Faisal, E.L.<sup>1</sup>; Crudeli, G.<sup>4</sup>; Rebak, G.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Cátedra Tecnología de los Alimentos, <sup>3</sup>Cátedra Bioestadística, <sup>4</sup>Cátedra Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax 03783-425753. Email: exepa@vet.unne.edu.ar. <sup>2</sup>Cátedra Industrias Alimenticias II, Facultad de Agroindustrias, Presidencia Roque Sáenz Peña (Chaco, Argentina). E-mail: judis@fai.unne.edu.ar.

### Resumen

**Patiño, E.M.; Judis, M.A.; Guanziroli Stefani, C.; Pochon, D.O.; Cedrés, J.F.; Doval, M.M.; Romero, A.; Faisal, E.L.; Crudeli, G.; Rebak, G.: Determinación de ácidos grasos en leche bubalina (*Bubalus bubalis*) producida en Corrientes, Argentina. Rev. vet. 19: 1, 28–32, 2008.** El objetivo del estudio fue determinar los valores de ácidos grasos saturados e insaturados, especialmente ácido linoleico conjugado (CLA) y ácidos omega 3 y 6, en leche de búfalas de la Provincia de Corrientes. Se emplearon 16 búfalas multíparas de raza Murrah y mestizas Murrah x Mediterránea, distribuidas en 2 grupos integrados por 8 animales cada uno (4 Murrah y 4 mestizas). El primero fue alimentado con pasturales naturales *ad libitum* y el segundo con pasturas naturales y un suplemento diario de 2 kg de maíz molido por animal. El ensayo duró 35 días. En los días 1 y 35 se obtuvieron muestras de leche de todas las búfalas (32 muestras). Para la dieta de pastura natural con y sin suplementación, los ácidos grasos saturados fueron de 56,91 y 57,10%, en tanto que los insaturados fueron de 43,68 y 42,89% respectivamente. De estos últimos, el 37,24 y 36,92% correspondieron a monoinsaturados y el 5,84 y 5,97% a polinsaturados respectivamente. Entre los ácidos grasos saturados predominó el C16:0 y entre los insaturados el C18:1. El ácido C14:0 reveló diferencias significativas según época de muestreo y dieta ( $p < 0,05$ ), resultando mayor al día 35 y en animales suplementados. El nivel de CLA en búfalas no suplementadas fue de 10,29 mg/g de grasa láctea. Existió una correlación positiva entre CLA y ácido vaccénico en la grasa láctea ( $r = 0,87$ ). La relación de ácidos grasos omega 6 y omega 3 fue de 2,07/1 al final del ensayo. En conclusión, se establecen valores de referencia para ácidos grasos en leche bubalina y se espera que estos datos asuman importancia al momento de compararlos con los obtenidos mediante otras estrategias dietarias, con el propósito de incrementar el contenido de CLA y omega 3 en la leche de búfalas.

**Palabras clave:** búfalas, leche, ácidos grasos.

### Abstract

**Patiño, E.M.; Judis, M.A.; Guanziroli Stefani, C.; Pochon, D.O.; Cedrés, J.F.; Doval, M.M.; Romero, A.; Faisal, E.L.; Crudeli, G.; Rebak, G.: Determination of milk fatty acids in buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Corrientes, Argentina. Rev. vet. 19: 1, 28–32, 2008.** The objective of this study was to determine the values of saturated and unsaturated milk fatty acids, especially conjugated linoleic acid (CLA) and omega 3 and omega 6 acids, in buffaloes from Corrientes (Argentina). Sixteen multicalving buffaloes Murrah and Murrah x Mediterranean, were used, distributed in 2 groups of 8 animals each (4 Murrah and 4 half-breed). The first one was fed *ad libitum* with natural pastures and a daily supplement of grinding corn, 2 kg for animal. The trial last for 35 days. Milk samples from all studied buffaloes were obtained in days 1 and 35 (32 samples). For the diet of natural pasture with or without supplementation, the saturated fatty acids were 56.91 and 57.10%, while unsaturated were 43.68 and 42.89%, respectively; from these, 37.24 and 36.92% corresponded to monounsaturated and 5.84 and 5.97% to polyunsaturated fatty acids, respectively. Among saturated fatty acids, C16:0 predominated, and C18:1 among unsaturated. The C14:0 acid revealed significant differences according to sampling time and diet ( $p < 0.05$ ), being higher in supplemented animals. The CLA level was 10.29 mg/g of fat milk in not supplemented buffaloes. A positive correlation between CLA and vaccenic acid in fat milk ( $r = 0.87$ ) was

\*Proyecto SGCYT-UNNE 37/06.

Recibido: 15 abril 2008 / Aceptado: 9 junio 2008

verified. The relationship between omega 6 and 3 fatty acids was 2.07/1 at the end of the assay. Reference values for milk fatty acids of buffaloes were established. It is expected that these data will assume importance when comparing to those obtained by means of other dietary strategies, with the purpose of increasing the content of CLA and omega 3 in the milk of buffaloes.

**Key words:** buffalo, milk, fatty acids.

## INTRODUCCIÓN

En Argentina el ganado bubalino es destinado mayoritariamente a la producción de carne; a partir del año 1992 comenzó una incipiente producción de leche, destinada a elaboración de queso mozzarella y otros derivados, siendo su industrialización irregular, con establecimientos localizados en las provincias de Corrientes, Formosa, Misiones, Entre Ríos, Tucumán, Santa Fe y Buenos Aires. Las principales razas empleadas en lechería son Murrah, Mediterránea y mestizas de ambas <sup>10</sup>.

En la dieta humana, la leche y los derivados lácteos constituyen una importante fuente de ácido linoleico conjugado (CLA) <sup>6</sup>. En ganado bubalino las investigaciones sobre perfiles de ácidos grasos han sido efectuadas en diversos países como Brasil <sup>5, 8</sup>, Italia <sup>1, 4, 11, 15</sup>, Bulgaria <sup>9, 12</sup> e Irán <sup>3</sup>. En Argentina recientemente se han publicado trabajos sobre este tema en leche y queso de búfalas, a partir de investigaciones realizadas en la provincia de Tucumán <sup>13, 14</sup>.

Los ácidos linoleico (C18:2 n6 y derivados) y linoléico (C18:3 n3 y derivados) son ácidos grasos esenciales, debido a que son sintetizados por las plantas, pero no por los mamíferos. Deben por lo tanto ser aportados por la alimentación y juegan un rol de precursores para la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena más larga e insaturados de la serie n-3 (omega 3) y n-6 (omega 6) respectivamente <sup>6</sup>. La falta de conocimientos del consumidor sobre las características de la leche bubalina y sus derivados, constituyen una de las principales barreras para el éxito en la producción de esta especie.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el perfil de ácidos grasos y conocer los valores basales de CLA y ácidos grasos omega 3 y omega 6 en leche de búfalas producida en la Provincia de Corrientes, alimentadas con pasturas naturales y suplementadas con maíz. El ensayo es parte de un proyecto más amplio en el que se persigue el propósito de incrementar la cantidad de CLA y omega 3 en la leche de búfalas, mediante estrategias que incluyen la adición dietaria de aceites vegetales y de pescado utilizando maíz molido como vehículo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

*Lugar geográfico, animales.* Los animales pertenecían al plantel del establecimiento Santa María del Rosario (San Cosme, Corrientes). Se trabajó con 16 búfalas múltiparas de razas Murrah y mestizas Murrah x Mediterránea, identificadas con caravanas alfanuméricas

y distribuidas en dos grupos, integrados por 8 (ocho) animales cada uno: 4 (cuatro) búfalas de raza Murrah y 4 mestizas. El primero fue alimentado con pasturas naturales *ad libitum* y el segundo con pasturas naturales y un suplemento diario de 2 kg de maíz molido por animal. La pastura natural estaba compuesta mayoritariamente por especies como *Andropogon lateralis*, *Andropogon lateralis A. Sellononauis*, *Cynodon dactylon* (gramilla), *Elionorus sp.* (espartillo), *Paspalum notatum* (pasto horqueta), *P. almun chase*, *Sorghastrum agrostoides* (paja amarilla), *Desmodium canum* (pega-pega) y *Shylosanthes macrosoma*. Cada animal recibió la ración suplementaria correspondiente en el momento del ordeño, en un box individual a los fines de evitar problemas de dominancia. Las búfalas fueron ordeñadas mecánicamente por la mañana. Antes de comenzar el ensayo los animales del grupo 2 recibieron un suplemento de 1 kg de maíz molido durante 10 días a fin de adaptarlas al consumo de dicho grano. El ensayo propiamente dicho se realizó durante 35 días, entre el 2 de octubre y el 6 de noviembre de 2007, en el período correspondiente a la segunda etapa de lactación.

*Muestras de leche.* Las muestras (n = 32) fueron obtenidas a los días 1 y 35, durante la rutina de ordeño. Luego de eliminar los primeros chorros, se tomaron 200 ml de leche de cada animal. Las muestras fueron colectadas en recipientes descartables, congeladas a -20°C y acondicionadas en cajas de poliuretano hasta su llegada al laboratorio.

*Técnicas de laboratorio.* Las muestras se procesaron por duplicado tanto para determinar el contenido de grasa total por el método butirométrico de Gerber, como para la obtención del perfil lipídico. Para extraer los lípidos totales se utilizó una mezcla de cloroformo y metanol de acuerdo con la técnica de Bligh & Dyer <sup>2</sup> manteniendo atmósfera de nitrógeno. La conversión de los ácidos grasos en metilésteres se llevó a cabo con NaOH y BF<sub>3</sub> metanólico al 14% a ebullición durante 7 minutos. Los metilésteres se extrajeron con hexano y se analizaron con un cromatógrafo gaseoso. Se utilizaron estándares de metilésteres de ácidos grasos de 99% de pureza (Lipid Standard 189-19 Sigma-Aldrich). La composición de ácidos grasos se obtuvo en un cromatógrafo gaseoso de la firma Agilent equipado con una columna capilar de 60 m de largo y 0,25 mm de diámetro interno (Supelco 2340) y un detector de ionización de llama. El método de cromatografía gaseosa utilizado (GC-FID) se adecuó a la norma ISO 15304 <sup>7</sup>.

**Análisis estadístico:** Se aplicó estadística descriptiva con el objeto de hacer una evaluación de parámetros de comportamiento de las muestras para cada uno de los tratamientos (promedio, desvío estándar, coeficiente de variación y rangos mínimos y máximos). Previamente se calcularon los intervalos de confianza y se efectuaron gráficos *box & whisker*. Una vez comprobados los supuestos básicos de homogeneidad, normalidad e independencia, se efectuó análisis de la variancia a un criterio con el objeto de inferir sobre los efectos época de muestreo y dieta, bajo un diseño completamente aleatorizado. Los cálculos se realizaron con el auxilio del software Statistica 1999.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de ácidos grasos de la leche de búfalas alimentadas exclusivamente a pasto natural es exhibida en la Tabla 1, donde se observa que el 56,91% fueron saturados y el 43,68% insaturados (37,24% monoinsaturados y 5,84% poliinsaturados). En los animales suplementados con maíz el 57,10% de los ácidos grasos fueron saturados y el 42,89% insaturados; de estos últimos un 36,92% fueron monoinsaturados y un 5,97% poliinsaturados (Tabla 2).

Los valores para ácidos grasos saturados encontrados en el presente trabajo son ligeramente inferiores a los obtenidos en Tucumán (Argentina) en raza Murrah<sup>13</sup> y Murrah mestizas<sup>14</sup>, en ambos casos sobre pasturas naturales. También fueron inferiores a los registrados en Brasil<sup>5</sup>, Italia<sup>11,15</sup> y Bulgaria<sup>9,12</sup>. En cambio, los valores aquí obtenidos fueron superiores a los encontrados en búfalas de Irán<sup>3</sup>. Las diferencias podrían atribuirse a distintos sistemas de alimentación y razas bubalinas empleadas.

**Ácidos grasos saturados (SFA).** Entre ellos predominó el palmítico (C16:0), seguido del esteárico (C18:0) (Tabla 1). En la mayoría de los SFA hubo diferencias significativas según época de muestreo (1 y 35 días) y dieta (pastura y pastura

**Tabla 1.** Contenido de ácidos grasos (mg/g de grasa) en leche de búfalas alimentadas con pasturas naturales, al inicio de la prueba.

ácido graso	n	media	DE	CV	mín	máx
C (4:0)	16	11,81	2,73	23,08	7,36	15,41
C (6:0)	16	3,37	0,56	16,60	2,49	4,40
C (8:0)	16	1,21	0,19	15,52	0,90	1,50
C (10:0)	16	2,13	0,35	16,27	1,63	2,79
C (12:0)	16	3,60	0,59	16,44	2,72	4,83
C (14:0)	16	23,80	4,70	19,74	15,69	36,28
C (15:0)	16	6,31	1,30	20,64	4,05	9,24
C (16:0)	16	94,22	22,38	23,75	54,89	152,75
C (17:0)	16	6,70	2,08	31,01	3,75	11,63
C (18:0)	16	66,43	18,72	28,18	39,69	112,02
C (14:1)	16	1,19	0,20	17,09	0,71	1,57
C (16:1)	16	4,04	0,98	24,30	1,98	5,55
C (17:1) c 10	16	1,67	0,58	34,47	0,80	3,04
C (18:1) t	16	32,95	9,73	29,52	19,11	56,71
C (18:1) c	16	103,85	25,18	24,25	61,57	165,67
(18:2) t	16	1,68	0,48	28,54	0,98	2,83
(18:2) c	16	4,62	1,17	25,22	2,78	7,48
(18:3)	2	1,01	0,06	5,67	0,97	1,05
(20:1) c 11 + (18:3)	16	3,99	0,96	24,09	2,95	6,35
(20:3) n 6 c 8,11,14	5	0,96	0,31	32,63	0,72	1,44
CLA (18:2) c 9, t 11	16	9,19	2,48	26,94	5,26	14,91
CLA (18:2) t 10, c 12	15	1,10	0,31	28,42	0,70	1,82

n: número muestral, DE: desvío estándar, CV: coeficiente de variación, mín y máx: rangos.

**Tabla 2.** Contenido de ácidos grasos (%) en grasa de leche bubalina según diversos autores.

ácidos grasos	Argentina			Brasil	Italia		Bulgaria		Irán
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
saturados	<sup>a</sup> 56,91 <sup>b</sup> 57,10	59	65,9	62,6	67,71	72,15	72,25	65,5	41,27- 49,50
insaturados	<sup>a</sup> 43,68 <sup>b</sup> 42,89	41	34,1	37,4	32,59	27,85	34,62	34,5	50,50 - 58,23

(1): presente trabajo: <sup>a</sup>pastura, <sup>b</sup>pastura + maíz; (2): Van Nieuwenhove *et al.* 2004; (3): Van Nieuwenhove *et al.* 2007; (4): Fernandes *et al.* 2007; (5): Polidori *et al.* 1997; (6): Varrichio *et al.* 2007; (7): Tzankova & Dimos 2003; (8): Mihaylova & Peeva 2007; (9): Chashnidel *et al.* 2007.

**Tabla 3.** Ácidos grasos saturados (mg/g de grasa) en leche de búfalas alimentadas con pasturas naturales y pasturas naturales + maíz.

SFA	muestra	n	media	DE	CV	mín	máx	dif
caproico	día 1	16	3,37	0,56	16,60	2,49	4,40	a
(C6:0)	día 35	14	4,87	1,09	22,32	3,23	7,44	b
caprílico	día 1	16	1,21	0,19	15,52	0,90	1,50	a
(C8:0)	día 35	14	2,04	0,61	29,85	1,26	3,49	b
caprico	día 1	16	2,13	0,35	16,27	1,63	2,79	a
(C10:0)	día 35	13	3,54	0,97	27,54	2,37	5,99	b
láurico	día 1	16	3,60	0,59	16,44	2,72	4,83	a
(C12:0)	día 35	12	5,47	1,15	21,10	4,32	8,54	b
pentadecanoico	día 1	16	6,31	1,30	20,64	4,05	9,24	a
(C15:0)	día 35	14	6,50	2,60	40,00	3,64	13,33	b
palmítico	día 1	16	94,22	22,38	23,75	54,89	152,75	a
(C16:0)	día 35	13	104,83	28,56	27,24	62,54	156,56	b

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; mín y máx: rangos. dif: diferencia (letras distintas indican diferencias significativas entre medias, p<0,05).

+ maíz), con excepción del butírico (C4:0) y esteárico (C18:0). Los ácidos caproico (C6:0), caprílico (C8:0), cáprico (C10:0), láurico (C12:0), pentadecanoico (C15:0) y palmítico (C16:0) exhibieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según época de muestreo (Tabla 3). En cambio el ácido mirístico (C14:0) mostró diferencias significativas según época de muestreo y dieta (Tabla 4).

**Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA).** En los MUFA predominaron el ácido oleico (C18:1 cis) y el elaídico (C18:1 trans o vaccénico) (Tabla 1). Únicamente hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para los ácidos miristoleico (C14:1) y palmitoleico (C16:1), según época de muestreo (1 y 35 días) (Tabla 5).

**Ácidos grasos polinsaturados (PUFA).** Predominaron el linoleico (C18:2 cis) y el ácido gadoleico (C20:1 cis 11 + linoléico (C18:3) (Tabla 1). No hubo diferencias significativas según dieta ni época de muestreo.

#### Ácido linoleico conjugado

(CLA). El CLA (C18:2) c 9, t 11 registró un valor de  $9,19 \pm 2,48$  mg/g de grasa, con un coeficiente de variación del 26,94% y un rango de 5,26 a 14,91 mg/g de grasa, que resultó mayor al del CLA (C18:2) c 12, t 10, el cual obtuvo un valor de  $1,10 \pm 0,70$  mg/g de grasa, con un coeficiente de variación del 28,42% y un rango de 0,70 a 1,82 mg/g de grasa (Tabla 1). No hubo diferencias significativas por dieta ni época de muestreo.

Como indica la Figura 1, existió una correlación positiva entre CLA y contenido de ácido vaccénico en la grasa de leche ( $r = 0,87$ ), similar a la determinada en otros trabajos realizados en nuestro país<sup>13</sup>. El ácido vaccénico resulta un intermediario común en la biohidrogenación del ácido linoleico y de los ácidos  $\alpha$  y  $\gamma$  linoleico<sup>6</sup>.

Las variaciones en los tipos de ácidos grasos saturados y en los insaturados C14:1 y C16:1 registrados en el presente trabajo probablemente se debieron a factores climáticos que provocaron un período de sequía durante los primeros días del ensayo (Tabla 6) y a la suplementación con maíz. El promedio anual de lluvias durante el año 2007 en la zona donde se realizó el trabajo fue de 1.054 mm, cuando el promedio habitual es de 1.690 mm, lo que demuestra el déficit pluviométrico producido durante el año del ensayo, principalmente en los cuatro meses previos y durante el mes de toma de muestras.

**Omegas 6 y 3.** Para los ácidos grasos omega 6 y omega 3 no hubo diferencias significativas por dieta ni época de muestreo. La relación omega 6 / omega 3 fue de 2,07 / 1.

En conclusión, se establecen valores de referencia para ácidos grasos en leche bubalina y se espera que estos datos asuman importancia al momento de com-

**Tabla 4.** Contenido de ácido mirístico (mg/g de grasa) en leche, según época de muestreo y alimentación.

variable	n	media	DE	CV	mín	máx	dif
día 1	16	23,80	4,70	19,74	15,69	36,28	a
día 35	13	34,73	9,30	26,79	25,08	54,78	b
pasturas	15	26,55	4,68	17,62	15,69	35,20	a
pasturas+maíz	14	31,00	11,69	37,69	18,50	54,78	b

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; min y max: rangos. dif: diferencia (letras distintas indican diferencias significativas entre medias,  $p < 0,05$ ).

**Tabla 5.** Contenido de ácidos grasos monoinsaturados (mg/g de grasa) en leche, según época de muestreo.

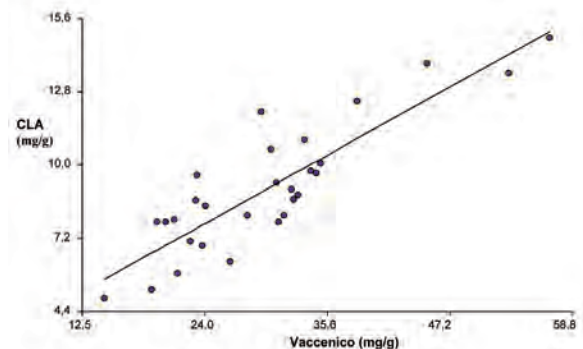
MUFA	variable	n	media	DE	CV	mín	máx	dif
miristoleico (C14:1)	día 1	16	1,19	0,20	17,09	0,71	1,57	a
	día 35	14	3,62	1,36	37,46	1,96	6,37	b
palmitoleico (C16:1)	día 1	16	4,04	0,98	24,30	1,98	5,55	a
	día 35	11	6,78	1,94	28,59	3,79	9,23	b

DE: desvío estándar; CV: coeficiente de variación; min y max: rangos. dif: diferencia (letras distintas indican diferencias significativas entre medias,  $p < 0,05$ ).

**Tabla 6.** Datos pluviométricos del Departamento Itatí, Provincia de Corrientes, para el año 2007 (mm).

ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic
286	95	187	167	52	20	16	0	60	10	65	96

Fuente: Servicio de Información Agroeconómica, Ministerio de Producción, Trabajo y Turismo, Provincia de Corrientes.



**Figura 1.** Relación entre CLA y ácido vaccénico obtenida en grasa de leche bubalina (coeficiente de regresión: 0,23 -  $p < 0,01$ ,  $r^2$  ajustado: 0,76 y  $r$ : 0,87).

pararlos con los obtenidos mediante suplementación con aceites vegetales y de pescado, con el propósito de incrementar el contenido de CLA y omega 3 en la leche de búfalas.

**Agradecimientos.** A la Srta. María José Olazarri por traducir el resumen al inglés.

## REFERENCIAS

1. Bergamo P, Fedele E, Iannibelli L, Marzillo G. 2003. Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem* 82: 625-631.
2. Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.

3. **Chashnidel Y, Hafezian H, Shoreh B, Reza-Yazdi K.** 2007. Seasonal variation composition and fatty acids profile (with emphasis on CLA) in Iranian buffalo's milk. *Ital J Anim Sci* 6 (Suppl. 2): 1053-1055.
4. **Fedele E, Iannibelli L, Marzillo G, Ferrara L, Bergamo P.** 2001. Conjugated linoleic acid content in milk and mozzarella cheese from buffalo feed with organic and traditional diet. *Proceedings of VI World Buffalo Congress*, Maracaibo (Venezuela) p. 404-409.
5. **Fernandes AS, Mattos WR, Matarazzo SV, Tonhati H, Gama MA, Lanna DP.** 2007. Total fatty acids in Murrah buffaloes milk on commercial farms in Brazil. *Ital J Anim Sci* 6 (Suppl. 2): 1063-1066.
6. **Gagliostro GA.** 2004. *Manejo nutricional para la producción de leches de vaca y de cabra con alto impacto sobre la salud humana*. Ed. INTA-Balcarce y Facultad de Ciencias Agrarias UNMDP (Mar del Plata, Argentina), 84 p.
7. **ISO 15304.** 2002. Animal and vegetable fats and oils. Determination of the content of trans-fatty acid isomers of vegetable fats and oils. Gas chromatographic method. On line: [www.iso.org/iso/iso\\_catalogue/catalogue\\_tc/catalogue\\_detail.htm](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm).
8. **Lopez Oliveira R, Freitas Barbosa MA, Matsushita M, Dos Santos GT, Duarte CS, Barros De Oliveira F, Neves CA, Batista De Oliveira P, Snel De Oliveira MV, Elias AH, Lopes De Oliveira R, Pereira CS.** 2004. Acido linoléico conjugado en mozzarella e no leite de búfalas alimentadas com diferentes fontes de lípidos. *Anales 41º Reunión Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia* (Jaboticabal, Brasil), NR 498, p. 1-4.
9. **Mihaylova G, Peeva T.** 2007. Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo milk. *Ital J Anim Sci* 6 (Suppl. 2): 1056-1059.
10. **Patiño EM, Mendez FI, Faisal EL, Cedres JF, Gomez LG, Guanziroli Stefani MC.** 2003. Buffalo milk composition of Murrah and half-breed Murrah x Mediterranean in Corrientes, Argentina. *Buffalo Newsletter* 18: 8-10.
11. **Polidori F, Sgoifo Rossi CA, Senatorie EM, Sovoini G, Dell'Orto V.** 1997. Effect of recombinant bovine somatotropin and calcium salts of long-chain fatty acids on milk from Italian buffalo. *J Dairy Sci* 80: 2137-2142.
12. **Tzankova M, Domov K.** 2003. Fatty acid composition from Bulgarian Murrah buffalo cows. *Bulg J Agric Sci* 9: 397-400.
13. **Van Nieuwenhove C, Gonzalez S, Perez-Chaia A, Ruiz-Holgado AP.** 2004. Conjugated linoleic acid in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk from Argentina. *Milchwissenschaft* 59: 9-10.
14. **Van Nieuwenhove C, Gauffin Cano P, Perez-Chaia A, Gonzalez S.** 2007. Chemical composition and fatty acid content of buffalo cheese from northwest Argentina: effect on lipid composition of mice tissues. *J Food Lip* 14: 223-243.
15. **Varrichio ML, Diffrancia A, Masucci F, Romano R, Proto V.** 2007. Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. *Ital J Anim Sci* 6 (Suppl. 1): 509-511.