



**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMIA

**Concentración de ácido linoleico conjugado (CLA) en  
grasa láctea en función del consumo de  
ensilaje de pradera**

Tesis presentada como parte de los  
requisitos para optar al grado de  
Licenciado en Agronomía.

**Rafael Alejandro Melo Cifuentes**

VALDIVIA – CHILE

2005

**Profesor Patrocinante:**

Luis Latrille L.

Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

---

**Profesores Informantes:**

René Anrique G.

Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

---

Suzanne Hodgkinson

B. Sc., M. Sc., Ph. D.

---

**DEDICADA A MI PAPA, MAMA Y HERMANAS**

## **AGRADECIMIENTOS**

En esta importante etapa de mi vida, no puedo dejar de recordar a todas las personas que me apoyaron y me ayudaron en este maravilloso proceso como lo fue el paso por la universidad...

Al profesor Luis Latrille L., patrocinante de esta tesis, por su constante colaboración y apoyo en el desarrollo de este trabajo...

Al personal de "Vista Alegre", por toda la ayuda prestada en el desarrollo de este ensayo, en especial a Don Erico...

A mis amigos Tobi, Oscar, Erwin; Sergio, que compartieron casa conmigo y con los cuales compartimos una gran amistad y apoyo durante todos estos años...

A mis vecino Rene, Miguel, Max, Charli...

A Maria Jose y tu familia, gracias por haber estado conmigo todos esos años y haberme apoyado y ayudado siempre...

A Pamela y Cristian, que fueron pilares importantes en el tiempo en que mas los necesité para poder concluir esta tesis...

Y en general a todas las personas que conocí y me aportaron algo para ser la persona que soy hoy día...

**INDICE DE MATERIAS**

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Situación lechera en Chile	3
2.1.1	Situación lechera en la Décima Región	4
2.2	El ensilaje de pradera como base de la ración de vacas lecheras	4
2.2.1	Calidad del ensilaje	6
2.2.2	Consumo	7
2.3	Composición química de la leche	8
2.3.1	Proteína	9
2.3.2	Grasa	10
2.4	Qué es el ácido linoleico conjugado (CLA)	11
2.5	Síntesis del CLA en el rumen y en la glándula mamaria	14
2.6	Efectos benéficos del ácido linoleico conjugado	16
2.7	Variabilidad en el contenido de CLA en la leche	18
2.7.1	Factores relacionados con la dieta	19
2.7.1.1	Dieta en base a praderas	19
2.7.1.2	Dietas suplementadas con granos y aceites	21
2.7.2	Factores relacionados con el animal	23
2.8	Efecto de una dieta en base a ensilaje de praderas en el contenido de CLA	24

Capítulo		Página
3	MATERIAL Y METODO	25
3.1	Localización del experimento	25
3.2	Duración del experimento	25
3.3	Materiales	25
3.3.1	Animales	25
3.3.2	Composición de las diferentes dietas a evaluar	25
3.3.2.1	Ensilaje	26
3.3.2.2	Concentrado	26
3.3.3	Material de campo y de laboratorio	27
3.4	Método	27
3.4.1	Criterio de selección de animales	27
3.4.2	Procedimiento experimental	28
3.4.3	Medición del consumo de alimentos	28
3.4.4	Forma de suministro de los alimentos	29
3.4.5	Rutina diaria del manejo de los animales	29
3.4.6	Duración de cada período y toma de muestras	29
3.5	Tratamientos	30
3.5.1	Diseño experimental	32
3.5.2	Análisis estadístico	32
3.6	Variables analizadas	32
3.6.1	Animal	32
3.6.2	Dieta	33
3.6.2.1	Ensilaje y concentrado	34
3.7	Información obtenida	34
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSION DE RESULTADOS	35
4.1	Composición de los alimentos	35
4.1.1	Composición química del ensilaje y concentrado	35

Capítulo		Página
4.1.2	Ingredientes del concentrado	36
4.2	Determinación del consumo de materia seca, para ensilaje, concentrado y total, por tratamiento	38
4.3	Peso vivo de las vacas en los distintos tratamientos durante el experimento	44
4.4	Producción de leche de las vacas en los diferentes tratamientos	46
4.5	Determinación de diferentes parámetros de calidad de leche de acuerdo a los distintos tratamientos utilizados	49
4.6	Concentración de ácido linoléico conjugado (CLA),(% de la grasa total)	54
5	CONCLUSIONES	59
6	RESUMEN	61
	SUMMARY	63
7	BIBLIOGRAFIA	65
	ANEXOS	75

**INDICE DE CUADROS**

Cuadro		Página
1	Promedios y rangos de composición química de ensilaje de pradera de la X Región	7
2	Composición promedio de la leche bovina	9
3	Composición botánica de la pradera permanente ensilada (%BMS)	26
4	Características de los animales utilizados en el experimento	28
5	Calendario de actividades y muestreos por período	30
6	Secuencia de tratamientos empleada en el experimento	31
7	Composición química (*) (base materia seca) del concentrado y del ensilaje de pradera utilizados	35
8	Ingredientes del concentrado	36
9	Composición de las dietas y consumo promedio calculado de proteína y EM por tratamiento	37
10	Consumo diario de ensilaje base fresca (kg/vaca/día), para las vacas que iniciaron el ensayo con el tratamiento C (55% de ensilaje).	42
11	Concentración de ácido linoleico y ácido linolenico en pradera y en ensilaje de pradera (como % del total de ácidos grasos)	58

**INDICE DE FIGURAS**

Figura		Página
1	Estructura química del ácido linolenico ( <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12) y la del ácido linoleico conjugado (CLA) ( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11)	13
2	Síntesis endógena a nivel de rumen y tejidos de <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA	15
3	Consumo de ensilaje (kg MS/vaca/día) en los tratamientos	38
4	Consumo de concentrado (kg MS/vaca/día)	40
5	Consumo total de MS, en kg/vaca/día en los tratamientos	41
6	Peso vivo durante el experimento	44
7	Producción de leche total (L/vaca/día).(Promedio durante todo el experimento)	46
8	Producción de leche FCM 4% de materia grasa	48
9	Contenido de proteína (%) en leche	49
10	Determinación del contenido de materia grasa (%) de la leche	51
11	Recuento de células somáticas	53
12	Concentración de ácido linoleico conjugado CLA (% del total de los ácidos grasos)	54

**INDICE DE ANEXOS**

Anexo		Página
1	Consumo diario de ensilaje base fresca, expresado en kg/vaca/día	76
2	Consumo diario de concentrado base fresca, expresado en kg/vaca/día	77
3	Consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día	78
4	Consumo diario de concentrado base materia seca, expresado en kg/vaca/día	79
5	Consumo Total al día base materia seca, expresado en kg/vaca/día	80
6	Producción diaria de leche, expresada en L/vaca/día	81
7	Producción diaria de leche corregida por grasa 4% (4% FCM), expresada en L/vaca/día	82
8	Contenido diario de grasa láctea, expresada en %	83
9	Contenido diario de proteína láctea, expresada en %	84
10	Recuento de células somáticas al día (*1000)	85
11	Peso de las vacas, expresada en kg/vaca	86
12	Concentración de CLA al día, expresada como % de los ácidos grasos totales	87
13	Análisis de varianza para el consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día	88
14	Test de comparación de Tukey (95%) para consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día	88
15	Análisis de varianza para el consumo diario de concentrado base materia seca, expresado en kg/vaca/día	89

16	Test de comparación de Tukey (95%) para el consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día	89
17	Análisis de varianza para el consumo total al día base materia seca, expresado en kg/vaca/día	89
18	Análisis de varianza para la producción diaria de leche, expresado en L/vaca/día	90
19	Análisis de varianza para la producción diaria de leche corregida por grasa 4% (4% FCM), expresada en L/vaca/día	90
20	Análisis de varianza para el contenido diario de proteína láctea, expresada en %	90
21	Análisis de varianza para el contenido diario de grasa láctea, expresado en %	91
22	Análisis de varianza para el recuento diario de células somáticas (*1000)	91
23	Análisis de varianza para el peso de las vacas, expresado en kg/vaca	91
24	Análisis de varianza para la concentración de CLA al día, expresado como % de los ácidos grasos totales	92

## 1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los productores agrícolas están enfrentados a un mercado cada vez más exigente en cuanto a calidad y características de los productos y alimentos como la carne y leche, dada la preocupación por parte de los consumidores de mantener una dieta sana, rica en componentes benéficos para la salud.

Una de estas características deseables en la alimentación humana es la presencia de componentes como el ácido linoleico conjugado (CLA), el cual está presente en la grasa de los productos bovinos como la carne y la leche. Este componente, que ha sido muy estudiado en los últimos tiempos, sería el responsable de una serie de efectos que ayudarían a mantener la salud y el bienestar humano. Por otro lado, el nivel de CLA en la carne y la leche bovina varían dependiendo del sistema productivo, originando últimamente una serie de hipótesis, siendo una de las más importantes la que postula a la alimentación como responsable de dicha variabilidad.

Los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas hasta ahora, indican que a medida que aumenta el nivel de forrajes verdes en la dieta, aumenta el nivel de CLA en la leche bovina.

Tomando en cuenta lo señalado anteriormente, se establece la siguiente hipótesis:

- Un incremento en la proporción de ensilaje de pradera en la dieta de las vacas, produce un aumento en el nivel de ácido linoleico conjugado (CLA) en la leche.

El objetivo general de la presente investigación es tratar de demostrar que la concentración de CLA en la grasa láctea aumenta, al aumentar el consumo de ensilaje de pradera.

Los objetivos específicos son:

- Determinar el consumo total de materia seca por vaca.
- Determinar el peso de las vacas.
- Determinar la producción de leche por vaca.
- Determinar el contenido de proteína, materia grasa y células somáticas presentes en la leche.
- Determinar la concentración de ácido linoleico conjugado en la grasa láctea producida en los diferentes tratamientos.

## 2 REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Situación lechera en Chile.

Chile presenta una variada gama de sistemas de producción reproduciendo el marco internacional. Así, en la zona central que abarca desde la Región Metropolitana hasta Chillán, los sistemas productivos se basan y dependen principalmente de los alimentos concentrados y por lo tanto con mayores costos de producción (SARAH, 1996).

La zona sur de Chile, que se enmarca entre Los Angeles (VIII Región), hasta Chiloé (X Región), es la zona lechera por excelencia del país con un alto porcentaje de recepción total de leche y ha aumentado su producción en términos absolutos (SARAH, 1996).

El número de vacas lecheras se ha mantenido relativamente estable (617.000 cabezas de vacas lecheras), los aumentos de producción anotados responden básicamente a innovaciones, en el manejo alimentario y genético, que han permitido que la producción por vaca se sitúe por encima de los 3300L, lo que significa que la producción en los últimos 20 años se ha casi triplicado (CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, MINISTERIO DE AGRICULTURA (ODEPA), 1999).

Ante la posibilidad de una integración regional con países vecinos es importante tener en cuenta la fluctuación de costos de producción de la leche a nivel internacional. En Chile estos oscilan entre 0,20-0,25 US\$/kg y en el ámbito internacional estos varían entre 0,15-0,18 US\$/kg. Para que la integración sea interesante para los productores nacionales debe existir una reducción en los costos de producción, lo que se plantea como un gran desafío (SARAH, 1996).

**2.1.1 Situación lechera en la Décima Región.** En la zona sur, la relación verano / invierno es aproximadamente 3:1, ya que en gran parte de las explotaciones, especialmente las pequeñas, la alimentación esta basada en el crecimiento de la pradera. Sólo en algunas medianas y en las grandes explotaciones de esta zona, durante la época de bajo crecimiento de los pastos de invierno, se usan sistemas de alimentación suplementarios a la pradera. Esta zona en términos generales descontando las grandes explotaciones, reproduce en un nivel productivo leche/ha muy inferior, el esquema de producción de ciertos países del Hemisferio Sur o sistema neozelandés, donde el pasto es la base principal de sustentación de la producción (SARAH, 1996).

La recepción de leche anual en la temporada 2004 fue de 1.676.480.493 litros, la que fue mayor a la de 2003 que tuvo una recepción de 1.563.169.284 litros, siendo el crecimiento para el año 2004 de un 7,2 %, sin embargo el incremento en el ámbito de la X Región fue de un 11,8 % con una recepción en planta de 1.167.655.829 litros (ODEPA, 2004).

## **2.2 El ensilaje de pradera como base de la ración de vacas lecheras.**

En la zona sur de Chile las praderas permanentes, compuestas básicamente por gramíneas y bajos porcentajes de leguminosas, constituyen la principal fuente de forraje para los sistemas productivos de leche (KLEIN, 1993).

Debido a las características climáticas de la Décima Región, donde las precipitaciones se concentran en períodos de otoño-invierno, disminuyendo notoriamente en primavera-verano y las temperaturas máximas y medias presentan valores muy bajos en invierno y altos en el período estival, el crecimiento vegetal es desuniforme a través del año. Por un lado la producción

de pasto durante el invierno es aproximadamente 9 a 10% del total anual; en cambio, durante la primavera y parte del verano, se puede obtener el 50 a 60% de ese total. Estas características de crecimiento de las praderas hacen que el suministro de forraje evidencie períodos críticos en invierno que pueden ser extremadamente severos. En algunos años secos, también es posible observar períodos críticos de crecimiento de forraje durante los meses de verano (TORRES, 1994).

Dado que los animales requieren de una alimentación permanente y bien balanceada, se hace necesario cosechar una cierta proporción en el período de mayor crecimiento, para conservarlo y proporcionárselo a los animales en las épocas de crisis de alimento (TORRES, 1994).

La producción de leche en invierno en el sur del país se basa fundamentalmente en la utilización del forraje conservado como ensilaje y/o heno y concentrado.

KLEIN (1993), señala que en los últimos años la conservación de la pradera en forma de ensilaje ha aumentado considerablemente, constituyéndose en el principal recurso forrajero. Por otra parte, LANUZA (1988a) afirma que bajo las condiciones de clima del sur de Chile se considera al ensilaje la forma de conservación más segura y eficiente para lograr el mínimo de pérdidas de nutrientes del forraje.

El objetivo primordial del proceso de ensilado es conservar el forraje manteniendo la calidad de éste lo más similar a la del forraje original. El ensilado se basa en la fermentación anaeróbica del forraje, principalmente de sus carbohidratos solubles, por parte de microorganismos fermentadores lo que lleva a la producción de ácido láctico como metabolito final, con la consecuente reducción en el pH. Es esta acidez la que permite que el forraje se conserve,

por lo que los factores que influyan en la fermentación inciden en la calidad del ensilaje (MAC DONALD *et al.*, 1991).

**2.2.1 Calidad del ensilaje.** El valor nutritivo de los ensilajes está determinado principalmente por la composición del forraje al momento de la cosecha y por las modificaciones químicas que toman lugar durante el proceso de ensilado. El valor nutritivo del ensilaje es siempre menor en relación al material de origen, siendo la magnitud de estos cambios dependiente de medidas que se adopten para conducir el proceso de conservación en la forma más adecuada, considerándose el valor nutritivo como una función del consumo voluntario, digestibilidad y eficiencia de utilización de los nutrientes digeridos (ELIZALDE, 1994).

ANRIQUE *et al.* (1996), al comparar el ensilaje con el forraje original indican que este último, posee menor materia seca (9% en promedio) y fibra en cualquiera de sus formas pero tiene mayor digestibilidad de la materia seca, así como también contiene más proteína y energía.

KLEIN (1994), en concordancia con LANUZA (1988b), indica que los estudios realizados en la zona sur, para caracterizar a los ensilajes de pradera, han revelado que en promedio son deficientes en proteína y energía como para sustentar, por sí solos, una buena producción de leche. Del mismo modo, LANUZA (1988b) indica que en promedio sólo los ensilajes de pradera temprana y bien sellados y los clasificados por ANRIQUE (1987) con más de 12 % de proteína cruda, se acercan a valores de proteína y energía compatibles con buena calidad de forraje preservado para producción de leche. Sin embargo, LANUZA (1988b) también hace notar que el rango de variación es amplio y al igual que ANRIQUE *et al.*, (1995) señala que sobre el 50 % de los agricultores tienen ensilajes con niveles bajo 10 % de proteína cruda.

ANRIQUE *et al.* (1996), resumen los promedios y rangos de composición de diferentes ensilajes de la Décima Región. Para los ensilajes de pradera los valores obtenidos se presentan en el Cuadro 1.

**CUADRO 1 Promedios y rangos de composición química de ensilaje de pradera de la Xª Región.**

	MS (%)	PB (%)	FDA (%)	FDN (%)	FC (%)	EB (mcal/kg)	pH
Promedio	19.46	13.05	38.67	55.9	32.07	4.75	4.1
Rango	13.0-29.7	8.1-20.9	31.0-44.4	50.2-61.6	24.8-36.4	4.64-5.07	3.6-5.5

FUENTE: Adaptado de ANRIQUE *et al.* (1996).

Los autores señalan que los rangos de variación son bastante amplios principalmente por la diversidad de estados fenológicos del forraje al corte.

Con relación a esto último, un aspecto conocido es que al madurar la planta, la digestibilidad y el contenido de energía se reducen y que este proceso se acelera luego de iniciada la emergencia de espiga en gramíneas o la floración en leguminosas.

**2.2.2 Consumo.** Los productos de la fermentación, como: amoníaco, ácidos, aminos, etanol, etc., pueden alterar completamente el consumo de ensilaje, dependiendo del cuidado en la elaboración y en la preparación de ensilajes. Una alta digestibilidad no es por si sola una garantía para un buen consumo. Esto concuerda con Wilkins (1986), citado por DUMONT (1994), quien además agrega que cuando los ensilajes tienen un bajo nivel de nitrógeno amoniacal entonces sí se encuentra una relación positiva entre consumo y digestibilidad, tolerándose para un buen ensilaje hasta un 5 % de nitrógeno amoniacal, como porcentaje del nitrógeno total.

Demarquilly (1980), citado por ELIZALDE (1994), señala que entre los factores de estímulo del consumo se destacan los relacionados a la palatabilidad del alimento. Los rumiantes usan sus sentidos; olfato, gusto, tacto y visión para evaluar la palatabilidad relativa de los distintos alimentos. Esto es especialmente válido a pastoreo, cuando ciertas plantas son escogidas y otras rechazadas. Cuando no hay posibilidad de elección, como es el caso de animales estabulados, la tasa de consumo se ve afectada. Se señala además, que el menor consumo de forrajes ensilados no se debe a efectos de llenado del rumen, el cual es menor para el caso de pasto fresco, sino que se debe a una menor tasa de ingestión que refleja una menor palatabilidad, relacionada a la presencia de productos de fermentación que entregarían olores y sabores desagradables en el ensilaje.

Entre los componentes del valor nutritivo de ensilajes destaca como el más limitante el consumo voluntario. Las características de una fermentación extensiva de los ensilajes, como son altas concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV), aminas y nitrógeno amoniacal, actúan como factores de inhibición del consumo voluntario. Además, entre las características físicas de los ensilajes, tamaños de picados muy largos inhibirían el consumo voluntario (ELIZALDE, 1994).

### **2.3 Composición química de la leche.**

La leche es definida como el producto de secreción de la glándula mamaria, también en términos legales como el producto íntegro y fresco de la ordeña completa de una o varias vacas, bien alimentadas y en reposo, exento de calostro y que cumpla con los caracteres físicos y bacteriológicos que se establecen (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION (FAO), 1981).

Los principales componentes de la leche son: agua, proteínas, grasa, lactosa y cenizas mostrados en el Cuadro 2, sin embargo ALIAS (1970) menciona que es muy difícil presentar valores estimados, ya que varían de acuerdo a distintos factores tales como raza, época de lactancia, época del año, individualidad, etc.

**CUADRO 2 Composición promedio de la leche bovina.**

<b>Componentes</b>	<b>Porcentaje</b>
Agua	87,3
Sólidos totales	12,4
Materia grasa	3,8
Sólidos no grasos	8,6
Proteína	3,25
Lactosa	4,9
Cenizas	0,8

FUENTE: ALIAS (1970), ASELTINE (1989) y BUTENDIECK y HAZARD (1997).

**2.3.1 Proteína.** El contenido de sólidos y la composición proteica de la leche bovina ha tenido un interés creciente a causa de un aumento de la proporción de leche utilizada en la fabricación de productos tales como quesos (De PETERS y CANT, 1992).

BUTENDIECK y HAZARD (1997) mencionan que el contenido de proteína de la leche presenta variaciones dentro de una misma raza y entre las razas lecheras. Así por ejemplo la raza Holstein contiene en promedio un 3,3 % de proteína cruda y la Jersey un 3,9 %.

El 95 % del nitrógeno de la leche se encuentra en proteínas genuinas. El resto se encuentra formando compuestos sencillos que pasan directamente de

la sangre a la leche; urea, creatina y amoníaco. La caseína, que no es totalmente uniforme, representa la mayor fracción de las proteínas lácteas en todas las especies salvo en la humana. Los ruminantes en general presentan niveles entre 82-86 % de caseína en relación al total de proteína de la leche. Únicamente en el calostro, los niveles de albúminas y globulinas superan a la caseína. La caseína contiene fosfato ligado a restos de hidroxiamino (serina y treonina) y calcio. Aunque la proteína de la leche, considerada como un todo, es rica en aminoácidos esenciales, la caseína es relativamente pobre en metionina (BONDI, 1988).

Aproximadamente el 90 % de las proteínas lácteas se sintetizan en la ubre a partir de aminoácidos extraídos de la sangre; son las caseínas,  $\alpha$ -lactalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina. El resto, incluyendo la albúmina, pseudoglobulina y  $\alpha$ - caseína pasan directamente de la sangre a la leche. La extracción de aminoácidos esenciales en la ubre es aproximadamente, el doble que la de los no esenciales. Evidentemente la ubre sintetiza parte de los no esenciales a partir de glucosa y aminoácidos esenciales (BONDI, 1988).

De PETERS y CANT (1992), señalan que el contenido de proteína de la leche de vaca llega a su máximo a los 3 años de edad y luego declina con el avance de la edad. La raza también es un factor preponderante en el contenido de proteína como es el caso de las vacas Holstein que tienen uno de los niveles más bajos en el contenido proteico de la leche.

**2.3.2 Grasa.** El contenido de materia grasa es dependiente, al igual que en el caso de las proteínas, de factores nutricionales y no nutricionales. Variando el contenido graso por raza, siendo un promedio para el caso de la raza Holstein un 3,4 % de materia grasa (BUTENDIECK y HAZARD, 1997).

BUTENDIECK y HAZARD (1997), mencionan que la alimentación juega un rol fundamental en el contenido graso de la leche, dietas que consideran un alto suministro de concentrado implican que el contenido graso de la leche disminuye; por el contrario dietas ricas en forraje permiten obtener leche con un buen tenor graso.

La grasa láctea está formada por triglicéridos en un 96-98 %, que poseen ácidos grasos de cadena larga (C-16 a C-18), que derivan del plasma sanguíneo. Además, contiene ácidos de cadena corta (C-4 a C-14) que se sintetizan en la glándula mamaria a partir de acetato y butirato, generados en el rumen y ácidos de longitud intermedia (C-16) que se sintetizan por ambos mecanismos. Los triglicéridos son sintetizados primariamente en el retículo endoplasmático de las células alveolares; las grasas se mueven hasta la membrana apical y son secretadas al lumen del alvéolo mamario en forma de glóbulos grasos de la leche (SUTTON, 1989).

Entre los ácidos grasos que encontramos en la grasa láctea de productos bovinos, y entre los de cadena larga esta presente un ácido graso que ha sido descubierto hace pocos años atrás y que está siendo muy estudiado últimamente, es el ácido linoleico conjugado CLA.

#### **2.4 Qué es el ácido linoleico conjugado (CLA).**

El ácido linoleico conjugado (CLA) se encuentra presente en forma natural en la grasa de los alimentos provenientes principalmente de animales rumiantes como la carne y la leche (DHIMAN *et al.*, 1999).

En realidad CLA es un termino colectivo para describir a varios isómeros posicionales o geométricos del ácido linoleico 18:2 (*cis*-9, *cis*-12) que son

producidos en el rumen como intermediarios en la bio-hidrogenación del ácido linoleico presente en la dieta y, al menos en el caso del isómero *cis*-9, *trans*-11, por acción de la enzima Delta 9 desaturasa presente en la glándula mamaria bovina actuando sobre el ácido *trans* vaccénico (PALMQUIST, 2001).

En la Figura 1 se observa la estructura química del ácido linoleico 18:2 (*cis*-9, *cis*-12) y la del ácido linoleico conjugado (CLA) (*cis*-9, *trans*-11).

El isómero *cis*-9, *trans*-11 18:2 es generalmente el CLA más abundante en la grasa láctea, siendo el segundo más abundante el isómero *trans*-7, *cis*-9 18:2 (PIPEROVA *et al.*, 2002), pero también es de interés el isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA (PARIZA, 2001). Todos estos son productos naturales y su concentración varía en productos lácteos (o grasa bovina) dependiendo de la dieta.

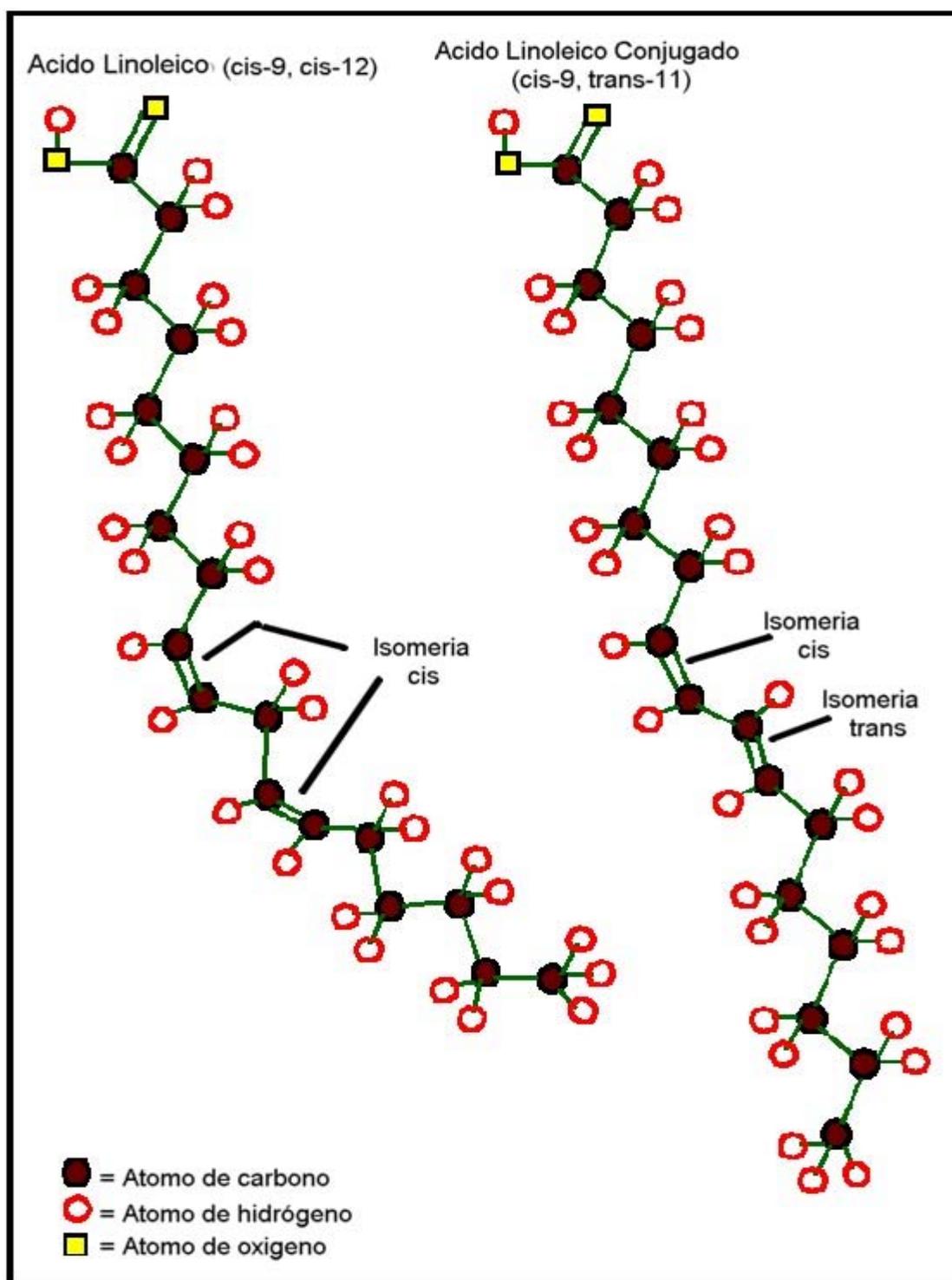


FIGURA 1 Estructura química del ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12) y del ácido linoleico conjugado (CLA) (*cis*-9, *trans*-11).

FUENTE: Adaptado de NIETO *et al.* (2002).

## 2.5 Síntesis del CLA en el rumen y en la glándula mamaria.

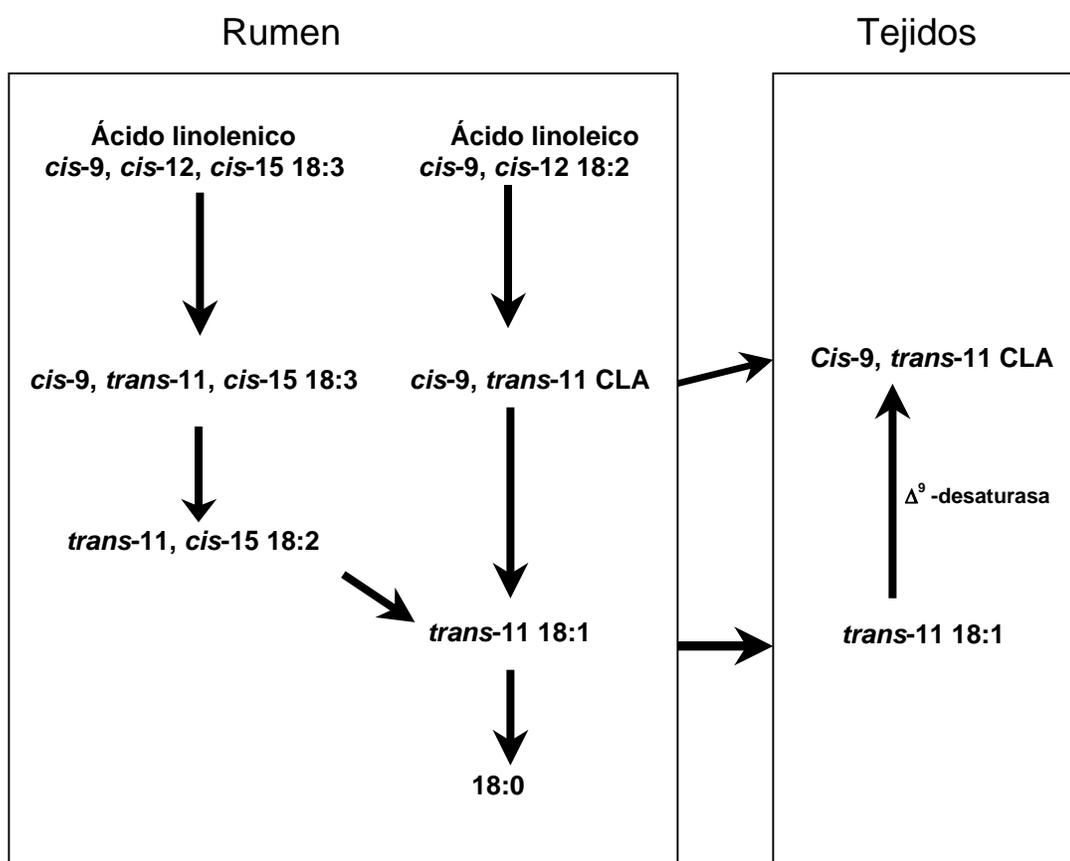
Parte del CLA presente en los productos alimenticios derivados de rumiantes proviene de la bio-hidrogenación incompleta de ácidos grasos insaturados presentes en la dieta, proceso que ocurre en el rumen. En el caso de las praderas permanentes los lípidos en el forraje consisten en gran parte en glicolípidos y fosfolípidos, y la mayor concentración de ácidos grasos corresponde a dos ácidos grasos insaturados, el ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) y el ácido linolénico (*cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 C18:3) (BAUMAN *et al.*, 2000). Cuando los rumiantes consumen estos ácidos grasos en la dieta ocurren dos importantes transformaciones en el rumen (KEENEY, 1970). La transformación inicial es una hidrólisis de los enlaces de los ésteres, catalizados por lipasas de origen microbiano que liberan los ácidos grasos al fluido ruminal. Este paso es un prerrequisito para la segunda transformación, que es la bio-hidrogenación de los ácidos grasos insaturados por las bacterias del rumen (BAUMAN *et al.*, 2000).

La isomerización del doble enlace de la posición *cis*-12 del ácido linoleico representa el paso inicial y resulta en la formación de *cis*-9, *trans*-11 CLA. Una segunda reacción que ocurre en el rumen es una reducción, donde *cis*-9, *trans*-11 CLA es convertido en *trans*-11 C18:1 (también conocido como ácido vaccénico); el paso final es una segunda reducción que da como resultado la formación de ácido esteárico, que es un ácido graso saturado (C18:0). Los primeros dos pasos son rápidos pero la tercera reacción es lenta. Por lo tanto, la reducción del ácido vaccénico, tiende a ser una limitante en la secuencia de bio-hidrogenación de ácidos grasos insaturados de 18 carbonos (KEENEY, 1970; HARFOOT y HAZLEWOOD, 1997).

El ácido linolénico (18:3 n3) también experimenta una hidrogenación en el rumen, isomerisándose primero a *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 18:3, seguido por

reducciones de los dobles enlaces en los carbonos 9,11 y 15 para producir *trans*-11, *cis*-15 18:2, *trans*-11 18:1 y 18:0, respectivamente (Wilde y Dawson, 1996, citados por LOOR, 2002). La biohidrogenación de los ácidos linoleico y linolénico puede también resultar en producciones variables de isómeros *trans*-18:1 y *cis*-18:1. De todos estos ácidos los más estudiados son el isómero CLA *cis*-9, *trans*-11 18:2 y el *trans*-11 18:1 (ácido vaccénico).

Todo lo descrito anteriormente se observa esquemáticamente en la Figura 2.



**FIGURA 2 Síntesis endógena a nivel de rumen y tejidos de *cis*-9, *trans*-11 CLA.**

FUENTE: Adaptado de BAUMAN *et al.*(2001).

Hasta hace poco tiempo se pensaba que el CLA (principalmente *cis*-9, *trans*-11) presente en la grasa de la leche de rumiantes se originaba (sólo) en

el rumen, sin embargo GRIINARI *et al.* (2000), establecieron, vía análisis de CLA en leche, luego de agregar por infusión ácido *trans*-11 18:1 en el abomasum, que existe un camino metabólico activo en la glándula mamaria que permite, vía la intervención de la enzima delta -9 desaturasa, introducir un doble enlace en el ácido *trans* vaccenico 18:1 generado en el rumen, dando así también origen a *cis*-9, *trans*-11 CLA.

La presencia de la enzima delta -9 desaturasa en la glándula mamaria y en el tejido adiposo, permite a los rumiantes generar el isómero de CLA *cis*-9, *trans*-11 a partir de la desaturación del ácido vaccénico producido en el rumen. Es por esto que la presencia de CLA en carne o leche de los rumiantes se encuentra altamente relacionada con la producción de este intermediario en el rumen. Si bien, en otras especies no rumiantes también está presente esta enzima, únicamente los rumiantes a través de la hidrogenación ruminal incompleta pueden producir importantes cantidades del sustrato necesario (ácido vaccénico) para la síntesis endógena del *cis*-9, *trans*-11 CLA (GRIINARI y BAUMAN, 1999).

Se ha demostrado recientemente que la síntesis endógena vía la enzima delta -9 desaturasa representa la mayor fuente de *cis*-9, *trans*-11 CLA en la grasa de la leche en un gran número de diferentes dietas, incluyendo la pradera permanente (GRIINARI *et al.*, 2000; CORL *et al.*, 2001; LOCK y GARNSWORTHY, 2002; PIPEROVA *et al.*, 2002; KAY *et al.*, 2002).

## **2.6 Efectos benéficos del ácido linoleico conjugado.**

Si bien la grasa de los productos bovinos es muchas veces considerada perjudicial para la salud por su alto nivel de grasas saturadas, se ha encontrado que el ácido linoleico conjugado (CLA), podría tener efectos

benéficos para la salud humana (Pariza, 1999 citado por CHOUINARD *et al.*, 2001).

Entre estos efectos benéficos destacan el producido por el isómero *cis*-9, *trans*-11 que es considerado un potente anticancerígeno; este isómero es el de mayor presencia en el total de la grasa de la leche, y representa alrededor del 75-90% del total de CLAs (IP, 1999; PARODI, 1999), aunque el CLA *trans*-10, *cis*-12 también tiene actividad anticancerígena (PARIZA, 2001). Estos autores indican que *cis*-9, *trans*-11 también aumenta el crecimiento y probablemente la eficiencia alimenticia en experimentos con ratas. El isómero CLA *trans*-10, *cis*-12, ejerce efectos específicos en los adipocitos, en particular reduciendo la cantidad de lípidos que ingresan al adipocito, al inhibir la actividad de la enzima lipasa lipoproteica y la enzima estearoil-Co-a desaturasa (PARIZA, 2001).

A diferencia de la mayoría de los compuestos anticancerígenos, CLA puede producir efectos importantes como reducir la formación de nuevos tumores y servir como agente citotóxico para eliminar células tumorales, esto se ha observado en experimentos con animales. En experimentos con ratones, que tenían cáncer de piel y tumores en la glándula mamaria, se demostró la habilidad del CLA (*cis* 9, *trans* 11) para reducir la incidencia de este tipo de enfermedades. Además el efecto citotóxico del CLA se ha observado en estudios *in vitro* en melanomas, carcinoma del colon, carcinoma de la próstata, leucemia, carcinoma en ovarios y tumores en la glándula mamaria (BAUMAN *et al.*, 1998).

Un estudio reciente, utilizando un modelo de cáncer de mamas en ratas, demostró que en un grupo de estas alimentadas con una dieta que incluía mantequilla que había sido enriquecida naturalmente con *cis*-9, *trans*-11 CLA,

la incidencia de tumor de mamas fue mucho menor que en aquellas que consumieron la dieta control (IP, 1999).

En general, el consumo de CLA por parte de la población humana es bajo, en comparación al consumo supuestamente necesario para lograr un efecto reductor en la formación de tumores en animales de laboratorio (DHIMAN *et al.*, 1999). Estudios realizados en animales indican que los efectos anticancerígenos se manifestarían en humanos con consumos de alrededor de 3 gr/día de CLA (LAWLESS *et al.*, 1998).

## **2.7 Variabilidad en el contenido de CLA en la leche.**

En general, el contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en la leche tiene variaciones que oscilan entre los 3 y los 5.5 mg/g de grasa (DHIMAN *et al.*, 1999), sin embargo recientemente se han reportado variaciones de 2.5 hasta 17.7 mg de CLA por gramo de grasa láctea, lo que se debería a cambios en la composición de las dietas (Jiang *et al.*, 1996 citados por DHIMAN *et al.*, 1999).

Como se indicó previamente el contenido de CLA en la grasa láctea de bovinos depende de la producción en el rumen de ácido vaccénico y, en menor grado del CLA que se sintetiza en este compartimiento a partir de precursores presentes en la dieta. La actividad de la enzima delta-9 desaturasa es otro factor que determina el contenido total de CLA. Diferencias en el contenido de CLA en la grasa láctea entre rebaños han sido relacionadas con la dieta que reciben las vacas. Sin embargo, en una misma dieta y con condiciones de manejo idénticas, aun hay variaciones entre vacas en relación al contenido de CLA en la grasa de su leche (BAUMAN *et al.*, 2001).

**2.7.1 Factores relacionados con la dieta.** La variación en el contenido de CLA en la grasa láctea entre diferentes rebaños nos indica que la diferencia en las dietas tiene una influencia importante. En los últimos años se han identificado factores relacionados con la dieta que afectan el contenido de CLA en la grasa de la leche. (BAUMAN *et al.*, 2001).

El nivel de forrajes en la dieta es uno de los factores que influirían en el nivel de CLA en la grasa láctea, reportándose un incremento desde los 4.6 hasta 10.9 mg/g, a medida que la ración incluía niveles crecientes de pradera (KELLY *et al.*, 1998b).

2.7.1.1 Dieta en base a praderas. DIHMAN *et al.* (1999) demostraron que vacas en pastoreo tenían niveles más altos de CLA en la grasa que aquellas que recibían menos pradera pero más heno y concentrado. Estos autores observaron que la concentración de CLA (*cis*-9, *trans*-11) en la grasa láctea aumentaba en la medida que la pradera constituía un porcentaje creciente de la dieta.

LOOR *et al.* (2002) lograron elevar la producción diaria de *cis*-9, *trans*-11 hasta aproximadamente 16 mg/d (v/s alrededor de 5,5 mg/d en el grupo testigo) luego de 8 semanas en pastoreo, con suplementos que aportaban ácido linoleico vía 2,2 kg/d de afrecho de soya, extraído mecánicamente.

En las gramíneas y leguminosas que constituyen las praderas permanentes predomina el ácido linolénico (18:3 n-3) pero también está presente el ácido linoleico (18:2 n-6). LOOR *et al.* (2002), en un estudio realizado en primavera-verano observaron que el contenido promedio de ácidos grasos (% de la MS) fue de 1,9 y 1,5 % en gramíneas (principalmente *Dactylis glomerata* L.) y tréboles (*Trifolium repens* L. y *Trifolium pratense* L.), respectivamente. Específicamente, la concentración de 18:3 n-3 fue mayor en

gramíneas (53,2 %) v/s 45,4 % de los ácidos grasos totales, en trébol. Estos autores señalan que la temperatura ambiente afecta el contenido de lípidos del forraje, esperándose que tanto el contenido total de lípidos como de ácido linolénico aumenten en climas más fríos y en forrajes con mayor porcentaje de hojas inmaduras. Según estos autores lo anterior se observa más claramente en el caso de las gramíneas, ya que el contenido de ácidos grasos totales fue 2,2 % en primavera (mayo) y bajó a 1,7 % en verano (julio); el ácido linolénico representó el 55,9 % y el 50,1 % del total de ácidos grasos en los meses citados, respectivamente.

DEWHURST (2001), estudiaron la composición de ácidos grasos de 8 especies de gramíneas. Específicamente para el caso de *Lolium perenne* L. observaron que la concentración de ácido linolénico era máxima al inicio de la primavera (fines de abril) y en otoño (noviembre), con valores menores en verano. Este ácido constituyó el 62,6 y el 58,5 % del total de ácidos grasos en primavera y otoño, respectivamente. La concentración de ácidos grasos totales (% de la MS) fluctuó en forma importante y, en el caso de *L.perenne* fue máxima (2,06 %) al inicio de primavera, pero en otro experimento, alcanzo 2,41 % en el otoño.

LATRILLE<sup>1</sup> (2004) señala que lo anterior parece indicar que efectivamente existen marcadas diferencias estacionales en el contenido total de ácidos grasos de las principales especies forrajeras, esperándose valores más altos al inicio de la primavera y en el otoño. Existen también diferencias entre especies y dentro de especies y pueden existir diferencias en la misma especie entre países; esto ultimo asociado posiblemente a condiciones ambientales.

---

<sup>1</sup> LATRILLE, L. (2004), Ing. Agr., M. Sc., Ph. D. Instituto de Producción Animal, Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

Las diferencias en contenido de ácidos grasos dentro de un año posiblemente explican porqué en Nueva Zelandia se hayan observado concentraciones variables de CLA en grasa láctea, con “peaks” que coinciden con los momentos en que las concentraciones de ácidos grasos (sobre todo linolénico) son mayores en la pradera.

2.7.1.2 Dietas suplementadas con granos y aceites. Además de los estudios realizados en praderas se han evaluado otras alternativas para aumentar la concentración de CLA en la grasa de la leche. Entre estas últimas están aquellas que aportan fuentes concentradas de ácido linoleico (como aceite de maravilla o de soya), las que han producido marcados aumentos en la concentración de CLA<sup>1</sup>.

Se ha encontrado que suplementaciones con grano de soya y aceite de soya a vacas lecheras ha incrementado la concentración de CLA en la leche (Dhiman *et al.*, 1997 citados por LAWLESS *et al.*, 1998).

BEAR *et al.* (2001), informaron que aceite de pescado, incorporado al 2 % de una dieta con 50 % de forrajes (25 % de ensilaje de maíz y 25 % de heno de alfalfa) produjo un aumento marcado en el contenido de CLA (3,7 veces), así como de ácido vaccénico (*trans*-11 C 18:1) (4,4 veces) en la grasa láctea.

Entre los aceites estudiados como suplementos para aumentar la concentración de CLA (*cis*-9, *trans*-11) en grasa láctea, el aceite de origen vegetal que ha producido los aumentos más espectaculares es el aceite de girasol (BAUMAN *et al.*, 2000; PALMQUIST, 2001) aunque el aceite de soya también ha aumentado muy significativamente este ácido (KELLY *et al.*, 1998).

---

<sup>1</sup> LATRILLE, L. (2004), Ing. Agr., M. Sc., Ph. D. Instituto de Producción Animal, Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

Sin embargo para obtener un efecto importante ha sido generalmente necesario agregar estos aceites vegetales a niveles muy altos, de modo que el consumo total de ácidos grasos fluctúe entre 1000 y 1500 g por vaca al día, lo que hace que esta alternativa sea difícilmente económica, al menos en los sistemas de producción basados en un uso intensivo de praderas, como es el caso de Nueva Zelanda (THOMSON *et al.*, 2001).

CHILLIARD *et al.* (2000), señalan que el aceite de pescado parece tener efectos igualmente importantes en aumentar el contenido de CLA (*cis*-9, *trans*-11) de la leche, pero estos efectos se observan con consumos mucho mas bajos de aceite.

PALMQUIST (2001), informo que alimentando vacas lecheras con una combinación de aceite de pescado y aceite de maravilla habría aumentado el contenido de CLA en grasa láctea a un 6% (promedio por tratamiento), aunque vacas individuales excedieron a un 8 %. Esto se acompañó por una concentración de ácido vaccenico en grasa láctea mayor a 18 %. Estos autores postulan que los ácidos grasos de cadena larga del aceite de pescado modifican la población ruminal de microbios, y que el alto contenido de ácido linoleico en el aceite de maravilla aportó un máximo de sustrato para la síntesis ruminal de ácido vaccenico.

ABU-GHAZALEH y SCHINGOETHE (2002), en un estudio aportaron aceite de pescado vía harina de pescado. Al combinar aceite de pescado (aportado al 0,5 % de la dieta como harina de pescado) con aceite de soya (aportado al 2 % como soya extruída) lograron aumentar tanto CLA (3,2 veces) como ácido vaccenico (3,5 veces). La dieta que incluía 0,5 % de aceite de pescado y 2 % de aceite de soya aumentó la producción de leche (38 v/s 33.3 kg del testigo) pero disminuyó ligeramente el % de proteína (3,1 v/s 3,27 % del testigo) y de grasa (3,07 v/s 3,74 % del testigo).

KEADY *et al.* (2002), estudiaron específicamente el efecto de suplementar dietas basadas en ensilaje de pradera (principalmente *L.perenne*) con concentrados que aportaron cantidades variables de aceite de pescado (> a 300 g/vaca/día) y observaron una disminución en el consumo de ensilaje, y en la concentración de grasa y proteína en la leche. Sin embargo, a niveles más modestos de inclusión de aceite de pescado (150 g/vaca/día) no se afectó el consumo de ensilaje y aumentó la producción de leche, no afectándose el porcentaje de grasa y proteína, y no se afectó la concentración de CLA de la leche.

**2.7.2 Factores relacionados con el animal.** La diferencia entre animales tiene un efecto importante en cuanto al contenido de CLA en la grasa de la leche. Se ha observado que las vacas son diferentes entre si en la producción ruminal de ácido vaccénico y de CLA, incluso cuando todos los animales han estado consumiendo la misma dieta. Estas variaciones pueden tener relación con diferencias individuales en factores como conductas de alimentación y frecuencia de masticación que podrían afectar el medio ambiente del rumen.

También las vacas difieren en la actividad de la enzima delta 9-desaturasa y en la síntesis endógena de CLA en la glandula mamaria. Es posible que esta variación entre individuos pueda deberse a diferencias en la actividad de la enzima delta 9-desaturasa, resultado de una diferente expresión genética, a un polimorfismo genético que afectaría la estructura primaria o terciaria de la enzima, o a factores que afecten la interacción entre la enzima y el sustrato o el producto (PETERSON *et al.*, 2002).

## **2.8 Efecto de una dieta en base a ensilaje de praderas en el contenido de CLA.**

En un estudio realizado por ELGERSMAN *et al.*, (2004), se midió a lo largo de 14 días (el día 0, el día 2, el día 6 y el día 14), el contenido de CLA de la grasa láctea en 6 vacas lecheras en la mitad de su lactancia. La alimentación de estos animales pasó de pastoreo de pradera a una dieta de heno y ensilaje de pradera, y se observó que no hubo importantes cambios en el consumo de materia seca ni en la producción de leche. Después del cambio de alimentación el promedio en el contenido de grasa de la leche aumentó de 43,7 g/kg en el día 0 (es decir al momento de iniciarse el cambio de dieta) hasta 54,9 g/kg, luego de transcurridos 14 días con la nueva dieta. Sin embargo el promedio en el contenido de CLA disminuyó de 23,4 g/kg de grasa láctea en el día 0 a 4,4 g/kg en el día 14; el contenido de ácido vaccénico disminuyó proporcionalmente con el contenido de CLA.

LEE *et al.*, (2003) en un experimento utilizaron 15 terneros de raza Frisona, en 3 grupos de 5, provistos con cánulas en el rumen, duodeno e íleon, que tuvieron acceso ad libitum a una pradera mixta, a un ensilaje de trébol blanco o rosado y a una mezcla de ensilaje de pradera con ensilaje de trébol respectivamente. No hubo grandes diferencias en el fluido duodenal en el total de ácidos grasos entre las dietas, sin embargo hubo un pequeño incremento con la dieta en base a ensilaje de trébol blanco. El ácido vaccénico, el ácido linoleico y el *cis-9, trans-11* CLA, se elevaron con la dieta en base a ensilajes de trébol, principalmente con el ensilaje de trébol blanco.

### 3 MATERIAL Y METODO

#### 3.1 Localización del experimento.

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental “Vista Alegre”, propiedad de la Universidad Austral de Chile, la cual se ubica a 6 km al norte de la ciudad de Valdivia, Décima Región, Chile.

#### 3.2 Duración del experimento.

El experimento tuvo una duración de 10 semanas, desde el 4 de mayo hasta el 13 de julio del 2004, considerándose las primeras semanas una fase de adaptación, a la estabulación y a la alimentación.

#### 3.3 Materiales.

Los materiales que se utilizaron durante el desarrollo de la investigación se detallan a continuación.

**3.3.1 Animales.** Se trabajó con 12 vacas Holstein seleccionadas a partir de un número mayor de animales, provenientes del rebaño lechero de la Estación Experimental “Vista Alegre” y de “Punahue”, pertenecientes a la Universidad Austral de Chile.

**3.3.2 Composición de las diferentes dietas a evaluar.** Las dietas estuvieron compuestas por ensilaje de pradera permanente de buena calidad, concentrado, y agua *ad libitum*.

3.3.2.1 Ensilaje. Este fue producido en la estación experimental “Vista Alegre” en potreros seleccionados sobre la base de la composición botánica efectiva con una alta proporción de *Lolium*; el forraje fue cosechado en un estado fenológico precoz y ensilado, por corte directo con uso de un aditivo, Cosetán (30 kg/t de materia verde), para mejorar la calidad del ensilaje. El Cuadro 3 muestra la composición botánica de la pradera ensilada.

**CUADRO 3 Composición botánica de la pradera permanente ensilada (%BMS).**

Espece	Participación (%)
Ballica italiana ( <i>Lolium multiflorum</i> )	43.59
Ballica inglesa ( <i>Lolium perenne</i> )	39.44
Pasto miel ( <i>Holcus lanatus</i> )	8.42
Bromo ( <i>Bromus valdivianus</i> )	1.91
Trébol rosado ( <i>Trifolium pratense</i> )	2.55
Malezas de hoja ancha	4.2
Total	100

3.3.2.2 Concentrado. El concentrado fue fabricado por Bio Feed especialmente para este experimento, diseñado de modo de aportar un nivel de proteína, de energía metabolizable y de grasa (extracto etéreo) muy similar al del ensilaje de manera de no confundir el efecto nivel de concentrado con aportes diferentes de nutrientes.

**3.3.3 Material de campo y de laboratorio.** Para poder llevar a cabo el ensayo, se utilizó una serie de materiales y utensilios como:

- Ensilaje de pradera
- Concentrado
- Comederos
- Balanzas
- Refrigerador
- Recipientes plásticos para la toma de muestras de leche
- Las respectivas pruebas de laboratorio para los análisis de alimentos

### **3.4 Método.**

A continuación se describe el método utilizado en el experimento.

**3.4.1 Criterio de selección de animales.** Se seleccionaron 12 vacas Holstein provenientes de la Estación Experimental “Vista Alegre” y del predio “Punahue”, empleando como criterio que los animales fueran lo más similares posible entre sí en cuanto a producción de leche, número de lactancias (número de partos) y días en lactancia, con el fin de minimizar el error que se pueda producir producto de desiguales comportamientos entre animales bajo similares condiciones de manejo. Las características individuales de cada animal, en cuanto a fecha de parto, número de lactancias y peso, se detallan en el Cuadro 4.

**CUADRO 4 Características de los animales utilizados en el experimento.**

Nº vaca	Fecha de parto	Días de lactancia al inicio del experimento	Peso (kg)
1077	06/03/2004	58	516
316	15/03/2004	49	531
1003	19/03/2004	45	523
507	06/04/2004	28	485
987	06/03/2004	58	466
1075	10/03/2004	54	449
1442	26/03/2004	38	469
1252	21/03/2004	43	605
1878	13/03/2004	51	595
1025	17/03/2004	47	566
1153	30/03/2004	35	560
1042	24/03/2004	40	438

\* Todas las vacas utilizadas eran de segunda lactancia.

**3.4.2 Procedimiento experimental.** Las vacas recibieron en un período pre-experimental de 2-3 semanas una ración consistente en ensilaje de pradera de buena calidad, ofrecido *ad libitum* y suplementado con una cantidad fija de concentrado (6 kg/vaca/día, base fresca). Las vacas permanecieron en estabulación permanente en un galpón que permite la oferta individual de alimentos. En este período se estableció la capacidad de consumo de cada vaca. Con estos datos de consumo se calcularon las cantidades de ensilaje que habría que aportar en los 3 períodos con que contaba el experimento.

**3.4.3 Medición del consumo de alimentos.** Se determinó diariamente y en forma individual, el consumo total de alimentos que experimentaron los animales, durante los 16 días de cada período.

**3.4.4 Forma de suministro de los alimentos.** El ensilaje mas el concentrado que le correspondía a cada vaca diariamente en forma fija para cada período, se suministraba en cantidades iguales tres veces al día, 1/3 en la mañana, 1/3 al medio día y 1/3 en la tarde, tratando de simular una ración completa.

**3.4.5 Rutina diaria del manejo de los animales.** La ordeña se realizaba dos veces al día entre las 7:00 y 8:00 h en la mañana y entre las 16:00 y 17:00 h en la tarde, durante este período en la mañana se procedía a limpiar la cama, el bebedero, y el comedero de donde se pesaba el rechazo de ensilaje y/o de concentrado del día anterior y se determinaba el consumo.

**3.4.6 Duración de cada período y toma de muestras.** Cada período tuvo una duración de 16 días, los primeros 9 días de cada período correspondían a una fase de adaptación a las respectivas dietas, para proceder los 7 días siguientes a la colección de muestras. Para evitar problemas digestivos, los cambios en las cantidades de concentrado entre un período y el siguiente se hicieron en forma gradual. Se procedió además a muestrear durante los períodos de colección de datos, el concentrado y el ensilaje de pradera utilizado. Todo lo anterior esta detallado en el Cuadro 5.

**CUADRO 5 Calendario de actividades y muestreos por período.**

Actividades y mediciones	Período adaptación	Período de colección
Días	1 2 3 4 5 6 7 8 9	10 11 12 13 14 15 16
Pesaje vacas	X	
Producción de leche	X-----X	
Consumo ensilaje y concentrado	X-----X	
Muestras de leche para análisis en Cooprinsem		X X
Muestra de leche para Análisis de CLA		X X
Muestras de ensilaje		X X
Muestra de concentrado		X

### 3.5 Tratamientos.

Durante el experimento todas las vacas fueron alimentadas con el mismo ensilaje y concentrado, pero variaba la relación forraje : concentrado entre los 3 tratamientos. De acuerdo a esto en el tratamiento A la relación forraje:concentrado era de 75:25, en el tratamiento B era de 65:35 y en el C era de 55:45, lo que significa por ejemplo que para el tratamiento A las vacas recibieron un 75 % de forraje (ensilaje) y el saldo era concentrado. El concentrado fue formulado de tal manera que su nivel de proteína, energía metabolizable y grasa (extracto etéreo) fuera muy similar al del ensilaje, de manera que no sea el concentrado el que produzca cualquier efecto en la concentración de CLA en la grasa láctea. La distribución de las vacas a los tratamientos se hizo en base a la capacidad de consumo de cada vaca observado durante el período pre-experimental, de esta manera las 4 vacas con

mayor capacidad de consumo comenzaron con el tratamiento A (75% de ensilaje) y las 4 vacas con una capacidad de consumo menor comenzaron con el tratamiento C (55% de ensilaje). Durante el período experimental se trato de lograr consumos diferentes de ensilaje entre períodos.

Como se observa en el Cuadro 6, en el primer período cada vaca, de cada uno de los tres grupos formados por 4 vacas cada grupo, recibió uno de los tres tratamientos (A,B,C), durante 16 días. En el segundo período recibió un tratamiento diferente, también por 16 días. En el tercer período, ocurre un nuevo cambio de tratamiento, de tal forma que, al final del experimento, todas las vacas pasaron por todos los tratamientos.

**CUADRO 6 Secuencia de tratamientos empleada en el experimento.**

<b>Grupo</b>	<b>Vaca</b>	<b>Período 1</b>	<b>Período 2</b>	<b>Período 3</b>
<b>1</b>	<b>1025</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
	<b>1252</b>			
	<b>987</b>			
	<b>1153</b>			
<b>2</b>	<b>316</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>A</b>
	<b>1075</b>			
	<b>1442</b>			
	<b>1003</b>			
<b>3</b>	<b>1878</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
	<b>507</b>			
	<b>1042</b>			
	<b>1077</b>			

A, B, C; Tratamientos los cuales corresponden a las cantidades de ensilaje, 75%, 65% y 55%, respectivamente.

**3.5.1 Diseño experimental.** Consistió en un diseño de sobrecambio en cuadro latino de 3 cuadrados, con 4 vacas por cuadrado. En cada cuadrado existieron 3 períodos y 3 tratamientos. Cada vaca presente en los distintos cuadrados pasó por todos los tratamientos según el orden que le correspondía de acuerdo al período (ver Cuadro 6).

**3.5.2 Análisis estadístico.** Se efectuó un análisis de varianza. Para determinar diferencias específicas entre tratamientos se utilizó la prueba de Tukey, utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1 (STATGRAPHICS, 2003).

### **3.6 Variables analizadas.**

Estas se pueden agrupar en variables relacionadas con el animal y la dieta.

**3.6.1 Animal.** En la sala de ordeña se mantuvo un registro diario de producción de leche. En el se anotaron las producciones diarias AM y PM de cada vaca. Además, se anotaron las fechas cuando se enviaron las muestras de leche colectadas en 2 ordeñas consecutivas (p.m. y a.m.) los días 13 y 14 de cada período. Dos mezclas compuestas de 24 h. de producción, colectadas en forma proporcional a la producción a.m. y p.m., se dividieron en 2 porciones para análisis. Una porción fue refrigerada a 4 °C y enviada al laboratorio de calidad de leche de Cooprinsem en Osorno para análisis de grasa, proteína, y recuento de células somáticas. Con la otra porción de cada muestra compuesta se procedió a realizar la extracción de la grasa de la leche, siguiendo los pasos del método de Frank *et al.* (1975), citado por PINTO *et al.*, (1985) que se detallan a continuación.

- a) Se mezclan volúmenes iguales de leche homogenizada y reactivo TRITON X-100 con polifosfato (50 g de polifosfato disuelto en 24 ml de

TRITON X-100), se lleva a 1L con agua destilada (125 ml de leche \* 125 ml de reactivo).

- b) Se lleva a baño maría a 95° C hasta que la grasa ascienda.
- c) Se retira la grasa en tubo centrifuga (centrifugar por 5 minutos a 1100 rpm), que hace que la grasa se separe de los restos de agua y detergente.
- d) Se filtra el sobrenadante de grasa en estufa a 55° C (en punta de filtro se coloca sulfato de sodio anhidro para eliminar los últimos restos de humedad que quedan.
- e) Se envasa en viales (5cm) y se congela para los análisis posteriores.

Posteriormente esta grasa fue analizada en el Laboratorio de Química de la Universidad Austral de Chile por el Profesor Hernán Palma de acuerdo a la metodología descrita por ABU-GHAZALEH *et al.*, (2001), empleando como estándar una muestra pura de CLA (*cis*-9, *trans* -11) adquirido en Sigma.

En el galpón donde se mantuvieron las vacas, se registró el consumo individual de alimentos, tanto del concentrado como del ensilaje (por diferencia entre la cantidad ofrecida y la rechazada).

Asimismo, se registró cualquier problema de salud de las vacas (ejemplo: bajo consumo de alimento; casos de mastitis, etc.). En este caso se debió anotar el diagnóstico; quien lo hizo; y el tratamiento o la(s) medida(s) que se tomaron para resolver el problema.

Por otra parte, al comienzo de cada período se obtuvo el peso corporal de cada animal.

**3.6.2 Dieta.** Se tomaron muestras tanto del concentrado como del ensilaje.

3.6.2.1 Ensilaje y concentrado. El concentrado y el ensilaje de pradera se muestrearon cada período experimental y las muestras se guardaron congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento para análisis. El contenido de MS del ensilaje fue monitoreado semanalmente de modo de mantener la relación deseada forraje : concentrado en los distintos tratamientos. Una vez descongeladas las muestras se secaron a  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas y luego fueron molidas en un modelo Wiley con una malla de 2 mm. Alícuotas semanales de cada alimento fueron compuestas por período para su posterior análisis. Para determinar MS las muestras compuestas fueron secadas a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Los contenidos de PC, proteína soluble, extracto etéreo, cenizas, Ca, P y Mg fueron determinados de acuerdo a métodos AOAC (1996). Para el análisis de FDN las muestras fueron molidas de nuevo con una malla de 1 mm y analizadas empleando un analizador de fibra ANKOM. En el caso del ensilaje se determinó, además pH, N amoniacal, y energía metabolizable en muestras compuestas por período utilizando la metodología empleada en forma rutinaria por el laboratorio de nutrición animal en el instituto de producción animal.

**3.7 Información obtenida.** De acuerdo a las mediciones y registros obtenidos durante el período experimental, correspondientes a cada animal, se dispuso de las siguientes variables productivas para su análisis posterior.

- a) Producción diaria de leche por vaca.
- b) Porcentajes de grasa y proteína láctea.
- c) Producción de leche corregida al 4 % de grasa (FCM). Con los datos de a y b
- d) Consumo de ensilaje y concentrado (BTC) y (BMS).
- e) Peso vivo de las vacas.
- f) Concentración de CLA en grasa láctea producido por vaca.

## 4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

### 4.1 Composición de los alimentos.

**4.1.1 Composición química del ensilaje y concentrado.** A continuación se presenta la composición química del concentrado y del ensilaje utilizado, resultados obtenidos del Laboratorio de Nutrición Animal. (Cuadro 7)

**CUADRO 7 Composición química (\*) (base materia seca) del concentrado y del ensilaje de pradera utilizados.**

	Concentrado	Ensilaje
Materia seca (%)	85.4	15.45
Proteína cruda (%)	20.3	18.60
Energía met. ( Mcal/kg)	2.8	2.61
N-NH3 (% de la PC)	-----	12.68
Extracto etéreo (%)	2.93	4.35
FDN (%)	29.12	52.14
Cenizas (%)	7.34	9.12
Ca (%)	0.76	0.56
P (%)	0.88	0.36

(\*) Promedio de 3 análisis.

FUENTE: Laboratorio de Nutrición Animal. Instituto de Producción Animal.

El ensilaje utilizado para el experimento se confeccionó de manera tal que fuera de la mejor calidad posible. Observando los valores de tabla (ANRIQUE et al., 1995) para un ensilaje de similares características, se puede considerar que el ensilaje utilizado es bastante bueno, ya que los valores de

proteína y EM (18.60% y 2.61 Mcal/kg , respectivamente) son superiores a los promedios que aparecen en tabla (11.7% y 2.39 Mcal/kg, respectivamente).

Se observa que el ensilaje utilizado en el proyecto presenta un bajo contenido de materia seca (15,45%). Se ha estimado que el consumo disminuye cuando el contenido de materia seca del forraje es menor al 18% (LEAVER, 1985).

**4.1.2 Ingredientes del concentrado.** Los ingredientes del concentrado se observan en el Cuadro 8.

**CUADRO 8 Ingredientes del concentrado.**

	% de Inclusión
Afrechillo de trigo	24.2
Pellet de maní	4.7
Triticale, grano	21.4
Avena, grano	32.3
Lupino, semilla	3.2
Afrecho de soya 48	6.5
Harina de pescado	4.7
Sal yodada	1.5
Fosfato dicálcico	1.5
	100

**CUADRO 9 Composición de las dietas y consumo promedio calculado de proteína y EM por tratamiento.**

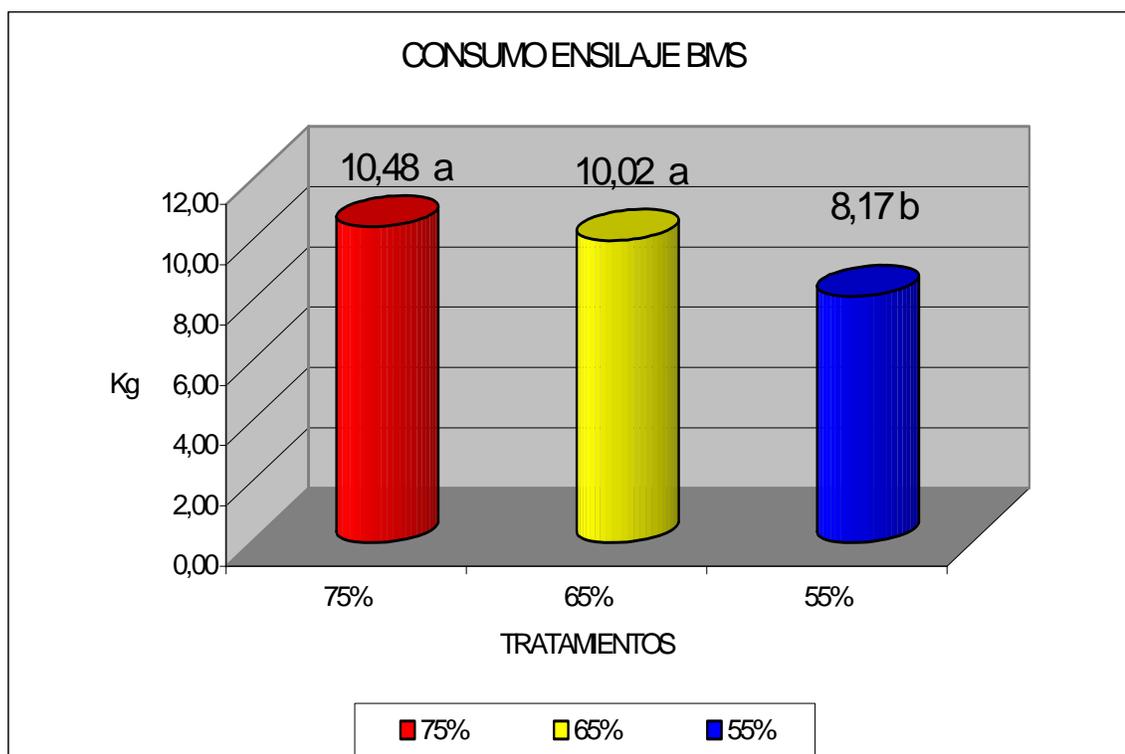
Tratamiento*	Composición		Consumo promedio	
	Proteína (%)	EM (Mcal/kg)	Proteína (kg/día)	EM (Mcal/día)
A 75%	19.03	2.66	2.63	36.7
B 65%	18.32	2.67	2.75	39.87
C 55%	19.36	2.70	2.87	40

\* % de ensilaje en la ración (BMS)

En el Cuadro 9 se observa la concentración y consumo estimado de proteína y de EM en los diferentes tratamientos. Esto se calculó multiplicando el consumo de ensilaje y concentrado por su respectiva concentración de proteína y energía por tratamiento. Se puede ver que el consumo de proteína como de EM son bastante similares entre los tratamientos, pero en el tratamiento C (55% de ensilaje) el consumo tiende a ser mayor que para A y B, esto se debe a un mayor consumo de concentrado en este tratamiento.

#### 4.2 Determinación del consumo de materia seca, para ensilaje, concentrado y total, por tratamiento.

Las figuras 3, 4 y 5 muestran el consumo de materia seca de las vacas en los diferentes tratamientos.



\*Letras distintas indican diferencias significativas a  $P < 0.05$  según la prueba específica de TUKEY .

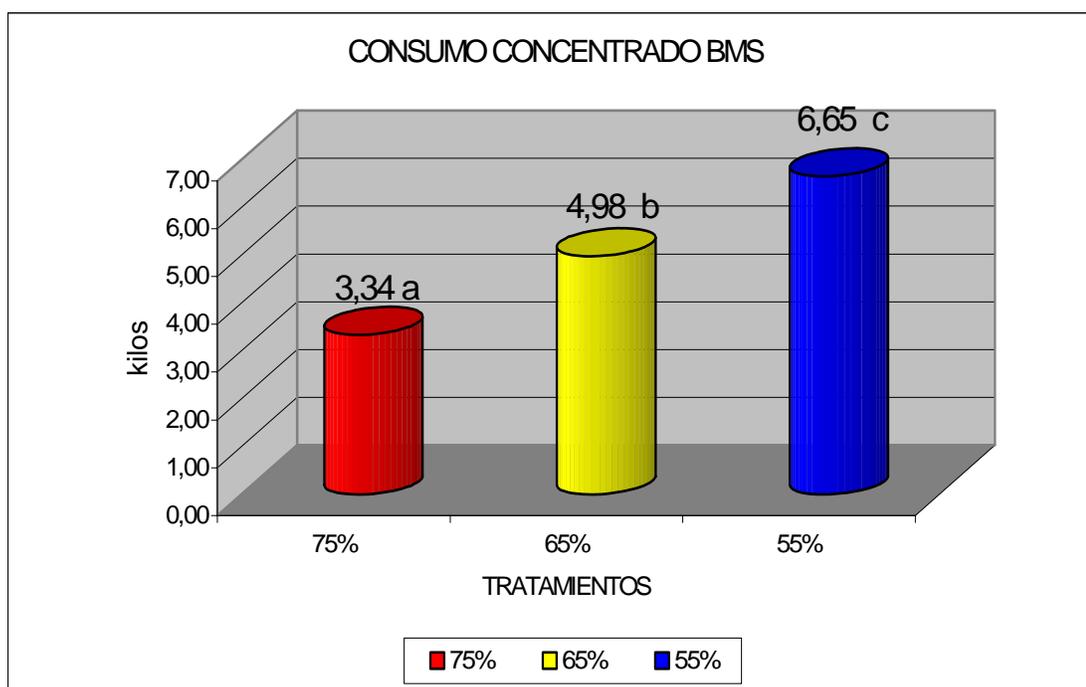
**FIGURA 3 Consumo de ensilaje (kg MS/vaca/día) en los tratamientos.**

Se observan diferencias en el consumo de ensilaje; por la manera en que se planteó el experimento esto era esperable, ya que una de las finalidades del experimento era lograr diferencias en el consumo de ensilaje entre los 3 tratamientos, pero esto se logró solo entre el tratamientos A (75% de ensilaje) y C (55% de ensilaje), y B (65% de ensilaje) y C.

La diferencia que se observa en la Figura 3, entre el tratamiento A y B, con respecto a C, se puede explicar de la siguiente manera.

Las vacas que partieron con el tratamiento A eran las de mayor capacidad de consumo, por lo que al ir pasando de un tratamiento a otro fueron capaces de ir disminuyendo su consumo en forma gradual. Las vacas que partieron con el tratamiento C, su capacidad de consumo era el menor, por lo que al pasar del tratamiento C al A, en donde se aumentaba en forma considerable lo que se les ofrecía de ensilaje, no eran capaces de consumirlo todo, por lo que rechazaban bastante, además el cambio en el consumo de concentrado si bien fue gradual, fue bastante brusco en cuanto a la cantidad que estas estaban acostumbradas a comer, lo que también pudo afectar el consumo de ensilaje.

Tres de las vacas que partieron con el tratamiento C, y que luego pasaron por el tratamiento A, fueron aumentando su consumo, y es así que cuando pasaron por el tratamiento B durante el último periodo el consumo de estas fue mayor aun, de esto se puede deducir que quizás el paso del tratamiento A al B no fue tan brusco para las vacas como el paso del tratamiento C al A. Esto puede quedar mas claramente explicado observando los anexos 1 y 3.

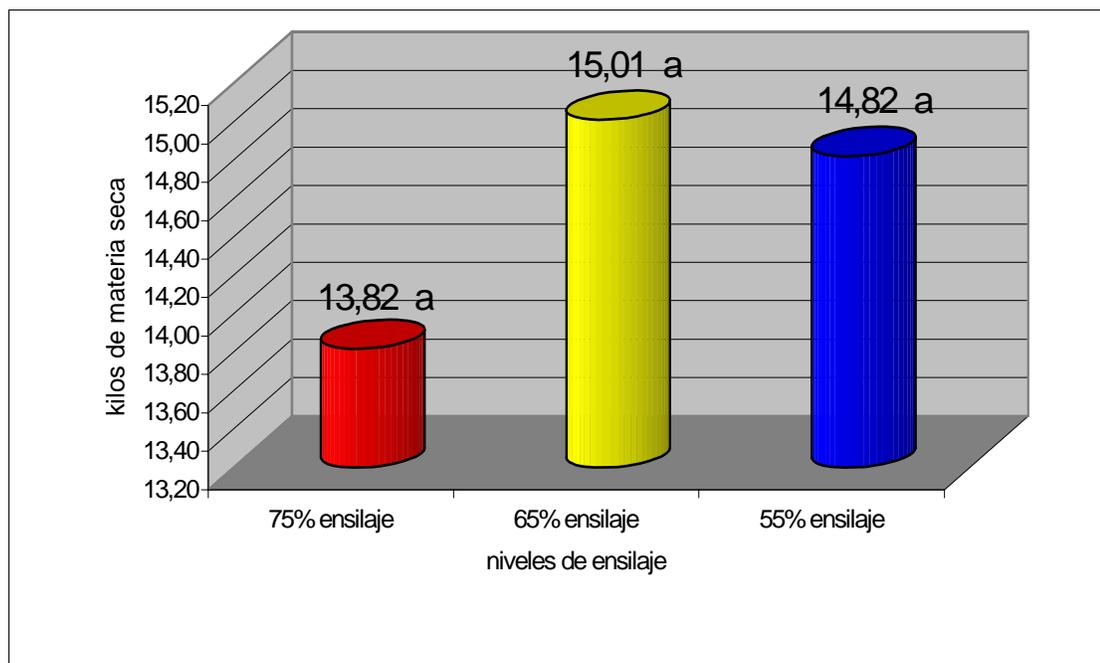


\*Letras distintas indican diferencias significativas a  $P < 0.05$  según la prueba específica de TUKEY.

**FIGURA 4 Consumo de concentrado (kg MS/vaca/día) .**

Se observan diferencias significativas entre tratamientos para el consumo de concentrado; como se explicó para el ensilaje, esto también era esperable, ya que el consumo de concentrado fue manipulado.

A lo largo de todos los tratamientos las vacas consumieron en su totalidad las cantidades de concentrado que se les ofrecía y que eran fijas para cada período, a pesar que como se explicó anteriormente los cambios de un tratamiento a otro se hicieron en forma gradual para evitar cualquier trastorno digestivo que un cambio brusco de estas características pudiera causar.



\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

#### **FIGURA 5 Consumo total de MS, en kg/vaca/día en los tratamientos.**

En el consumo total de MS no hay diferencias significativas entre tratamientos, la Figura 5 muestra una tendencia en cuanto al consumo total; para el tratamiento A (75% de ensilaje) con relación a los tratamientos B (65% de ensilaje) y C (55% de ensilaje), esto se debe a que los grupos se formaron de acuerdo a la capacidad de consumo de los animales, es así como las vacas con mayor capacidad de consumo partieron con el tratamiento A en donde consumían la mayor cantidad de ensilaje, con el tratamiento B las de consumo intermedio y el tratamiento C las de menor consumo. Lo que ocurrió fue que las vacas de mayor consumo al pasar por todos los tratamiento fueron capaces de consumir todo el alimento, así como las vacas de consumo intermedio, pero las vacas con menor capacidad de consumo al pasar por el tratamiento A, en donde el consumo de ensilaje debía ser el mayor (75% de la ración), como su capacidad de consumo era la menor no lograban consumir todo lo que se les

ofrecía, por lo tanto el rechazo fue mayor de lo que se esperaba mostrándose así de esta manera la diferencia antes señalada, esto queda mas claro al observar el CUADRO 10.

**CUADRO 10 Consumo diario de ensilaje base fresca (kg/vaca/día), para las vacas que iniciaron el ensayo con el tratamiento C (55% de ensilaje).**

Vaca	Promedio por período		
	Período 1	Período 2	Período 3
1077	49.24 C	62.67 A	61.73 B
507	46.30 C	53.63 A	60.98 B
1878	46.46 C	53.96 A	61.59 B
1042	48.96 C	56.93 A	65.44 B

A (75% de ensilaje), B (65% de ensilaje) y C (55% de ensilaje).

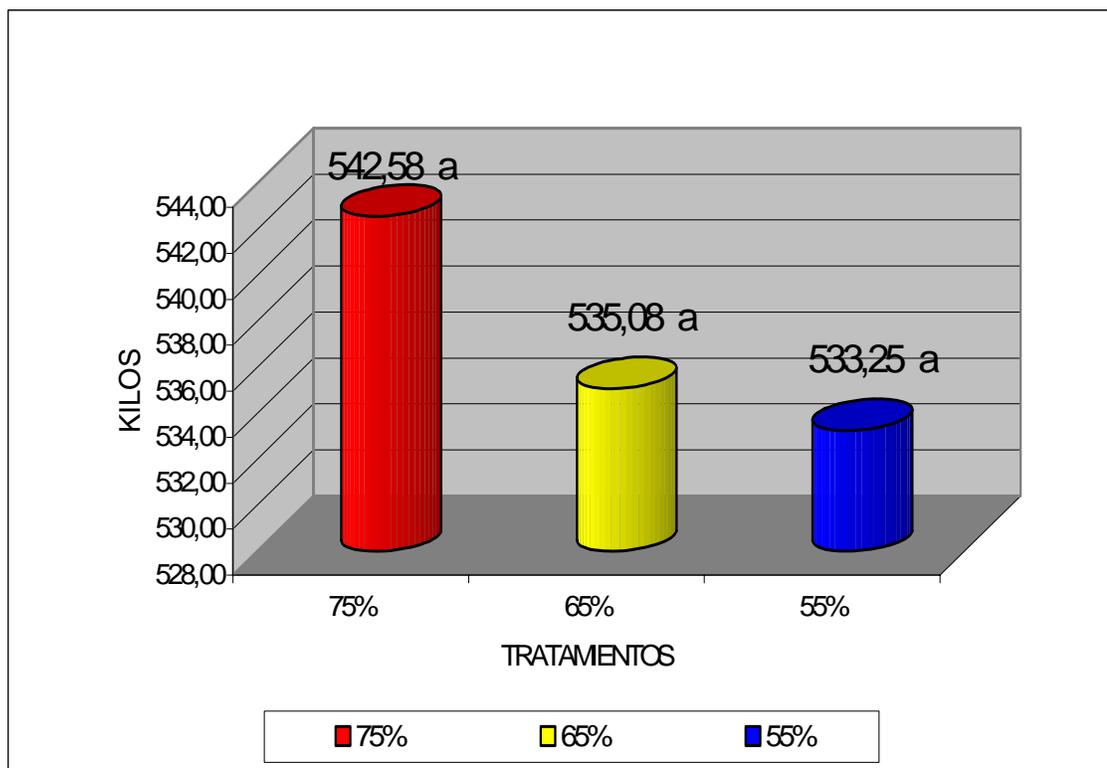
Según ROSELER *et al.* (1993), el consumo de vacas lactantes puede fluctuar dramáticamente como resultado de muchos factores, clarificando que altos niveles de producción van acompañados por un gran apetito, aunque las características de la ración sin duda influyen sobre el consumo. Diferencias en composición física y química entre forrajes, granos y subproductos pueden alterar las tasas de degradación de la pared celular por parte de los microorganismos ruminales y pueden ser responsables de la variación en el consumo de materia seca en rumiantes, como resultado de una disminución de la tasa de pasaje. El nivel de producción que genera una elevada necesidad de consumo es uno de los principales factores que determinan el consumo de materia seca. Esta relación “producción–consumo” también se pudo apreciar en este ensayo, en donde si bien es cierto la producción de leche no fue elevada, el consumo tampoco lo fue.

SUTTON *et al.* (1996), estudiando el efecto de diferentes niveles de PC en dietas basadas en ensilaje de ballicas en vacas lecheras, encontraron que el incremento de la concentración de PC en los concentrados causa solo un pequeño y no significativo efecto en el consumo de ensilaje. Por tanto, afirman que a concentraciones superiores al 20% de PC en el concentrado, las respuestas en el consumo de ensilaje no son importantes, lo que concordaría con la concentración de PC del concentrado utilizado en este estudio.

En un trabajo de DEWHURST *et al.* (1996) referente a los efectos del ensilaje de pradera en producción de leche, obtuvieron consumos entre 8,1 y 13,68 kg de MS de ensilaje, rango dentro del cual se encuentran los resultados obtenidos en el presente estudio.

### 4.3 Peso vivo de las vacas en los distintos tratamientos durante el experimento.

La Figura 6 muestra la variación de peso de las vacas a lo largo del experimento.



\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

### FIGURA 6 Peso vivo durante el experimento.

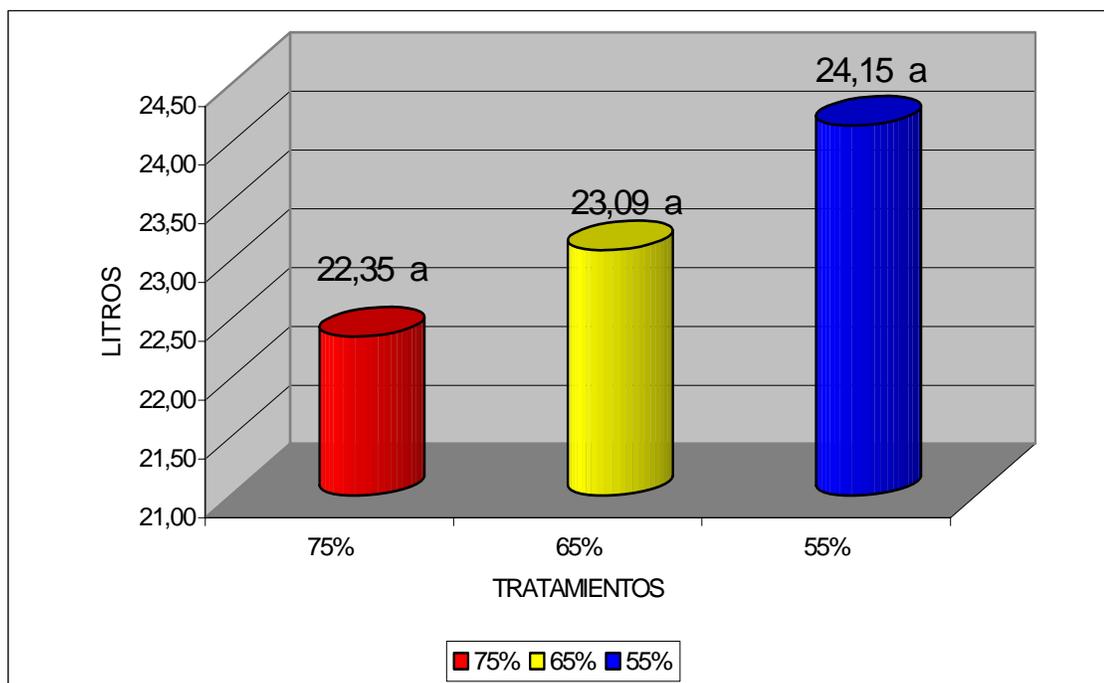
No se observan diferencias significativas en el peso vivo de las vacas entre tratamientos, esto se puede deber a que si bien es cierto que los consumos de ensilaje como de concentrado fueron distintos durante los diferentes tratamientos, el consumo total se equiparaba, y además los periodos pueden haber sido muy cortos como para observar diferencias en el peso de las vacas.

Es interesante destacar que a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas, sí se observa una tendencia en el peso entre las vacas del tratamiento A (75% de ensilaje) con relación a las de B (65% de ensilaje) y C (55% de ensilaje); esto se debe a que si observamos los anexos 6 y 11 para producción de leche y peso de las vacas respectivamente, veremos que las vacas del grupo A, que eran las de mayor capacidad de consumo, al ir disminuyendo su consumo fueron disminuyendo su peso pero no la producción de leche, lo que podría indicar una movilización de reservas y por consiguiente una disminución del peso.

ANRIQUE *et al.*, (1995) indican que las vacas lecheras deberían mantener su peso entre las 10 y 20 semanas de lactancia, las vacas utilizadas en este ensayo se encontraban dentro de este rango, pero solo la mitad de ellas logró mantener su peso, aunque algunas sufrieron una disminución mínima, esto se puede observar en el anexo 11.

#### 4.4 Producción de leche de las vacas en los diferentes tratamientos.

Las Figuras 7 y 8 muestran la producción de leche normal y corregida por el contenido de MG (4% FCM) durante los tratamientos.

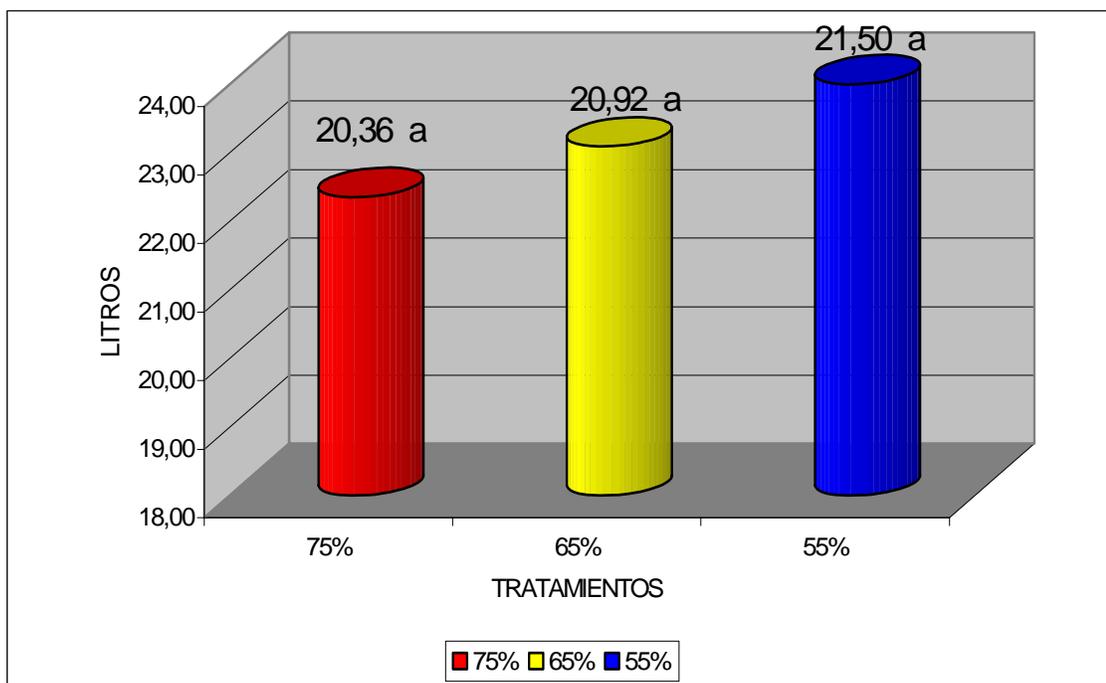


\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

**FIGURA 7 Producción de leche total (L/vaca/día).(Promedio durante todo el experimento)**

La producción de leche no demuestra diferencias estadísticamente significativas, a pesar de que se observa que a medida que aumenta el consumo de ensilaje, tiende a disminuir la producción de leche, esto se debe a que por la naturaleza del experimento al aumentar el consumo de ensilaje disminuyó el consumo de concentrado, y al consumir menos concentrado tendió a disminuir la producción de leche.

Si observamos los niveles de PC de las dietas en los diferentes tratamientos, SUTTON *et al.*, (1996) encontraron diferencias significativas en producción de leche al incrementar el consumo de PC, en dietas basadas en ensilaje de ballicas, elevando la concentración de 20 a 40% (BMS) de concentrado. Los autores consideran que al elevar el nivel de PC de la dieta se produce una mayor eficiencia en la síntesis de leche, lo que explica la mayor producción. Dicha situación puede en cierta forma ser válida para los resultados obtenidos en este trabajo, al menos en lo que a producción de leche sin corregir se refiere, ya que en el tratamiento C (55% de ensilaje) se observa una tendencia a un mayor consumo de PC en relación al tratamiento A (75% de ensilaje) y B (65% de ensilaje) ( ver cuadro 9), existió una tendencia a mayor producción de leche. Cabe señalar sin embargo, que las concentraciones de PC utilizadas en los tratamientos fueron bastante menores a las señaladas por estos autores.



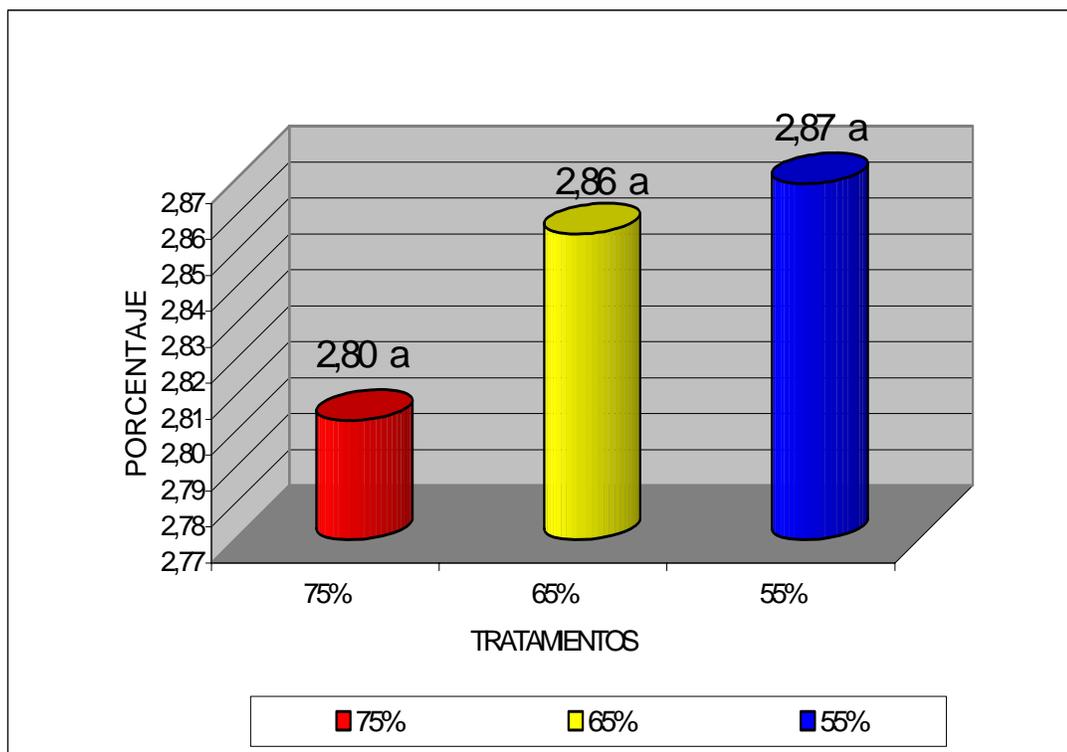
\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

### FIGURA 8 Producción de leche FCM 4% de materia grasa.

Al analizar los datos obtenidos de producción de leche y corregirlos al 4% de materia grasa se obtuvo una tendencia similar a las obtenidas anteriormente, y al igual que en el caso anterior no existió una diferencia significativa entre los tratamientos.

#### 4.5 Determinación de diferentes parámetros de calidad de leche de acuerdo a los distintos tratamientos utilizados.

Los parámetros de calidad de leche se observan en las Figuras 9, 10 y 11.



\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

**FIGURA 9** Contenido de proteína (%) en la leche.

Al analizar el % de proteína en la leche no se observan diferencias estadísticamente significativa. Esta diferencia mínima que se observa se puede deber a las diferencias en el consumo de concentrado entre tratamientos, a pesar que el consumo de proteína para los diferentes tratamientos, como ya se mencionó anteriormente, fue muy similar.

Se podría haber esperado un leve aumento en el % de proteína al aumentar el consumo de concentrado, ya que esto aumenta la energía disponible en el rumen y puede reflejarse en una mayor producción de proteína microbiana. Esto no se observó, sin embargo, posiblemente por lo corto del ensayo y por el bajo número de animales por tratamiento.

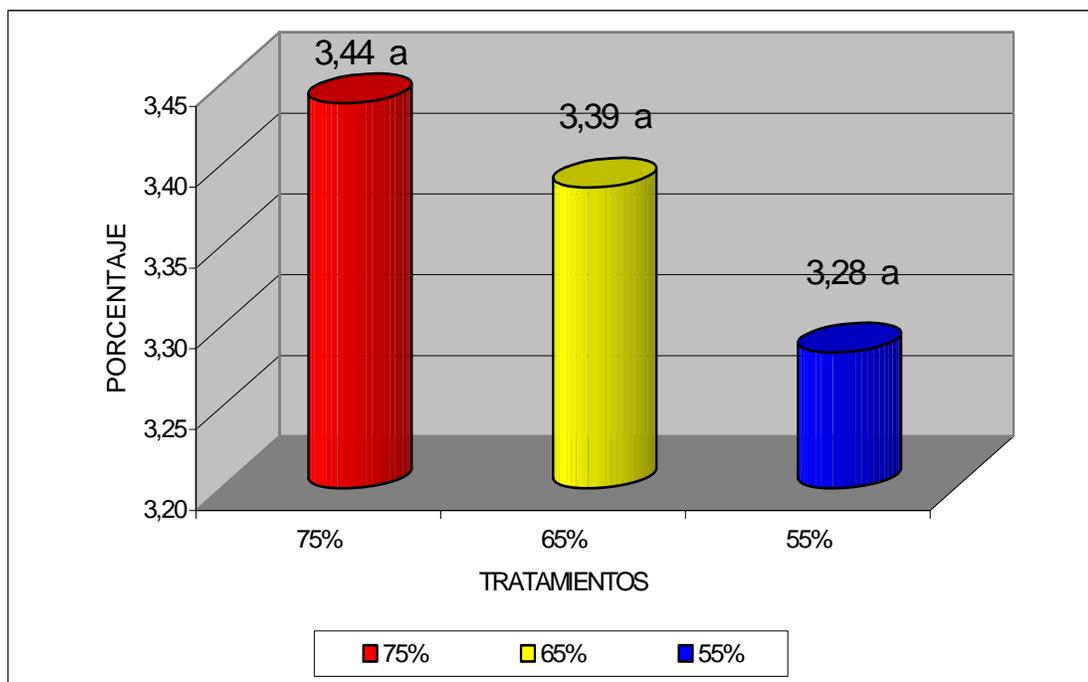
Se observa que hay una tendencia a que el % de proteína de la leche va en leve aumento desde el tratamiento A (75% de ensilaje) al B (65% de ensilaje) y al C (55% de ensilaje), esto tiene relación con la producción de leche que también va en aumento de un tratamiento al otro, a pesar de que en ambos casos el aumento es muy pequeño.

El contenido y producción de proteína láctea dependen de la contribución de aminoácidos de la proteína microbiana y de las fuentes de PNDR que, en conjunto, determinan la absorción de aminoácidos a nivel intestinal, por lo que es importante maximizar la síntesis microbiana (ALARCON, 1998).

De PETERS y CANT (1992), señalan que la producción de proteína está influenciada por la producción de leche y el consumo de PNDR. Esta incide sobre la proteína disponible para el metabolismo de la vaca y el consumo de energía, y modifica la producción de proteína en un rango que depende de la producción de leche. El perfil de aminoácidos de la PNDR juega un papel crítico en la determinación de la composición de los aminoácidos disponibles para la absorción desde el tracto gastrointestinal, lo que influye en el contenido proteico de la leche.

Los niveles de proteína en la leche obtenidos en este trabajo pueden considerarse bajos y uno de los motivos de esto es que se puede deber a que el nivel de PNDR en la dietas era bajo también, al no existir una fuente que aportara mayores niveles de PNDR.

De PETERS y CANT (1992), establecieron que tanto la cantidad como el tipo de proteína consumida pueden incidir en el porcentaje de proteína láctea, y aseguran que hay una relación directa entre el consumo de PC con la producción de proteína láctea.



\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas al  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

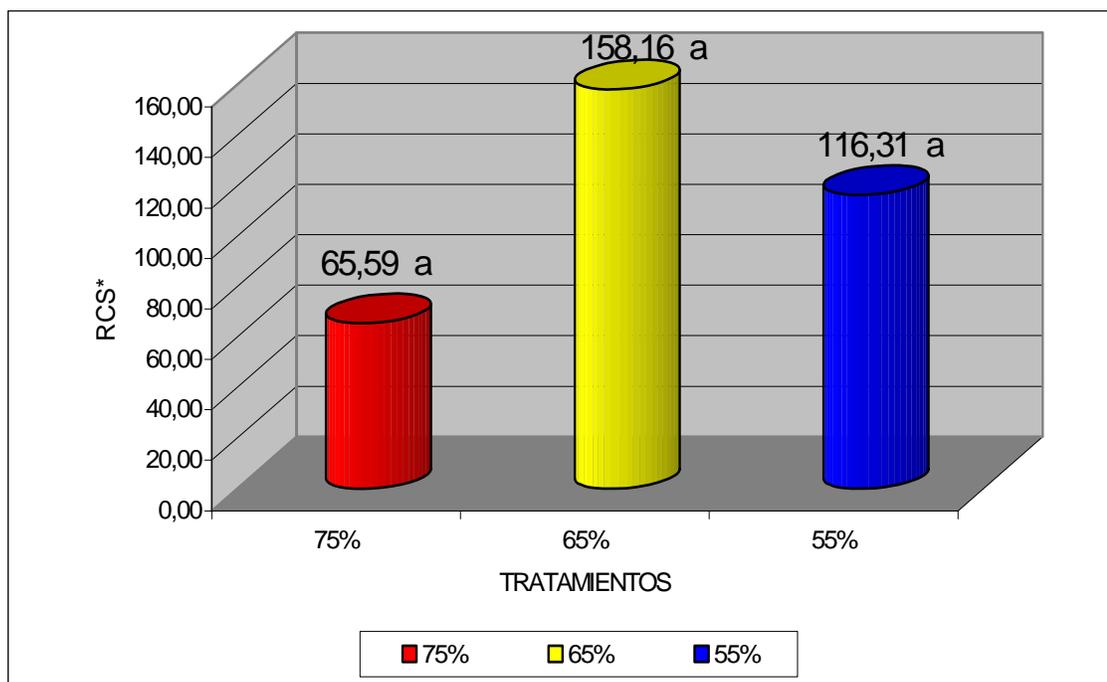
#### **FIGURA 10 Contenido de materia grasa (%) de la leche.**

En cuanto al % de grasa láctea no se observaron diferencias estadísticamente significativas, aunque los valores no son numéricamente iguales son bastante cercanos, esta tendencia se puede deber a los distintos niveles de inclusión de concentrado de las diferente dietas.

EMERY (1978) señala que la sustitución de forraje por concentrado para incrementar el consumo de energía trae consigo una reducción en el contenido de fibra de la ración que se traduce en menores porcentajes de grasa en al leche. Este autor plantea también que generalmente el incremento en la concentración de proteína se acompaña de un incremento en la producción de leche y una reducción en los porcentajes de grasa. Esto concuerda con los resultados obtenidos en este ensayo, ya que a medida que aumenta el consumo de ensilaje y por tanto disminuye el consumo de concentrado, tiende a aumentar el % de grasa láctea, así como también se observa que al aumentar la producción de leche y la de proteína, tiende a disminuir el % de grasa en la leche.

Según SUTTON (1989), de los aspectos nutricionales que regulan el porcentaje de grasa en la leche uno de los más importantes, es la relación forraje:concentrado. El mismo autor señala también que, hasta con una relación 50:50 BMS, los niveles de grasa se mantienen estables, pero que disminuyéndola se desencadenan bajas en la concentración de grasa.

EMERY (1978), plantea que generalmente el incremento de la concentración de proteína de una ración induce un aumento de la producción pero, a la vez, también hay un descenso en los porcentajes de grasa de la leche. SUTTON (1989) confirma lo indicado por EMERY (1978) y asevera que al aumentar la concentración de proteína de una ración de 12 o 14% a aproximadamente 18%, la grasa de la leche puede disminuir en 0,5 unidades porcentuales. Para el caso de nuestro ensayo los niveles de proteína de cada ración fueron muy similares, y se mantuvieron sobre un 18%, y los niveles de grasa láctea fueron muy similares también entre tratamientos.



\* ( x 1000)

\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

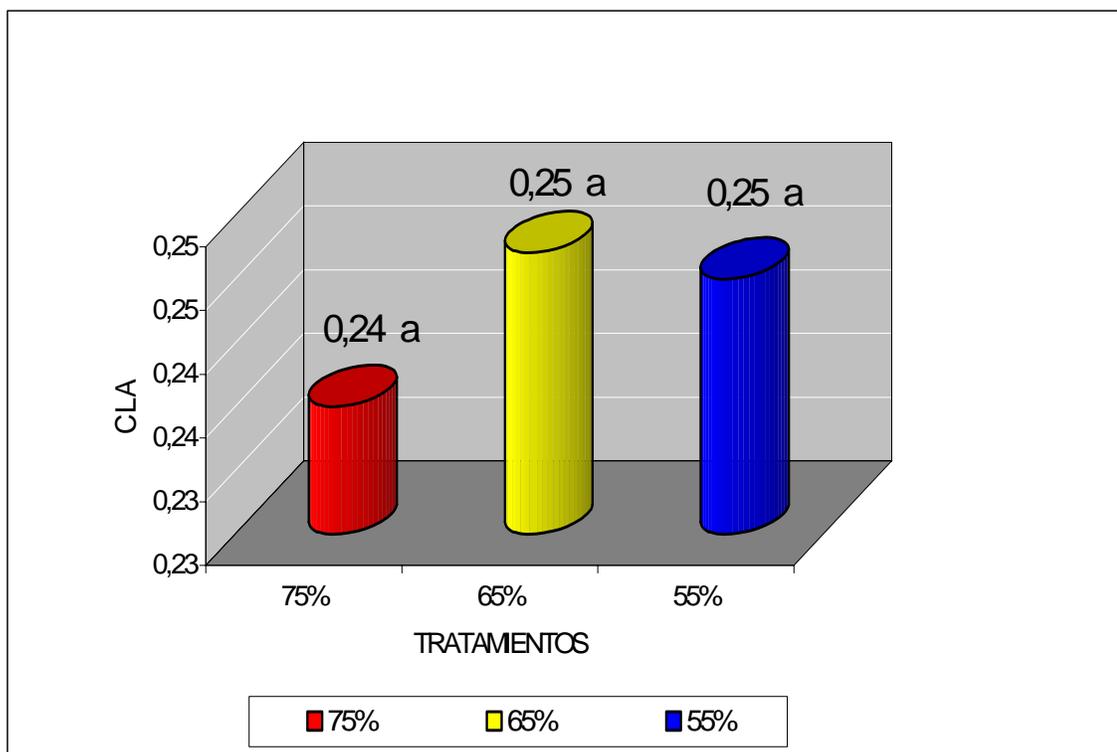
### Figura 11: Recuento de células somáticas (RCS).

Para el recuento de células somáticas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, a pesar de que los valores no son numéricamente iguales.

Los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos establecidos por la gran mayoría de las plantas receptoras de leche (menor a 200.000), por lo que se considera en este aspecto como bueno; esto más que mostrar algo en relación con la alimentación, muestra una buena sanidad de la glándula mamaria.

#### 4.6 Concentración de ácido linoléico conjugado (CLA),(% de la grasa total).

La concentración de ácido linoleico conjugado, expresada como % de los ácidos grasos totales se observa en la Figura 12, y los datos detallados se muestran en el anexo 12.



\*Letras iguales indican que no existen diferencias significativas a  $P < 0,05$  según la prueba específica de TUKEY.

#### FIGURA 12 Concentración de ácido linoleico conjugado CLA (% del total de los ácidos grasos)

Al analizar el nivel de CLA en la grasa láctea, expresado como porcentaje del total de los ácidos grasos, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Los datos que se observan en la Figura 12 podrían ser comparables a los obtenidos por DEWHURST *et al.* (2003), en un ensayo realizado recientemente donde utilizaron diferentes tipos de ensilaje como ensilaje de pradera mixta, ensilaje de trébol rosado, ensilaje de trébol blanco y una mezcla de ensilaje de pradera con trébol rosado (50-50%), y todas estas variantes con dos niveles de inclusión de concentrado (4 y 8 kg), los resultados obtenidos muestran que la concentración de CLA en grasa láctea no varió para el caso en que las vacas consumieron ensilaje de pradera con 4 kg de concentrado y cuando consumieron ensilaje de pradera con 8 kg de concentrado, obteniéndose valores de 0.37 y 0.36 (como % del total de ácidos grasos) para cada caso respectivamente, es decir, bastante similar a lo obtenido en el presente ensayo. El valor más alto obtenido fue para la dieta basada en ensilaje de pradera y trébol rosado mas 4 kg de concentrado en donde obtuvieron 0.45 (como % del total de ácidos grasos). Además observaron que con el ensilaje de trébol se redujo el contenido de ácido palmítico y se incrementó el nivel de ácidos grasos poliinsaturados, particularmente el ácido  $\alpha$ -linoleico. Para el caso del ácido vaccénico no observaron ninguna diferencia entre los tratamientos con ensilaje de pradera ya sea con 4 o 8 kg de concentrado, si observaron un pequeño aumento para el tratamiento con ensilaje de trébol rosado mas 4 kg de concentrado.

FRENCH *et al.* (2000) determinaron en un experimento en el que midieron concentración de CLA en músculo de corderos, utilizado varias dietas, entre ellas una con ensilaje de pradera y concentrado, que al disminuir la porción de concentrado en la dieta aumentaba la concentración de CLA. Esto llevado a nuestro ensayo no sucedió así, ya que al cambiar la cantidad de ensilaje ofrecida y por ende aumentar o disminuir la cantidad de concentrado en la dieta no hubo ningún cambio en la concentración de CLA.

STOCKDALE (2001), informan de experimentos efectuados en Australia en los cuales se midió CLA en grasa láctea de vacas alimentadas exclusivamente a pastoreo (recibiendo entre 10 y 20 kg de MS/vaca/día). Los resultados coinciden con otros experimentos, siendo la variación observada en CLA de 1,0 a 1,9% (como % del total de los ácidos grasos). Estos autores encontraron una tendencia que al aumentar el consumo de pradera (desde 1,5 a aproximadamente 4%, expresado como MS consumida, como porcentaje del PV) aumentó la concentración de CLA en la grasa láctea.

Una de las posibles causas de la baja concentración CLA en grasa láctea en el estudio actual podría ser atribuible a lo que plantearon DHIMAN *et al.*, (1999) que postulan que la baja concentración de CLA encontrada en grasa láctea de vacas alimentadas con ensilaje de pradera en comparación con vacas alimentadas a pradera sería debido a que la concentración de azúcares y de fibra soluble decrecería durante el proceso de ensilaje. Esto alteraría el medio ambiente ruminal de los animales que consumen el ensilaje, afectando a las bacterias y protozoos que procesan los alimentos, y en especial a la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens*, que es la encargada de realizar la hidrogenación del ácido linoleico para transformarlo en un ácido graso monoinsaturado, que genera como intermediario del proceso a los diferentes isómeros del CLA en el rumen.

Según KEENEY (1970) y HARFOOT y HAZLEWOOD (1997), la reducción del ácido vaccénico (precursor del CLA endógeno), tiende a ser una limitante en la secuencia de bio-hidrogenación de ácidos grasos insaturados de 18 carbonos, además pudo haber habido una baja producción ruminal de este, y si a esto le se suma que se podría haber producido una inhibición de la enzima delta 9-desaturasa (responsable de la síntesis a nivel de la glándula mamaria de CLA) por alguno de los ingredientes empleados en esta

experimento, se tendría una posible respuesta a la baja producción de CLA observada.

Otra razón posible que pudiera contribuir a explicar la baja concentración de CLA en grasa láctea observada en este experimento podría estar relacionada con la técnica utilizada para extraer la grasa de la leche que fue invasiva, lo que pudo haber producido como consecuencia una pérdida de parte de la concentración original de CLA.

En un ensayo realizado por NIELSEN *et al.* (2004), en donde se pretendía demostrar el efecto de una concentración de energía alta y baja con el uso de ensilaje de maíz y ensilaje de pradera, en relación con la producción de CLA, estos autores observaron que el nivel de energía no tenía ningún efecto sobre la concentración de CLA en grasa láctea en las vacas que fueron alimentadas con ensilaje de pradera. Estos resultados se pueden aplicar a este experimento ya que los niveles de energía de un tratamiento a otro son poco diferentes, y tampoco se observaron diferencias en la concentración de CLA.

El cuadro 11 muestra que la concentración de ácido linoleico 18:2 y ácido linolenico 18:3 es bastante similar, tanto para el caso de pradera como de ensilaje de pradera. Esto es interesante ya que estos 2 ácidos grasos son precursores de CLA, principalmente el ácido linolenico. En base a esto podríamos asumir que al consumir la misma cantidad de pradera que de ensilaje se podría producir la misma cantidad de CLA ya que la concentración de los precursores de CLA en pradera como en ensilaje de pradera son muy parecidas. Esto aparentemente no es así ya que se han obtenido concentraciones más altas de CLA cuando la dieta es rica en pradera. Una posible explicación de esta diferencia (con aportes similares de precursores en el forraje y diferentes concentraciones de CLA en grasa láctea) es que la síntesis endógena de CLA puede variar, dependiendo del alimento ofrecido, y

que esto puede afectar la fermentación ruminal y, a través de esto, alterar la producción de los precursores de CLA en el rumen.

**CUADRO 11 Concentración de ácido linoleico y ácido linolenico en pradera y en ensilaje de pradera (como % del total de ácidos grasos) (BMS).**

Acido graso	Pradera	Ensilaje de pradera
Acido linoleico C 18:2	14.00	14.53
Acido linolenico C 18:3	49.15	46.23

FUENTE: Adaptado de FRENCH *et al.*, (2000).

No se puede determinar con precisión por que no hubo diferencia en la concentración de CLA para los 3 tratamientos utilizados, pero sería interesante poder seguir investigando este tema y realizar un ensayo similar a este, pero teniendo la información de ácido linoleico y ácido linolenico para el ensilaje y el concentrado utilizado, para así poder determinar la cantidad efectiva de cuanto se consumiría por periodo. Además tomar muestras periódicamente a nivel ruminal para ver como se afecta el medioambiente ruminal y como varia el nivel de ácido linoleico, linolenico y vaccenico, y como varía la síntesis endógena de CLA a nivel ruminal con una dieta rica en ensilaje.

## 5 CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, donde se evaluaron 3 raciones con diferentes niveles de consumo de ensilaje se puede concluir que:

Para el consumo de ensilaje no se logro lo que se esperaba, ya que no hubo una diferencia entre el tratamiento A (75% de ensilaje) y el B (65% de ensilaje), obteniéndose consumos promedios de 10.48 y 10.02 kg/MS/vaca al día respectivamente, diferencia que se esperaba fuera mayor. Para el tratamiento C (55% de ensilaje) el consumo fue el esperado y si difirió de los otros 2 tratamientos.

Para el consumo de concentrado si se encontró una diferencia significativa entre los 3 tratamientos, obteniéndose un consumo mayor para el tratamiento C con 6.65 kg/MS/vaca al día, y el menor consumo para el tratamiento A con 3.34 kg/MS/vaca al día.

Para el consumo total de MS, las diferencias entre tratamientos no fueron significativas.

El peso de las vacas no sufrió diferencias importantes durante los diferentes tratamientos, a pesar de disminuir lentamente de un tratamiento al otro, esto es atribuible a que las vacas aun estaban dentro de sus primeras 20 semanas de lactancia.

En cuanto a la producción de leche no se observaron diferencias entre los tratamientos.

Para los parámetros de calidad de leche, el % de proteína de la leche tendió a ser mayor en la medida que disminuyo el consumo de ensilaje, lo que corresponde al tratamiento C (55% de ensilaje). Caso contrario la producción de grasa láctea tendió a ser mayor para el tratamiento A en donde el consumo de ensilaje fue mayor. El recuento de células somáticas indica una buena calidad sanitaria de las vacas y de la glándula mamaria.

La concentración de CLA en la grasa láctea no sufrió ninguna variación en ninguno de los 3 tratamientos, si bien es cierto no se logró una diferencia en el consumo de ensilaje entre los tratamientos A (75% de ensilaje) y B (65% de ensilaje), no se le atribuye a esto una falta de diferencia en la concentración de CLA.

Hay varias posibles explicaciones para esto, por ejemplo que se pudo haber perdido parte del CLA por la técnica utilizada para extraer la grasa láctea, o se pudo haber alterado el medio ambiente ruminal, al utilizar ensilaje como base de la ración, afectando la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* que realiza la hidrogenación del ácido linoleico, o que también se pudieron ver alterados los precursores de CLA que son generados en el rumen; por lo anterior, sería interesante seguir investigando este tema ya que la base de la alimentación en esta zona para el ganado lechero principalmente y en gran parte del año es el ensilaje.

## 6 RESUMEN

El ácido linoleico conjugado (CLA), y en forma mas especifica *cis-9, trans-11* CLA es un ácido graso que tiene variados efectos beneficiosos para la salud humana, como por ejemplo poseer un efecto antioxidante y anticancerígeno. El CLA se encuentra únicamente en la grasa y leche de rumiantes y es formado por la hidrogenación incompleta de sus precursores como el ácido linoleico y linolenico a nivel del rumen, también puede ser sintetizado por la desaturación de otro ácido graso producido en el rumen (ácido vaccenico, *trans-11*, C:18:1) a nivel de la glándula mamaria por acción de la enzima delta-9 desaturasa.

Este ensayo se realizó con el objetivo de demostrar que se podría elevar significativamente el nivel de ácido linoleico conjugado CLA en grasa láctea en la medida que se aportaban niveles crecientes de ensilaje de pradera, lo que sería similar a lo ya observado cuando las vacas son alimentadas a pradera. Se seleccionaron 12 vacas Holstein-Friesian, a inicios de la lactancia, del predio experimental Vista Alegre, propiedad de la Universidad Austral de Chile. Las vacas se mantuvieron en estabulación permanente en cubículos independientes con acceso libre al agua y con 2 ordeñas diarias (7:00 y 16:00 h aproximadamente). Para el ensayo las vacas fueron asignadas a un diseño de cuadrado latino de sobrecambio, de 3 cuadrados con 4 vacas por cuadrado y 3 periodos de 16 días de duración. Los primeros 9 días fueron de adaptación a la dieta y los últimos 7 días para colección de datos. Se elaboraron 3 dietas en base a ensilaje de pradera, ensilado por corte directo con la adición de un aditivo absorbente (Cosetan, 30kg/t). Las 3 dietas consistieron (BMS) en; A: 75% de ensilaje, B: 65% de ensilaje y C: 55% de ensilaje, los porcentajes restantes para cada tratamiento correspondía a un concentrado, diseñado de modo de aportar un nivel de proteína, de energía y de grasa (extracto etéreo) muy similar al del ensilaje, para no confundir el efecto de este sobre el del ensilaje en cuanto al aporte de nutrientes. Los alimentos se entregaron 2 veces

al día, mezclando ensilaje con concentrado de manera de imitar una ración completa. Todas las vacas pasaron por todos los tratamientos.

En cada período se tomaron muestras de leche (p.m y a.m.) los días 12 y 14 para análisis de proteína, grasa y recuento de células somáticas, realizado por Cooprinsem, y se tomaron muestras de leche los días 13 y 15 para extracción de grasa y posterior análisis de concentración de CLA. El consumo se midió diariamente y el pesaje se efectuó los primeros días de cada período.

No se logró obtener una diferencia en el consumo de ensilaje entre los tratamientos A (75% de ensilaje) y B (65% de ensilaje), pero sí hubo un menor consumo para el tratamiento C (55% de ensilaje), en cuanto al consumo de concentrado si hubo diferencia entre los 3 tratamientos.

No se observaron diferencias entre los 3 tratamientos, para la producción de leche, producción de leche FCM (corregida al 4% de materia grasa) y para los parámetros de calidad de leche (proteína, grasa y recuento de células somáticas).

Para la concentración de CLA en grasa láctea no se observó diferencia entre los tratamientos A, B y C, con valores de 0.24, 0.25 y 0.25 (como % del total de los ácidos grasos) respectivamente. Por lo tanto la hipótesis es rechazada, aunque la composición de los precursores de este ácido graso son similares para pradera fresca y para ensilaje de pradera, esto indica que posiblemente las condiciones para la fermentación ruminal serían inapropiadas para la síntesis de CLA o de ácido vaccenico.

## SUMMARY

Conjugated linoleic acid (CLA), and more specifically *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid, is a fatty acid that has been shown to have a variety of beneficial effects including anti-carcinogenic properties. CLA is found only in ruminant milk fat and in ruminant fats. It is formed in part by incomplete rumen hydrogenation of precursors such as linolenic and linoleic acid. It is also formed, in the mammary gland from the desaturation of another fatty acid produced in the rumen (Vaccenic acid, *trans*-11, C18:1) by the action of the enzyme delta-9-desaturase.

The present study was conducted to test the hypothesis that the intake of increasing levels of direct-cut pasture silages would produce increased amounts of CLA in milk fat, that is, it would behave in a similar way as has been observed in cows fed increasing amounts of grazed pasture. Twelve primiparous cows Holstein Friesian, at the beginning of lactation, were selected from a larger group from the dairy herd of the Vista Alegre Experimental station, which belongs to the Universidad Austral de Chile and is located in Valdivia. The cows were kept in a dairy barn with individual stanchions that allow individual feeding and watering and were milked twice daily (at 07:00 and 16:00 hrs). Cows were assigned to three groups, in a latin square, switch-over design such that each group received one of the three diets and passed through 3 periods, each of 16 days in length. The first 9 days were considered an adaptation period and data was collected during the final 7 days. The treatments (diets) were 55, 65 or 75 % pasture silage prepared by direct cut and included an absorbent additive (Cosetán, 30 kg/ton); the remainder of the diet was the same concentrate included at different levels to complete 100 % of the daily ration. The concentrate was formulated so that its composition was quite similar (in protein, energy and fat) to the silage, to minimize a possible confounding effect between

levels of silage and concentrate intakes. Silage and concentrate were offered twice daily and were mixed to imitate a complete ration.

During days 12 and 14 of each period, samples of milk from the morning and afternoon were taken and analysed for protein, fat and somatic cells. On days 13 and 15 of each period, samples were taken for the determination of CLA. In these samples, fat was extracted from the fresh milk and kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  for later analysis of CLA by gas chromatography. Feed intake was measured daily and body weight was determined during the first days of each period.

The intake of silage was significantly lower with the level of 55 % silage but it did not differ between the 65 and 75 % levels.

There were no differences in milk production, or composition with the three diets (levels of grass silage). CLA content in milk fat did not differ either between treatments and the levels observed were 0.24, 0.25 and 0.25% CLA of the total fat). Thus the hypothesis was rejected even though the composition of precursors fatty acids is similar in fresh pasture and in pasture silage, possibly indicating that the rumen fermentation conditions were inappropriate for the synthesis of either rumen CLA or vaccenic acid.

## 7 BIBLIOGRAFIA

- ABU-GHAZALEH, A.; SCHINGOETHE, D. y HIPPEN, A. 2001. Conjugated linoleic acid and other beneficial fatty acids in milk fat from cows fed soybean meal, fish meal or both. *J. Dairy Sci.* 84: 1845-1850.
- ABU-GHAZALEH, A.; SCHINGOETHE, D. 2002. Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *J. Dairy Sci.* 85: 624-631.
- ALARCON, P. 1998. Aplicación de dos métodos de formulación de raciones y su efecto sobre la producción y composición láctea. Tesis Lic. en Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Fac. de Ciencias Agrarias. 103 p.
- ALIAS, CH. 1970. Ciencia de la leche. 2ª ed. Continental. Chile 256 p.
- ANRIQUE, R. 1987. Ensilado por corte directo y premarchito. *In*: L. Latrille y O. Balocchi, ed. Avances en Producción Animal 1987. Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Pub. Serie B- 12: 96-126.
- ANRIQUE, R., VALDERRAMA, X. y FUCHSLOCHER, R. 1995. Tabla de composición de alimentos para el ganado de la zona sur. Fundación Fondo de Investigación Agropecuario. Ministerio de Agricultura. 56 p.
- ANRIQUE, R., MOREIRA, V., DUMONT, J. y ALOMAR, D. 1996. Valor energético de ensilajes de corte directo en la zona sur. *In*: L. Latrille, ed. Avances en Producción Animal 1996. Instituto de Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Pub. Serie B-20: 131-144.

- AOAC. 1996. Official methods of analysis of AOAC international, 16<sup>th</sup> ed.,  
Gaitersburg, MD, USA.
- ASELTINE, M. 1989. Cows can be managed to improve solids content of milk  
Feedstuffs. pp 13 y 25.
- BAER, R., y PETERSON, D. 2001. Composition and properties of milk and butter  
from cows fed fish oil. J. Dairy Sci. 84: 345-353.
- BAUMAN, D., CORL. B. y BAUMGARD, L. 1998. Trans fatty acids, conjugated  
linoleic acid and milk fat synthesis. Proc., Cornell Nutr. Conf. pp. 95-103.
- BAUMAN, D., BARBANO, D., DWYER, D. y GRIINARI, J. 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.
- BAUMAN, D., BAUMGARD, L., CORL, B. y GRIINARI, B., 2000. Biosynthesis of  
conjugated linoleic acid in ruminants. Proc. Am. Soc. Anim. 1999.
- BAUMAN, D., CORL, B., BAUMGARD, L., GRIINARI, B., 2001. Conjugated linoleic  
acid (CLA) and the dairy cow. In Recent Advances in Animal Nutrition-2001,  
P.C. Gransworthy and J. Wiseman, eds. Nottingham University Press,  
Nottingham, pp 221-250.
- BONDI, A. 1988. Nutrición animal. Traducido por Drori, D. Rehoboth, Israel.  
Zaragoza, España. Acribia. 546.
- BUTENDIECK, N. y HAZARD, S. 1997. La calidad hace la diferencia. Tierra  
Adentro. 12: 28-31.

CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, MINISTERIO DE AGRICULTURA (ODEPA). 1999. Temporada agrícola, primer semestre N° 13.

CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, MINISTERIO DE AGRICULTURA (ODEPA). 2004. Boletín de la leche, año 2004.

CHILLIARD, Y. y BAUMGARD, L. 2000. Ruminant fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootec.* 49: 181-205.

CHOUINARD, P., CORNEU, L., BUTLER, W., CHILLIARD, Y., DRACKLEY, J. y BAUMAN, D. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84: 680-690.

CORL, B., BAUMGARD, L., DWYER, D., GRIINARI, B., PHILLIPS, B., y BAUMAN, D. 2001. The role of  $\Delta^9$ - desaturase in the produccion of *cis*-9, *trans*-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* 12: 622-630.

De PETERS, E. y CANT, J. 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A Review. *J. Dairy Sci.* 75: 2043-2070.

DEWHURST, R., MITTON, A., OFER, N. y THOMAS, C. 1996. Effects of the composition of grass silages on milk produccion and nitrogen utilization by dairy cows. *Anim. Sci.* 62: 25-34.

DEWHURST, Y. 2001. Influences of species, cutting date, and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass Forage Sci.* 55: 68-74.

- DEWHURST, R., FISHER, W., TWEED, K. y WILKINS, R. 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. *J. Dairy Sci.* 86: 2598-2611.
- DHIMAN, T., ANAND, G., SATTER, L. y PARIZA, M. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82: 2146-2156.
- DHIMAN, T., SATTER, L., PARIZA, M., GALLI, M., ALBRIGHT, K. y TOLOSA, M., 1999. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83 : 1016-1027.
- DUMONT, J. 1994. Métodos para mejorar la calidad de los ensilajes. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes en la zona sur". INIA serie Remehue. (Chile) 52: 27-38.
- ELGERSMAN, A., ELLE, G., VAN DER HORST, H., BORE, H., DEKKER, P. y TAMMINGA, S. 2004. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 117 (1-2): 13-27.
- ELIZALDE, H. 1994. El valor nutritivo de los ensilajes. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes en la zona sur". INIA serie Remehue. (Chile) 52: 39-62.
- EMERY, R. 1978. Feeding for increased milk protein. *J. Dairy Sci.* 61: 825-828.

- UNITED NATIONS FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 1981. Composición y propiedades de la leche. Equipo regional de desarrollo y capacitación en lechería de FAO para América Latina. Jorgen Stobberup. Santiago. Chile. 39 p.
- FRENCH, P., STANTON, C., LAWLESS, F., O'RIORDAN, E., MONAHAN, F., CAFFREY, P., y MOLONEY, A. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrated-based diets. *J. Animal Sci.* 78:2849-2855.
- GRIINARI, J. y BAUMAN, D. 1999. Biosíntesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *In: Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol 1, pp: 180-200.
- GRIINARI, J., CORL, B., LACY, P., CHOUNIARD, P., NURMELA, K. y BAUMAN. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in cows by  $\Delta^9$ -desaturase. *J. Nutr. USA.* 130: 2285-2291.
- HARFOOT, C. y HAZLEWOOD, G. 1997. Lipid metabolism in the rumen. *In: The rumen microbial ecosystem*, Hobson, P., ed. London, UK. Elsevier Applied Science Publishers pp: 285-322.
- HOWIE, M. 1995. Adjusting fiber for effectiveness can aid in fine-tuning dairy rations. *Feedstuffs.* 20 (68): 10.
- IP, C. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched buffer fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129: 2135-2142.

- KAY, J., MACKLE, T., AULDIST, M., THOMSON, N. y BAUMAN, D. 2002. Endogenous synthesis of *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid in pasture-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85(Suppl. 1):176. (Abstr.).
- KEADY, T. y JONES, D. 2002. Effects of supplementation of dairy cattle with fish oil on (grass) silage intake, milk yield and milk composition. *J. Dairy Res.* 67: 137-153.
- KEENEY, M. 1970. Lipid metabolism in the rumen. In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, Phillipson, A., ed Oriel Press, Newcastle upon Tyne, pp 489-503.
- KELLY, M., KOLVER, E., BAUMAN, D., VAN AMBURGH, M. y MULLER, L. 1998a. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 1630-1636.
- KELLY, M. 1998b. Dietary fatty acid sources affect conjugated linolenic concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128: 881-885.
- KLEIN, F. 1993. Avances en la utilización de forrajes conservados para producción de leche. In: eds. Lanuza, F y Bortolameolli, G. II Seminario, aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. Estación Experimental Remehue, INIA, Osorno, Chile. pp: 31-47.
- KLEIN, F. 1994. Utilización de ensilajes para vacas lecheras, suplementación de raciones base ensilaje para producción de leche. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes en la zona sur". INIA serie Remehue. (Chile) 52: 27-38.

- LANUZA, F. 1988 (a). Utilización de ensilajes de pradera en vacas lecheras. In: Seminario para agricultores sobre conservación de forrajes para uso animal, Osorno 13-14 Julio de 1988. Estación Experimental Remehue, INIA, pp: 137-155.
- LANUZA, F. 1988(b). Suplementación energética y proteica a raciones base ensilajes para vacas lecheras. In: Seminario para agricultores sobre conservación de forrajes para uso animal, Osorno 13-14 julio de 1988. Estación Experimental Remehue, INIA, pp: 156-175.
- LAWLESS, F., MURPHY, 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.
- LEAVER, J.D. 1985. Milk production from grazed temperate grassland. *J. Dairy Sci.* 6: 313-344.
- LEE, M., HARRIS, L., DEWHURST, R., MERRY, R. y SCOLLAN, N. 2003. The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformation and digestion in beef steers. *Anim. Sci.* 76: 491-501.
- LOCK, A. y GRANSWORTHY, P. 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows milk. *Anim. Sci.* 74:163-176.
- LOOR, J. y ANDERSEN, P. 2002. Trans 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing dairy cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. *J. Dairy Sci.* 85: 1197-1207.

- MAC DONALD, P., A.R. HENDERSON y S.J. HERON. 1991. The biochemistry of silage. Great Britain. Chalcombe 376 p.
- MATTOS, R., et al. 2002. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhadenfish meal. J. Dairy Sci. 85: 755-764.
- NIELSEN, T., SEJRSEN, K., ANDERSEN, H., LUND, P. y STRAARUP, E. 2004. Effect of silage type and energy concentration on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. J. Animal Sci. 13: 697-700.
- NIETO, S., SANHUEZA, J. y VALENZUELA, A. 2002. Acido linoleico conjugado: un ácido graso con isomería trans potencialmente beneficioso. Laboratorio de Lípidos y Antioxidantes. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.
- PALMQUIST, D. 2001. Ruminant and endogenous synthesis of CLA in cows. Australian J. Dairy Tech. 56: 134-137.
- PARIZA, M. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Prog. Lipid Res. 40: 283-298.
- PARODI, P. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. J. Dairy Sci. 82: 1339-1349.
- PETERSON, D., KELSEY, J. y BAUMAN, D. 2002. Analysis of variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. J. Dairy Sci. 85: 2164-2172.

- PINTO, N., VEGA, S. y PEREZ, N. 1985. Métodos de análisis de la leche y derivados. Garantía de calidad. pp. 184.
- PIPEROVA, L., SAMPUGNA, J., TETER, B., KALSCHEUR, K., UYRAWECZ, M., KU, Y., MOREHOUSE, K. y ERDMAN, R. 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9 containing CLA in lactating cows. J. Nutr. 132:1235-1241.
- ROSELER, D., FOX, D., CHASE, L. y STONE, W. 1993. Feed intake and diagnosis in dairy cows. Proceeding Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturerers. New York. pp. 216-225.
- SARAH, C. 1996. Situación actual y perspectivas del sector lechero en Chile. In: Latrille L. (Ed). Avances en producción animal. Instituto de Producción Animal, Valdivia, Chile, Serie B-20, pp: 199-219.
- STATGRAPHICS PLUS. 2003. User's manual. Manugistics, Inc., USA. 523 p.
- STOCKDALE, C.R. 2001. Effect of pasture intake on CLA in the milk fat of grazing dairy cows. Austral J. Dairy Tech. 56: 161.
- SUTTON, J. 1989. Altering milk composition by feeding. J. of Dairy Sci. 72: 2801-2814.
- SUTTON, J., ASTON, K., BEEVER, D. y DHANOA, M. 1996. Milk production from grass silage diets: effects of high-protein concentrates for lacting heifers and cows on intake, milk production and milk nitrogen fractions. Anim. Sci. 62: 207-215.

THOMSON, N.A., et al. 2001. Management to modify milk fat. Austral J. Dairy Tech. 56: 151.

TORRES, A. 1994. Praderas destinadas a ensilajes. In: eds. González, M y Bortolameolli, G. II Seminario, Producción y utilización de ensilajes de pradera para agricultores de la zona sur. Estación Experimental Remehue, INIA, Osorno, Chile. pp: 119-143.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1 Consumo diario de ensilaje base fresca, expresado en kg/vaca/día.**

Vaca	Promedio por período		
	Período 1	Período 2	Período 3
1077	49.24 C	62.67 A	61.73 B
316	60.94 B	49.39 C	63.97 A
1003	60.39 B	52.27 C	66.98 A
507	46.30 C	53.63 A	60.98 B
987	75.94 A	68.51 B	56.91 C
1075	58.71 B	52.47 C	69.41 A
1442	62.41 B	53.53 C	71.30 A
1252	86.26 A	76.79 B	63.97 C
1878	46.46 C	53.96 A	61.59 B
1025	77.63 A	73.84 B	60.87 C
1153	75.24 A	66.96 B	56.48 C
1042	48.96 C	56.93 A	65.44 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 2 Consumo diario de concentrado base fresca, expresado en kg/vaca/día.**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	7.6 C	3.8 A	5.7 B
316	5.7 B	7.6 C	3.8 A
1003	5.8 B	7.8 C	3.9 A
507	6.7 C	3.3 A	5.0 B
987	4.1 A	6.2 B	8.2 C
1075	5.7 B	7.6 C	3.8 A
1442	5.8 B	7.8 C	3.9 A
1252	4.7 A	7.0 B	9.3 C
1878	6.7 C	3.3 A	5.0 B
1025	4.5 A	6.7 B	8.9 C
1153	4.1 A	6.2 B	8.2 C
1042	7.1 C	3.6 A	5.3 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 3 Consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

Vaca	Promedio por período		
	Período 1	Período 2	Período 3
1077	7.85 C	9.88 A	9.04 B
316	9.71 B	7.78 C	9.36 A
1003	9.63 B	8.24 C	9.81 A
507	7.38 C	8.45 A	8.93 B
987	12.10 A	10.80 B	8.33 C
1075	9.36 B	8.27 C	10.16 A
1442	9.95 B	8.44 C	10.44 A
1252	13.75 A	12.10 B	9.36 C
1878	7.41 C	8.50 A	9.02 B
1025	12.37 A	11.64 B	8.91 C
1153	11.99 A	10.55 B	8.27 C
1042	7.80 C	8.97 A	9.58 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 4 Consumo diario de concentrado base materia seca,  
expresado en kg/vaca/día.**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	6.63 C	3.17 A	4.88 B
316	4.98 B	6.34 C	3.25 A
1003	5.06 B	6.50 C	3.34 A
507	5.85 C	2.75 A	4.28 B
987	3.58 A	5.17 B	7.02 C
1075	4.98 B	6.34 C	3.25 A
1442	5.06 B	6.50 C	3.34 A
1252	4.10 A	5.84 B	7.96 C
1878	5.85 C	2.75 A	4.28 B
1025	3.93 A	5.59 B	7.62 C
1153	3.58 A	5.17 B	7.02 C
1042	6.20 C	3.00 A	4.54 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 5 Consumo Total al día base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

Vaca	Promedio por período		
	Período 1	Período 2	Período 3
1077	14.48 C	13.04 A	13.92 B
316	14.69 B	14.12 C	12.62 A
1003	14.69 B	14.74 C	13.14 A
507	13.23 C	11.20 A	13.21 B
987	15.68 A	15.97 B	15.35 C
1075	14.33 B	14.60 C	13.41 A
1442	15.01 B	14.94 C	13.78 A
1252	17.85 A	17.94 B	17.32 C
1878	13.25 C	11.25 A	13.30 B
1025	16.30 A	17.22 B	16.53 C
1153	15.57 A	15.72 B	15.29 C
1042	14.00 C	11.97 A	14.12 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 6 Producción diaria de leche, expresada en L/vaca/día.**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	20.14 C	17.64 A	17.20 B
316	22.03 B	20.23 C	18.77 A
1003	21.09 B	20.70 C	18.34 A
507	23.39 C	21.64 A	21.22 B
987	23.49 A	24.87 B	26.69 C
1075	21.26 B	22.94 C	20.80 A
1442	22.66 B	22.96 C	21.84 A
1252	28.79 A	30.00 B	29.46 C
1878	27.24 C	24.80 A	22.58 B
1025	27.01 A	29.14 B	29.26 C
1153	27.88 A	27.76 B	29.09 C
1042	17.68 C	17.23 A	17.27 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 7 Producción diaria de leche corregida por grasa 4% (4% FCM), expresada en L/vaca/día.**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	18.09 C	17.97 A	16.98 B
316	19.77 B	17.86 C	17.63 A
1003	19.04 B	18.87 C	16.97 A
507	18.86 C	18.00 A	17.89 B
987	20.48 A	22.57 B	23.63 C
1075	18.38 B	19.41 C	19.02 A
1442	21.08 B	21.68 C	20.62 A
1252	28.43 A	29.07 B	29.77 C
1878	22.26 C	19.84 A	19.03 B
1025	23.84 A	25.02 B	25.64 C
1153	24.34 A	25.12 B	24.28 C
1042	17.61 C	17.24 A	17.03 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 8** Contenido diario de grasa láctea, expresada en %.

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	3.32 C	4.13 A	3.92 B
316	3.32 B	3.22 C	3.60 A
1003	3.35 B	3.41 C	3.50 A
507	2.71 C	2.88 A	2.95 B
987	3.15 A	3.38 B	3.24 C
1075	3.10 B	2.97 C	3.43 A
1442	3.54 B	3.63 C	3.63 A
1252	3.92 A	3.79 B	4.07 C
1878	2.78 C	2.67 A	2.95 B
1025	3.22 A	3.06 B	3.18 C
1153	3.16 A	3.37 B	2.90 C
1042	3.98 C	4.00 A	3.91 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 9    Contenido diario de proteína láctea, expresada en %.**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	3.06 C	2.95 A	2.79 B
316	3.00 B	3.05 C	2.94 A
1003	3.17 B	3.15 C	3.04 A
507	2.71 C	2.56 A	2.59 B
987	2.71 A	3.17 B	2.79 C
1075	3.10 B	3.06 C	2.95 A
1442	2.83 B	2.81 C	2.80 A
1252	2.87 A	2.87 B	2.90 C
1878	2.47 C	2.49 A	2.48 B
1025	2.61 A	2.65 B	2.68 C
1153	2.65 A	2.61 B	2.69 C
1042	3.07 C	3.08 A	3.00 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 10 Recuento de células somáticas al día (\*1000).**

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	47.40 C	45.00 A	47.87 B
316	79.94 B	651.21 C	117.30 A
1003	10.71 B	27.97 C	29.06 A
507	32.76 C	20.05 A	26.17 B
987	34.28 A	27.24 B	99.17 C
1075	205.04 B	49.75 C	76.97 A
1442	12.05 B	26.35 C	13.86 A
1252	68.57 A	106.62 B	99.37 C
1878	46.28 C	26.91 A	21.94 B
1025	26.58 A	21.72 B	17.85 C
1153	202.51 A	1234.21 B	285.49 C
1042	12.08 C	125.94 A	104.43 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 11** Peso de las vacas, expresada en kg/vaca.

Promedio por período			
Vaca	Período 1	Período 2	Período 3
1077	567 C	558 A	549 B
316	540 B	539 C	537 A
1003	564 B	563 C	561 A
507	520 C	509 A	498 B
987	509 A	492 B	475 C
1075	476 B	481 C	485 A
1442	495 B	496 C	497 A
1252	645 A	621 B	597 C
1878	589 C	590 A	590 B
1025	581 A	571 B	561 C
1153	575 A	561 B	546 C
1042	465 C	464 A	464 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 12 Concentración de CLA al día, expresada como % de los ácidos grasos totales.**

Vaca	Promedio por período		
	Período 1	Período 2	Período 3
1077	0.26 C	0.26 A	0.31 B
316	0.31 B	0.20 C	0.23 A
1003	0.24 B	0.28 C	0.23 A
507	0.24 C	0.23 A	0.26 B
987	0.28 A	0.23 B	0.27 C
1075	0.24 B	0.28 C	0.25 A
1442	0.19 B	0.23 C	0.26 A
1252	0.17 A	0.20 B	0.23 C
1878	0.26 C	0.25 A	0.32 B
1025	0.22 A	0.24 B	0.22 C
1153	0.25 A	0.21 B	0.28 C
1042	0.20 C	0.22 A	0.25 B

A, B y C Indican el tratamiento.

**ANEXO 13 Análisis de varianza para el consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	35,9828	2	17,9914	12,58	0,0001
Dentro de grupos	47,2089	33	1,43057		
<b>Total corregido</b>	<b>83,1917</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 14 Test de comparación de Tukey (95%) para el consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Número</b>	<b>Promedio</b>	<b>Comparación</b>
C	12	8,17	x
B	12	10,0258	x
A	12	10,4817	x
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>	<b>Límites (+/-)</b>
A-B		0,455833	1,19841
A-C		*2,31167	1,19841
B-C		*1,85583	1,19841

(\* significa diferencias estadísticamente significativas).

**ANEXO 15 Análisis de varianza para el consumo diario de concentrado base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	65,9691	2	32,9846	121,91	0,0000
Dentro de grupos	8,92838	33	0,270557		
<b>Total corregido</b>	<b>74,8975</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 16 Test de comparación de Tukey (95%) para el consumo diario de ensilaje base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Número</b>	<b>Promedio</b>	<b>Comparación</b>
A	12	3,33667	x
B	12	4,98583	x
C	12	6,6525	x
<b>Contraste</b>		<b>Diferencia</b>	<b>Límites (+/-)</b>
A-B		*-1,64917	0,432032
A-C		*-3,31583	0,432032
B-C		*-1,66667	0,432032

(\* significa diferencias estadísticamente significativas).

**ANEXO 17 Análisis de varianza para el consumo total al día base materia seca, expresado en kg/vaca/día.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	9,85807	2	4,92904	1,84	0,1741
Dentro de grupos	88,2079	33	2,67297		
<b>Total corregido</b>	<b>98,066</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 18 Análisis de varianza para la producción diaria de leche, expresado en L/vaca/día.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	19,50534	2	9,752675	0,35	0,7896
Dentro de grupos	555,14735	33	81,401386		
<b>Total corregido</b>	<b>574,6527</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 19 Análisis de varianza para la producción diaria de leche corregida por grasa 4% (4% FCM), expresada en L/vaca/día.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	7,70491	2	3,85245	0.33	0,7412
Dentro de grupos	450,2217	33	60,55446		
<b>Total corregido</b>	<b>457,93</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 20 Análisis de varianza para el contenido diario de proteína láctea, expresada en %.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	0,0289707	2	0,0144854	0,32	0,7315
Dentro de grupos	1,5146	33	0,0458969		
<b>Total corregido</b>	<b>1,54357</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 21 Análisis de varianza para el contenido diario de grasa láctea, expresado en %.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	0,148255	2	0,0741274	0,44	0,6500
Dentro de grupos	5,60413	33	0,169822		
<b>Total corregido</b>	<b>5,75238</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 22 Análisis de varianza para el recuento diario de células somáticas (\*1000).**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	51578,9	2	25789,5	0,50	0,6120
Dentro de grupos	1,707286	33	51735,7		
<b>Total corregido</b>	<b>1,758866</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 23 Análisis de varianza para el peso de las vacas, expresado en kg/vaca.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	586,889	2	293,444	0,12	0,8850
Dentro de grupos	78998,1	33	2393,88		
<b>Total corregido</b>	<b>79585,0</b>	<b>35</b>			

**ANEXO 24 Análisis de varianza %) para la concentración de CLA al día,  
expresado como % de los ácidos grasos totales.**

<b>Fuente</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Entre grupos	0,00100139	2	0,000500694	0,42	0,6600
Dentro de grupos	0,0392729	33	0,00119009		
<b>Total corregido</b>	0,0402743	35			