

Antioxidantes y ácidos grasos en la leche de vaca según el tipo de alimentación

SENÉN DE LA TORRE. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. senen.torresantos@serida.org

LOUBNA ABOU EL QASSIM. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes.

LUIS J. ROYO MARTÍN. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. ljoyo@serida.org

FERNANDO VICENTE MAINAR. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. fvicente@serida.org

La leche, por sus características nutricionales, tiene una gran importancia para el ser humano por su rol alimentario, proporcionando un elevado contenido de nutrientes en relación a su contenido calórico. Hoy en día, no sólo el valor nutricional, sino también otros componentes de la leche (antioxidantes y ácidos grasos) han atraído el interés por su importante relevancia en la salud humana y en el valor añadido de la leche y sus derivados. La composición de la leche determina su calidad nutricional e industrial, lo que, afecta directamente la rentabilidad y competitividad de la producción de leche (Chilliard

et al., 2007; García y Panadero, 2012). Su composición es el reflejo de múltiples factores que pueden ser o no modificados a través de diferentes prácticas.

Los factores relacionados con la nutrición y el manejo de los rebaños lecheros pueden producir cambios que pueden ser observados a corto plazo. La composición de la leche es muy dependiente de la alimentación. Como el pago por calidad de la leche depende en gran medida de su proporción de proteína y grasa, tanto ganaderos como nutricionistas ponen especial atención en el racionamiento para



Fotografía 1.- La Cornisa Cantábrica cuenta con unas condiciones edafoclimáticas que la dotan de una gran capacidad para la producción de pastos y forrajes utilizables para la alimentación del ganado lechero.



optimizar dichos componentes. Sin embargo, otros componentes de interés se ven afectados por el sistema de producción y de alimentación.

En este trabajo se presentan los resultados de trabajos llevados a cabo en el SERIDA con objeto de evaluar la influencia del tipo de alimentación sobre la composición de antioxidantes y ácidos grasos en la leche.

Antioxidantes

En un sistema biológico, un antioxidante puede ser definido como "cualquier sustancia que, aunque presente en bajas concentraciones, retrasaría significativamente o impediría la oxidación" (Halliwell *et al.*, 1995). Los antioxidantes son capaces de inhibir o retardar la oxidación de dos maneras: captando radicales libres (compuestos fenólicos como la vitamina E o alfa-tocoferol) o por mecanismos de unión a metales pesados, captación o desactivación de oxígeno, conversión de hidroperóxidos, absorción de la radiación UV, etc. (Pokorny *et al.*, 2001).

Los antioxidantes juegan un papel importante en la protección de las células animales de los daños ocasionados por la presencia de radicales libres (McDonald, 2002). Su uso se considera un tratamiento preventivo contra el envejecimiento celular. Por lo tanto, la suplementación con antioxidantes proporcionaría un valor añadido al producto animal obtenido, ya sea leche o carne (Castillo *et al.*, 2013). La calidad de la leche también puede basarse en el contenido de antioxidantes que la protegen mediante la reducción de la oxidación (Castillo *et al.*, 2013). Compuestos tales como carotenoides y compuestos fenólicos, son trazadores potenciales en la carne y la leche de las dietas de los animales (Prache, 2009). La concentración de carotenoides es elevada en los forrajes verdes, sin embargo su contenido disminuye con la conservación del forraje (Nozière *et al.*, 2006). El pastoreo o una dieta rica en extractos de plantas, al presentar altos contenidos en antioxidantes y un mayor contenido de precursores de los mismos, como la vitamina A (Daley *et al.*, 2010) y la vitamina E (Luciano *et al.*,

2011), se refleja en la producción de leche y carne, incluyendo a estos alimentos de origen animal en la categoría de alimentos funcionales en la dieta humana.

Ácidos Grasos

Los ácidos grasos son los principales componentes de la grasa de la leche. La grasa es esencial en una dieta equilibrada, constituyendo la principal fuente de energía, lo que permite su almacenamiento para cubrir los requerimientos energéticos necesarios del humano (Collette y Monnier, 2011). Los ácidos grasos presentes en la leche son producidos en la glándula mamaria por elongación de los ácidos acético y butírico sintetizados por la flora ruminal cuando tienen entre 4 y 14 átomos de carbono, así como la mitad de los ácidos con 16 átomos de carbono. La otra mitad de estos ácidos grasos y todos los que tienen 18 o más átomos de carbono son derivados de los ácidos grasos de la dieta o de las reservas corporales del animal (Bauman y Grinari, 2001).

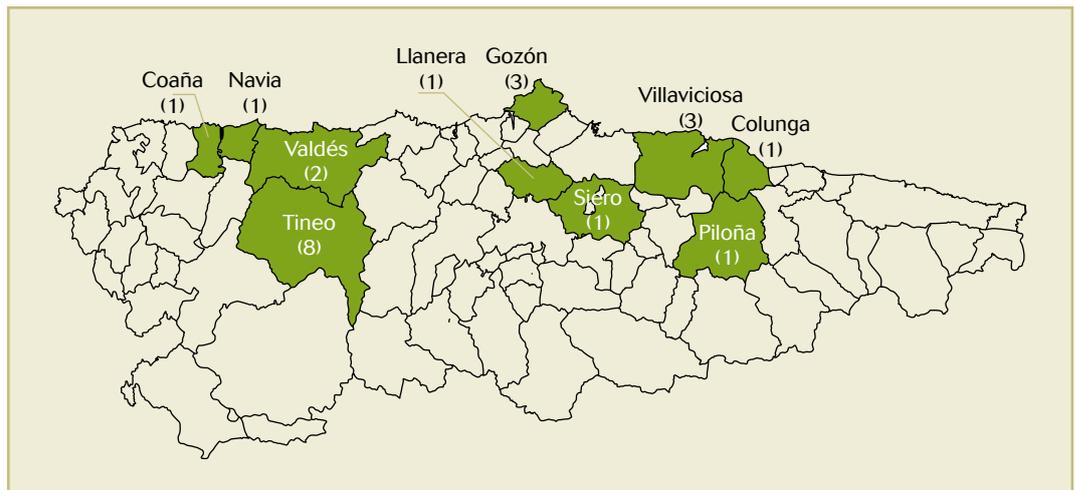
En general, el contenido en ácidos grasos de la leche cambia en cantidad y calidad según 3 factores: el animal, la dieta y el ambiente (Kay *et al.*, 2005; Bargo *et al.*, 2006; Morales-Almaráz *et al.*, 2011 y Hernández-Ortega *et al.*, 2014), por lo que, el contenido en grasa y el perfil de ácidos grasos pueden ser un indicador de la dieta de los animales (Vicente *et al.*, 2017) y del sistema de manejo (Morales-Almaráz *et al.*, 2011).

Descripción del Ensayo

Se han llevado a cabo dos muestreos en 22 granjas lecheras de Asturias que colaboran habitualmente en los estudios de campo del SERIDA durante el otoño de 2016 y la primavera de 2017. Estas ganaderías están clasificadas en función de su sistema de producción, alimentación y manejo: intensivo, semi-intensivo, extensivo y con certificado de producción ecológica. En la figura 1 se muestra la distribución geográfica de las ganaderías colaboradoras.



Figura 1.- Mapa de Asturias y concejos de las ganaderías colaboradoras. Entre paréntesis, número de granjas muestreadas en el concejo.



En cada visita, se realizaba una entrevista personal con el titular de la ganadería para recoger información referente al número de vacas en lactación, raza y producción media del ganado en los 3 días anteriores. Asimismo, se tomaban datos relacionados con la alimentación de las vacas en lactación durante los tres días anteriores a la visita, ingredientes, cantidades ofertadas de cada ingrediente, consumo de hierba fresca, modo de oferta de la hierba y horas en pastoreo en caso de realizarlo. El consumo de hierba en la ganaderías que practican pastoreo, se estimó sustrayendo la cantidad aportada en el pesebre del consumo teórico total de las vacas, calculado mediante la ecuación del NRC (2001), considerando las vacas con 620 kg de peso vivo y en mitad de lactación.

En cada granja se tomaron muestras de los alimentos ofertados. Éstos fueron analizados en el Laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA (ENAC LE/930) mediante espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIR) a través de ecuaciones de predicción desarrolladas en el SERIDA. En el forraje verde, los forrajes secos, ensilados y los concentrados se determinó el contenido en materia seca, cenizas, proteína bruta, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente (libres de cenizas). En los ensilados de maíz y los concentrados además se determinó el contenido en almidón. En todos los alimentos se estimó la digestibilidad enzimática de la materia orgánica, la energía metabolizable, las unidades forrajeras leche y la energía neta de lactación.

Se tomaron muestras del tanque de leche en cada granja tras agitación del mismo para su homogeneización. Se requirió que el contenido del tanque fuera de al menos dos ordeños para evitar la diferente composición de la leche entre los ordeños de la tarde y de la mañana. Por lo tanto, son muestras representativas de todas las vacas que comen el mismo alimento (cualquiera que sea el nivel genético de la vaca, la edad y el estado de lactación). Las muestras de leche se conservaron en frío hasta su procesado. Los análisis físico-químicos de la leche fueron realizados en el Laboratorio Interprofesional Lechero y Agroalimentario de Asturias (LILA). El perfil de ácidos grasos y de antioxidantes de la leche fueron analizados en el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de Leche (LIGAL).

Resultados

Las granjas colaboradoras tenían, en el momento de los muestreos, entre 7 y 250 vacas en lactación. El valor de la mediana es 35 vacas, con un 25% de granjas con menos de 21 vacas y el 75% con menos de 77 vacas en lactación. La raza dominante es la Frisona-Holstein de modo que representa el 99% en el total de animales, siendo el 1% restante Asturiana de los Valles, Jersey o cruces con Azul Belga. La producción media diaria declarada por los ganaderos es de $27,2 \pm 6,81$ L, con una producción mínima de 16,6 L y máxima de 37,4 L. La media de la producción de leche por lactación es de 7.975 L, con un rango de entre 5.063 y 11.407 L.

Gracias a las condiciones edafo-climáticas de Asturias, un 55% de las granjas muestreadas incluyen forraje verde como parte de la ración, bien en pastoreo (46% de las ganaderías), segándolo diariamente y aportándolo en el pesebre (36%) o con ambos manejos simultáneamente (18%). Además se utilizan forrajes conservados, principalmente ensilados de hierba, raigrás o maíz y en menor medida secos (heno de hierba, veza-avena, paja o alfalfa). Todas las granjas incluyen piensos compuestos o concentrados en la ración.

Para agrupar las ganaderías según el tipo de dieta, se calcularon los porcentajes de inclusión en la ración de cada ingrediente según fuera concentrado, forraje conservado o forraje fresco. De este modo se establecieron 3 grupos diferenciados por el tipo de alimentación, clasificado de la siguiente manera: 1) ganaderías que aportan más del 40% de la dieta en concentrados, 2) ganaderías que aportan más del 40% de forrajes conservados, y 3) ganaderías que ofertan en pesebre o en pastoreo más del 40% de forraje verde del total de la ración.

En la tabla 1 se muestran los resultados de producción diaria de leche y la composición de la leche según el tipo de alimentación. No se observaron diferencias significativas en la producción de leche según el tipo de alimentación. Tampoco se encontraron diferencias en los componentes mayoritarios de la leche, con la excepción del nivel de la materia grasa, donde podemos encontrar una menor concentración de grasa en la leche producida por animales alimentados con una alta proporción de forrajes verdes. Este resultado ya se ha

constatado en otros estudios de campo y es atribuible al bajo aporte de fibra efectiva de la hierba fresca.

El contenido en antioxidantes liposolubles según el tipo de alimentación se muestra en la tabla 2. No se observaron diferencias significativas en el contenido de vitamina A (retinol) ni de la principal forma de vitamina E (alfa-tocoferol) en la leche debidas al tipo de alimentación. La leche producida con una ración que incluye más del 40% de concentrados presentó una concentración significativamente superior en gamma-tocoferol que la leche producida por vacas cuyo principal alimento es la hierba verde. Este hecho podría venir derivado de la suplementación con tocoferol de los piensos compuestos.

Los carotenoides son los pigmentos orgánicos naturales de las plantas. Los animales son incapaces de sintetizarlos y deben obtenerlos a través de su dieta. Estos compuestos son importantes por su función biológica ya que, en su mayoría, actúan como pro-vitamina A. Una pro-vitamina es un compuesto que puede y tiene que ser transformado a la forma activa de la vitamina mediante procesos metabólicos normales. El metabolismo transforma sólo la cantidad necesaria de la provitamina en vitamina, previniendo así los efectos negativos de una posible hipervitaminosis si se ingirieran elevadas dosis de la vitamina. En general, la leche procedente de vacas alimentadas con más de un 40% de concentrado presenta niveles de carotenoides inferiores a la de vacas que consumen principalmente forrajes, bien conservados o frescos, especialmente luteína y β -carotenos.

	AC	AFC	AFV	RSD	P
Producción	26,48	29,14	26,24	5,995	NS
Grasa	3,81 ^b	3,89 ^b	3,31 ^a	0,450	*
Proteína	3,23	3,25	3,15	0,169	NS
Lactosa	4,71	4,72	4,70	0,161	NS
Extracto seco magro	8,69	8,71	8,59	0,290	NS
Urea (mg/L)	264	276	276	57,2	NS
Críoscopía (-m°C)	521	529	529	10,8	NS
Células (x1000/mL)	170	241	246	144,5	NS

AC: > 40% Concentrado, AFC:>40% Forraje Conservado, AFV: >40% Forraje Verde
Letras diferentes en la misma fila indica diferencias significativas al nivel indicado.



Tabla 1.- Producción (L/d) y composición (%) de la leche según el tipo de alimentación.



Tabla 2.- Contenido de antioxidantes (ng/mL) en la leche de vaca según el tipo de alimentación.

	AC	AFC	AFV	RSD	VALOR P
Vitaminas					
Retinol	911	966	840	278,6	NS
α-tocoferol	1172	1478	1574	711,3	NS
γ-tocoferol	43,1 ^a	34,4 ^{ab}	28,6 ^b	13,34	*
Carotenoides					
Luteína	10,14 ^b	18,07 ^a	19,86 ^a	8,366	**
Zeaxantina	0,71 ^b	0,92 ^{ab}	1,11 ^a	0,461	*
β-criptoxantina	1,38 ^b	2,13 ^a	1,82 ^{ab}	0,589	**
trans-β-caroteno	136,53 ^b	225,66 ^a	214,03 ^a	83,420	**
9cis-β-caroteno	0,76 ^b	1,64 ^a	1,22 ^{ab}	0,969	*
13cis-β-caroteno	4,06 ^b	8,25 ^a	8,28 ^a	4,140	**

AC: > 40% Concentrado, AFC:>40% Forraje Conservado, AFV: >40% Forraje Verde
Letras diferentes en la misma fila indica diferencias significativas al nivel indicado.

Fotografía 2.-

La intensificación en la producción lechera ha generalizado el uso de raciones completas mezcladas.



En la tabla 3 se muestra el perfil de ácidos grasos de la grasa de la leche según el tipo de alimentación. La grasa de la leche de vacas alimentadas con forraje verde presenta un menor grado de saturación, 63,8 g/100 AG, frente a la leche de vacas que consumen concentrados o forrajes conservados (69,8 g/100 AG). Ello

es debido especialmente a los bajos niveles de ácido mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) en este tipo de leche. Así mismo, presenta una mayor proporción de ácidos monoinsaturados (30,6 g/100 g AG), principalmente ácido oleico (c9-C18:1), y poliinsaturados (4,6 g/100 g AG), especialmente debido a la mayor concentración de CLA (c9-t11-CLA) y ácido linolénico (C18:3(n3)) en la leche producida en base a forraje verde. Hay que destacar también la elevada proporción de ácido vaccénico (t11-C18:1) en la leche procedente de vacas alimentadas con forraje verde. La alta proporción en el forraje fresco de ácidos grasos insaturados, especialmente ácido linolénico, incrementa la proporción de este ácido graso en las vacas que se alimentan en base a forraje verde, a pesar de que los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta son desaturados por la flora ruminal. Más del 99% del ácido linolénico ingerido por las vacas es desaturado total o parcialmente en el rumen a ácido vaccénico y esteárico (C18:0). Cuando estos dos ácidos grasos son absorbidos y llegan a la glándula mamaria, son transformados respectivamente a c9-t11-CLA y ácido oleico (c9-C18:1(n9)). Esto demuestra que la ingestión de forraje fresco mejora la concentración de ácidos grasos saludables en la leche, mientras que cuando las vacas se alimentan con concentrados o forrajes conservados se reduce su contenido.





	AC	AFC	AFV	RSD	VALOR P
C4	5,68	5,61	6,04	0,623	NS
C6:0	2,57 ^a	2,44 ^{ab}	2,36 ^b	0,203	*
C8:0	1,34 ^a	1,25 ^{ab}	1,16 ^b	0,125	**
C10:0	3,06 ^a	2,76 ^b	2,42 ^c	0,377	***
c9-C10:1	0,07 ^a	0,07 ^a	0,06 ^b	0,014	**
C11:0	0,04 ^a	0,03 ^{ab}	0,02 ^b	0,020	**
C12:0	3,58 ^a	3,20 ^a	2,80 ^b	0,467	***
C13:0	0,08 ^a	0,07 ^{ab}	0,05 ^b	0,023	**
C14:0 iso	0,12	0,12	0,10	0,038	NS
C14:0	12,27 ^a	11,78 ^a	10,72 ^b	0,962	***
C15:0 iso	0,22	0,23	0,25	0,066	NS
c9-C14:1	1,16 ^a	1,14 ^a	0,98 ^b	0,171	*
C15:0 anteiso	0,56	0,59	0,65	0,096	NS
C15:0	1,24	1,22	1,24	0,148	NS
c10-C15:1	0,004	0,002	0,003	0,002	NS
C16:0	31,03 ^a	31,04 ^a	24,91 ^b	2,752	***
c9-16:1(n7)	2,01	2,04	1,93	0,197	NS
C17:0	0,62	0,64	0,76	0,093	NS
C18:0	8,58 ^b	8,94 ^b	10,96 ^a	1,285	***
t6+t9-C18:1	0,51 ^b	0,47 ^b	0,68 ^a	0,151	**
t10-C18:1	0,41	0,29	0,48	0,222	NS
t11-C:18:1	1,01 ^b	1,40 ^b	2,46 ^a	0,752	***
t12-18:1	0,33	0,28	0,39	0,105	NS
c9-C18:1(n9)	18,65 ^b	19,65 ^b	22,94 ^a	1,898	***
c11-C18:1(n7)	0,53	0,49	0,56	0,104	NS
c12-18:1	0,17 ^a	0,12 ^b	0,10 ^b	0,055	**
t-C18:2(n6)	0,07	0,07	0,11	0,092	NS
c-C18:2(n6)	2,27	1,98	2,00	0,449	NS
c9-t11-CLA	0,47 ^b	0,65 ^b	1,06 ^a	0,312	***
c10-t12-CLA	0,12	0,12	0,13	0,032	NS
C18:3(n6)	0,03	0,03	0,02	0,008	NS
C18:3(n3)	0,48 ^b	0,54 ^b	0,80 ^a	0,150	***
C20:0	0,14	0,14	0,16	0,034	NS
c11-C20:1(n9)	0,02	0,02	0,03	0,017	NS
C20:2(n6)	0,02	0,02	0,01	0,006	NS
C20:3(n6)	0,10	0,09	0,11	0,061	NS
C20:3(n3)	0,18 ^a	0,15 ^b	0,12 ^c	0,029	***
C20:4(n6)	0,00 ^b	0,01 ^b	0,01 ^a	0,004	*
C20:5(n3)	0,01	0,01	0,01	0,004	NS
C21:0	0,03 ^b	0,03 ^b	0,04 ^a	0,007	*
C22:0	0,03	0,04	0,04	0,014	NS
C22:2(n6)	0,05 ^b	0,06 ^{ab}	0,07 ^a	0,023	*
C22:5(n3)	0,06 ^b	0,07 ^b	0,09 ^a	0,232	*
C22:6(n3)	0,01 ^a	0,00 ^a	0,01 ^a	0,008	NS
C23:0	0,02	0,03	0,03	0,011	NS
C24:0	0,05	0,05	0,05	0,019	NS
C24:1(n9)	0,00	0,00	0,01	0,004	NS

AC: > 40% Concentrado, AFC:>40% Forraje Conservado, AFV: >40% Forraje Verde
 Letras diferentes en la misma fila indica diferencias significativas al nivel indicado.



Tabla 3.- Perfil de Ácidos Grasos (g/100 g ácidos grasos) en la leche de vaca según el tipo de alimentación.

Conclusiones

A partir de los resultados descritos en este estudio se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. No existen diferencias marcadas en la producción de leche total, ni en sus componentes mayoritarios, excepto en el contenido en grasa, provocadas por el tipo de alimentación.
2. Se observa una marcada diferencia en cuanto a la composición de antioxidantes en las dietas que incluyen un alto consumo de forrajes, tanto verdes como conservados.
3. Existen diferencias significativas muy marcadas en el perfil de ácidos grasos de los diferentes tipos de alimentación, lo cual, muestra así el papel importante que juega ésta en las proporciones presentes de cada ácido graso en la materia grasa de la leche. La leche producida a partir de la alimentación con forrajes verdes tiene una mejor calidad desde el punto de vista del grado de insaturación de los ácidos grasos.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer la ayuda y disponibilidad de los ganaderos colaboradores en este trabajo. Los autores expresan asimismo su agradecimiento al personal del Laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA, del LILA y del LIGAL por su labor analítica. Trabajo financiado por el INIA mediante el proyecto RTA2014-00086-C02, cofinanciado con fondos FEDER. S. De La Torre Santos está financiado por una beca de doctorado SENACYT-IFARHU. L. Abou El qassim, está financiada por una beca del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza.

Referencias bibliográficas

- BAUMAN, D. E. & GRINARI, J. M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70: 15-29.
- BARGO, F., DELAHOY, J. E., SCHROEDER, G. F., BAUMGARD, L. H. & MULLER, L. D. (2006). Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology* 131: 226-240.
- CAPUANO, E., BOERRIGTER-EENLING, R., ELGERSMA, A. & VAN RUTH, S. M. (2014). Effect of fresh grass feeding, pasture grazing and organic/biodynamic farming on bovine milk triglyceride profile and implications for authentication. *European Food Research and Technology*, 238: 573-580.
- CASTILLO, C., PEREIRA, V., ABUELO, Á. & HERNÁNDEZ, J. (2013). Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *The Scientific World Journal*, 2013, ID616098.
- CHILLIARD, Y., GLASSER, F., ENJALBERT, F., FERLAY, A., BOCQUIER, F. & SCHMIDELY, P. (2007). Resultados recientes sobre los efectos de la alimentación en la composición en ácidos grasos de la leche de vaca, cabra y oveja. *Revista Argentina de Producción Animal*, 27: 197-213.
- COLETTE, C. & MONNIER, L. (2011). Acides gras: Classification, fonction et équilibre entre les différentes familles. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 5: 237-245.
- DALEY, C. A., ABBOTT, A., DOYLE, P. S., NADER, G. A. & LARSON, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition journal*, 9: 10.
- GARCÍA, I. C. & PANADERO, A. N. (2012). Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. *Revista Ciencia Animal*, 5: 73-85.
- HALLIWELL, B., MURCIA, M. A., CHIRICO, S. & ARUOMA, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35: 7-20.
- HERNÁNDEZ-ORTEGA, M., MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A., SOLDADO, A., GONZÁLEZ, A., ARRIAGA-JORDÁN, C.M., ARGAMENTERÍA, A., DE LA ROZA-DELGADO, B. & VICENTE, F. (2014). Effect of total mixed ration composition and daily grazing pattern on milk production, composition and fatty acids profile of dairy cows. *Journal of Dairy Research*. 81: 471-478.

- KAY, J. K., WEBER, W. J., MOORE, C. E., BAUMAN, D. E., HANSEN, L. B., CHESTER-JONES, H., CROOKER B. A. & BAUMGARD, L. H. (2005). Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 88: 3886-3893.
- LUCIANO, G., MOLONEY, A. P., PRIOLO, A., RÖHRLE, F. T., VASTA, V., BIONDI, L., LÓPEZ-ANDRÉS, P., GRASSO, S. & MONAHAN, F. J. (2011). Vitamin E and polyunsaturated fatty acids in bovine muscle and the oxidative stability of beef from cattle receiving grass or concentrate-based rations. *Journal of Animal Science*, 89: 3759-3768.
- MCDONALD, P. (2002). *Animal nutrition*. 7th edition. Londres, Reino Unido, Pearson education. pp 692.
- MORALES-ALMARÁZ, E., DE LA ROZA-DELGADO, B., GONZÁLEZ, A., SOLDADO, A., RODRÍGUEZ, M. L., PELÁEZ, M. & VICENTE, F. (2011). Effect of grazing or indoor systems to increase unsaturated fatty acid level in milk of dairy cows *Renewable Agriculture and Food Systems*, 26: 224-229.
- NOZIÈRE P., CALDERÒN F., MARTIN B., PRACHE S., PRADEL P., PAPON Y., JESTIN M. & ANDUEZA D. (2006). Comparison of two spectral methods for tracing diets of dairy cows via milk. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*, 13, 192.
- NRC (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th revised edition. National Research Council, National Academy Press, Washington, DC. pp. 381.
- POKORNY, J., YANISHLIEVA, N. & GORDON, M. (2001). *Antioxidantes de los Alimentos: Aplicaciones Prácticas*. Zaragoza, España, Editorial Acribia, S.A. Pág 7-21.
- PRACHE, S. (2009). Diet authentication in sheep from the composition of animal tissues and products. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38: 362-370.
- VICENTE, F., SANTIAGO, S., JIMÉNEZ-CALDERÓN, J.D. & MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A. (2017). Capacity of milk composition to identify the feeding system on dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 84: 254-263.

Fotografía 3.-
Cargando hierba recién segada para servir en el pesebre a los animales.

