

EFFECTO DEL NIVEL DE CONCENTRADO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE VACAS HOLSTEIN EN PASTOREO

EFFECT OF LEVEL OF CONCENTRATE ON MILK FATTY ACID PROFILE FROM GRAZING HOLSTEIN COWS

Horacio **Castro-Hernández**¹, F. Filiberto **González-Martínez**¹,
I. Arturo **Domínguez-Vara**¹, J. Manuel **Pinos-Rodríguez**², Ernesto **Morales-Almaráz**^{1*}, Rodolfo **Vieyra-Alberto**¹

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100 Ote. Centro. Toluca, México. (maernesto@hotmail.com). ²Centro de Biotecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.

RESUMEN

El contenido de ácido linoléico conjugado (CLA c9 t11) en leche depende principalmente de la producción en el rumen de ácido vaccénico, el cual está influenciado por el aporte de los ácidos linoléico y linolénico en la dieta. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del nivel de concentrado en la producción, composición y perfil de ácidos grasos de la leche de nueve vacas Holstein en praderas asociadas de gramíneas y leguminosas. El diseño experimental fue un cuadro latino 3×3 y los tratamientos fueron: 1) 8 kg concentrado y 8 h en la pradera (8c); 2) 5 kg concentrado y 12 h en la pradera (5c), y 3) 3 kg de concentrado y 12 h en la pradera (3c). Los datos se analizaron con el procedimiento MIXTO de SAS y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). La producción de leche y el contenido de grasa, proteína y lactosa fueron mayores ($p \leq 0.05$) en el tratamiento 8c. La concentración de los ácidos grasos (AG) láurico, mirístico y palmítico se incrementó en la leche ($p \leq 0.05$) al aumentar el nivel de concentrado. El contenido de los AG de cadena larga ($\geq C18$) fue mayor ($p \leq 0.05$) con 3 kg de concentrado, excepto para C18:2 c9c12. La reducción del concentrado suministrado a vacas Holstein en praderas asociadas disminuye el contenido de AG saturados, pero aumenta el contenido de los insaturados, especialmente de los ácidos oleico, linolénico, vaccénico y CLA c9 t11.

Palabras clave: bovinos, ácido linoléico conjugado, leche, pastoreo.

ABSTRACT

The content of conjugated linoleic acid (c9 t11 CLA) in milk depends mainly on the production in rumen of vaccenic acid, which is influenced by the supply of linoleic and linolenic acids in the diet. The aim of this study was to evaluate the effect of the level of concentrate on the production, composition and fatty acid profile of milk from nine Holstein cows in prairies with grass and legumes. The experimental design was a 3×3 Latin square and the treatments were: 1) 8 kg concentrate and 8 h on the prairie (8c); 2) 5 kg concentrate and 12 h on the prairie (5c), and 3) 3 kg of concentrate and 12 h on the prairie (3c). The data were analyzed with the SAS MIXED procedure and treatment means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). Milk yield and fat, protein and lactose content were higher ($p \leq 0.05$) in 8c treatment. The concentration of lauric, myristic and palmitic fatty acids (FA) increased in milk ($p \leq 0.05$) with the increase of the concentrate level. The content of long-chain FAs ($\geq C18$) was higher ($p \leq 0.05$) with 3 kg of concentrate, except for C18:2 c9c12. The reduction of the concentrate supplied to Holstein cows in prairies decreased the content of saturated FA, but increased the content of the unsaturated, particularly oleic, linolenic, vaccenic and c9 t11 CLA acids.

Keywords: cattle, conjugated linoleic acid, milk, grazing.

INTRODUCTION

Milk fat contains 70 to 75 % of saturated (SFA) fatty acid (FA) (Lock and Shingfield, 2004), which are associated with hypercholesterolemic and heart disease effects, especially the lauric, myristic and palmitic acids (Williams, 2000); however fat milk contains 5 % of polyunsaturated FA (PYFA) (Lock and Shingfield,

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: mayo, 2014. Aprobado: noviembre, 2014.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 48: 765-775. 2014.

INTRODUCCIÓN

La grasa de la leche contiene 70 a 75 % de ácidos grasos (AG) saturados (AGS) (Lock y Shingfield, 2004), los cuales están relacionados con efectos hipercolesteromiantes y enfermedades cardíacas, en especial los ácidos láurico, mirístico y palmítico (Williams, 2000); sin embargo la grasa de la leche también contiene 5 % de AG poliinsaturados (AGPI) (Lock y Shingfield, 2004) como el ácido linoleico con acción hipocolesteromiante en seres humanos (Grundy, 1994) y el isómero C18:2 c9 t11 (ruménico) del ácido linoleico conjugado, con propiedades anticarcinogénicas en modelos animales (Ip *et al.*, 1999; Corl *et al.*, 2003) y posiblemente en humanos (Belury, 2002). Por lo tanto, es importante aumentar la concentración de AGPI y disminuir la de AGS en la leche, productos lácteos y otros alimentos para consumo humano.

El perfil lipídico de la leche es afectado por la dieta (Shingfield *et al.*, 2005), la raza animal (Carroll *et al.*, 2006), la época del año (Lock y Garnsworthy, 2003), o la etapa de lactancia (Auldist *et al.*, 1998). Además, la concentración de AGPI aumenta con el pastoreo (Kelly *et al.*, 1998), el tipo de ensilado (Dewhurst *et al.*, 2003), la cantidad de concentrado en la dieta (Bargo *et al.*, 2006), la fuente de granos (Wijesundera *et al.*, 2003) y el suministro de aceites de oleaginosas (Khanal *et al.*, 2002) o de aceites de pescado (Abu-Ghazaleh *et al.*, 2003).

Según Albarrán-Portillo (1999) y Peña-Carmona (1999), citados por Arriaga-Jordán *et al.* (2001), el desempeño productivo es mejor en vacas lecheras alimentadas con forrajes y cantidades limitadas de concentrado (3.0 kg vaca⁻¹ d⁻¹), comparado con la alimentación tradicional de cantidad baja de forraje y alta de concentrado (de 5.0 a 9.0 kg vaca⁻¹ d⁻¹). De acuerdo con Arriaga-Jordán *et al.* (2001), la limitación del aporte de concentrado complementario al pastoreo en el ganado lechero puede cubrir los requerimientos nutricionales de las vacas.

En el altiplano de México, la evaluación de estrategias de alimentación en ganado lechero está dirigida hacia el estudio del desempeño económico y productivo principalmente, y está basada en el pastoreo de praderas mejoradas (*Lolium perenne* y *Trifolium repens*) y un suplemento de concentrado comercial (Arriaga-Jordán *et al.*, 2001; 2002) y de ensilados (Garduño Castro *et al.*, 2007; Hernández-Ortega

2004) such as linoleic acid with hypocholesterolemic action in humans (Grundy, 1994) and the isomer C18:2 c9 t11 (rumen) of conjugated linoleic acid, with anticarcinogenic properties in animals models (Ip *et al.*, 1999; Corl *et al.*, 2003), and possibly in humans (Belury, 2002). Therefore, it is important to increase the concentration of PYFA and decrease SFA in milk, dairy products and other foods for human consumption.

The lipid profile of milk is affected by the diet (Shingfield *et al.*, 2005), animal species (Carroll *et al.*, 2006), the time of year (Lock and Garnsworthy, 2003) or lactation stage (Auldist *et al.*, 1998). Furthermore, the concentration of PYFA increases with grazing (Kelly *et al.*, 1998), the type of silage (Dewhurst *et al.*, 2003), the amount of concentrate in the diet (Bargo *et al.*, 2006), the grain source (Wijesundera *et al.*, 2003) and oilseed oil supply (Khanal *et al.*, 2002) or fish oil (Abu-Ghazaleh *et al.*, 2003).

According to Albarrán-Portillo (1999) and Peña-Carmona (1999), cited by Arriaga-Jordán *et al.* (2001), productive performance is better in dairy cattle fed with forage and limited amounts of concentrate (3.0 kg cow⁻¹ d⁻¹) as compared to the traditional diet low in forage and abundant concentrate (5.0 to 9.0 kg cow⁻¹ d⁻¹). According to Arriaga-Jordán *et al.* (2001), the limited supply of supplementary concentrate to grazing dairy cattle can meet the nutritional requirements of the cows.

In the highlands of Mexico, the assessment of feeding strategies in dairy cattle is directed mostly to the study of economic and productive performance and is based on grazing of improved prairies (*Lolium perenne* and *Trifolium repens*) and a supplement of commercial concentrate (Arriaga-Jordan *et al.*, 2001; 2002) and silage (Garduño Castro *et al.*, 2007; Hernández-Ortega *et al.*, 2011). The PYFA content in cow milk increases when fresh forage is included in the diet (Kelly *et al.*, 1998; Dewhurst *et al.*, 2006) and grazing time is longer (Morales-Almaraz *et al.*, 2010). In the reviewed literature there is little information about the change of milk FA content using feeding strategies in Mexico.

The reduction in the amount of concentrate at the expense of assigning longer access to pasture and supplying corn silage could provide a greater contribution of PYFA, mainly C18:3 from the grass, and C18:2 from corn silage to improve the lipid profile

al., 2011). El contenido de AGPI en la leche de vaca aumenta al incluir forraje fresco en la dieta (Kelly *et al.*, 1998; Dewhurst *et al.*, 2006) y con más tiempo de pastoreo (Morales-Almaráz *et al.*, 2010). En la literatura revisada hay poca información respecto a la modificación mediante estrategias de alimentación del contenido de AG en la leche en México.

La reducción de la cantidad de concentrado a expensas de asignar mayor tiempo de acceso a la pradera y suministrar ensilado de maíz, podría proporcionar un mayor aporte de AGPI, principalmente C18:3 desde el pasto y C18:2 desde el ensilado de maíz, para mejorar el perfil lipídico de la leche. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de tres niveles de concentrado y el tiempo de acceso a la pradera sobre la producción, composición y perfil de AG de la leche de vacas Holstein en el Valle de Toluca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El experimento se realizó durante mayo y junio de 2011, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada a 19° 24' 48" O, 99° 40' 45" N y una altitud de 2632 m (INEGI, 2003). El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, clasificado como Cb (W2) (W2) (García, 1987).

Animales, dieta y tratamientos

Nueve vacas Holstein multíparas (22.6±4.0 kg leche d⁻¹ y 99.0 ±42.0 d en lactancia) fueron usadas en el estudio con tres periodos experimentales. La alimentación de las vacas estuvo basada en un sistema de producción mixto con tiempos de acceso al pastoreo más un suplemento de ensilado de maíz y concentrado en el establo. El pastoreo fue rotacional en praderas polifitas de 2.5 ha. Las especies predominantes fueron *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Festuca arundinacea*, *Dactylis glomerata* y *Pennisetum clandestinum*. Las praderas fueron fertilizadas con 50 kg urea ha⁻¹. El concentrado contenía (BS) 18 % de proteína cruda (PC) y 2.0 Mcal kg⁻¹ MS de energía neta (EN) para lactancia (ENL), y fue elaborado con (g kg⁻¹ MS) sorgo (486.7), pasta de soya (200.4), canola (147.5), salvado de trigo (146.7) más una premezcla de vitaminas y minerales (18.7). El concentrado (kg MS vaca⁻¹ d⁻¹) se proporcionó asociado al tiempo de acceso a la pradera y fue: 1) 7.2 kg de concentrado (8c) con acceso a la pradera de 07:00 a 15:00 h; 2) 4.5 kg de concentrado (5c) con

of milk. Therefore, the objective of this research was to evaluate the effect of three levels of concentrate and the access time to pasture on the production, composition and profile of FA Holstein cows milk in the Valley of Toluca, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The experiment was conducted during May and June 2011, at the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science at the Autonomous University of the Estado de Mexico, located at 19° 24' 48" W, 99° 40' 45" N, and 2632 m altitude (INEGI, 2003). The climate is temperate humid with summer rains, classified as Cb (W2) (W2) (García, 1987).

Animals, diet and treatments

Nine multiparous Holstein cows (22.6±4.0 kg milk d⁻¹ and 99.0±42.0 d of milk) were used in the present study with three experimental periods. Cow feeding was based on a mixed system of production with access to grazing plus a supplement of corn silage and concentrate in the stable. Grazing was rotational in prairies of 2.5 ha. The predominant species were *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Festuca arundinacea*, *Dactylis glomerata* and *Pennisetum clandestinum*. The pastures were fertilized with 50 kg ha⁻¹ urea. The concentrate contained (DB) 18 % crude protein (CP) and 2.0 Mcal kg⁻¹ DM net energy (NE) for lactation (NEL), and was prepared with (g kg⁻¹ DM) sorghum (486.7), soybean (200.4), canola (147.5), wheat bran (146.7) plus a vitamin and mineral premix (18.7). The concentrate (kg DM cow⁻¹ d⁻¹) was provided associated with the access time to the prairie and was 1) 7.2 kg of concentrate (8c) with access to the prairie from 7:00 to 15:00 h; 2) 4.5 kg of concentrate (5c) with access to the prairie from 7:00 to 15:00 h and 16:00 to 20:00 h; 3) 2.7 kg of concentrate (3c) with access to the prairie as 5c. The concentrate was available at 16:00 and 20:00 h for treatment 1, and 20 and 24 h in treatments 2 and 3. Corn silage was offered ad libitum at the same times. The cows had free access to drinking water on the prairie and stable.

Experimental development

The study included three experimental periods, each with 14 d of adaptation and 5 d of sampling. Milkings were performed at 06:00 and 15:00 h. The grazing forage amounted to 25 kg DM cow⁻¹ d⁻¹, determined by measuring the biomass before grazing, for which forage was cut into eight quadrants (0.25 m²

acceso a la pradera de 7:00 a 15:00 h y de 16:00 a 20:00 h; 3) 2.7 kg de concentrado (3c) con acceso a la pradera igual a 5c. El concentrado se ofreció a las 16:00 y 20:00 h para el tratamiento 1, y a las 20 y 24 h en los tratamientos 2 y 3. El ensilado de maíz se ofreció a libre acceso en los mismos tiempos. Las vacas tuvieron libre acceso al agua de bebida en la pradera y en el establo.

Desarrollo experimental

El estudio comprendió tres periodos experimentales, cada uno con 14 d de adaptación y 5 d de muestreo. Los ordeños se realizaron a las 06:00 y 15:00 h. La asignación de forraje en pastoreo fue 25 kg de MS vaca⁻¹ d⁻¹, determinada mediante medición de la biomasa antes del pastoreo, para lo cual el forraje se cortó en ocho cuadrantes (0.25 m² cuadrante⁻¹) a ras de suelo, se pesó y homogenizó el material fresco, se tomó la muestra y se secó a 60 °C en estufa de aire forzado.

La superficie de pastoreo fue ajustada cada día durante la etapa de medición. El manejo fue el siguiente: finalizado el ordeño matutino (07:00 h), las nueve vacas fueron llevadas a la pradera, donde permanecieron juntas hasta iniciar ordeño vespertino (15:00 h), y al término (16:00 h), las vacas del grupo 8c fueron estabuladas y recibieron el concentrado y el ensilado de maíz; mientras que las vacas de los grupos 5c y 3c se llevaron de nuevo a la pradera donde permanecieron hasta las 20:00 h; después fueron estabuladas y recibieron el concentrado y el ensilado de maíz. Para los tres grupos, la alimentación en la estabulación fue a las 20:00 y 24:00 h en comederos individuales, y para el grupo 8c una comida previa a las 16:00 h y en la comida de las 24:00 h solo se suministró ensilado de maíz.

Cada día se midió el consumo de alimento (ensilado de maíz y concentrado) en estabulación por diferencia de la oferta y el rechazo. El consumo de pasto se determinó mediante el método descrito por Macoon *et al.* (2003), para lo cual se calculó los requerimientos de ENL total del ganado lechero según las ecuaciones del NRC (2001), y el aporte de energía neta de los alimentos consumidos en el establo. El contenido de EN del pasto, ensilado de maíz y concentrado fue calculado con las ecuaciones descritas por Menke y Steingass (1988), a partir del contenido de fibra ácido detergente. La producción de leche se midió cada día, la leche fue muestreada individualmente en ambos ordeños, y se obtuvo una alícuota (50 mL) la cual estuvo congelada (-20 °C) hasta su análisis.

Análisis de laboratorio

En los alimentos se determinó el contenido de MS; materia orgánica (MO) y (PC) (AOAC, 2012); fracciones de fibra: neutro detergente (FND), ácido detergente (FAD) y lignina ácido

quadrant⁻¹) at ground level, and fresh matter was weighed and homogenized, sampled and dried at 60 °C in forced air oven.

The grazing surface was adjusted daily during the measurement phase. Management was as follows: after the morning milking (07:00), all nine cows were taken to the pasture, where they remained together until the beginning of the evening milking (15:00 h) and at the end (16:00 h), 8c group cows were housed and fed the concentrate and corn silage, whereas cows from 5c and 3c groups were taken back to the pasture where they remained until 20:00 h; then they were housed and fed the concentrate and corn silage. For all three groups, housing feed was at 20:00 and 24:00 h in individual bowls, and for 8c food group prior to 16:00 h, and at 24:00 h food time only corn silage was provided to them.

Feed intake was measured daily (corn silage and concentrate) considering the difference of feed at the stable between supply and rejection. Grass intake was determined by the method described by Macoon *et al.* (2003), for which the requirements of total dairy cattle ENL was calculated according to the equations of NRC (2001), and the contribution of net energy of the food consumed in the stable. The content of EN in the grass, corn silage and concentrate was calculated with the equations described by Menke and Steingass (1988), from acid detergent fiber content. Milk production was measured every day, milk was sampled individually in two milkings, and an aliquot (50 mL) was obtained, which was frozen (-20 °C) until analysis.

Laboratory analysis

In the food we determined the content of DM, organic matter (OM) and CP (AOAC, 2012); fiber fractions: neutral detergent (NDF), acid detergent (FAD) and acid detergent lignin (LAD), according to Van Soest *et al.* (1991). The contribution of NE from food was estimated according to the equations described by Menke and Steingass (1988); the content of FA of food (Table 1) was determined by the technique described by Sukhija and Palmquist (1988) with modifications by Palmquist and Jenkins (2003) using methanolic hydrochloric acid at 10 %, and hexane as organic solvent.

To measure the content of protein, fat and lactose in milk we used a SL60 Lactoscan analyzer. The FA profile of milk was determined after extracting fat, according to the technique described by Feng *et al.* (2004). The methylation of the sample was made using the methodology reported by Christie (1982) with modifications by Chouinard *et al.* (1999). Methyl esters of milk FA and food were separated and quantified by gas chromatography (Perkin Elmer Clarus 500) with a capillary column of 100 m × 0.25 mm × 0.2 μm (SUPELCO TM-2560) using nitrogen as carrier gas.

detergente (LAD), de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991). El aporte de EN de los alimentos se estimó según las ecuaciones descritas por Menke y Steingass (1988); el contenido de los AG de los alimentos (Cuadro 1) se determinó mediante la técnica descrita por Sukhija y Palmquist (1988) con modificaciones de Palmquist y Jenkins (2003) usando ácido clorhídrico metanólico al 10 % y hexano como solvente orgánico.

Para medir el contenido de proteína, grasa y lactosa en la leche se utilizó un analizador Lactoscan SL60. El perfil de AG de la leche se determinó previa extracción de la grasa de acuerdo con la técnica descrita por Feng *et al.* (2004) La metilación de la muestra se usando la metodología reportada por Christie (1982) con modificaciones de Chouinard *et al.* (1999). Los ésteres metílicos de los AG de la leche y los alimentos fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases (Perkin Elmer Clarus 500) con una columna capilar de 100 m × 0.25 mm × 0.2 μm (SUPELCO TM-2560) utilizando nitrógeno como gas acarreador. El detector e inyector se mantuvieron a 260 °C, la temperatura inicial del horno fue 140 °C por 5 min, aumentando 4 °C por minuto hasta llegar a 240 °C. Cada pico fue identificado de acuerdo con los tiempos de retención de estándares de ésteres metílicos (Supelco 37, FAME MIX analytical; trans-11-octadecenoic methyl ester; linoleic acid conjugated methyl ester SIGMA USA).

The injector and detector were maintained at 260 °C, the initial oven temperature was 140 °C for 5 min, rising 4 °C per minute up to 240 °C. Each peak was identified according to retention times of methyl esters standards (SUPELCO 37 FAME MIX analytical; trans-11-octadecenoic methyl ester; linoleic acid conjugated methyl ester SIGMA USA).

Statistical analysis

The experimental design was a 3×3 latin square (n=3) and data were analyzed using the SAS MIXED procedure (2002). The statistical model was as follows:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + G_j + C_k + E_z$$

where Y_{ijk} is the dependent variable, μ is the general mean, P_i is the period effect (1, 2, 3), G_j is the group effect (1, 2, 3), C_k is the effect of the concentrate level (3, 5, and 8 kg MF), E_z is the residual error.

Treatment means were compared using the Tukey test ($p \leq 0.05$) (Steel *et al.*, 1997).

Cuadro 1. Composición química de los ingredientes y su contenido de ácidos grasos.
Table 1. Chemical composition and fatty acid content of ingredients.

Composición química (g kg ⁻¹ MS)	Ensilado de maíz	Forraje	Concentrado
Materia seca	326.84	243.67	925.0
Materia orgánica	944.43	879.50	951.1
Proteína bruta	70.11	147.97	182.2
Fibra detergente neutro	608.11	559.34	155.6
Fibra detergente ácido	328.64	281.80	64.0
Lignina detergente ácido	45.42	36.43	23.1
Energía neta para lactación [†]	1.41	1.52	2.0
Ácidos grasos (g 100 g ⁻¹ AG)			
C12:0	0.40	1.63	0.05
C13:0	0.03	1.02	0.64
C14:0	0.63	1.15	0.16
C16:0	19.09	19.90	21.26
C16:1	0.47	2.36	0.69
C18:0	4.59	4.00	2.30
C18:1n9c	29.56	5.28	34.71
C18:2n6c	35.43	12.10	31.75
C18:3n3	4.27	45.15	2.27
Otros	5.55	7.40	6.17

[†]Energía neta de lactancia (Mcal kg⁻¹ MS) se calculó con la ecuación: (9.07 - 0.0097 * FAD) / 4.184 (Menke y Steingass, 1988) ♦ [†]Lactation net energy (Mcal kg⁻¹ DM) was calculated using the equation: (9.07 - 0.0097 * FAD) / 4.184 (Menke and Steingass, 1988).

Análisis estadístico

El diseño experimental fue un cuadro latino 3×3 (n=3) y los datos se analizaron con el procedimiento MIXTO de SAS (2002). El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + G_j + C_k + E_z$$

donde Y_{ijk} es la variable dependiente, μ es la media general, P_i es el efecto del periodo (1, 2, 3), G_j es el efecto del grupo (1, 2, 3), C_k es el efecto del nivel de concentrado (3, 5, y 8 kg MF), E_z es el error residual.

Las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) (Steel *et al.*, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables productivas

Los datos de consumo, producción y composición de la leche se presentan en el Cuadro 2. El tratamiento 8c causó la mayor ingestión ($p \leq 0.05$) de ensilado de maíz y el consumo total en estabulación con respecto a los otros tratamientos. El consumo de pasto en la pradera fue 1.7 y 2.7 veces más ($p \leq 0.05$) para las vacas en los tratamientos 5c y 3c, respecti-

RESULTS AND DISCUSSION

Productive variables

Intake, production and milk composition data are presented in Table 2. Treatment 8c caused the greatest intake ($p \leq 0.05$) of corn silage and total consumption in the stable compared to other treatments. The intake of grass in the meadow was 1.7 and 2.7 times higher ($p \leq 0.05$) for cows in 5c and 3c treatments, respectively, compared to cows in treatment 8c. According to the NRC (2001), dairy cattle with an average live weight of 680 kg, 90 d of average lactation and a production of 25 kg of milk d^{-1} need to consume 19.6 kg MS, whereas cows of 450 kg PV, producing 20 kg of milk d^{-1} , require to consume 16.5 kg MS. In our study, milk production did not exceed 20.0 kg d^{-1} , thus MS intake lower than 16 kg d^{-1} (NRC, 2001) would be expected, and cows of 5c and 8c treatments recorded a similar consumption, but statistically lower than 3c treatment cows (Table 2).

As the concentrate increased, milk production also did by 10 and 23 % in 5c and 8c in relation to 3c (Table 2), but without affecting ($p \leq 0.05$) milk fat content (36.63 ± 8.86 g kg^{-1}), protein (31.25 ± 5.55 g kg^{-1}) and lactose (43.83 ± 3.77 g kg^{-1}).

Cuadro 2. Consumo de materia seca, producción y composición química de la leche de vacas en pastoreo complementadas con tres niveles de concentrado en el Valle de Toluca, México.
Table 2. Dry matter intake, production and chemical composition of milk from grazing cows supplemented with three levels of concentrate in the Valley of Toluca, Mexico.

	Tratamientos y concentrado (kg d^{-1})			EEM [†]
	8c (7.2)	5c (4.5)	3c (2.7)	
Peso vivo, kg	524	523	525	15.27
Consumo MS (kg d^{-1})				
Ensilado	8.38a	7.40b	7.71b	0.12
Concentrado	7.20	4.50	2.70	
Pasto [‡]	1.24b	3.36a	4.63a	0.55
Consumo total	16.82a	15.26b	15.04b	0.26
Producción láctea (kg d^{-1})	19.03a	17.07b	15.46c	0.33
Proteína (g kg^{-1})	31.04	30.74	31.98	0.52
Grasa (g kg^{-1})	36.63	35.86	37.38	0.97
Lactosa (g kg^{-1})	43.72	44.08	43.69	0.42

abc Valores con distinta literal en un renglón son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ xDifferent literal values in one row are statistically different ($p \leq 0.05$).

[†] EEM = Error estándar de la media, calculado con el método de rendimiento del animal (Macono *et al.*, 2003) ♦ EEM = Mean standard error calculated with the method of animal performance (Macono *et al.*, 2003).

vamente, respecto a las vacas en el tratamiento 8c. De acuerdo con el NRC (2001), vacas lecheras con un peso vivo promedio de 680 kg, con 90 d promedio de lactancia y una producción de 25 kg de leche d^{-1} necesitan consumir 19.6 kg MS, mientras que las vacas de 450 kg de PV, con producción de 20 kg de leche d^{-1} , requieren consumir 16.5 kg de MS. En el presente estudio, la producción láctea no rebasó los 20.0 kg d^{-1} por lo cual se esperaba consumos de MS menores a 16 kg d^{-1} (NRC, 2001), y las vacas de los tratamientos 5c y 8c tuvieron un consumo similar, pero estadísticamente inferior al de las vacas del tratamiento 3c (Cuadro 2).

Al aumentar el concentrado, la producción de leche aumentó 10 y 23 % en 5c y 8c respecto a 3c (Cuadro 2) pero sin afectar ($p > 0.05$) el contenido de grasa (36.63 ± 8.86 g kg^{-1}), de proteína (31.25 ± 5.55 g kg^{-1}) y de lactosa (43.83 ± 3.77 g kg^{-1}) en la leche.

El rendimiento de grasa, proteína y lactosa fue superior en 8c ($p \leq 0.05$), lo cual se debe al mayor aporte de energía en la dieta al aumentar el nivel de concentrado, lo cual se reflejó en un aumento de la producción de leche, sin afectar los componentes de la leche. Bargo *et al.* (2002) observaron respuestas similares en el rendimiento de los componentes en la leche de vacas que recibieron un concentrado (1 kg concentrado 4 kg^{-1} leche) *versus* sin concentrado.

Perfil de ácidos grasos

El nivel de concentrado afectó ($p \leq 0.05$) a la mayoría de los AG de la leche (Cuadro 3). Los AG de cadena corta (C4-C11) tuvieron mayor concentración en la leche de 8c, excepto C4 y C6. Al aumentar el nivel de concentrado de 3 a 8 kg, los AG láurico (C12), mirístico (C14) y palmítico (C16) elevaron ($p \leq 0.05$) su concentración en 24.4, 8.5 y 4.8 %, respectivamente, lo cual contribuyó al mayor contenido total de AG en la leche (68.00 *vs* 69.76 g 100 g^{-1} AG, respectivamente para 3c y 8c). En contraste, Nielsen *et al.* (2006) no observaron efecto del nivel alto o bajo de concentrado, a base de grano de cebada y pasta de colza, en la concentración de los AG C12:0, C14:0 y C16:0 en leche de vacas alimentadas con ensilado de maíz y pasto como única fuente de forraje. En la presente estudio, el aumento en el contenido de AG de cadena corta y media para 8c fue similar al observado por Stockdale *et al.* (2003) en vacas en pastoreo más 7 y 9 kg d^{-1} de concentrado: aumentaron

The yield of fat, protein and lactose was higher in 8c ($p \leq 0.05$), which was due to increased energy intake in the diet by increasing the level of concentrate, that was reflected in increased milk production, without affecting milk components. Bargo *et al.* (2002) observed similar responses in yield of component, in milk of cow fed a concentrate (1 kg^{-1} concentrate 4 kg milk) *versus* without concentrate.

Cuadro 3. Efecto del nivel de concentrado sobre el perfil de ácidos grasos (g 100 g^{-1} AG) de la leche de vacas en pastoreo en el Valle de Toluca, México.

Table 3. Effect of concentrate level on the profile of fatty acids (g 100 g^{-1} FA) of milk from grazing cows in the Valley of Toluca, Mexico.

Ácido graso	Tratamientos y concentrado (kg d^{-1})			EEM [†]
	8c (7.2)	5c (4.5)	3c (2.7)	
C4:0	3.25	3.16	3.10	0.06
C6:0	2.27	2.17	2.14	0.05
C8:0	1.33a	1.22b	1.12c	0.03
C10:0	2.98a	2.70b	2.42c	0.06
C11:0	0.45a	0.40b	0.34c	0.01
C12:0	3.56a	3.20b	2.86c	0.07
C13:0	0.21a	0.18b	0.16b	0.01
C14:0	12.00a	11.63a	11.06b	0.13
C14:1	1.22a	1.17a	1.02b	0.04
C15:0	1.22	1.21	1.19	0.03
C15:1	0.01	0.01	0.01	0.00
C16:0	30.74a	29.88ab	29.31b	0.37
C16:1	1.99	2.08	2.00	0.05
C17:0	0.74	0.76	0.77	0.01
C17:1	0.23b	0.26a	0.27a	0.01
C18:0	10.58c	11.82b	12.95a	0.25
C18:1t11	2.18b	2.24b	2.45a	0.06
C18:1c9	21.38b	22.31ab	23.05a	0.36
C18:2t	0.21	0.20	0.21	0.01
C18:2c9c12	1.39a	1.31ab	1.24b	0.04
C18:2c9t11	0.73b	0.74b	0.81a	0.03
C18:3	0.38b	0.40ab	0.41a	0.01
C20:0	0.15c	0.17b	0.19a	0.01
OTROS	0.73b	0.83a	0.88a	0.02
AGS [‡]	69.76a	68.83ab	68.00b	0.42
AGMI [§]	27.29b	28.26ab	29.05a	0.40
AGPI [¶]	2.91	2.95	2.96	0.06

abc Valores con distinta literal en un renglón son diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ abc Values with different literal in one line are different ($p \leq 0.05$).

[†]EEM: error estándar de la media; [‡]AGS: ácidos grasos saturados; [§]AGMI = Ácidos grasos monoinsaturados; [¶]AGPI: ácidos grasos polinsaturados ♦ [†]EEM: mean standard error. [‡]SFA: saturated fatty acids, [§]MUFA: monounsaturated fatty acids, [¶]PUFA: polyunsaturated fatty acids.

los AG de cadena corta C6:0 a C10:0 y de cadena media C12:0 a C16:0 con respecto a vacas sin suplemento. Wijesundera *et al.* (2003) proporcionaron 4.5 kg d⁻¹ de granos de cereales a vacas en pastoreo y la concentración de C10:0 a C14:0 aumentó en la grasa de la leche. Según Bargo *et al.* (2006), al dar 1 kg concentrado 4 kg⁻¹ leche a vacas en pastoreo, la concentración de C12:0 y C14:0 fue mayor en comparación con vacas sin concentrado (2.50 vs 1.80 y 9.31 vs 7.59 g 100 g⁻¹ AG).

En los AG de cadena media, no se observaron diferencias ($p > 0.05$) en la concentración de ácido palmítico (C16:1 c9), C15 y C15:1 excretados en la leche.

Con excepción del ácido linoléico (C18:2 c9 c12), el contenido de AG de cadena larga en leche (>C17) fue mayor ($p \leq 0.05$) con el nivel más bajo de concentrado. El contenido de ácido vaccénico (C18:1 t11) en la leche fue superior ($p \leq 0.05$) en 3c: 9.3 % mayor que 5c y 12.3 % mayor que 8c. De forma similar, el contenido de ácido linoleico conjugado (ALC) c9 t11 fue 9.8 % mayor en 3c comparado con los otros dos tratamientos. Nielsen *et al.* (2006) observaron que el contenido de ALC c9 t11 (1.61 vs 1.17 g 100 g⁻¹ AG) y ácido vaccénico (2.80 vs 1.55 g 100 g⁻¹ AG) fue mayor en la leche de vacas alimentadas un nivel bajo de concentrado, pero no hubo diferencias en la concentración de ácido esteárico, oleico y linoléico por efecto del nivel de concentrado. Para 3c el contenido de ácido oleico (C18:1 c9) y C18 fue mayor ($p \leq 0.05$) en 7.8 y 22.4 %, respectivamente, respecto a 8c.

El incremento de C18:2 c9 c12 en la grasa de la leche en vacas del tratamiento 8c, comparado con los otros dos tratamientos, se debe al consumo mayor de ácido linoleico porque hubo más consumo de ensilado de maíz, el cual es una importante fuente de C18:2 c9 c12, y de los ácidos palmítico y oleico. Los AG del ensilado de maíz tienen una concentración alta de ácidos linoleico (Nielsen *et al.*, 2006) y oleico, pero baja de ácido linoléico (Dewhurst *et al.*, 2006), similar a lo reportado en el Cuadro 1.

El aumento en el consumo de MS de forrajes frescos puede tener efectos importantes sobre la composición de los AG de la grasa de la leche (Kelly *et al.*, 1998; Bargo *et al.*, 2006; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). La leche de las vacas que recibieron 2.7 kg concentrado (3c) mostró altas ($p \leq 0.05$) concentraciones de los ácidos esteárico, oleico y vaccénico (Cuadro

Fatty acid profile

The level of concentrate affected ($p \leq 0.05$) most of milk FA (Table 3). The short chain FA (C4-C11) had higher concentration in 8c milk, except C4 and C6. By increasing the level of concentrate from 3 to 8 kg, lauric FA (C12), myristic (C14) and palmitic (C16) increased ($p \leq 0.05$) their concentration by 24.4, 8.5 and 4.8 %, respectively, contributing to higher total FA content in milk (68.00 vs 69.76 g 100 g⁻¹ FA, respectively for 3c and 8c). In contrast, Nielsen *et al.* (2006) found no effect of high or low concentrate level, based on barley grain and rapeseed meal, in the concentration of C12:0, C14:0 and C16:0 FA in milk from cows fed silage corn and grass as the sole source of forage. In this research, the increase in the content of short and medium chain FA for 8c was similar to that observed by Stockdale *et al.* (2003) in grazing cows plus 7 and 9 kg d⁻¹ concentrate: there was an increase in short chain FA C6:0 to C10:0 and medium chain C12:0 to C16:0, compared to cows without supplement. Wijesundera *et al.* (2003) provided 4.5 kg d⁻¹ grain to grazing cows and the concentration from C10:0 to C14:0 increased in fat milk. According to Bargo *et al.* (2006), by feeding 1 kg concentrate 4 kg⁻¹ milk to grazing cows, the concentration of C12:0 and C14:0 was higher compared to cows without concentrate (2.50 vs 1.80 and 9.31 vs 7.59 g 100 g⁻¹ FA).

In the medium chain FA, no differences ($p > 0.05$) were observed in the concentration of palmitoleic acid (C16:1 c9), C15 and C15:1 excreted in milk.

With the exception of linoleic acid (C18:2 c9 c12), long chain milk FA content (> C17) was higher ($p \leq 0.05$) with the lowest level of concentrate. The content of vaccenic acid (C18:1 t11) in milk was higher ($p \leq 0.05$) in 3c: 9.3 % greater than 5c and 12.3 % higher than 8c. Similarly, the c9 t11 conjugated linoleic acid (CLA) content was 9.8 % higher in 3c compared to the other two treatments. Nielsen *et al.* (2006) found that the content of CLA c9 t11 (1.61 vs. 1.17 g 100 g⁻¹ FA) and vaccenic acid (2.80 vs 1.55 g 100 g⁻¹ FA) was higher in the milk of cows fed a low level of concentrate, but there were no differences in the concentration of stearic, oleic and linolenic acids as a result of the concentrate level. For 3c the content of oleic acid (C18:1 c9) and C18 was higher ($p \leq 0.05$) by 7.8 and 22.4 %, respectively, compared to 8c.

3) comparado con las vacas en 8c, y en especial con 5c. Dado que el tiempo de acceso a la pradera fue el mismo, el suministro de 2 kg más de concentrado a las vacas pudo cambiar el metabolismo ruminal de los lípidos, porque un suplemento alto en concentrado afecta la biohidrogenación debido al bajo pH ruminal (Latham *et al.*, 1972; Bargo *et al.*, 2006), lo cual cambia la producción de AG en el rumen y en la glándula mamaria (Enjalbert *et al.*, 2008). Además, el efecto en el contenido en leche de los ácidos C18, incluido el CLA c9 t11 o ácido ruménico, podría estar relacionado con la variación individual en la eficiencia en la síntesis *de novo* en la glándula mamaria, porque la dieta tiene una función determinante en el contenido de ácido ruménico en la grasa de la leche de vacas, pero hay un efecto significativo de las diferencias entre individuos (Peterson *et al.*, 2002), lo cual radica en la eficiencia de desaturación para sintetizar *de novo* CLA c9 t11 desde ácido vaccénico, principal ruta de síntesis del CLA c9 t11 excretado en la leche (Griinari *et al.*, 2000).

Bargo *et al.* (2006) observaron que el suplemento con concentrado tuvo un efecto negativo en los AG de cadena larga, oleico y linolénico, cuya concentración fue mayor en vacas sin suplemento (30.89 vs 27.18 y 1.16 vs 0.79 g 100 g⁻¹ AG, respectivamente); un efecto similar fue observado en el presente estudio al disminuir el nivel de concentrado. Asimismo, las concentraciones de los ácidos vaccénico y ALC c9 t11 (1.18 vs 1.36 y 2.79 vs 3.48 g 100 g⁻¹ AG) disminuyeron en la leche de vacas que recibieron concentrado, respecto a vacas sin concentrado (Bargo *et al.*, 2006), lo cual es similar a lo observado en la presente investigación.

La concentración total de AGS en la leche aumentó ($p \leq 0.05$) y la de AGI disminuyó debido al nivel de concentrado, resultado similar a lo reportado por Bargo *et al.* (2006). El suministro de 3.0 kg de concentrado podría mejorar la calidad de la leche debido a su menor concentración de AGS y su implicación como factores de riesgo en enfermedades cardiovasculares (Williams, 2000). Además hay una concentración mayor de ácidos oleico, linolénico, vaccénico y ALC c9 t11, benéficos por su acción hipocolesteromiantes (Grundy, 1994).

CONCLUSIONES

La reducción de la cantidad de concentrado de 8.0 a 3.0 kg d⁻¹ a vacas en pastoreo y el aumento de

The increase of C18:2 c9 c12 in milk fat from cows of 8c treatment compared to the other two treatments is due to the increased intake of linoleic acid because the consumption of corn silage was higher, which is an important source of C18:2 c9 c12, and palmitic and oleic acids. Corn silage FAs have a high concentration of linoleic (Nielsen *et al.*, 2006) and oleic acids, but low of linolenic acid (Dewhurst *et al.*, 2006), similar to what is reported in Table 1.

The increase in DM intake from fresh fodder can have significant effects on the composition of milk FA (Kelly *et al.*, 1998; Bargo *et al.*, 2006; Morales-Almaráz *et al.*, 2010). Milk from cows fed with 2.7 kg concentrate (3c) showed high ($p \leq 0.05$) concentrations of stearic, oleic and vaccenic acids (Table 3) compared to cows in 8c, especially with 5c. Since the access time to the meadow was the same, the supply of 2 kg more of concentrate to cows could change the rumen metabolism of lipids, because a high supplement of concentrate affects biohydrogenation due to ruminal low pH (Latham *et al.*, 1972; Bargo *et al.*, 2006), causing changes in the production of FA in rumen and mammary gland (Enjalbert *et al.*, 2008). Furthermore, the effect on milk content of C18 acids, including CLA c9 t11 or rumenic acid, could be associated with individual variation in the efficiency of *de novo* synthesis in the mammary gland because the diet plays a decisive role in the content of rumenic acid in the milk fat of cows, but there is also a significant effect of the differences between individuals (Peterson *et al.*, 2002), which lies in the efficiency of desaturation to synthesize *de novo* c9 t11 CLA from vaccenic acid, leading route to synthesize c9 t11 CLA excreted in milk (Griinari *et al.*, 2000).

Bargo *et al.* (2006) observed that supplementation with concentrate had a negative effect on long chain oleic and linolenic FA, whose concentration was higher in cows without supplement (30.89 vs 27.18 and 1.16 vs 0.79 g 100 g⁻¹ FA, respectively); a similar effect was observed in our study when the level of concentrate was reduced. Also, the concentrations of the vaccenic and CLA c9 t11 acids (1.18 vs 2.79 vs 1.36 and 3.48 g⁻¹ 100 FA) decreased in the milk of cows receiving concentrate, compared to cows without concentrate (Bargo *et al.*, 2006), which is similar to what was observed in the present study.

The total concentration of SFA in milk increased ($p \leq 0.05$) and AGI decreased due to the level of

tiempo de acceso a la pradera, de 8 a 12 h, disminuyó la producción de leche. Sin embargo, el aporte de ácido linoléico y linolénico a las vacas contribuyó a mejorar el perfil de AG al aumentar el contenido de los ácidos oleico, linolénico, vaccénico y CLA c9 t11, lo cual resulta en un producto más saludable para el consumidor.

LITERATURA CITADA

- AbuGhazaleh, A. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, and E. K. Kalscheur. 2003. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acids profile. *J. Dairy Sci.* 86: 944-953.
- Association of Official Analytical Chemists. 2012. *Official Methods of Analysis*. 19th ed. AOAC. Arlington, VA, USA. pp: 34-36.
- Arriaga-Jordán, C. M., F. J. Flores-Gallegos, G. Peña-Carmona, B. Albarrán-Portillo, A. García-Martínez, A. Espinoza-Ortega, C. E. González-Esquivel, and O. A. Castelán-Ortega. 2001. Participatory on-farm evaluation of the response to concentrate supplementation by cows in early lactation in smallholder peasant (*campesino*) dairy production systems in the highlands of central Mexico. *J. Agric. Sci.* 137: 97-103.
- Arriaga-Jordán, C. M., B. Albarrán-Portillo, A. Espinoza-Ortega, A. García-Martínez, and O. A. Castelán-Ortega. 2002. On-farm comparison of feeding strategies based on forages for small-scale Dairy production systems in the highlands of Central Mexico. *Exp. Agric.* 38: 375-388.
- Auld, M. J., B. J. Walsh, and N. A. Thomson. 1998. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* 65: 401-411.
- Bargo, F., J. E. Delahoy, G. F. Schroeder, and L. D. Muller. 2006. Milk fatty acid composition of dairy cows grazing at two pastures allowance and supplemented with different levels and sources of concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 125: 17-31.
- Bargo F., L. D. Muller, J. E. Delahoy, and T. W. Cassidy. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85: 1777- 1792.
- Belury, M. A. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 505-531.
- Carroll, S. M., E. J. DePeters, S. J. Taylor, H. Rosenberg, H. Perez-Monti, and V. A. Capps. 2006. Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 451-473.
- Chouinard, P. Y., L. Corneau, D. M. Barbano, L. E. Metzger, and D. E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129: 1579-1584.
- Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23: 1072-1075.
- Corl, B. A., D. M. Barbano, D. E. Bauman, and C. Ip. 2003. *Cis-9, trans-11* CLA derived endogenously from *trans-11* 18:1 reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 133: 2893-2900.
- concentrate, similar result to that reported by Bargo *et al* (2006). Supplying 3.0 kg of concentrate could improve the quality of milk due to its lower concentration of SFA and for being considered a risk factor in cardiovascular disease (Williams, 2000). Furthermore there is a higher concentration of oleic, linolenic, vaccenic and c9 t11 CLA acids, beneficial for their hypocholesterolemic action (Grundy, 1994).

CONCLUSIONS

Reducing the amount of concentrate from 8.0 to 3.0 kg d⁻¹ to grazing cows and extending their time on the prairie from 8 to 12 h decreased milk production. However, the supply of linoleic and linolenic acids to cows helped to raise the FA profile by increasing the content of oleic, linoleic, vaccenic and c9 t11 CLA acids, resulting in a healthier product for consumers.

—End of the English version—

-----*-----

- Dewhurst R. J., K. F. Shingfield, M. R. F. Lee, and N. D. Scollan. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131: 168-206.
- Dewhurst, R. J., N. D. Scollan, M. R. F. Lee, H. J. Ougham, and M. O. Humphreys. 2003. Forage dreading and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 329-336.
- Enjalbert, F., Y. Videau, M. C. Nicot, and A. Troegeler-Meynadier. 2008. Effects of induced subacute ruminal acidosis on milk fat content and fatty acid profile. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92(3): 284-291.
- Feng, S., A. L. Lock, and P. C. Garnsworthy. 2004. Technical note: A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87: 3785-3788.
- García, E. 1987. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. 4ª. Ed., México, D. F. 217 p.
- Garduño-Castro, Y., A. Espinoza-Ortega, C. E. González-Esquivel, B. Mateo-Salazar, and C. M. Arriaga-Jordán. 2007. Intercropped oats (*Avena sativa*) - common vetch (*Vicia sativa*) silage in the dry season for small-scale dairy systems in the Highlands of Central Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 41: 827-834.
- Griinari J. M., B. A. Corl, S. H. Lacy, P. Y. Chouinard, K. V. V. Nurmela, and D. E. Bauman. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating cows by delta 9-desaturase. *J. Nutr.* 130: 2285-2291.
- Grundy, S. M. 1994. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 986-1110.

- Hernández-Ortega, M., D. Heredia-Nava, A. Espinoza-Ortega, E. Sánchez-Vera, and C. M. Arriaga-Jordán. 2011. Effect of silage from ryegrass intercropped with winter or common vetch for grazing dairy cows in small-scale dairy systems in Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 947-954.
- INEGI. 2003. Anuario Estadístico. México. Gobierno del Estado de México. México. 230 p.
- Ip, C., S. Banni, E. Angioni, G. Carta, J. McGinley, H. J. Thompson, B. Barbano, and D. E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butterfat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129: 2135-2142.
- Kelly, M. L., E. S. Kolver, D. E. Bauman, M. E. Van Amburgh, and L. D. Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 1630-1636.
- Khanal, R. C., T. R. Dhiman, D. J. McMahon, and R. L. Boman. 2002. Influence of diet on conjugated linoleic acid content of milk, cheese and blood serum. *J. Dairy Sci.* 85 (Suppl. 1): 356 (Abstr.).
- Latham, M. J., J. E. Stony, and M. E. Sharpe. 1972. Effect of low-roughage diets on the rumen and lipid metabolism in the rumen. *Appl. Microbiol.* 24 (6): 871-877.
- Lock, A. L., and K. J. Shingfield. 2004. Optimizing milk composition. *In: Dairying - Using Science to Meet Consumer's Needs.* Kebreab, E., J. Mills, and D. E. Beaver. (eds). Loughborough, UK. Occ. Pub. No. 29, Brit. Soc. Anim. Sci. Nottingham University Press. pp: 107-188.
- Lock, A. L., and P. C. Garnsworthy. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and delta (9)-desaturase activity in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 79: 47-59.
- Macoon, B., E. Sollenberger, E. Moore, R. Staples, H. Fike, and M. Portier. 2003. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *J. Anim. Sci.* 81: 2357-2366.
- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- Morales-Almaráz, E., A. Soldado, A. González, A. Martínez-Fernández, I. Domínguez-Vara. B. de la Roza-Delgado, and F. Vicente. 2010. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding on total mixed ration. *J. Dairy Res.* 77 (2): 225-230.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. The National Academy Press, Washington, DC. USA. 292 p.
- Nielsen T. S., E. M. Straarup, M. Vestergaard, and K. Sejrsen. 2006. Effect of silage type and concentrate level on conjugated linoleic acids, trans-C18:1 isomers and fat content in milk from dairy cows. *Repr. Nutr. Dev.* 46: 699-712.
- Palmquist, D. L., and T. C. Jenkins. 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci.* 81: 3250-3254.
- Peterson, D. G., J. A. Kelsey, and D. E. Bauman. 2002. Analysis of variation in cis9, trans11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2164-2172.
- Statistical Analysis System (SAS). 2002. Software (V.9.0). User's Guide. N. C., USA. 315 p.
- Shingfield, K., C. Reynolds, B. Lupoli, V. Tolvonet, M. Yurawecz, P. Delmonte, J. Griinari, A. Grandison, and D. Beaver. 2005. Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cow given sunflower oil and fish oil. *Anim. Sci.* 80: 225-238.
- Steel, R. G. D., J. H. Torrie, and D. A. Dickey. 1997. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 3rd ed. McGraw-Hill Series in Probability and Statistics. USA. 622 p.
- Stockdale, C. R., G. P. Waler, W. J. Wales, D. E. Dalley, A. Birkett, Z. Shen, and P. T. Doley. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *J. Dairy Res.* 70: 267-276.
- Sukhija, P. S., and D. L. Palmquist. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agr. Food Chem.* 36: 1202-1206.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Wijesundera, C., Z. Shen, W. J. Wales, and D. E. Dalley. 2003. Effect of cereal grain and fibers supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *J. Dairy Res.* 70: 257-265.
- Williams, S. M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.* 49: 165-180.