

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **CONTROL NUTRICIONAL DEL CONTENIDO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LECHE Y SU PRESENCIA EN ALIMENTOS NATURALES FUNCIONALES.**

#### **2. Producción de leche alto CLA de vaca**

*Nutritional control of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk and in natural functional foods. 2. Production of CLA-enriched milk in the dairy cow.*

**GAGLIOSTRO<sup>1</sup>, G.A.**

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Balcarce

#### **RESUMEN**

La leche bovina contiene ácidos grasos con efectos favorables sobre la salud humana y la suplementación de la vaca permite modificar el perfil de dichos ácidos grasos y potenciar la expresión de las propiedades saludables. Los ácidos linoleicos conjugados (**CLA**) presentes en los productos lácteos poseen actividad anticancerígena y antiaterogénica demostrada en animales experimentales de laboratorio. Los precursores de los CLA son los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3). La concentración inicial de los CLA en la leche es el factor determinante de un alto consumo de CLA por parte del ser humano y de su concentración final en el producto elaborado (manteca, yogurt, queso). El cambio entre la concentración inicial de CLA en leche y final en el producto sería muy pequeña. La concentración inicial de CLA es altamente dependiente de la alimentación de la vaca y se examinan las condiciones más favorables para la obtención de lácteos alto CLA. La alimentación pastoril resulta predisponente a obtener altos valores basales de CLA los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación estratégica de la vaca. El aporte de suplementos ricos en C<sub>18:2</sub> es la vía más efectiva para incrementar los valores de CLA en leche. Inhibidores naturales de la biohidrogenación del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (precursor de los CLA) como los ácidos  $\omega$ -3-EPA y sobre todo  $\omega$ -3-DHA pueden potenciar el efecto citado. El tratamiento de las semillas oleaginosas con calor y presión (extrusado) sería una vía idónea para alcanzar los objetivos alto CLA. Si la elección final es el suministro de granos oleaginosos completos, los mismos deberán ser molidos a fines de facilitar un contacto rápido y eficaz entre el aceite y las bacterias ruminales. Existiría una importante variabilidad entre vacas para producir leches alto CLA lo que sugiere la importancia de avanzar en la obtención de marcadores moleculares indicativos de una alta capacidad individual de generación de CLA. Este procedimiento sumado a manipulaciones precisas en la alimentación de las vacas más aptas del rodeo permitirán ser más eficientes a

Recibido: 06 de mayo de 2004

Aceptado: 14 de febrero de 2005

1. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Balcarce. Área de Producción Animal. C.C. 276 (7620) Balcarce. Argentina. E-mail: ggagliostro@balcarce.inta.gov.ar

la hora de generar productos lácteos diferenciados por sus propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores.

**Palabras clave:** salud humana, ácidos grasos de la leche, ácido linoleico conjugado, alimentos funcionales.

## SUMMARY

*Bovine milk fat contains fatty acids that may play a positive role on human health. Strategic supplementation of the dairy cow may be used as a tool to change the milk fatty acid profile and then enhance the expression of its healthy properties. Conjugated linoleic acids (CLA) are normally present in dairy products and have showed anti-cancer and anti-atherogenic effects in experimental animal models. In ruminants, the CLA precursors are the polyunsaturated fatty acids contained in the diet such as linoleic (C<sub>18:2</sub>) and  $\alpha$ -linolenic acids (C18:3). Milk CLA concentration is associated to CLA intake in humans and also to the CLA concentration in manufactured dairy products (butter, yoghurt, cheese). The change in CLA concentration between raw milk and dairy products seems to be very low. Milk CLA concentration is dependent on several feeding strategies of the cow that are reviewed in this article. Feeding fresh pastures to cows leads to high levels of CLA in milk. Strategic supplementation of the cow may increase the basal CLA concentration. Feeding supplements rich in C<sub>18:2</sub> is an effective way to increase the milk CLA concentration even in grazing dairy cows. Natural inhibitors of the rumen biohydrogenation of trans-11 C<sub>18:1</sub> acid (a CLA precursor in mammary tissue) like the o-3-EPA and o-3-DHA fatty acids may enhance the response to C<sub>18:2</sub>. The extrusion and feeding of oilseeds may be another way to increase milk CLA content. Oilseeds should be cracked or grounded before feeding to allow free access of the microorganisms to the oil. As there appear to be a great variability between cows concerning milk CLA concentration, genetic markers should be obtained to select the highest CLA producers. The selection of the most suitable cows in the herd combined with the best supplementation strategies should allow us to obtain enriched CLA dairy foods for the human consumers.*

**Key words:** human health, milk fatty acids, conjugated linoleic acid, functional foods.

## 1. Introducción

La leche bovina contiene algunos ácidos grasos (**AG**) especiales que están positivamente asociados a la salud humana y la modificación natural (a campo) del perfil de dichos AG puede aún potenciar la expresión de dichas propiedades saludables. Los ácidos linoleicos conjugados (**CLA**) resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos (Chilliard, Ferlay, Mansbridge y Doreau, 2000; Parodi, 1999) y presentan importantes propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores (ver Parte 1). Los CLA representan una mezcla de isómeros del ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) con dobles ligaduras en las posiciones 7 y 9, 9 y 11, 10 y 12 ó 11 y 13 además de variaciones geométricas de

tipo *cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis* o *trans-trans*. La forma biológicamente activa de los CLA estaría representada por el isómero *cis-9, trans-11* CLA (también llamado **ácido ruménico**) que representa entre el 75 al 85% del total de CLA en leche (Bauman, Cori, Baumgard y Griinari, 2001; Stanton, Murphy, McGrath y Devery, 2003). En orden de importancia le sigue el isómero isómero *cis-9, trans-7* CLA que representa un 10% del anterior (*cis-9, trans-11* CLA). Luego le sigue el isómero *cis-12, trans-10* CLA cuya presencia en leches naturales es muy baja (Bauman y otros, 2001). Los antecedentes bibliográficos presentados en la Parte 1 demuestran el interés de trabajar en la obtención de alimentos funcionales con propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores. Ello permitiría incrementar el valor agregado de

nuevos productos para la cadena lechera (y también cárnica) pudiendo contribuir además a lograr ahorros significativos por parte del Estado en el rubro inversión en gastos de salud pública como lo invoca el Programa Europeo denominado BIOCLA (2003-2006). Puesto que la concentración inicial de los CLA en la leche es el factor determinante no sólo de un alto consumo de CLA por parte del ser humano sino también de su concentración final en el producto elaborado (manteca, yogurt, queso) se analizarán a continuación las estrategias nutricionales más adecuadas a fines de lograr leche bovina alto CLA.

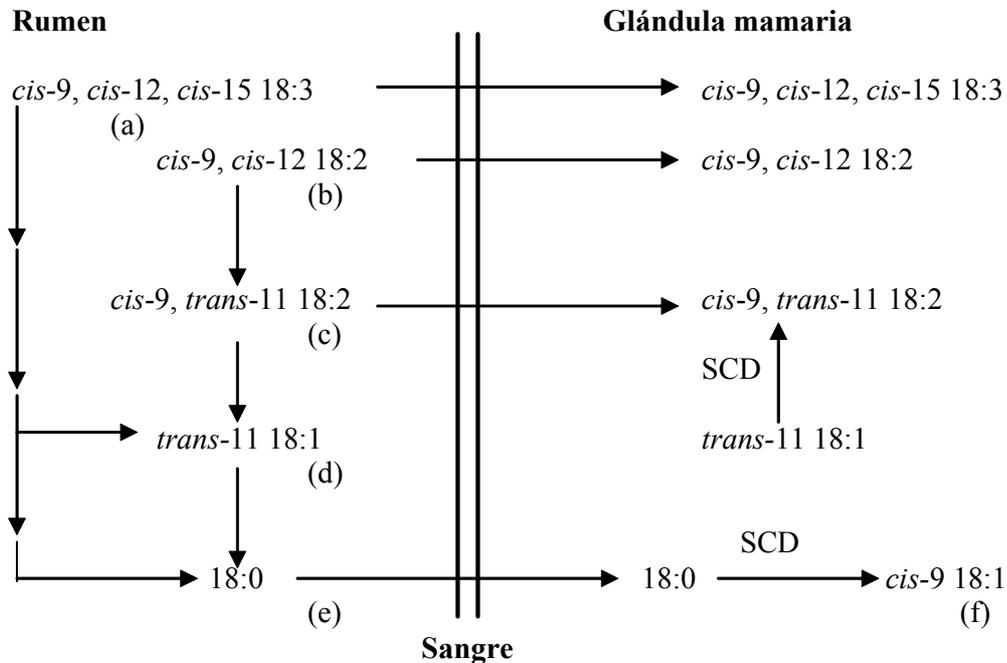
## 2. Precurores y generación de CLA en el rumiante.

Los precursores de los CLA son los ácidos grasos poliinsaturados (**AGPI**) presentes en las raciones de los rumiantes como el ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C<sub>18:2</sub>) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (C<sub>18:3</sub>). El primero resulta abundante en el silaje de maíz, en los cereales y en varios granos oleaginosos como el girasol y la soja. El ácido  $\alpha$ -linolénico es en cambio característico de las pasturas tiernas y del aceite de lino. El grado de biohidrogenación ruminal de estos compuestos sería extremadamente alto alcanzando valores de 90% para el linolénico y 80% para el linoleico (Chilliard y otros, 2000).

El CLA ó ácido ruménico representa un compuesto intermedio en la hidrogenación ruminal del ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C<sub>18:2</sub>) a ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>). El ácido *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (**ácido vaccénico**) resulta un intermediario común en la biohidrogenación del ácido linoleico y de los ácidos  $\alpha$  y  $\gamma$  linolénicos. La reducción ruminal del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> es incompleta y conduce a una acumulación del compuesto. El paso final en la biohidrogenación de los AGPI es la producción de ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>).

El CLA (*cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub>) de la leche reconoce dos orígenes: a) absorción intestinal y posterior transferencia a la glándula mamaria del CLA producido en el rumen y b) la síntesis endógena de CLA a partir del ácido *trans* vaccénico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>) por acción del enzima *delta*-9 desaturasa en glándula mamaria. Esta última sería la principal vía de acumulación de CLA en leche bovina explicando un 64% de la síntesis del compuesto (Griinari, Bauman, Chilliard, Perajoki y Nurmela, 2000). Ha sido demostrado que la concentración de CLA en la leche resultó cuatro veces superior al flujo duodenal de CLA (Loor, Ferlay, Ollier, Doreau y Chilliard, 2002b; Loor, Ueda, Ferlay, Chilliard y Doreau, 2002d) demostrando la importancia de esta vía metabólica en la síntesis de CLA. El rango de concentración en leche bovina del ácido *trans*-vaccénico sería de 1 a 12% y el de CLA (*cis*-9, *trans*-11 C<sub>18:2</sub>) de 0,3 a 3% del total de ácidos grasos (Chilliard, Ferlay, Loor, Rouel y Martin, 2002). Este amplio rango de concentración implica poder ajustar la suplementación de la vaca a fines de maximizar la concentración de ambos AG como veremos más adelante. Los pasos metabólicos involucrados en la síntesis de los ácidos *trans*-vaccénico y ruménico se resumen en el esquema de la Figura 1.

Los ácidos grasos dietarios de configuración *trans* elevan los niveles sanguíneos de colesterol total y de colesterol asociado a las LDL lo que no resulta beneficioso para la salud mientras que los CLA resultan compuestos protectores contra dicha afección (Schrezenmeir y Jagla, 2000). Los ácidos grasos *trans* provenientes de los aceites parcialmente hidrogenados o de las margarinas han sido asociados a muertes por afecciones coronarias pero dichos efectos negativos sobre la salud humana no serían atribuibles a los isómeros *trans*-11 C<sub>18:1</sub> ó al *cis*-9, *trans*-11 CLA presentes en la leche (Griinari, Dwyer, McGuire, Bauman, Palmquist y Nurmela, 1998).



(a) ácido linolénico; (b) ácido linoleico; (c) ácido ruménico; (d) ácido trans-vaccénico; (e) ácido esteárico; (f) ácido oleico, SCD : estearil CoA (delta-9) desaturasa. Fuente: Chilliard y otros, 2002.

**FIGURA 1:** Principales vías metabólicas involucradas en la síntesis de los ácidos trans-vaccénico (trans-11 C18:1) y ruménico (cis-9, trans-11 C18:2) de la leche.

**Figure 1:** Main metabolic pathways of synthesis of milk trans-vaccenic (trans-11 C18:1) and rumenic (cis-9, trans-11 C18:2) acids (Chilliard et al, 2002)

### 3. Los productos lácteos como fuente natural de CLA.

El contenido final de CLA en el alimento dependerá de la concentración inicial obtenida a campo y también de los procesos que tengan lugar entre su obtención natural y la llegada del producto a la mesa del consumidor. Factores como la calidad del transporte, el tipo de procesado, el empaquetado, las condiciones de almacenamiento y finalmente la preparación del alimento pueden potencialmente influir sobre la concentración final de CLA. El primer paso para obtener alimentos naturales alto CLA es lograr la máxima concentración inicial de CLA en el producto primario. Este hecho está sin ninguna

duda bajo control nutricional a través de un manejo estratégico de la alimentación del rumiante y constituye el inicio de la cadena alimentaria para lograr un producto de calidad diferenciada. Por fortuna parecería que el cambio entre la concentración inicial (en leche) y final (en el producto) de CLA es muy pequeña en comparación a la variabilidad de concentración de CLA encontrada en la leche producida en diferentes escenarios de alimentación de la vaca (Dhiman, Anand, Satter y Tariza, 1999; Shantha, Ram, O'Leary, Hicks y Decker, 1995). Esa gran variabilidad natural en el contenido de CLA en la leche bovina (y también caprina, ver Parte 3) estaría explicada por la suplementación de la vaca (Chilliard y otros, 2000; Chilliard,

Ferlay y Doreau, 2001), la edad del animal (Lal y Narayanan, 1984) y la raza (Lawlees, Stanton, L'Escop, Devery, Dillon y Murphy, 1999; White, Bertrand, Wade, Washburn, Green y Jenkins, 2001). Respecto a la raza las concentraciones basales de CLA en condiciones de alimentación pastoril oscilaron ente 0,78 y 3,15 g/100 g de GB en vacas irlandesas de raza Holstein-Frisonas, entre 0,48 a 2,70 en Holstein Holandesas, entre 0,49 a 3,56 en la raza Montbeliard francesa (macizo del Jura) y entre 0,56 a 2,98 en la Normanda francesa (zona de Bretaña-Normandía) (Lawless y otros, 1999). Resulta por lo tanto de interés poner en marcha estudios interdisciplinarios destinados a cuantificar la expresión del gen responsable de la expresión del enzima estearil CoA desaturasa para combinar las vacas más aptas para producir CLA con las raciones más adecuadas a fines de obtener

leches y alimentos funcionales alto CLA (ver Parte 1).

La leche de vaca es la fuente más rica de CLA para el ser humano (0,2-3,7 g CLA/100 gde GB). La leche de cabra (CLA= 0,59-3,24 g/100g de GB) es aveces utilizada para sustituir a la de vaca en la alimentación infantil o en casos de intolerancia digestiva o alergia a esta última. Las estrategias conducentes a obtener leche de cabra alto CLA son por lo tanto presentadas en la Parte 3 del presente trabajo. La leche de oveja puede alcanzar valores promedio de 1,17 ( $\pm$  0,13) en el verano y 2,97 ( $\pm$  0,24) durante el invierno período de alimentación pastoril (Parodi, 2003).

El queso constituye un excelente proveedor natural de CLA. Algunos ejemplos de concentración de CLA en quesos se presentan en el Cuadro 1.

**CUADRO 1:** Contenido promedio de CLA (g/100g de grasa) en los quesos de vaca, oveja y cabra de diversos países.

**Table 1:** Average CLA content (g/100g fat) of cow, sheep, and goat cheese from differents countries.

País	Variiedad	Mínimo	Máximo	Promedio
<b>Quesos de vaca</b>				
Francia	Diversos	0,53	1,58	-
Alemania	Diversos	0,40	1,70	0,85-0,93
Italia	Diversos	0,36	1,82	0,83
	Mozzarella	-	-	0,98
Suecia	0,50	0,71	-	-
Canada	Normal	0,38	0,47	-
Estados Unidos	Diversos	0,38	0,77	-
	Diversos	0,36	0,80	-
	Diversos	0,32	0,89	-
	Diversos	0,29	0,71	-
<b>Quesos de oveja</b>				
Italia	Diversos	0,75	1,99	1,44
Alemania	-	-	-	1,01
Francia	Diversos	0,77	1,04	0,82
<b>Quesos de cabra</b>				
Canada	Diversos	-	-	0,27
Francia	Diversos	0,27	0,69	0,45
Alemania	-	-	-	0,50
Italia	-	-	-	0,63

Fuente: Parodi, 2003.

Los valores del Cuadro 1 representan tan sólo un promedio orientativo de las distintas variedades de quesos analizados pero un elemento importante a tener en cuenta es que también en los quesos el proceso de elaboración y el tipo de bacterias involucradas en la maduración tendrían mínimas influencias sobre la concentración final de CLA (Parodi, 2003). Los valores promedio (Cuadro 1) pueden incrementarse significativamente a través de la suplementación estratégica de los animales ya que la concentración en el producto (queso) tiende a ser similar a la de la leche "cruda" que le dio origen. Si tomamos como ejemplo el queso francés llamado "Comte" las concentraciones de CLA resultan altas (2,08 a 1,50 g/100 g de grasa) ya que es un queso elaborado con leche de vacas alimentadas a base de pasturas (de llanura, de media o alta montaña en el Macizo del Jura Francés). De la misma manera, el queso Italiano llamado Pecorino proveniente de leche de ovejas alimentadas a base de pasturas presenta un rango de concentración de CLA de 1,39 a 1,99 g/100 g de grasa (Parodi, 2003).

El yoghurt es la forma de leche cultivada más conocida y de mayor consumo en el mundo. Los valores normales de concentración de CLA en este derivado lácteo se presentan en el Cuadro 2.

Las transformaciones que puedan tener lugar en los derivados lácteos a causa de los procesos de elaboración serán estudiadas para las condiciones de producción argentinas en el marco de un proyecto conjunto INTA-INTI (CITIL, PTM Miguelete) (Gagliostro, 2004). Cabe comentar que las variaciones en la concentración de CLA debido a diversos mecanismos asociados a la maduración y almacenaje serían insignificantes (Parodi, 2003) en comparación al tremendo incremento que podemos lograr mediante la suplementación estratégica de la vaca.

El impacto que sobre la leche materna humana puede tener el hecho de consumir productos lácteos alto CLA se presenta en el Cuadro 3.

Es interesante observar que el contenido de CLA en la leche materna humana puede variar desde un mínimo de 0,9 mg/g de AG en mujeres de USA (Idaho) hasta un máximo de 12,5 mg/g en mujeres Australianas (Cuadro 3). La diferencia poblacional (+205%) estaría explicada por un consumo de lácteos ricos en CLA en Australia debido al sistema predominante pastoril de alimentación de las vacas (Parodi, 2003). Las madres de la secta religiosa Hare Krishna consumían una dieta que si bien excluía la carne, incluía cantidades **ad libitum** de manteca y lácteos. Las mujeres de

**CUADRO 2:** Contenido de CLA (g/100g de grasa) en el yogurt y leches cultivadas en diversos países.

**Table 2:** The CLA content (g/100g fat) of cultured dairy products from different countries.

País	Producto	Promedio
Alemania	Yoghurt	0,69
	Yoghurt probiótico	1,05
Italia	Yoghurt	0,89
Suecia	Yoghurt	0,62
	Leche cultivada	0,54
Canada	Yoghurt	0,44
	Manteca cultivada	0,47
Estados Unidos	Yoghurt	0,38
	Yoghurt entero	0,48
	Yoghurt congelado	0,28

Fuente: Parodi, 2003.

**CUADRO 3:** El contenido de CLA (mg/g de grasa) en la leche humana.**Table 3:** The CLA content (mg/g fat) of human breast milk.

País	Fuente	NE	Mín.	Máx.	Promedio
Australia	Madres convencionales	18	3,1	8,5	5,8
	Madres Hare Krishna	8	9,7	12,5	11,2
Canada		103	1,0	7,0	4,0
USA	Madres de Idaho	14	2,2	5,4	3,6
	Madres de Connecticut	5	1,4	2,8	1,8
	Idaho (dietas bajo CLA)	16	0,9	3,5	2,3
	Idaho (dietas alto CLA)	16	1,9	4,9	3,8
Alemania		29	2,9	7,1	4,0
		40	2,3	6,3	4,0

Fuente: Parodi, 2003.

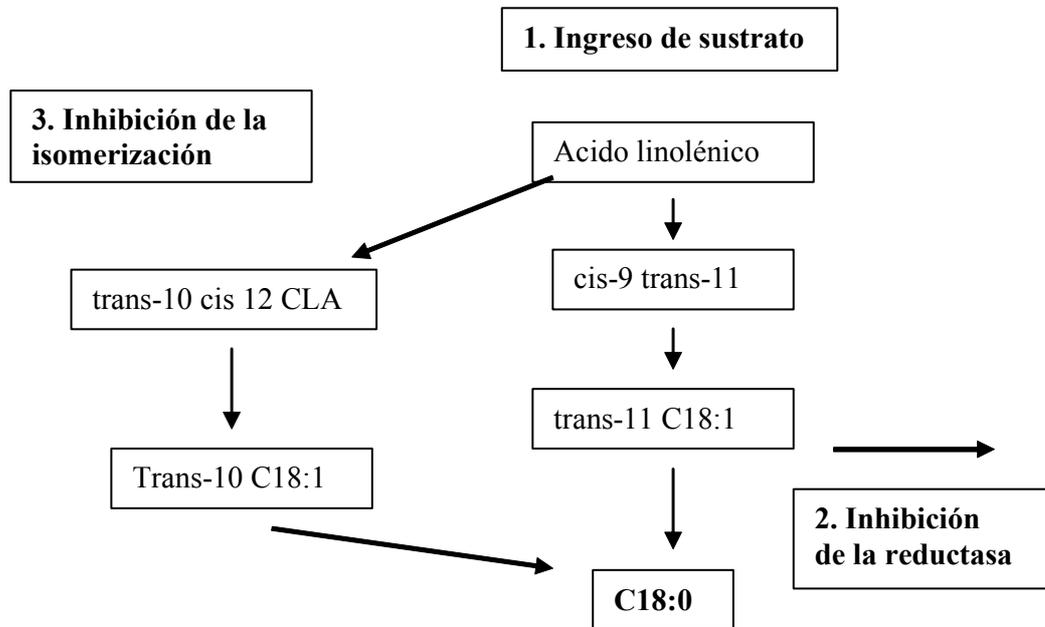
Idaho participaron de un ensayo *cross-over* con bajo y alto contenido de lácteos en la dieta. La alimentación pobre en lácteos produjo una concentración de 2,3 mg de CLA/g de grasa en la leche materna valor que fue incrementado en un 65% por la dieta rica en lácteos. La diferencia entre las madres Australianas y las Americanas se explica una vez más por las concentraciones de CLA en los lácteos australianos que duplican o triplican a los valores observados en los productos americanos (Parodi, 2003).

#### 4. Optimización de la producción ruminal del precursor *trans*-11 C<sub>18:1</sub> del CLA.

El objetivo de lograr incrementos concomitantes en las concentraciones de los ácidos *trans* vaccénico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>) y CLA en leche es técnicamente posible debido a la correlación positiva que existe entre ambos tanto en la vaca ( $r^2 = 0,77$ , Solomon, Chase, Ben Ghedalia y Bauman, 2000); como en la cabra ( $r^2 = 0,99$ ; Chilliard, Ferlay, Rouel y Lamberet, 2003). Ello permite maximizar la absorción directa de CLA por parte de los consumidores de productos lácteos e incrementar la concentración final de CLA en los tejidos humanos a partir de la conversión endógena del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> a CLA (ver Parte 1).

Las estrategias nutricionales conducentes a optimizar la formación ruminal del precursor de CLA (el ácido *trans*-11 C<sub>18:1</sub>) merecen ser revisadas brevemente. Se ha hipotetizado que su formación sería dependiente de tres procesos relacionados entre sí que tienen lugar en el rumen: 1) aporte de sustrato, 2) inhibición del enzima *trans*-11 C<sub>18:1</sub> reductasa, 3) prevención de un cambio en la biohidrogenación ruminal hacia el ácido *trans*-10 C<sub>18:1</sub> (Griinari y Shingfield, 2002) (Figura 2).

El ingreso de sustrato al rumen (**Paso 1**) juega un rol permisivo en la acumulación del ácido *trans* vaccénico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>) y el balance entre los otros dos procesos (**2 y 3**) determina la magnitud de la concentración final de *trans*-11 C<sub>18:1</sub>. A fines de obtener una inhibición del crecimiento de las bacterias responsables de la hidrogenación del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> en el rumen a C<sub>18:0</sub> (o de la inhibición de sus reductasas) (**Paso 2** en la Figura 2) el aporte de dosis bajas de aceite de pescado podría ser una valiosa herramienta (Chilliard y otros, 2002; Shingfield, Ahvenjärvi, Ärölä, Nurmela, Huhtanen y Griinari, 2003). Dicho aceite es rico en ácidos grasos de tipo C<sub>20</sub>-C<sub>22</sub> incluyendo a los ácidos  $\omega$ -3 eicosapentanoico (EPA, C<sub>20:5n-3</sub>) y docosahexanoico (DHA, C<sub>22:6n-3</sub>) que inhibirían la acción de las reductasas. La relación CLA/*trans*-11 C<sub>18:1</sub> resultó menor en la leche de vacas suplementadas con aceite de



Fuente : Griinari y Shingfield, 2002.

**FIGURA 2:** Esquema del «modelo de biohidrogenación» que describe tres procesos interdependientes que regulan la formación del ácido trans vaccénico (*trans-11 C<sub>18:1</sub>*) en el rumen.

**Figure 2:** Schematic of the «biohydrogenation balance model» which describes three inter-dependent processes that regulate the formation of *trans-11 C<sub>18:1</sub>* in the rumen.

pescado en relación a la obtenida cuando los animales reciben sólo aceites vegetales. Este resultado podría reflejar un flujo superior de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* hacia glándula mamaria capaz de saturar la actividad de la estearil CoA desaturasa (**SCD**) (Chilliard y otros, 2000). El efecto del aporte de aceite de pescado (250 g/vaca/d) sobre el flujo hacia duodeno de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* y del CLA (9-*cis*- 11-*trans C<sub>18:2</sub>*) y su aparición en leche se presentan en el Cuadro 4.

El aceite de pescado disminuyó la producción de leche y el consumo de MS sin efecto sobre la composición química de la leche. Los parámetros de digestión ruminal o total de la materia seca, materia orgánica o fibra no fueron afectados. El flujo de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* hacia duodeno fue incrementado en un 612% ante el aporte de aceite de pescado mientras que el

flujo duodenal de CLA no varió. Las concentraciones de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* (+220%), CLA (+230%) y de los ácidos o-3 EPA (+120%) y o-3 DHA (+100%) en leche fueron significativamente aumentadas. El mayor flujo a duodeno del precursor *trans-11 C<sub>18:1</sub>* sería responsable del incremento de CLA en leche ya que no se observó ningún aumento del flujo de CLA a duodeno (Cuadro 4). Dicho incremento en el flujo de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* estaría a su vez asociado a una inhibición de su reducción a *C<sub>18:0</sub>* a nivel de rumen.

En raciones a base de silaje de maíz (25%), heno de alfalfa (25%) y concentrado (50%) la suplementación con aceite de pescado (2% de la MS ingerida), con soja extrusada (2%) o con mezcla de ambos (1% + 1%) produjo incrementos significativos de CLA y

**CUADRO 4:** Efecto del aceite de pescado (250 g/vaca/d) sobre la respuesta productiva y la concentración de los ácidos trans vaccénico (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>) y CLA (9*cis*- 11-*trans* C<sub>18:2</sub>) en la vaca lechera.

**Table 4:** Effects of fish oil (250 g/cow/d) on milk production and concentrations of trans vaccenic acid (*trans*-11 C<sub>18:1</sub>) and CLA (9*cis*- 11-*trans* C<sub>18:2</sub>) in the dairy cow.

Variables	Control <sup>(1)</sup>	Aceite de pescado <sup>(2)</sup>
Leche, kg/d	17,3	14,1*
Grasa butirosa, %	4,60	4,28
Proteína, %	3,94	3,96
Lactosa, %	4,84	4,68
Consumo, kg MS	17,7	15,7
Consumo de EPA, g/d de C <sub>20:5 n-3</sub>	0	43,5
Consumo de DHA, g/d de C <sub>22:6 n-3</sub>	0,0	27,7
<b>Parámetros ruminales</b>		
PH	6,44	6,55*
N-NH <sub>3</sub> , mmol/l	7,25	7,36
Acetato, mmol/l	668	638***
Propionato, mmol/l	170	192***
Butirato, mmol/l	121	134*
Acetato : Propionato	3,93	3,33***
Digestión de la MS, %	37,3	40,5
Digestión de la MO, %	55,9	60,2
Digestión de FDN, %	65,5	66,9
<b>Digestión en tracto total</b>		
MS, %	73,1	74,5
MO, %	75,0	76,8
FDN, %	67,8	70,7
<b>Flujo duodenal (g/d)</b>		
<i>Trans</i> -11 C <sub>18:1</sub>	17	121***
CLA, 9- <i>cis</i> - 11- <i>trans</i> C <sub>18:2</sub>	2,86	2,08
<b>Ácidos grasos en leche, g/100g</b>		
<i>Trans</i> -11 C <sub>18:1</sub>	4,5	14,4***
CLA, 9- <i>cis</i> - 11- <i>trans</i> C <sub>18:2</sub>	0,56	1,85***
EPA, C <sub>20:5 n-3</sub>	0,05	0,11**
DHA, C <sub>22:6 n-3</sub>	0,00	0,10**

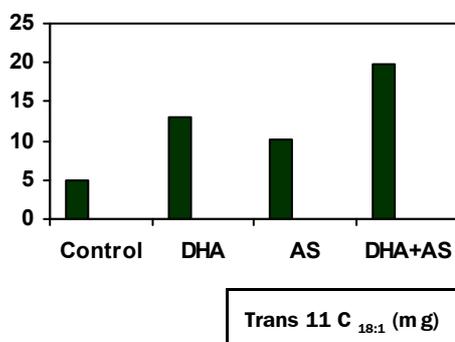
<sup>(1)</sup> 60% silaje de pastura (*Phleum pratense* + *Festuca pratensis*), 40% concentrado a base de cereales.

<sup>(2)</sup> Idem. control más 250 g de aceite de pescado por vaca/d conteniendo un 17,4% de EPA (C<sub>20:5 n-3</sub>) y un 11,1% de DHA (C<sub>22:6 n-3</sub>).

Fuente: Shingfield y otros, 2003.

ácido trans vaccénico respecto al control tanto en el rumen como en la leche sin diferencias significativas entre los suplementos lipídicos (AbuGhazaleh, Schingoethe, Hippen, Kalscheur y Whitlock, 2002a). Un trabajo reciente del mismo equipo conducido *in vitro* sugiere que el ácido  $\omega$ -3 DHA sería el principal compuesto

activo presente en el aceite de pescado que favorece la acumulación del *trans*-C18:1 en el rumen (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004a). La presencia de alguna fuente de ácido linoleico como el aceite de soja amplificaría el citado efecto (Figura 3).



Fuente: AbhuGhazaleh y Jenkins, 2004a

**FIGURA 3:** Acumulación *in vitro* de ácido vaccénico (*trans*-C<sub>18:1</sub>) en presencia del ácido docosahexanoico (DHA, C<sub>22:6 n-3</sub>), aceite de soja (AS) y la combinación de ambos (DHA-AS).

**Figure 3:** *In vitro* accumulation of vaccenic acid (*trans*-C<sub>18:1</sub>) in the presence of docosahexanoic (DHA, C<sub>22:6 n-3</sub>), soyabean oil and both (DHA-AS).

El DHA incrementó las concentraciones de *trans*-C<sub>18:1</sub> en un 158% respecto al control mientras que el aceite de soja lo hizo en tan sólo un 102%. La combinación de ambos productos significó un incremento de 283% de *trans*-C<sub>18:1</sub> sobre el control. La posibilidad de que el otro ácido ω-3 presente en el aceite de pescado (EPA, C<sub>20:5 n-3</sub>) esté también involucrado en el efecto protector sobre el *trans*-C<sub>18:1</sub> no puede descartarse. Los efectos de este último compuesto (EPA) resultaron sin embargo de menor magnitud comparados al DHA (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004b). La máxima concentración de *trans*-11-C<sub>18:1</sub> y de CLA en leche se obtendría con aportes de aceite de pescado del orden del 2% del consumo total de materia seca de la vaca (Baer, Ryali, Schingoethe, Kasperson, Donovan, Hippen y Franklin, 2001; Donovan, Schingoethe, Baer, Ryali, Hippen y Franklin, 2000) sin incrementos adicionales cuando el aporte de dicho aceite aumentó hasta un 3% del consumo de MS (Donovan y otros, 2000). La cantidad de aceite de pescado puede incluso reducirse al 1% en caso de efectuar suplementaciones combinadas con

otros aceites o semillas oleaginosas que aporten ácido linoleico (Ramaswamy, Baer, Schingoethe, Hippen, Kasperson y Whitlock, 2001a). El aporte de 200 ml/vaca/día de aceite de pescado incrementó en un 300% los valores de CLA en leche sin aumentos ulteriores ante el aporte de 400 ml de aceite (Chouinard, Corneau, Butler, Chilliard, Drackley y Bauman, 2001).

Como ya fue comentado (Parte 1) el *trans*-11 C<sub>18:1</sub> puede ejercer también efectos anticancerígenos directos (Awad, Hermann, Fink y Horvath, 1995) o mediados a través de su conversión en CLA en la glándula mamaria. La conversión de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> a CLA en los tejidos de roedores alimentados con *trans*-11 C<sub>18:1</sub> fue la causa responsable del efecto quimio-protector observado cuando dichos animales fueron inyectados con un agente carcinogénico (Banni, Angioni, Murru, Carta, Melis, Bauman, Dong e Ip, 2001). Es importante que toda leche (o derivado lácteo) naturalmente enriquecida en CLA sea finalmente bien aceptada por los consumidores en función a sus propiedades organolépticas o sensoriales. Cabe entonces mencionar que aún ante dosis del orden del 2% de aceite de pescado, no se observaron diferencias en la aceptabilidad de la leche por parte de los consumidores así como tampoco en los atributos sensoriales o la estabilidad de almacenaje de la manteca durante tres meses (Ramaswamy y otros, 2001a, Ramaswamy, Baer, Schingoethe, Hippen, Kasperson y Whitlock, 2001b).

## 5. Estrategias de alimentación para incrementar los valores de CLA en leche.

La manipulación de la composición en AG de la GB tuvo como objetivos tradicionales el de incrementar el contenido de AG insaturados y la producción de mantecas más livianas trabajándose actualmente en el incremento de la concentración de CLA y de los ácidos ω-3. Las estrategias nutricionales tendientes a elevar

las concentraciones de CLA en leche han sido agrupadas en cuatro categorías: 1) aporte de sustratos para la formación de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> y CLA en el rumen, 2) factores alimenticios capaces de inducir cambios en la población microbiana asociada a la biohidrogenación, sea en forma directa o a través de cambios en el ambiente ruminal 3) formulación de raciones que aportan sustratos lipídicos e inducen cambios en la biohidrogenación ruminal y 4) suplementación con CLA y *trans*-11 C<sub>18:1</sub> protegidos (Griinari y Shingfield, 2002). Estas estrategias no pueden ponerse en práctica en forma aislada ya que existen interacciones entre las mismas. Por ejemplo, en condiciones no pastoriles de alimentación la respuesta al suministro de aceites vegetales en términos de incremento en los niveles de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> y CLA en leche son más netos cuando el forraje de base está representado por silaje de maíz en comparación al heno de gramíneas (Griinari y otros, 2000). Una baja relación forraje/concentrado resulta predisponente a obtener leches alto CLA debido a que los bajos pH ruminales generados favorecen la acumulación de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (Chouinard, Corneau, Kelly, Griinari y Bauman, 1998) inhibiendo probablemente el Paso 2 de la Figura 2. La proporción de *trans*-10, *cis*-12 CLA fue incrementada por una ración baja fibra/alto concentrado (Griinari y otros, 1998).

A pesar de la importante variabilidad genética encontrada (ver Punto 4), la alimentación de la vaca y una suplementación estratégica de la misma son los puntos de mayor impacto sobre las concentraciones finales de CLA en leche (Chilliard y otros, 2000; Chilliard y otros, 2001). Cuando el objetivo es incrementar los valores totales de CLA (o del isómero anticancerígeno, *cis*-9, *trans*-11 CLA) la suplementación con aceites vegetales ricos en AGPI (C<sub>18:2</sub> ó C<sub>18:3</sub>) ha demostrado ser efectiva (Chilliard y otros, 2000; Chilliard y otros, 2001; Lawlees, Murphy, Harrington, Devery y Stanton, 1998; Dhiman y otros, 1999; Dhiman, Satter, Pariza, Galli, Albrigh y Tolosa, 2000; Offer, Marsden, Dixon, Speake y Thacker, 1999; Kelly, Berry,

Dwyer, Griinari, Chouinard, Van Amburgh y Bauman, 1998a).

La composición promedio en ácidos grasos contenidos en los aceites vegetales se presenta en el Cuadro 5.

Las modificaciones en la concentración de CLA en leche obtenidas en distintos escenarios de alimentación y suplementación han sido resumidas por Stanton y otros (2003) y se presentan en el Cuadro 6.

En términos generales puede concluirse que la suplementación con aceites vegetales ricos en C<sub>18:2</sub> y C<sub>18:3</sub> incrementan las concentraciones basales de *cis*-9, *trans*-11 CLA en leche. De acuerdo a la composición de los aceites presentada en el Cuadro 5 podrían esperarse incrementos significativos ante el aporte de granos oleaginosos como el algodón, soja, girasol, aunque también se observan efectos positivos con el lino y la colza. Se ha postulado también que el ácido C<sub>18:2</sub> sería un inhibidor efectivo de la biohidrogenación ruminal del *trans*-C<sub>18:1</sub> a C<sub>18:0</sub> (paso 2 de la Figura 2) (Griinari y Bauman, 1999) incrementando así la acumulación ruminal del compuesto precursor. En el caso de suministrar semillas oleaginosas completas resultará sumamente importante lograr un buen molido de las mismas de modo de favorecer un contacto rápido y efectivo entre el aceite y los microorganismos del rumen.

Si bien la eficacia de los aceites está ampliamente documentada su practicidad de suministro por parte del productor dista obviamente de ser la óptima. Los aceites vegetales pueden ser suministrados a la vaca lechera de diferentes maneras: 1) aceite líquido en mezcla con el concentrado (grano de maíz) o con silajes 2) aceites vegetales protegidos (inexistente en Argentina) o 3) formando parte del grano oleaginoso completo. En función al mecanismo propuesto para la formación de los CLA o del precursor *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (Figuras 1 y 2) es importante destacar que los microorganismos ruminales deberán tener rápido acceso al aceite libre. Ello nos lleva a aconsejar la no

**CUADRO 5:** Composición en ácidos grasos (%) de diferentes aceites.**Table 5:** Fatty acid composition (%) of different oils.

Aceite/AG	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
Algodón	0,8	25,3		2,8	17,1	53,2	0,1
Colza		4,3	0,3	1,7	59,1	22,8	8,2
Soja	0,2	10,7	0,3	3,9	22,8	50,8	6,8
Girasol	0,1	5,5		3,6	21,7	68,5	0,1
Maní		11,5		3,0	53,0	26,0	
Cártamo		8,0		3,0	13,5	75,0	0,5
Oliva		13,0	1,0	2,5	74,0	9,0	
Canola		4,8		1,9	58,5	23,0	7,7
Lino		6,4		3,1	20,1	18,2	51,4

AG = ácido graso.

Fuente: Stanton y otros, 2003

utilización de aceites protegidos o de semillas enteras no molidas cuando el objetivo sea incrementar en contenido de CLA en leche. La suplementación con semilla entera de colza produjo sólo ligeros cambios en la composición de AG de la leche en comparación a la semilla molida (Murphy, McNeill, Connolly y Gleeson, 1990). El tratamiento de la semilla de soja con calor (120, 130 y 140E) y presión (extrusión) y su posterior suministro a la vaca lechera parece ser una excelente vía para incrementar los valores de CLA en leche (1,99 g/100 g AG) en comparación a la semilla suministrada simplemente molida (0,42 g/100 g FA) (Chouinard y otros, 2001). La temperatura a la cual se practicó la extrusión no tuvo ningún efecto sobre los CLA. El tratamiento con calor de las semillas oleaginosas parece ser indispensable para liberar el aceite, lograr un buen contacto con las bacterias ruminales e incrementar significativamente los valores de CLA en leche. El aporte de aceite de soja produjo el máximo incremento en los valores de CLA en leche (2,1% del total de AG) comparado con la soja tostada y molida (0,77% del total de AG). En cambio, el nivel de CLA logrado con el aporte de soja sólo molida (0,37 % del total de AG) no se diferenció del tratamiento control (0,39% del total de AG). (Dhiman y otros, 2000). Los resultados obtenidos en la EEA Balcarce del INTA no revelaron ningún efecto significativo sobre los valores de CLA en leche ante el aporte

de semilla de girasol alto linoleico (2 kg/vaca/d) a vacas lecheras sobre pastoreo de avena (Gagliostro, 2004).

En resumen, el aporte de aceite libre de oleaginosas ricas en C<sub>18:2</sub> es la vía más efectiva para incrementar los valores de CLA en leche. Un rápido y eficaz contacto del aceite con las bacterias ruminales conduciría a la acumulación ruminal del precursor *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (Pasos 1 y 2 del esquema presentado en la Figura 2). Inhibidores naturales de la biohidrogenación del *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (precursor de los CLA) como los ácidos  $\omega$ -3-EPA y sobre todo  $\omega$ -3-DHA pueden potenciar el efecto citado. El tratamiento de las semillas oleaginosas con calor y presión (extrusado) sería una vía idónea para alcanzar los objetivos alto CLA. Si la elección final es el suministro de granos oleaginosos completos, los mismos deberán ser molidos a fines de facilitar un contacto rápido y eficaz entre el aceite y las bacterias ruminales. Estos efectos serán particularmente importantes cuando las vacas se encuentren en una condición de alimentación pastoril debido a que la tasa de pasaje resulta más rápida y la población microbiana involucrada en el proceso de biohidrogenación puede verse afectada (Kolver, 1997). La suplementación con grasas de origen animal no resultan efectivas para incrementar los niveles de CLA en leche debido a su pobreza en ácidos grasos poliinsaturados.

**CUADRO 6:** Variaciones en la concentración de CLA en leche de vaca ante el aporte de diferentes suplementos.  
**Table 6:** Milk CLA concentrations after feeding different supplements to the dairy cow.

Autor	Tratamiento	CLA (cis-9, trans-11 C18:2)
<b>Aceites vegetales</b>		
Lock y Garnsworthy, 2002	Bajo 18:2/bajo 18:3	0,8 g/100g AG
	Bajo 18:2/ alto 18:3	0,9
	Alto 18:2/ bajo 18:3	0,9
	Alto 18:2/ alto 18:3	1,1
Chouinard y otros, 2001	Control	0,35 g/100g GB
	AG-Ca de colza	1,32
	AG-Ca soja	2,25
	AG-Ca lino	1,95
Solomon y otros, 2000	Alto almidón (AA)	2,23 g/100g GB
	AA +14% soja extrusada	3,65
	Alta pectina (AP)	2,18
	AP +14% soja extrusada	3,70
Dhiman y otros, 2000	Control	0,39 g/100g AG
	Soja partida 18%	0,37
	Soja partida tostada 18%	0,77
	Aceite de soja 3,6%	2,10
	Aceite de lino 2,2%	1,58
Lawlees y otros, 1998	Aceite de lino 4,4%	1,68
	Control	1,66 g/100g GB
	Soja tostada	1,96
	Colza molida	2,40
Kelly y otros, 1998a	Aceite de maní (C18:1)	1,33 g/100g GB
	Aceite de girasol (C18:2)	2,44
	Aceite de lino (C18:3)	1,67
<b>Aceite de pescado (FO)</b>		
AbuGhazaleh y otros, 2002b	Control	0,33 g/100g AG
	FO 0,5%	0,47
	Soja extrusada 2,5% aceite	0,79
	FO 0,5%/soja extrusada 2,5%	1,39
Whitlock y otros, 2002	Control	0,6 g/100g AG
	FO 2%	2,03
	Soja extrusada 2% aceite	1,16
	FO + soja	1,82
Ramaswamy y otros, 2001a	Control	0,56 g/100g AG
	FO/soja extrusada	2,3
	Soja extrusada	2,17
AbuGhazaleh y otros, 2001	FO 0% soja 100%	0,39 g/100g AG
	FO 25%	0,44
	FO 50%	0,46
	FO 100%	0,72
Baer y otros, 2001	Control	0,68 g/100g GB
	2% FO	2,51
Donovan y otros, 2000	Control	0,6 g/100g AG
	FO 1%	1,58
	FO 2%	2,23
	FO 3%	1,9
<b>Pastura</b>		
White y otros, 2001	Holstein a corral	0,41 g/100g AG
	Holstein en pastura	0,72
	Jersey a corral	0,32
	Jersey en pastura	0,59
Dhiman y otros, 1999	Pastura 33%	0,89 g/100 g GB
	Pastura 66%	1,43
	Pastura 100%	2,21

Fuente: Stanton y otros, 2003.

## 6. La alimentación pastoril: un escenario favorable para la obtención de lácteos alto CLA.

El hecho de que una alimentación pastoril resulta predisponente a obtener leches enriquecidas en dienos conjugados ha sido demostrado hace ya más de 40 años (Kudzal-Savoie y Kudzdal, 1961; Riel, 1963). Numerosas trabajos han destacado el enorme impacto que la alimentación pastoril tiene sobre los valores basales de CLA en leche cuando se los compara a los obtenidos en condiciones de alimentación invernala o estabulada sin forraje fresco (Cuadros 6 y 7; Chilliard y otros, 2000; Chilliard y otros, 2001; Chilliard y otros, 2002; Stanton y otros, 2003; Schroeder, Gagliostro, Bargo, Delahoy y Muller, 2004). En un trabajo reciente conducido en la EEA Balcarce del INTA, los niveles de CLA en leche fueron incrementados en un 54% y en un 173% a las dos

y cinco semanas de alimentación pastoril respecto a vacas alimentadas con raciones totalmente mezcaldas (TMR) sin pastura. Dichos incrementos resultaron de 148% y de 366% a las dos y cinco semanas de alimentación pastoril cuando las vacas recibieron además de la pastura una suplementación con sales cálcicas de ácidos grasos (0,8 kg/vaca/día) conteniendo un 30% de C<sub>18:2</sub> (Schroeder, Delahoy, Vidaurreta, Bargo, Gagliostro y Muller, 2003) (Cuadro 7).

Los resultados del Cuadro 7 demuestran que la alimentación pastoril resulta predisponente a obtener altos valores basales de CLA (0,80 a 1,12 g/100 g AG) los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación estratégica de la vaca (1,29 y 1,91 g/100 g AG). El efecto de la inclusión de pastura sobre las concentraciones de *cis*-9, *trans*-11 CLA en la leche de vaca puede observarse claramente en la Figura 4.

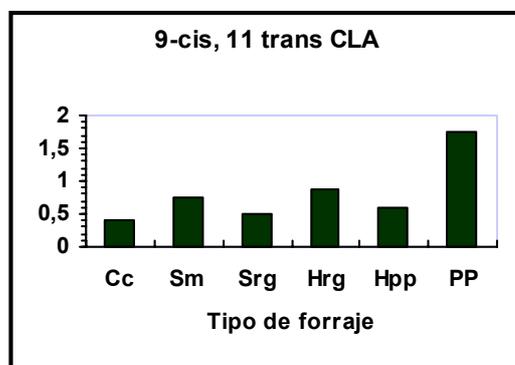
**CUADRO 7:** Efecto de la alimentación pastoril (P) con (P+Lip) y sin suplementación lipídica (P+Ma) sobre los valores de CLA en leche de vaca.

**Table 7:** Effect of pasture feeding (P) with (P+Lip) or without (P+Ma) lipid supplementation on milk CLA content in dairy cows.

Ración	TMR	P+Ma	P+Lip
MS, %	40,8	33,0	31,5
PB,% MS	16,5	16,9	17
FDN, %MS	30,6	28,6	29,7
EE,% MS	4,5	6,1	8,1
<b>Respuesta productiva</b>			
Consumo, kg MS/vaca/día	23,7	17,0	17,6
Leche, kg/vaca/día	20,2	19,2	20,2
LGC4%, kg/vaca/día	19,5a	17,8ab	16,1c
Grasa butirosa, %	3,91a	3,45b	2,56c
CLA semana 2, % AG	0,53a	0,80b	1,29c
CLA semana 5, % AG	0,41a	1,12b	1,91c

a,b,c: dentro de fila promedios con distinta letra difieren estadísticamente entre sí ( $p < 0,05$  o mayor). TMR = silaje de maíz (58,7%), grano de maíz (18%), harina de girasol (21,9%), urea (0,5%), minerales (0,9%). P+Ma = pastura de avena (73,5%), grano de maíz (24,1%), harina de pescado (1,3%), minerales (1%). P+Lip = pastura de avena (76,7%), grano de maíz (17,5%), harina de pescado (1,4%), minerales (1%), sales cálcicas de AG conteniendo 30% de C<sub>18:2</sub> (3,3%). CLA= 9-*cis*, 11-*trans* C<sub>18:2</sub>. LGC4% = leche corregida al 4% de grasa butirosa.

Fuente: Schroeder y otros, 2003.



**Cc** = ración a base de concentrados. **Sm** = silaje de maíz, **Srg** = silaje de raigrás, **Hrg** = heno de raigrás, **Hpp** = heno de pastura natural, **pp** = pastura (luego de 6 semanas de alimentación).

Fuente: Ferlay y otros, 2002.

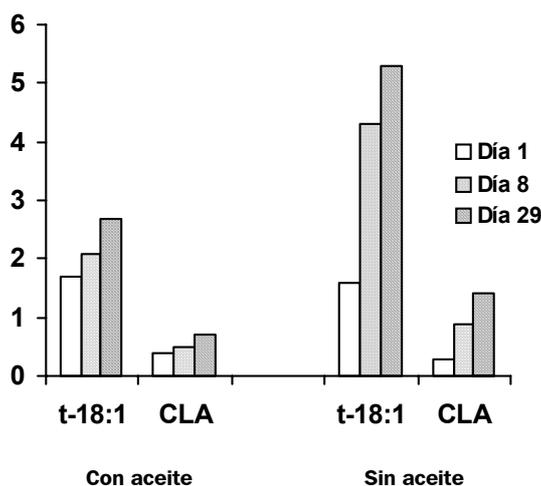
**FIGURA 4:** Efecto del tipo de forraje de base sobre las concentraciones de CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) en leche (g CLA/100 g de AG).

**Figure 4:** The effect of forage source on CLA concentration of milk fat (g CLA/100 g FA).

Altos valores de los ácidos *trans*-11 C<sub>18:1</sub> (5,8%) y CLA (1,8%) han sido encontrados en alimentación pastoril (Lawless y otros, 1999). Las concentraciones de los ácidos *trans*-11C<sub>18:1</sub> y CLA se incrementaron hasta valores de 2,1% y 1,0% a las 4 semanas de alimentación pastoril alcanzando valores de 5,1% y 1,8% luego de 8 semanas en pastoreo respecto a los valores de pre-pastoreo de 1,2% y 0,4% (Loor, Herbein y Polan, 2002c). El efecto del cambio de una alimentación no pastoril (silaje de gramíneas y concentrado) a una alimentación pastoril incrementó significativamente el contenido lácteo de *trans*-11C<sub>18:1</sub> a los 8 días (+23%) y a los 29 días de pastoreo (+59%) respecto a los valores pre-pastoreo. Los valores de CLA en leche se incrementaron en 25% y 75% respectivamente. Cuando las vacas recibieron un suplemento con lípidos (7% de aceite de soja), el contenido lácteo

de *trans*-11C<sub>18:1</sub> aumentó en un 168% a los 8 días y 231% los 29 días de pastoreo. Los valores de CLA en leche se incrementaron en un 200% y en un 367% a los 8 y 29 días de pastoreo respectivamente (Agenäs, Holtenius, Griinari y Burstedt, 2002) (Figura 5).

Los resultados de los Cuadros 6 y 7 y de la Figura 5 confirman nuestra hipótesis (Gagliostro, 2004) de que aún en condiciones de alimentación pastoril resulta necesario suplementar estratégicamente a la vaca lechera a fines de maximizar el contenido de *trans*-C<sub>18:1</sub> y CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) en la leche.



Fuente: Agenäs y otros, 2002.

**FIGURA 5:** Concentraciones (g/100 g de AG) de ácido vaccénico (*trans*-C<sub>18:1</sub>) y CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) en la leche de vaca en alimentación no pastoril (Día 1), a los 8 y a los 29 días en pastoreo con y sin suplementación lipídica (aceite de soja al 7% de la MS).

**Figure 5:** Concentrations (g/100 gFA) of milk vaccenic acid (*trans*-C<sub>18:1</sub>) and CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) in cows without pasture (Día 1) and at 8 and 29 of grazing with or without lipid supplementation (soybean oil at 7% DM intake).

Según Griinari y Bauman (1999) el efecto enriquecedor de las pasturas sobre los niveles de CLA en leche son consecuencia del consumo de ácido linolénico proveniente del pasto, su posterior conversión en *trans*-11 C<sub>18:1</sub> a nivel de rumen y la subsiguiente conversión a *cis*-9-*trans*-11 CLA por obra de la delta-9 desaturasa mamaria según el esquema presentado en la Figura 1. En el trabajo de Agenäs y otros (2002) las concentraciones de C<sub>18:2</sub> y de C<sub>18:3</sub> en las pasturas utilizadas fueron de 15% y de 48% respectivamente lo que resulta concordante con el mecanismo propuesto. Sistemas predominantemente pastoriles de alimentación son normalmente encontrados en países como Irlanda, Nueva Zelanda y Australia mientras que los sistemas estabulados son característicos de los Estados Unidos y de algunos países de Europa (Francia, Alemania, Bélgica por ejemplo).

Luego de 17 semanas de alimentación pastoril Stanton, Lawless, Kjellmer, Harrington, Devery, Connolly y Murphy (1997) encontraron que la cantidad de CLA en leche resultó dependiente de la oferta forrajera. Los menores valores de CLA se obtuvieron con una oferta de 16 kg de MS/vaca/día comparado con los registrados ante una oferta de 20 kg de MS/vaca/día. En otro trabajo analizado los mayores valores de CLA en leche fueron obtenidos con una ración 100% pastoril (2,21 g/100 g AG) en comparación a los valores registrados con 33% de pastura (0,89 g/100 g AG) ó con 66% de pastura (1,43 g/100 g AG) en la ración total (Dhiman y otros, 1999).

El tipo de pastura utilizada podría también influenciar las concentraciones de CLA en leche. No se encontraron diferencias en el contenido de CLA en leche entre los raigrases diploides (Spelga y Portstewart) y los tetraploides (Napoleon y Millenium). A pesar de similares concentraciones de los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico el contenido de CLA en la leche resultó inferior en aquéllas vacas que consumieron la variedad Napoleon (1,35 g/100 g AG)

en comparación a las que consumieron la Millenium (1,72 g/100 g AG) o la Portstewart (1,71 g/100 g AG). La variedad Spelga presentó niveles intermedios de CLA (1,54 g/100 g AG). Los cultivares de encañazón tardía incrementan con mayor intensidad los niveles de CLA en leche (Loyola, Murphy, O'Donovan, Devery, Oliveira y Stanton, 2002). Los niveles de CLA en leche resultaron mayores en vacas consumiendo pasturas polifíticas respecto a monofíticas a base de raigrás (Fievez, Vlaeminck, Raes, Chow, Desmet, Demeyer y Bruinenberg, 2002).

Una alimentación pastoril podría no ser una condición suficiente a fines de asegurar una producción estable de leche enriquecida en CLA sin recurrir a suplementaciones estratégicas. La concentración lipídica en las pasturas y el porcentaje de ácido linolénico suele ser alto en crecimientos tempranos de primavera (forrajes muy tiernos) o al final del otoño para decaer marcadamente con la madurez del forraje (Bauchart, Verité y Rémond, 1984). Resultados obtenidos en el INTA de Balcarce han demostrado una importante disminución en el aporte de los C<sub>18:2</sub> y C<sub>18:3</sub> de las pasturas al avanzar el estado vegetativo de las mismas y el consumo de pastura inmadura no incrementó el contenido de C<sub>18:2</sub> en leche con tan solo un ligero aumento del contenido en C<sub>18:3</sub>. (Gonda, Rearte, García, Santini y Maritano, 1992). Por otra parte, existen épocas del año como el invierno (y también el verano) en las cuales la participación de la pastura en la ración total de la vaca decae significativamente. El ingreso de forrajes conservados como el silaje de maíz puede atentar contra el objetivo de mantener un nivel alto y constante de CLA en leche a lo largo del año y una suplementación estratégica puede resultar por lo tanto necesaria. También en alimentación pastoril se ha demostrado que la suplementación estratégica de la vaca con alimentos que contengan AG insaturados conduce a incrementos en los valores basales de CLA (Figura 5, Cuadros 7, 8, 9 y 10).

**CUADRO 8:** Efecto de la alimentación pastoril con o sin suplementación lipídica sobre las concentraciones de CLA en leche en la vaca lechera.

**Table 8:** Effects of pasture feeding with or without lipid supplements on milk CLA concentration in dairy cows.

CLA en leche (% del total AG)			Duración	Referencias
Sin pastura	Pastura	Pastura + Lípidos		
0,3a	1,3b		n.s.	Timmen y Patton (1988)
0,3c	0,6d		4 meses	Jahreis y otros (1997)
0,4e	1,2f		3 sem	Precht y Molkentin (1997)
0,5g	1,1h		4 sem	Kelly y otros (1998b)
0,4i	0,7j		4 sem	White y otros (2001)
0,4k	1,1l/1,4m		3 sem	Loor y otros (2002d)
	0,5n	0,5o/0,8p	8 sem	Stanton y otros (1997)
	1,7q	2,5r/2,2s	3 sem	Lawless y otros (1998)
	0,8t	1,3u/1,8v	6 sem	Tesfa y otros (2001)
0,3w		1,3x	4 sem	Agenas y otros (2002)

<sup>a</sup> silaje de gramíneas o de trigo + grano como concentrado,

<sup>b</sup> pastura + earlage,

<sup>c</sup> raciones base silaje de maíz ricas en grano,

<sup>d</sup> pastura convencional de verano,

<sup>e</sup> 44% concentrado, 26% silaje de pastura, 19% maíz verde, 11% heno,

<sup>f</sup> pastura + 1,75 kg concentrado,

<sup>g</sup> Principales componentes : 24,0% silaje de maíz, 18,8% silaje de leguminosas, 4,2% heno de leguminosas, 25,0% grano de maíz húmedo, y 12,5% semilla de algodón,

<sup>h</sup> solo pastura ,

<sup>i</sup> 29,3% silaje de maíz, 29,7% silaje de alfalfa premarchitada, 17,8% semilla de algodón, 13,4 % grano de maíz, 4,6% mezcla bypass, 3,5% harina de soja, 1,7% premix,

<sup>j</sup> pastura + 4,5 kg concentrado + 1,0 kg harina de soja,

<sup>k</sup> ración completa mezclada,

<sup>l</sup> pastura + harina de soja extraída con solvente (25% del concentrado ; 7,3 kg de concentrado),

<sup>m</sup> pastura + harina de soja extraída mecánicamente (31% del concentrado; 7,3 kg de concentrado),

<sup>n</sup> solo pastura,

<sup>o</sup> pastura + 0,82 kg colza, 2,02 kg de pulpa de remolacha, 0,15 kg melaza,

<sup>p</sup> pastura + 1,65 kg colza, 1,2 kg de pulpa de remolacha, 0,15 kg melaza,

<sup>q</sup> pastura + 3,1 kg concentrado,

<sup>r</sup> pastura + 3,1 kg de poroto de soja,

<sup>s</sup> pastura + 1,45 kg de concentrado + 1,65 kg de colza,

<sup>t</sup> pastura + concentrado para tambo,

<sup>u</sup> pastura + 234 g de ácidos grasos de aceite de soja,

<sup>v</sup> pastura + 439 g de ácidos grasos de aceite de soja,

<sup>w</sup> silaje de gramíneas y concentrado,

<sup>x</sup> pastura + 385 g de aceite de soja,

n.s., no especificado.

Fuente: Chilliard y otros, 2002

**CUADRO 9:** Producción y composición de la leche en vacas lecheras en lactancia media suplementadas (AGI-Ca) o no (Control) con 0,9 kg/d de sales cálcicas insaturadas de ácidos grasos (AGI-Ca) en condiciones de alimentación pastoril.

**Table 9:** Milk production and composition in mid lactation grazing dairy cows supplemented (AGI-Ca) or not (Control) with 0,9 kg/d of calcium salts of unsaturated fatty (AGI-Ca).

	Tratamiento		p <
	Control	AGI-Ca <sup>(1)</sup>	
Leche, kg/d	20,4	21,7	0,01
LGC4%, kg/d	17,1	17,5	0,11
Grasa butirosa			
kg/d	0,61	0,60	0,22
%	3,08	2,72	0,01
Proteína en leche			
kg/d	0,70	0,74	0,01
%	3,52	3,45	0,06
Lactosa			
kg/d	0,98	1,07	0,01
%	4,94	4,93	0,74
Total AG cadena corta, %	9,03	6,51	0,01
Total AG cadena media, %	41,3	33,2	0,01
Total AG cadena larga, %	35,7	42,4	0,01
Saturados / Insaturados	2,25	1,57	0,01
<b>CLA, 9-cis 11-trans</b>	<b>1,25</b>	<b>1,97</b>	<b>0,01</b>

<sup>(1)</sup> AGI-Ca = C<sub>14:0</sub> (1,6%), C<sub>16:0</sub> (16%), C<sub>16:1</sub> (1,6%), C<sub>18:0</sub> (13,5%), C<sub>18:1</sub> (32%), C<sub>18:2</sub> (30%), C<sub>18:3</sub> (0,8%) y C<sub>20:0</sub> (0,3%). Fuente: Vidaurreta y otros (2002a).

Los ensayos pastoriles conducidos en la EEA Balcarce del INTA también demostraron que es posible incrementar los niveles basales de CLA en leche a través de la suplementación de la vaca. Sobre una base pastoril representada por verdeos de avena (MS= 22,6%; PB= 19,4%; FDN= 33,3%, azúcares solubles= 20,5%; EE= 6,0%) se estudió el efecto del reemplazo parcial de grano de maíz por 0,9 kg/d de sales cálcicas insaturadas de ácidos grasos (AGI-Ca) conteniendo un 30% de C<sub>18:2</sub> en vacas lecheras de raza Holstein con 116 días en lactancia. Algunos resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 9.

La producción de leche fue ligeramente incrementada (+6,4%) y la concentración grasa de la leche fue disminuida (-11,7%) por el aporte de AGI-Ca. La concentración de ácidos grasos de cadena corta (-28%) y media (19,6%) resultó disminuida y la de los AG de cadena larga aumentada (+18,7%). Los CLA en

leche experimentaron un importante incremento de concentración respecto al grupo control (+57,6%) observándose además una alta variación entre vacas (Figura 6).

La variación observada no fue disminuida por el aporte de los AGI-Ca conteniendo un 30% de C<sub>18:2</sub>. La existencia de interacción entre el tipo de pastura (gramíneas vs leguminosas) y la suplementación tendiente a elevar las concentraciones de CLA en leche no ha sido estudiada.

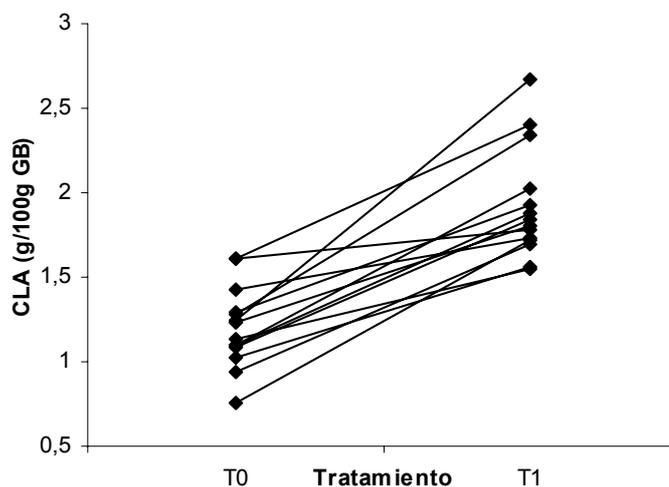
Un segundo experimento de suplementación con AGI-Ca sobre los niveles de CLA en leche fue conducido sobre pasturas de alfalfa utilizando vacas primíparas y múltiparas durante los primeros 60 días postparto. La producción de leche no difirió en las vacas múltiparas (25,8 kg/vaca/d) pero fue incrementada (+8,8%) por las AGI-Ca en las primíparas (22,2 kg/vaca/d) respecto a las control (20,4 kg/vaca/d). La producción de LGC4% fue infe-

**CUADRO 10:** Perfil de ácidos grasos en la leche de vacas multíparas (VM) o primíparas (VP) suplementadas (AGI-Ca) o no (Control) con 0,8 kg por día de sales cálcicas de ácidos grasos.

**Table 10:** Milk fatty acid profile in multiparous (VM) or primiparous (VP) cows supplemented (AGI-Ca) or not (Control) with 0,8 kg/d of calcium salts of unsaturated fatty (AGI-Ca).

	Día 30 postparto				Día 60 postparto			
	Tratamiento		Tratamiento		Tratamiento		Tratamiento	
	Control	AGI-Ca	Control	AGI-Ca	Control	AGI-Ca	Control	AGI-Ca
	VM	VP	VM	VP	VM	VP	VM	VP
AG (%)								
C4:0	3,44	3,57a	3,39	3,09	2,49	2,34a	2,33	1,80b
C6:0	2,17a	2,07a	1,72b	1,42b	1,74a	1,62a	1,30b	0,90b
C8:0	1,26a	1,13a	0,83b	0,62b	1,08a	1,02a	0,79b	0,46b
C10:0	2,34a	1,94a	1,39b	0,98b	2,38a	2,23a	1,50b	0,98b
C10:1	0,24a	0,19a	0,13b	0,10b	0,23a	0,21a	0,11b	0,06b
C12:0	2,60a	2,16a	1,59b	1,17b	2,66a	2,55a	1,74b	1,17b
C14:0	8,75a	7,59a	5,92b	4,61b	9,26a	8,87a	6,58b	4,87b
C16:0	25,9a	23,2a	21,9b	19,7b	24,7a	23,7a	21,1b	20,1b
C18:0	9,96	11,3	10,4	11,2	10,7	11,5	10,8	12,2
C18:1	28,2a	31,0a	31,8b	35,2b	21,0a	21,8a	24,0b	27,2b
C18:2	5,30a	5,4a	10,8b	10,3b	2,82a	2,75a	8,00b	8,18b
CLA	nd	nd	nd	nd	1,82a	1,90a	2,05b	1,97a
C18:3	3,64a	2,97a	4,44b	4,27b	0,89a	0,99a	1,25b	1,22b
Sat/Insat	58:41a	55:44a	49:50b	45:54b	66:33a	65:35a	56:44b	52:48b

La interacción tratamiento por días de lactancia no fue significativa y la interacción tratamiento x categoría lo fue sólo para el C<sub>18:2</sub>. nd = no determinado. Fuente: Gagliostro y Schroeder (no publicado).



Fuente: Gagliostro y otros (no publicado).

**FIGURA 6:** Variación individual en la concentración de CLA (9-cis, 11-trans C18:2) en la leche de vacas control (T0) o suplementadas con 0,9 kg/día de sales cálcicas de ácidos grasos (T1) conteniendo un 30% de C18:2.

**Figure 6:** Individual variation in the milk content of CLA (9-cis, 11-trans C18:2) in mid lactation grazing dairy cows supplemented (AGI-Ca) or not (Control) with 0,9 kg/d of calcium salts of unsaturated fatty (AGI-Ca).

rior en las vacas multíparas suplementadas con AGI-Ca (21,2 kg/vaca/d) respecto a las control (24,5 kg/vaca/d) debido a un menor contenido graso de la leche (35,3 vs 32,2 g/kg). En las vacas primíparas no se registraron diferencias en la producción de LGC4% o de GB. El perfil de AG obtenido a los 30 y 60 días de lactancia se presenta en el Cuadro 10.

La suplementación con AGI-Ca redujo la concentración de los AG sintetizados de novo ( $C_{4:0}$  a  $C_{14:1}$ ) e incrementó la de los AG insaturados ( $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$  y  $C_{18:3}$ ). A los 60 días de lactancia la concentración basal de *cis*-9, *trans*-11 CLA obtenida en pasturas de alfalfa (1,86 g/100 g de AG) resultó un 49% más alta en comparación a la observada en verdeos de avena (1,25g/100 g de AG, Cuadro 9). El aporte de AGI-Ca incrementó las concentraciones basales de CLA en tan sólo un 12,6% sólo en las vacas multíparas. La reducción observada en los AG saturados ( $C_{12:0}$ ,  $C_{14:0}$  y  $C_{16:0}$ ) es importante ya que como ya fue comentado estos AG incrementan los niveles plasmáticos de LDL colesterol. La eventual interacción entre tipo de pastura y la respuesta a la suplementación sobre los niveles de CLA en leche es un aspecto importante a estudiar con más detalle.

Como ya fue comentado, el aporte de granos oleaginosos ricos en  $C_{18:2}$  puede constituir una alternativa de suplementación para incrementar los valores de CLA en leche. El aporte de 2 kg de grano de girasol molido en vacas lecheras en pastoreo de avena disminuyó la concentración de AG de cadena corta ( $C_6$  a  $C_{12}$ ) y media ( $C_{14}$  a  $C_{17}$ ) e incrementó la concentración de ácidos grasos de 18C. La única excepción fue la concentración del  $C_{18:3n3}$  que resultó mayor en el tratamiento control probablemente a causa del mayor consumo de pastura registrado. No se detectaron incrementos significativos en la concentración de CLA en la leche ante la suplementación con semilla de girasol. La relación entre los AG saturados e insaturados resultó menor con el aporte de girasol (Cuadro 11).

La disminución en la concentración de los ácidos grasos de cadena corta y media en las vacas que recibieron la semilla de girasol estaría explicada por una inhibición de la síntesis de novo mamaria ya que la actividad de la enzima acetil CoA carboxilasa (factor limitante de la síntesis de novo) es inhibida por los ácidos grasos de cadena larga o sus ésteres de CoA (Christie, 1981; Chilliard, Sauvant y Morhand-Fehr, 1981; Garnsworthy, 1997). La síntesis de  $C_{4:0}$  resulta en cambio menos dependiente de la actividad de la acetil CoA carboxilasa ya que parte del mismo puede ser sintetizado por una vía malonil CoA independiente (Chilliard y otros, 1981). Este hecho resulta consistente con la ausencia de efecto de los lípidos del girasol sobre la concentración de  $C_{4:0}$  (Cuadro 11). El incremento en la concentración y de los AG insaturados, así como también la reducción en la relación saturados/insaturados observado en el tratamiento girasol estaría indicando un aumento en la captura de los AG exógenos aportados por la oleagínosa. Estos efectos sobre el perfil de AG en leche coinciden con lo informado en otro ensayo precedente de suplementación con semilla de girasol a vacas lecheras en pastoreo en el cual el suministro de 1,4 kg/día de semilla redujo significativamente la concentración de  $C_6$  a  $C_{16}$  (48,3 vs 37,5,  $p < 0,05$ ) aumentando la de  $C_{18:0}$  a  $C_{18:2}$  (39,6 vs 51,3,  $p < 0,05$ ) (Rearte, Santini, García, Maritano y Elizalde, 1989). El aporte de semilla de soja o de colza a vacas lecheras en pastoreo también disminuyó el contenido de  $C_6$  a  $C_{14}$  y aumentó significativamente el contenido de  $C_{18:0}$ ,  $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$  y  $C_{18:3}$  (Murphy, Connolly y McNeill, 1995). Dado que el girasol contiene cantidades muy bajas de  $C_{18:0}$  (3,34%), el incremento de  $C_{18:0}$  en el T2 sería la resultante de una importante biohidrogenación del  $C_{18:2}$  del girasol a nivel ruminal y su ulterior transferencia a la glándula mamaria. La concentración total de ácido oleico se incrementó en un 32,4% en las vacas suplementadas con semilla

**CUADRO 11:** Valores promedio del perfil de ácidos grasos de la leche en vacas control (Control) o suplementadas con 2 kg de semilla molida de girasol (Girasol).

**Table 11:** Milk fatty acid profile in control (Control) cows or in cows that received 2 kg/d of rolled sunflower seed (Girasol).

AG, g/100g AG	Control	Girasol	P<
C4:0	2,63	2,65	0,9144
C6:0	1,97	1,72	0,0625
C8:0	1,28	0,99	0,0019
C10:0	2,91	1,99	0,0001
C10:1	0,37	0,24	0,0001
C12:0	3,51	2,30	0,0001
Total cadena-corta	12,69	9,92	0,0009
C14:0	11,05	7,88	0,0001
C14:1	1,15	0,81	0,0010
C14:0/C14 :1	10,03	10,11	0,9233
C15:0	1,13	0,84	0,0001
C16:0	23,28	18,47	0,0001
C16:1	1,64	1,32	0,0019
C16:0/C16:1	14,46	14,26	0,8044
C17:0	0,46	0,35	0,0001
Total cadena-media	38,73	29,68	0,0001
C18:0	11,17	15,08	0,0001
C18:1n9 trans	3,58	4,68	0,0002
C18:1n9cis	22,98	30,35	0,0001
C18:2n6trans	0,32	0,37	0,0542
C18:2n6cis	1,28	2,06	0,0001
C18:3n3	0,87	0,60	0,0001
CLA	1,56	1,69	0,2818
C22:0	0,08	0,09	0,2244
C20:3n6	0,06	0,05	0,1069
C20:4n6	0,12	0,11	0,0537
C20:5n3	0,18	0,11	0,0001
C22:5n3	0,15	0,10	0,0001
C18:0/C18:1	0,42	0,43	0,6412
Otros			
Total cadena larga	42,41	55,34	0,0001
Saturados : insaturados			
Relación AG	2,03	1,47	0,0001

Fuente: Gagliostro y otros, 2004.

de girasol que recibieron unos 0,15 kg/día de C<sub>18:1</sub> suplementario. Este resultado resulta comparable al incremento de 25,8% obtenido por Lawless y otros (1998) ante el aporte de 0,11 kg/día de C<sub>18:1</sub> suplementario bajo la forma de grano de soja molido a vacas lecheras en pastoreo. Este efecto del grano de girasol es de importancia sobre la calidad nutracéutica de la leche si consideramos que el

aporte de manteca fabricada a partir de leche enriquecida en AG monoinsaturados se tradujo en cambios saludables en las fracciones lipídicas sanguíneas de pacientes con hipercolesterolemia (O'Callaghan, Stanton, Rafferty, Canton, Murphy, Connolly y Horgan, 1996). La ausencia de un incremento significativo en la concentración de CLA en leche ante la suplementación con semilla de girasol fue un resul-

tado inesperado. Los altos valores promedio de CLA registrados en el tratamiento control (1,56 g/100 g de AG) y la alta variabilidad asociada a dicho parámetro en ambos tratamientos explicarían en parte el resultado obtenido. En base a la composición química de la semilla de girasol y su contenido promedio de  $C_{18:2}$  (70%) puede estimarse que el aporte suplementario de  $C_{18:2}$  en el presente ensayo resultó de 0,583 kg/día. Esta cantidad resulta 2,29 veces superior al promedio (0,255 kg/día) utilizado en los ensayos precedentes (Vidaurreta, Gagliostro, Schroeder y Eyherabide, 2002a; Vidaurreta, Gagliostro, Schroeder, Rodríguez y Gatti, 2002b; Schroeder y otros, 2003). Podría hipotetizarse entonces que un exceso de  $C_{18:2}$  en el tratamiento girasol pudo estar involucrado en la falta de efecto significativo sobre los tenores de CLA en leche debido a su alta capacidad inhibidora de la actividad microbiana (Enjalbert, 1995). La suplementación con 1,65 kg de grano de colza (unos 0,13 kg/día de  $C_{18:2}$ ) incrementó significativamente el tenor de CLA en leche respecto al grupo de vacas que recibieron sólo pastura. Dicho incremento resultó en cambio no significativo ante el aporte de 0,82 kg/día de colza que representó unos 66 gramos de  $C_{18:2}$  (Stanton y otros, 1997). El aporte de 0,24 kg/día de  $C_{18:2}$  bajo la forma de grano de colza (3,0 kg/día) o de 0,29 kg/día de  $C_{18:2}$  utilizando 3,1 kg/día de grano de soja incrementó significativamente la concentración de CLA en leche luego de 11, 18 y 32 días de suplementación respecto al grupo de vacas control (Lawless y otros, 1998). A los 18 días de suplementación, los valores de CLA en leche fueron de 2,49 y de 2,23 g/100 g de AG en los tratamientos colza y soja respectivamente valores que resultaron superiores al de las vacas control (1,74 g/100 g de AG) (Lawless y otros, 1998). Los resultados precedentes obtenidos en vacas lecheras en pastoreo parecen sugerir que el aumento de CLA en leche se verifica cuando el aporte de  $C_{18:2}$  suplementario osciló entre los 0,13 a los 0,29 kg/día. En el

presente ensayo, un hipotético exceso en el aporte suplementario de  $C_{18:2}$  como explicación adicional a la ausencia de incremento significativo de los CLA en leche de las vacas suplementadas con semilla de girasol no puede descartarse. La suplementación con semilla de girasol contribuyó a obtener una leche de mayor calidad dietética con propiedades benéficas para la salud del consumidor. Dicho incremento en el valor nutracéutico se manifestó a través de una disminución en la concentración de ácidos grasos saturados de cadena media generadores de colesterol ( $C_{12}$  a  $C_{17}$ ), un incremento en las concentraciones y secreción de monoinsaturados ( $C_{18:1}$ ), una disminución en la relación AG saturados/insaturados y valores relativamente elevados de CLA. La alta concentración de CLA en las vacas control y la alta variabilidad observada entre vacas para el citado parámetro serían las principales causas para explicar la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos. Un eventual exceso en el aporte suplementario de  $C_{18:2}$  no puede sin embargo descartarse como factor explicativo adicional. Resulta necesario realizar ensayos de tipo dosis-respuesta al suministro de  $C_{18:2}$  combinados con muestreos secuenciales a fines de determinar la mejor combinación posible de dosis/tiempo a la hora de maximizar el contenido y secreción de CLA en leche. La importante variabilidad entre individuos detectada en el presente ensayo y en trabajos precedentes (Vidaurreta y otros, 2002b; Schroeder y otros, 2003; Lawless y otros, 1998; Bauman, Barbano, Dwyer y Griinari, 2000) sugiere también la importancia de avanzar en la obtención de marcadores moleculares indicativos de una alta capacidad de generación de CLA. Este procedimiento sumado a manipulaciones precisas en la nutrición de las vacas más aptas del rodeo permitirán ser más eficientes a la hora de generar productos lácteos diferenciados por sus propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores.

## 7. Conclusiones

Los trabajos revisados demuestran que el aporte de aceite libre de oleaginosas ricas en  $C_{18:2}$  es la vía más efectiva para incrementar los valores de CLA en leche. Resultará necesario obtener un rápido y eficaz contacto del aceite con las bacterias ruminales a fin de favorecer la acumulación ruminal del ácido *trans-11*  $C_{18:1}$  precursor de los CLA. Inhibidores naturales de la biohidrogenación total del *trans-11*  $C_{18:1}$  a nivel de rumen como los ácidos  $\omega$ -3-EPA y sobre todo  $\omega$ -3-DHA pueden potenciar el efecto citado. El aceite puede ser vehiculizado a través del aporte de granos oleaginosos (soja, colza, girasol). El tratamiento de dichos granos con calor y presión (extrusado) previo al suministro sería una vía idónea para alcanzar los objetivos alto CLA. Los granos oleaginosos no extrusados deberán ser finamente molidos y mezclados con los otros componentes del concentrado a fines de facilitar un contacto rápido y eficaz entre el aceite y las bacterias ruminales. Estos conceptos serán particularmente importantes cuando las vacas se encuentren en una condición de alimentación pastoril debido a que la tasa de pasaje resulta más rápida y la población microbiana involucrada en el proceso de biohidrogenación puede verse afectada. La suplementación con grasas de origen animal no resultará efectiva para incrementar los niveles de CLA en leche debido a su pobreza en ácidos grasos poliinsaturados. La alimentación pastoril resulta predisponente a obtener leches enriquecidas en dienos conjugados (CLA) los que pueden aún ser amplificados mediante una suplementación estratégica de la vaca con alimentos que contengan AG insaturados. El suministro de dichos AG insaturados bajo la forma de sales cálcicas inertes en rumen ha dado excelentes resultados en ensayos de alimentación pastoril llevados a cabo en la EEA balcarce del INTA. Lamentablemente, dichos productos no se encuentran ya en el mercado Argentino. La importante variabilidad detectada entre las vacas resalta también la importancia de avanzar en la obtención de marcadores moleculares indicativos de una alta

capacidad de generación de CLA. Este procedimiento sumado a manipulaciones precisas en la nutrición de las vacas más aptas del rodeo permitirán ser más eficientes a la hora de generar productos lácteos diferenciados por sus propiedades benéficas sobre la salud de los consumidores.

## 8. Bibliografía

- AbuGHAZALEH, A.A., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R., KALSCHUR, K.F. y WHITLOCK, L.A. 2002a. Fatty acids profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci.*, 85, 2266-2276.
- , SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R. y WHITLOCK, L.A. 2002b. Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *J. Dairy Sci.*, 85, 624-631.
- y JENKINS, T.C. 2004a. Short communication: docosahexaenoic acid promotes vaccenic acid accumulation in mixed ruminal cultures when incubated with linoleic acid. *J. Dairy Sci.* 87, 1407-1050.
- y JENKINS, T.C. 2004b. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci.* 87, 645-651.
- AGENÁS, S., HOLTENIUS, K., GRIINARI, M. y BURSTEDT, E. 2002. Effects of turnout to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. *Acta Agric. Scand. , Sect. A, Animal Sci.* 52:25-33.
- AWAD, A.B., HERMANN, T, FINK, C.S. y HORVATH, P.J. 1995. 18:1 n7 Fatty acids inhibit growth and decreased inositol phosphate release in HT-29 cells compared to n-9 fatty acids. *Cancer Lett.* 91:55-61.
- BAER, R.J., RYALI, J., SCHINGOETHE, D.J., KASPERSON, K.M., DONOVAN, D.C., HIPPEN, A.R. y FRANKLIN, S.T. 2001. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci.* 84, 345-353.
- BANNI, S., ANGIONI, E., MURRU, E., CARTA G., MELIS, M.P. , BAUMAN, D., DONG, Y. e IP, C. 2001. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and

- suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr. Cancer* 41, 91-97.
- BAUCHART, D., VERITÉ, R. y RÉMOND, B. 1984. Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (Suppl.): 330-331.
- BAUMAN, D.E., BARBANO, D.M., DWYER, D.A. y GRIINARI J.M. 2000. Technical Note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *J. Dairy Sci.*, 83:2422-2425.
- , CORI, B.A., BAUMGARD, L.H. y GRIINARI, J.M. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. In: P.C. Garnsworthy and J. Wiseman (eds.) *Recent advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp 221-250.
- BIOCLA 2003-2006. Production of CLA-enriched dairy products by natural means. A European Commission Shared Cost Research and Technological Development Project funded within the 5 th Framework Programme, Quality of life and management of living resources, key action I: Food nutrition and health. Contract NE QLKI-2002-02362.
- CHILLIARD, Y., SAUVANT, D. y MORHAND-FEHR, P. 1981. Synthèse des matières grasses du lait chez les ruminants. Incidence de la conduite alimentaire et de l'utilisation des réserves corporelles. In: *Physiologie de la sécrétion et de l'éjection du lait*. ENSA de Rennes, 45 pág.
- , FERLAY, A., MANSBRIDGE, R.M. y DOREAU M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49, 181-205.
- , FERLAY, A. y 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. *Liv. Prod. Sci.*, 70,31-48.
- , FERLAY, A., LOOR, J., ROUEL, J. y MARTIN, B. 2002. Trans and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital. J. Anim. Sci.* (1), 243-254.
- , FERLAY, A., ROUEL, J. y LAMBERET G., 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86, 1751-1770.
- CHOUINARD, P.Y., CORNEAU, L., KELLY, M.L., GRIINARI, J.M. y BAUMAN, D.E. 1998. Effect of dietary manipulation on milk conjugated linoleic acid concentrations. *J. Dairy Sci.* 81, abstr. 233.
- , CORNEAU, L. BUTLER, W.R., CHILLIARD, Y., DRACKLEY, J.K. y BAUMAN, D.E. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84, 680-690.
- CHRISTIE, W.W. 1981. The effects of diets and other factors on the lipid composition of ruminant tissue and milk. Pages 193-226. In: *Lipid metabolism in ruminant animals*. Christie, W.W. (eds.), New York: Pergamon Press.
- DHIMAN, T.R., ANAND, G.R., SATTER, L.D. y TARIZA, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146-2156.
- , SATTER, L.D., PARIZA, M.W., GALLI, M.P. ALBRIGTH, K. y TOLOSA, M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acids. *J. Dairy Sci.* 83, 1016-1027.
- DONOVAN, D.C., SCHINGOETHE, D.J., BAER, R.J., RYALI, J., HIPPEN, A.R. y FRANKLIN, S.T. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 2620-2628.
- ENJALBERT, F. 1995. Les lipides dans la alimentation des ruminants. 1. Principales sources et conséquences sur la digestion ruminale. *Revue Méd. Vet.* 146 (5): 299-308.
- FERLAY, A., MARTIN, B., PRADEL, P.H., CAPITAN, P., COULON, J.B. y CHILLIARD Y. 2002. Effects of the nature of forages on cow milk fatty acids having a positive role on human health. In: J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe and G. Lemaire (Editors), *Multi-Function Grasslands: Proceedings of the 19. General Meeting of the European Grassland Federation*. La Rochelle (FRA)., 2002 05 27-30, *Grassland Science in Europe*, 7, 556-557.

- FIEVEZ, V., VLAEMINCK, B., RAES, K., CHOW, T.T., DE SMET, S., DEMEYER, D. y BRUINENBERG, M.H. 2002. Dietary and milk fatty acid composition in relation to the use of forages of semi-natural grasslands. Proc. 19<sup>th</sup> Gen. Meet. Europ. Grassland Fed. Eds. J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe, G. Lemaire (Eds.), Reading, U.K., 7:558-559.
- GAGLIOSTRO, G.A. 2004. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en derivados lácteos de calidad diferenciada. PICT 2002 08-11043. SeCyT.
- GARNSWORTHY, P.C. 1997. Fats in dairy cow diets. Pages 87-103. In: Recent advances in animal nutrition. P. C. Garnsworthy and D. J. A. Cole, ed. University of Nottingham.
- GONDA, H.L., REARTE, D.H., GARCÍA, P.T., SANTINI, F.J. y MARITANO, M. 1992. Efecto del contenido de lípidos de la pastura sobre la composición de la grasa de la leche. Rev.Arg.Prod.Anim. 12(3): 235-251.
- GRIINARI, J.M., DWYER, D.A., McGUIRE, M.A., BAUMAN, D.E., PALMQUIST, D.L. y NURMELA, K.V.V. 1998. Trans octadecaenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 81, 1251-1261.
- y BAUMAN, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. Pages 180-200 en Advances in Conjugated Linoleic Acid Research. Volume 1. M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Framer, M.W. Pariza and G.J. Nelson, eds. AOCS Press, Champaign, IL.
- , BAUMAN, D.E., CHILLIARD, Y., PERAJOKI, P. y NURMELA, K. 2000. Dietary influences on conjugated linoleic acids in bovine milk fat. Abstracts. 3rd Meeting of the European Section of AOCS, June 18-21, Helsinki, p.87.
- y SHINFIELD, K.J. 2002. Effect of diet on rumen biohydrogenation and composition of milk. Atti dei Convegni Scientifici Cheese art 2002. 5 al 7 de junio de 2002. Castello di Donnafugata, Ragusa, Italia. pp 207-216.
- KELLY, M.L., BERRY, J.R., DWYER, D.A., GRIINARI, J.M., CHOUINARD, P.Y., Van AMBURGH, M.E. y BAUMAN, D.E. 1998a. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. J. Nutr. 128, 881-885.
- , KOLVER, E.S., BAUMAN, D.E., Van AMBURGH, M.E. y MULLER, L.D. 1998b. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. J. Dairy Sci. 81,1630-1636.
- KOLVER, E.S. 1997. Supplemental feeding strategies to increase the utilization of pasture nitrogen by high producing dairy cows. Ph.D. Diss., Pennsylvania State Univ., State College.
- KUDZDZAL-SAVOIE, S. y KUDZDZAL, W. 1961. Influence de la mise à l'herbe des vaches laitières sur les indices de la matière grasse du beurre et sur les teneurs en différents cides gras polyinsaturés. Ann. Biol. Anim. Bioch. Bioph., 1, 47-69.
- LAL, D. y NARAYANAN, K.M. 1984. Effect of lactation number on the polyunsaturated fatty acids and oxidative stability of milk fats. Indian J. Dairy Sci., 37, 225-229.
- LAWLEES, F., MURPHY, J.J., HARRINGTON, D., DEVERY, R. y STANTON, C. 1998. Elevation of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. J. Dairy Sci. 81: 3259-3267.
- , STANTON, C., L'ESCOPEL, P., DEVERY, R., DILLON, P. y MURPHY, J.J. 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11 Conjugated linoleic acid content. Livest. Prod. Sci. 62, 43-49.
- LOCK, A.L. y GARNSWORTHY, P.C. 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cow's milk. Anim. Sci. 74, 163-176.
- LOOR, J.J., FERLAY, A., OLLIER, A., DOREAU, M. y CHILLIARD, Y., 2002b. Conjugated linoleic acids (CLA), trans fatty acids, and lipid content in milk from Holstein cows fed a high or low fiber diet with two levels of linseed oil. J. Dairy Sci. 85 (Suplem. 1), 297.
- , HERBEIN, J.H. y POLAN, C.E. 2002c. Trans 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. J.Dairy Sci. 85, 1197-1207.
- , UEDA, K., FERLAY, A., CHILLIARD, Y. y DOREAU, M. 2002d. Patterns of biohydrogenation and duodenal flow of trans fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) are alte-

- red by dietary fiber level and linseed oil in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85 (Suplem. 1), 314.
- LOYOLA, V.R., MURPHY, J.J., O'DONOVAN, M., DEVERY, R., OLIVEIRA, M.D.S. y STANTON, C. 2002. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows on different ryegrass cultivars. *J. Dairy Sci.* 85 (Suplem. 1), 313.
- MURPHY, J.J., CONNOLLY, J.F. y McNEILL, G.P. 1995. Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soybeans and rapeseeds to dairy cows on pasture. *Livest. Prod. Sci.* 44, 13-25.
- , McNEILL, G.P., CONNOLLY, J.F. y GLEESON, P.A. 1990. Effect on cow performance and milk fat composition of including full fat soybean and rapeseed in the concentrate mixture for lactating dairy cows. *J. dairy Res.* 57, 295-306.
- O'CALLAGHAN, D., STANTON, S., RAFFERTY, M., CANTON, J., MURPHY, D., CONNOLLY, B. y HORGAN, J. 1996. Are butter and cheese rich in monounsaturates beneficial in hyperlipidaemic patients? *J. Cardiovasc. Risk* 3,441-445.
- OFFER, N.W., MARSDEN, M., DIXON, J., SPEAKE, B.K. y THACKER, F.E. 1999. Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Anim. Sci.* 69, 613-625.
- PARODI, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, 1339-1349.
- , 2003. Conjugated linoleic acid in food. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 101-122.
- RAMASWAMY, N., BAER, R.J., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEL, A.R., KASPERSON, K.M. y WHITLOCK, L.A. 2001a. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J. Dairy Sci.* 84, 2144-2151.
- , BAER, R.J., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEL, A.R., KASPERSON, K.M. y WHITLOCK, L.A. 2001b. Short communication: consumer evaluation of milk high in conjugated linoleic acid. *J. Dairy Sci.* 84, 1607-1609.
- REARTE, D.H., SANTINI, F.J., GARCÍA, P.T. MARITANO, M y ELIZALDE, J.C. 1989. Efectos de la suplementación de semilla de girasol sobre la producción y composición de la leche. *Rev. Arg.Prod.Anim.* 9(Supl. 1):6.12.
- RIEL, R.R. 1963. Physico-chemical characteristics of canadian milk fat. Unsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci.* 46, 102-106.
- SCHREZENMEIR, J. y JAGLA, A. 2000. Milk and diabetes. *Journal of the Am. College of Nutrition*, 19 (2), 176s-190S.
- SCHROEDER, G.F., DELAHOY, J.E., VIDAURRETA, I., BARGO, F. GAGLIOSTRO, G.A. y MULLER, L.D. 2003. Milk fatty acid composition of dairy cows fed a total mixed ration or grazing pasture and supplemented with concentrates replacing corn grain with fat. *J. Dairy Sci.* 86,3237-3248.
- , GAGLIOSTRO, G.A., BARGO, F., DELAHOY, J.E. y MULLER, L.D. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science* 86 (1-3),1-18.
- SHANTHA, N.C., RAM, L.N., O'LEARY, J., HICKS, C.L. y DECKER, E.A. 1995. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.*, 60, 694-697.
- SHINGFIELD, K.J., AHVENJÄRVI, V., ÄRÖLÄ, A., NURMELA, K.V.V., HUHTANEN, P. y GRINARI, J.M. 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science*, 77, 165-179.
- SOLOMON, R., CHASE, L.E., BEN GHEDALIA, D. y BAUMAN, D.E. 2000. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 83, 1322-1329.
- STANTON, C., LAWLESS, F., KJELLMER, G., HARRINGTON, D., DEVERY, R., CONNOLLY, J.F. y MURPHY, J. 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.* 62, 1083-1086.
- , MURPHY, J., McGRATH, E. y DEVERY, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L. Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 123-145.

- VIDAURRETA, L.I., GAGLIOSTRO, G.A., SCHROEDER, G.F. y EYHERABIDE, G. 2002a. Partial replacement of corn grain by calcium salts of unsaturated fatty acids in grazing dairy cows: 1- Dry matter intake, milk production and composition. (Abstract). J. Dairy Sci. 85,311.
- , GAGLIOSTRO, G.A., SCHROEDER, G.F., RODRIGUEZ, A. y GATTI, P. 2002b. Partial replacement of corn grain by calcium salts of unsaturated fatty acids in grazing dairy cows: 2- Milk fatty acid composition (Abstract). J. Dairy Sci. 85, 311-312.
- WHITE, S.L., BERTRAND, J.A., WADE, M.R., WASHBURN, S.P., GREEN, Jr. J.T. y JENKINS, T.C. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein Cows consuming pasture or a total mixed ration. J. Dairy Sci., 84, 2295-2301.
- WHITLOCK, L.A., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R., KALSCHUR, K.F., BAER, R.J., RAMASWAMY, N. y KASPERSON, K.M. 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. J. Dairy Sci. 85, 234-243.