



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Agronomía

EFECTO DE SUPLEMENTAR VACAS EN PASTOREO CON CONCENTRADO O ACEITE DE SALMÓN SOBRE EL CONTENIDO DE CLA EN LA GRASA LÁCTEA

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

JORGE ARTURO VERA BALCAZAR.

VALDIVIA-CHILE

2008

Profesor Patrocinante:

Luis Latrille L.

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

Profesores Informantes:

René Anrique G.

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

Rubén Pulido F.

Med. Vet., M. Sc., Ph. D.

AGRADECIMIENTOS.-

A Don Luis Latrille, como profesor guía en esta investigación por su constante apoyo, confianza y orientación.

A Don Rubén Pulido, quien me permitió trabajar en paralelo a su proyecto.

Al personal de la estación experimental de Vista Alegre, en especial a Don Erico, quien con su compromiso y ayuda, permitieron realizar esta tesis. Asimismo, a la Sra. Marcia Rojas y Don Luis Palma, quienes con su desinteresada ayuda y orientación hicieron posible efectuar los análisis en laboratorio, requeridos para la realización de esta investigación.

A mis tíos Judith y Alberto, y a mi primo Rodrigo quienes fueron fundamentales en mis primeros años de universidad.

A Ricardo, Felipe, Sergio y Alex, por su amistad y hospitalidad en estos últimos años de estudio.

A Caren por su compañía y amor todos estos años.

A mis padres Luis y Nelly, por su incondicional apoyo y comprensión, los cuales han sido fundamentales en esta importante etapa de mi vida.

A mi hermana Belen y abuela Estela, por su alegría y compañía.

A mi abuelita Georgina y mi hermana Claudia; mis dos angelitos que me acompañan desde el cielo. Siempre estarán presentes.

Por último, a todas las personas que estuvieron presentes durante los cinco años de vida universitaria.

Para todos ellos infinitas gracias...

**DEDICADA A MIS PADRES Y HERMANA.
LUIS , NELLY Y BELEN.**

INDICE DE MATERIAS.-

CAPITULO		PAGINA
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Composición de la Leche Bovina	3
2.1.1	Características de la grasa láctea	4
2.2	El Acido Linoleico Conjugado (CLA).	6
2.2.1	Síntesis de CLA en rumiantes.	7
2.2.1.1	Lipólisis.	8
2.2.1.2	Biohidrogenación	9
2.2.1.3	Síntesis de los Ácidos grasos en la glándula mamaria.	10
2.3	Manipulación del nivel de acido linoleico en la leche.	14
2.3.1	Suplementación con fuentes concentradas de precursores de CLA.	15
2.3.2	Raciones basadas en forrajes.	16
2.3.2.1	Concentración de CLA (cis-9, trans-11), en función a la relación forraje:concentrado.	19
2.3.3	Suplementacion con aceites de origen vegetales.	21
2.3.4	Suplementación con fuentes de lípidos de origen marino	24
2.3.4.1	Aceite de Salmón.	30
3.	MATERIAL Y METODOS.	35
3.1	Localización y duración experimental.	35
3.2	Material Experimental.	35
3.2.1	Animales.	35
3.2.2	Alimentos.	36
3.3	Muestreo de la leche.	37
3.3.1	Producción y Composición Láctea.	37
3.4	Procedimiento de la extracción de la grasa de la leche	37

CAPITULO	PAGINA	
3.5	Trans-esterificacion de los acidos grasos.	38
3.6	Cromatografía gas-liquido.	39
3.7	Diseño experimental	39
3.8	Análisis Estadístico	39
4.	RESULTADOS	40
4.1	Experimento I	40
4.1.1	Producción de leche, concentración de materia grasa y de proteína en los distintos tratamientos.	40
4.1.2	Perfil de ácidos grasos en la grasa láctea.	41
4.1.2.1	Contenido de CLA en la grasa láctea.	44
4.2	Experimento II	44
4.2.1	Producción de leche, concentración de materia grasa y de proteína en los distintos tratamientos.	44
4.2.2	Perfil de ácidos grasos en la grasa láctea.	45
4.2.2.1	Contenido de CLA en la grasa láctea.	47
5.	DISCUSION	48
5.1	Experimento I	48
5.1.1	Producción de leche, concentración de materia grasa y de proteína.	48
5.1.2	Ácidos grasos presentes en la grasa láctea.	50
5.1.2.1	Contenido de ácidos grasos C18 y de CLA en la grasa láctea.	51
5.2	Experimento II	55
5.2.1	Producción de leche, concentración de materia grasa y de proteína.	55
5.2.2	Ácidos grasos presentes en la grasa láctea.	56
5.2.2.1	Contenido de CLA en la grasa láctea.	58
6.	CONCLUSION	60
7.	RESUMEN	62
	SUMARY	

III

8.	BIBLIOGRAFIA	66
	ANEXOS	77

INDICE DE CUADROS.

CUADRO		PAGINA
1	Composición de la leche de vaca. (por cada 100 g.)	3
2	Ácidos grasos mayoritarios de la leche bovina.	5
3	Ácidos grasos presentes en pradera, maíz y cebo.	17
4	Efecto de la estación y país sobre la concentración (g/100g de acidos grasos) de cis-9, trans-11 C18:2, en la leche.	19
5	Concentración de CLA y ácidos grasos saturados e insaturados, en la grasa láctea de vacas suplementadas o no, con disponibilidad alta y baja de pastoreo.	20
6	Concentración de acido linoleico y linolénico presentes en la dieta y la leche de vacas sometidas a tres niveles de inclusión de pradera permanente	21
7	Composición en ac. grasos (% del total de ácidos) de diferentes aceites.	21
8	Porcentaje de CLA del total de ácidos grasos presentes en la leche de vacas sometidas a dietas conteniendo; ya sea soya extruída cruda (18% RCS), soya extruída tostada (18% ROCS), aceite de soya (3,6% SO), aceite de lino en (2,2% LO) y (4,4% LO), base materia seca; comparado con el grupo control .	23
9	Efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre la concentración de ac. trans-vaccénico (TVA), acido linoleico conjugado (CLA), ácidos grasos saturados e insaturados	29
10	Producción (año 2005) de aceite de pescado por tipo.	30
11	Principales ácidos grasos presentes en aceites de pescado.	34
12	Tratamientos según dietas.(Primera Etapa).-	36
13	Tratamientos según dietas.(Segunda Etapa).-	36

CUADRO		PAGINA
14	Consumo de alimentos en vacas en pastoreo primaveral sin suplementación (I) y suplementadas con 3 Kg (II), 6 Kg (III) o 9 Kg de concentrado/vaca/día (IV).	40
15	Producción de leche, concentración de Materia grasa y Proteína en los distintos tratamientos del Experimento I.	41
16	Perfil de ácidos grasos (g/100g de ac. grasos totales) en la leche en los tratamiento I y IV del Experimento I.	43
17	Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína en los distintos tratamientos (Experimento II).	44
18	Perfil de ácidos grasos (g/100g de ac. grasos totales) presente en la leche de las vacas, en ambos tratamientos del Experimento II.	46
19	Consumo de Energía y Proteína, en vacas en pastoreo (I) suplementadas con 3 (II), 6 (III) y 9 Kg. de concentrado. (Experimento I).	49
20	Estimación del consumo de Ácidos grasos, de las vacas para cada tratamiento (Experimento I).	52

INDICE DE FIGURAS.-

FIGURA		PAGINA
1	Variación en la producción y la composición de la leche en función a los días en lactancia de vacas Holstein.	4
2	Estructura química de los isómeros de ácido linoleico conjugado A)trans-10 cis-12;B)cis-9 trans-11 o ácido ruménico; C) ac. Linoleico cis-9, cis-12.	6
3	Digestión de las grasas en el rumen.	8
4	Vías bioquímicas para la biohidrogenación de los ácidos linoleico y linoléico, en el rumen.	9
5	Hidrogenación del ácido linoleico en el rumen.	10
6	Relación entre los ácidos grasos trans-C18:1 y cis-9, trans-11 CLA (g/day).	11
7	Concentración (g/100g de ácidos grasos) de trans-11 C18:1 y cis-9, trans-11 C18:2 en la grasa láctea de vacas lactantes, sometidas a infusión abomasal de ácido estercólico por cuatro días.	12
8	Rutas principales de formación de ácido linoleico conjugado (CLA) en el rumen y en la glándula mamaria de los rumiantes.	13
9	Efecto sobre el contenido de CLA en la grasa láctea, a través de la suplementación con sales cálcicas de ácidos grasos de aceite de canola (CaCO), aceite de soya (CaSO), aceite de lino (CaLO).	15
10	Efecto del consumo de forraje verde y tierno (primavera), sobre los contenidos en dienos (principalmente C18:2), dienos conjugados (principalmente CLA) y trienos (principalmente C18:3)	18

VII

FIGURA		PAGINA
11	Porcentaje de CLA del total de ácidos grasos presentes en la leche de vacas sometidas a dietas conteniendo; ya sea soya extruída cruda(?), soya extruída tostada (?), aceite de soya (*), aceite de lino en 2,2%(?) y 4,4%(?), base materia seca; comparado con el grupo control (-).	22
12	Porcentaje de CLA del total de ácidos grasos presentes en la leche de vacas sometidas a dietas conteniendo; ya sea aceite de soya 0,5%(?), 1,0%(?), 2,0% (*), 4,0%(?) y aceite de lino 1,0%(?), base materia seca; comparado con el grupo control (-).	24
13	Efecto en el contenido de CLA al suplementar con aceite de pescado. FO1 (200ml/d) y FO2 (400ml/d).	25
14	Concentración de trans-11 C18:1 (TVA) (barra blanca) y C18:0 (ácido esteárico) (barra negra), dentro del fluido ruminal de oveja, en respuesta a la dosis de 5mg de aceite, con distintas proporciones de aceite de pescado y aceite de algodón.	27
15	Cambios en la concentración de cis-9, trans-11 CLA, en la leche de vacas alimentadas con una dieta control (?) y otra con harina de pescado y soya extruída (?), durante el periodo experimental.	28
16	Línea de producción de harina y aceite de pescado.	31
17	Variación semanal y por tratamiento de la concentración de CLA (% del total de ácidos grasos), en grasa láctea en el experimento 1.	54
18	Concentración de ácidos grasos saturados en la grasa láctea, durante el periodo experimental, para ambos tratamientos.	58
19	Variación semanal y por tratamiento de la concentración de CLA (% del total de ácidos grasos), en grasa láctea en el experimento 2.	58

INDICE DE ANEXOS.-

ANEXO		PAGINA
1	Características de las vacas utilizadas en cada tratamiento.	78
2	Características nutricionales de los alimentos utilizados en la fase I.	79
3	Ficha técnica aceite de salmón.	80
4	Características nutricionales de alimentos utilizados en la fase II.	81
5	Tratamientos y periodos experimentales	82
6	Análisis de Varianza de los parámetros medidos en el experimento 1.	83
7	Análisis de Varianza de los parámetros medidos en el experimento 2	92

1. INTRODUCCIÓN

Una alta competitividad en la industria lechera, requiere cada vez más, de elementos que entreguen posibilidades a los productores para enfocar su producción. Es por esto, que son muy bienvenidos, aquellos descubrimientos de cualidades que posea la leche; que den la oportunidad a productores, para optimizar su composición. En general, la leche es rica en ácidos grasos saturados, por lo que se puede suponer, que resultaría un tanto dañina para la salud humana. Sin embargo, se ha visto, que una modificación de la grasa láctea podría tener probables beneficios para la salud de las personas.

A raíz de esto, nace el interés por explorar, específicamente un isómero del ácido linoleico conjugado (CLA), el cual al ser evaluado en animales ha reducido la incidencia de tumores mamarios, cuando se incluyó en la dieta mantequilla enriquecida en este ácido graso (IP et al, 1999). Además, de los efectos anticarcinogénicos; el CLA ha demostrado tener un rol antiarterioesclerótico (LEE, et al 1994), modulador del sistema inmune, disminuyendo la grasa corporal (BLANKSON, et al 2000), y favoreciendo la mineralización ósea. De esta forma, se ve como una potencial herramienta, el producir productos lácteos enriquecidos en este tipo de ácido graso, y poder llegar a utilizar esta característica como un “plus” para la comercialización de la leche y productos lácteos.

Para lograr crear productos lácteos (quesos y mantequillas, por ejemplo) ricos en CLA, es necesario encontrar formas de obtener leches enriquecidas en este ácido graso. Se sabe que vacas lecheras, al recibir alimentación en base a praderas, tienen niveles mayores de este ácido graso en la leche (versus vacas confinadas que reciben ensilajes y concentrados tradicionales). Esto ha provocado, gran interés por fomentar esta característica, en aquellos países o productores que basan su lechería en el pastoreo de la pradera.

Esta investigación consta de dos hipótesis; la primera es: “En vacas en pastoreo el contenido de ácido linoleico conjugado en la grasa láctea disminuye en la medida que se les aumenta el aporte de concentrado”.

La segunda hipótesis es: “Al incluir en la ración de vacas lecheras en pastoreo, una suplementación con aceite de salmón, se espera un incremento de los niveles de CLA en la grasa láctea”.

Los objetivos de la investigación son los siguientes:

Como objetivo general:

- Determinar el contenido de ácido linoleico conjugado en grasa láctea de vacas que reciben dietas de pradera suplementada con niveles crecientes de un concentrado, con o sin un suplemento de aceite de pescado (salmón).

Como objetivos específicos:

- Determinar la producción, concentración de grasa y proteína en la leche de las vacas en sus respectivos tratamientos.
- Medir la producción de leche y la concentración de ácido linoleico conjugado en la grasa láctea de vacas que reciben raciones de pradera y niveles crecientes de concentrado.
- Medir la concentración de ácido linoleico conjugado en la grasa láctea de vacas alimentadas con raciones basadas en pradera o pradera suplementada con aceite de salmón.
- Analizar el perfil de ácidos grasos, que presenta la materia grasa, de la leche obtenida de vacas en pastoreo con niveles crecientes de concentrado y también de aquellas con raciones en base a pradera con o sin suplementación de aceite de salmón.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 COMPOSICION DE LA LECHE BOVINA.

La leche siendo la secreción característica de la glándula mamaria, resulta ser un complejo recurso nutritivo, que posee más de un centenar de sustancias que se encuentran ya sea en solución, suspensión o emulsión en agua. Los promedios de la composición de la leche bovina, en diferentes razas, se presentan en el Cuadro 1.

CUADRO 1: Composición de la leche de vaca. (por cada 100 g.)

	SOLIDOS TOTALES	GRASA	PROTEINA	LACTOSA	CENIZAS
Holstein Friesian	12,9	4,0	3,5	4,7	0,68
Holstein Friesian (holandesa) ¹	12,4	3,7	3,2	4,8	0,7
Ayrshire	13,4	4,0	3,6	5,0	0,73
Guernsey	14,6	5,0	3,9	4,9	0,74
Jersey	14,9	5,4	3,9	4,9	0,71

FUENTES: HAZARD y CHRISTEN, (2006). ¹ SCHINGOETHE Y GARCIA, (2004).

LATRILLE (1993) en concordancia con PALMQUIST, et al (1993), identifica factores ligados al animal (raza, estado de lactancia y estado sanitario) y ambientales (alimentación y estación del año), como aquellos aspectos que directamente influyen sobre la composición de la leche.

Cabe destacar la variación que se manifiesta en la composición química de la leche vinculada al estado fisiológico o de lactancia, independiente de la raza o del estado sanitario del animal; así lo demuestran SCHUTZ, et al (1990) que determinaron las variaciones en los parámetros de producción (leche, grasa y proteína) y concentración de grasa y proteína, en función de los días de lactancia y

número de parto, en vacas Holstein, Guernsey y Jersey. En la figura 1 se observa la tendencia en la producción de leche y la concentración de grasa y proteína, de vacas Holstein, en función de los días de lactancia. Se observa que pasado el “pick” de producción de leche, se manifiesta una baja paulatina en la producción a medida que transcurre la lactancia, a la vez aumenta el porcentaje de grasa y de proteína de la leche. De la misma investigación se desprende, que la concentración de grasa, lactosa y sólidos no grasos disminuye en relación al número de partos o lactancias.

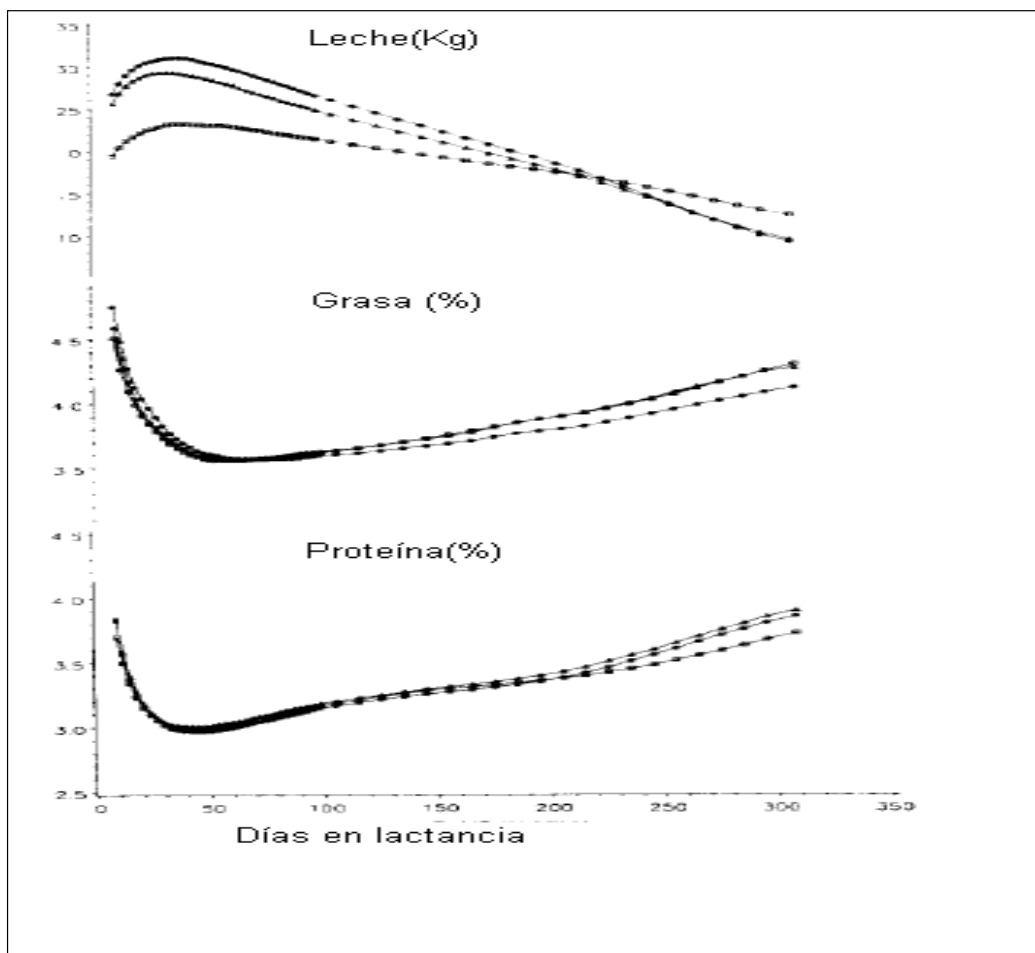


FIGURA 1: Variación en la producción y la composición de la leche en función a los días en lactancia de vacas Holstein.

FUENTE: SCHUTZ et al, 1990.

2.1.1. Características de la grasa láctea: Cerca del 98% de los lípidos presentes en la leche son triglicéridos, 0,5-1% son fosfolípidos y 0,2-0,5% son esteroides (JENSEN et al, 1991). De estos derivan los ácidos grasos saturados que se

muestran en el cuadro 2. Mas del 10% de los ácidos grasos saturados son de cadena media o corta, es decir de menos de 13 carbonos. A la vez, los ácidos grasos de cadena media (entre 14 a 17 carbonos), suman más de un 40 % del total. Los ácidos grasos de cadena larga (mayores a 18 carbonos) constituyen más de un 30 %. Sin duda, que estos son valores promedios que varían con diversos factores.

Se ha demostrado que la fracción hipercolestoremica, la constituyen los ácidos grasos saturados y de cadena media. Siendo los ácidos grasos, palmítico (C16:0) y mirístico (C14:0) los que definitivamente tienen un rol hipercolestoremico (LATRILLE 1993, ABUGHAZALEH et al, 2002).

CUADRO 2: Ácidos grasos mayoritarios de la leche bovina.

Ácido graso	Intervalo de variación (% en peso sobre el total de ácidos grasos)
C4:0 (Butírico)	2-5
C6:0 (Caproico)	1-5
C8:0 (Caprílico)	1-3
C10:0 (Cáprico)	2-4
C12:0 (Laúrico)	2-5
C14:0 (Mirístico)	8-14
C15:0 (Pentadecanoico)	1-2
C16:0 (Palmítico)	22-35
C16:1 (Palmitoleico)	1-3
C17:0 (Margárico)	0,5-1,5
C18:0 (Esteárico)	9-14
C18:1 (Oleico)	20-30
C18:2 (Linoleico)	1-3
C18:3 (Linolénico)	0,5-2,0

FUENTE: JENSEN, 2002

2.2 EL ACIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA).

Según BAUMAN, (2002); el termino ácido linoleico conjugado, involucra en realidad, una serie de isómeros del ácido linoleico (principalmente el cis 9, trans 11 y el trans 10, cis 12). En la grasa de origen lácteo, aproximadamente entre el 75% a 90% del CLA es cis-9, trans-11, su estructura se muestra en la figura 2. (KELSEY et al, 2003, PARODI, 1997). En la grasa presente en la carne bovina este isómero corresponde entre el 57% al 85% del total de CLA.

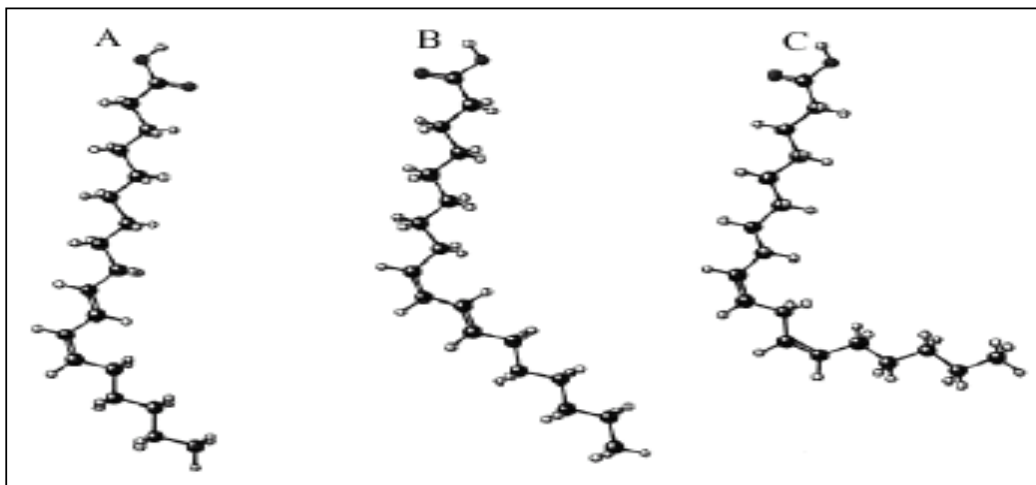


FIGURA 2: Estructura química de los isómeros de ácido linoleico conjugado
A)trans-10 cis-12;B)cis-9 trans-11 o ácido ruménico; C) ac.
Linoleico cis-9, cis-12.

FUENTE: BAUMAN et al 1999.

El ácido linoleico conjugado, se origina naturalmente en reacciones de biohidrogenación parcial, como las que ocurren en el ambiente ruminal, por lo que el CLA (cis-9, trans-11), se encuentra de forma natural en la leche y tejidos de rumiantes (BAUMAN et al 1999). Sin embargo, en los tejidos de rumiantes se acumula un menor contenido de este ácido graso; así lo demuestran MOLONEY et al (2001), quienes resumieron el contenido de CLA en carne, reportado en diferentes estudios, encontrando una variación entre 0,12-1,25g/100g de ac. grasos totales, en comparación a lo encontrado en la grasa de la leche, cuyo contenido de CLA varía entre 1-3g/100g de ac. grasos totales (JENSEN, 2002).

Esta diferencia en el contenido de CLA (carne v/s leche), se explica fundamentalmente por dos razones. Primero, las dietas utilizadas en la fase de

terminación de los bovinos, destinados a la producción de carne, se caracterizan por ser altas en alimentos concentrados y bajas en fibra. GRIGERA NAÓN (2003), concluye luego de una revisión de literatura, que las carnes de vacunos provenientes de sistemas pastoriles (Argentina, Australia, Irlanda) presentan contenidos mayores de CLA, en comparación a las obtenidas en feedlots (EEUU, Canadá, Japón). En segundo lugar, aparte del CLA que se produce en el rumen; en la glándula mamaria se sintetiza también ácido ruménico. Esto explica que en la leche se encuentre más de este ácido graso que en la carne. (BAUMAN et al 1999).

Los recursos vegetales son muy deficitarios en este tipo de ácido graso, y es claro que en el organismo de los rumiantes, ocurre algún(os) tipo de proceso(s), que generan CLAs, y más específicamente el isómero cis-9, trans 11. Esta es una de las razones por las que este isómero específico ha sido denominado como ácido ruménico (KRAMER et al, 1998).

2.2.1 Síntesis de CLA en rumiantes: La digestión ruminal de la grasa dietaria , incluye sucesivos procesos de hidrólisis e hidrogenación (BAUMAN et al, 2003), los que se presentan en forma esquemática en la figura 3. Este proceso afecta a gran parte de la grasa ingerida, lo cual explica en cierta forma que la grasa acumulada por rumiantes sea más saturada que en animales monogástricos. Sin embargo, la biohidrogenación en determinadas circunstancias se manifiesta en forma incompleta sobre los ácidos grasos insaturados presentes en la ración de rumiantes.

En un principio, se creía que el origen del CLA, estaría solo ligado a la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen. Sin embargo, existen otros procesos que ocurren, ya sea en el rumen o en la glándula mamaria que influyen en la formación de CLA.

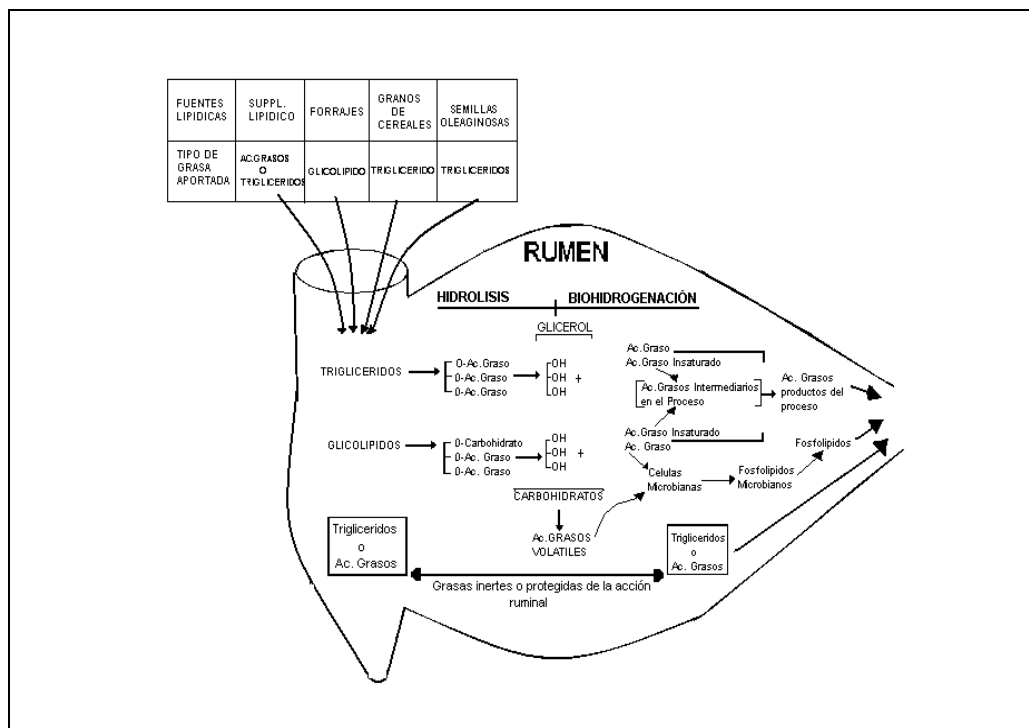


FIGURA 3: Digestión de las grasas en el rumen.

FUENTE: Davis (1990), adaptado de BAUMAN et al, (2003).

2.2.1.1 Lipólisis: este proceso que se materializa en el rumen sobre los lípidos (principalmente triglicéridos) produce finalmente ácidos grasos libres y glicerol, a través de la hidrólisis de los enlaces éster, presentes en los triglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos. Se caracteriza, por ser un proceso rápido y que actúa casi en la totalidad de los lípidos presentes en el medio ruminal. Esto se explica, por la acción de lipasas, galactosidasas y fosfolipasas (extracelulares) producidas principalmente por bacterias y en menor grado por protozoos (BLAS, 2004).

La hidrólisis ruminal ha sido bien caracterizada en el caso del bacterio *Anaerovibrio lipolytica* el cual hidroliza triglicéridos y *Butyrivibrio fibrisolvens* el cual actúa sobre fosfolípidos y glicolípidos (Harfoot and Hazlewood, 1997, citados por BAUMAN et al, 2003).

La acción lipolítica de las lipasas es alta (sobre un 85%), sin embargo a medida que aumenta el nivel de grasa en la dieta, la hidrólisis disminuye; asimismo ocurre cuando el pH ruminal disminuye o cuando se utilizan antibióticos u ionóforos en la dieta (BAUMAN et al, 2003).

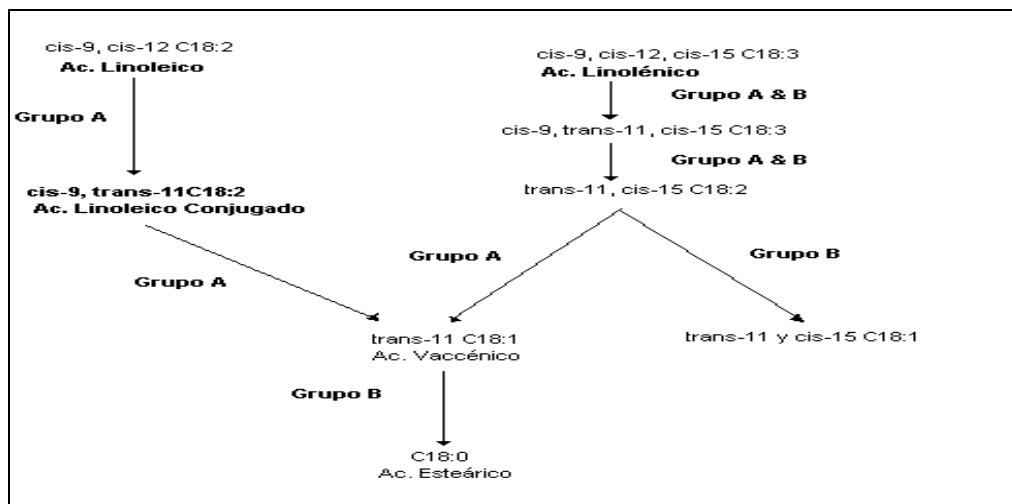


FIGURA 4: Vías bioquímicas para la biohidrogenación de los ácidos linoleico y linolénico, en el rumen.

FUENTE: Adaptado de BAUMAN et al, (2003).

2.2.1.2 Biohidrogenación: La biohidrogenación requiere también de la presencia de bacterias ruminales (e.g. *Butirivibrio fibrisolvens*); además de la hidrólisis previa de los lípidos, ya que solo puede ocurrir cuando los ácidos grasos tienen el grupo carboxilo libre (BLAS, 2004).

En general, las bacterias involucradas en la biohidrogenación de los lípidos insaturados han sido clasificadas en dos grupos (A y B), de acuerdo a sus vías metabólicas. Los ácidos grasos poli-insaturados requieren de ambos grupos de bacterias para ser hidrogenados. Así, se ha evidenciado que las bacterias del grupo A están involucradas en la hidrogenación de ac. grasos poliinsaturados hasta llevarlos a un ácido graso monoinsaturado: C18:1 (ac. trans vaccénico TVA). Unas cuantas especies de bacterias del grupo B, se han visto involucradas en la hidrogenación del ac. trans vaccénico a ácido esteárico. Esto se esquematiza en la figura 4 (BAUMAN et al, 2003).

Los principales sustratos en el proceso de biohidrogenación son los ácidos linoleico y linolénico. Para gran parte de las dietas, estos ácidos son hidrogenados hasta un 70-95% y 85-100%, respectivamente (BAUMAN et al, 2003). Cuando el precursor es ácido linoleico, en primera instancia sufre una isomerización, transformándose de cis-9, cis-12 al isómero ácido linoleico conjugado (cis-9,

trans-11), o ácido ruménico. Luego, sobre este último, pueden ocurrir dos reducciones seguidas, obteniéndose de cada una ácido oleico, C18:1 trans-11 (TVA) o ácido esteárico, respectivamente.

Como se muestra en la figura 5, el producto final de la biohidrogenación del ácido linoleico, puede ser el ácido esteárico; además, dependiendo de las condiciones ruminales, se pueden obtener productos intermedios, como los ácidos grasos conjugados (ácido ruménico) y monoinsaturado (ácido trans vaccénico).

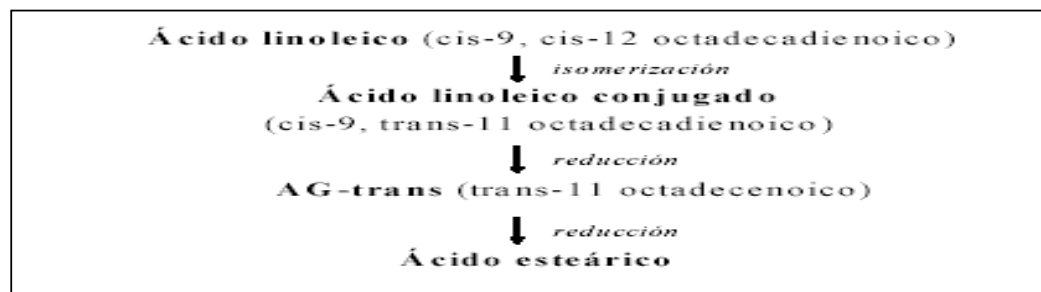


FIGURA 5: Hidrogenación del ácido linoleico en el rumen.

FUENTE: Harfoot y Hazelwood, 1988; adaptado de BLAS, 2004.

Generalmente, no llega a ocurrir la hidrogenación total del ácido linoleico en el rumen, de manera que cantidades significativas de los subproductos de la hidrogenación, principalmente el ácido trans vaccénico, son absorbidos a nivel del duodeno y retenidos en la leche o en el tejido adiposo, sea como tal o transformado en ácido linoleico conjugado (cis-9, trans-11) (ver más adelante). (BLAS, 2004).

2.2.1.3 Síntesis de los ácidos grasos en la glándula mamaria: alrededor de un 40% de los ácidos grasos presentes en la leche bovina son formados en esta glándula, *in situ*; utilizando como precursores acetato y β -hidroxibutirato, procedentes de la fermentación ruminal de los carbohidratos. La presencia de las enzimas acetil COA carboxilasa y AG sintetasa, permite la síntesis *de novo* de los ácidos grasos de cadena corta y media (desde 4 hasta 14 carbonos); además del 50% del ácido palmítico (C16:0) (GRUMMER, 1991). Por otro lado, los ácidos grasos de cadena larga, provienen en su mayoría de los lípidos presentes en la sangre, los cuales tienen su origen en la grasa dietaria, la grasa microbiana y la grasa movilizada desde el tejido adiposo corporal. (BLAS, 2004).

En la glándula mamaria, la enzima $\Delta 9$ desaturasa actúa sobre el ácido trans vaccénico (TVA), proveniente de la biohidrogenación ruminal, y lo convierte en ácido linoleico conjugado (cis-9, trans-11). Se considera actualmente, que esta última vía es la más importante en la síntesis de CLA (93% del CLA en la leche bovina), siendo este isómero (cis-9, trans-11), el más abundante (BLAS, 2004). Esto queda de manifiesto, también en investigaciones como la realizada por LOOR et al, (2002); en la que encontraron concentraciones de CLA en la leche, cuatro veces superiores a la encontrada en el flujo duodenal, confirmando de esta forma la elevada síntesis de este ácido graso en la glándula mamaria.

LOCK y GARNWORTHY (2002), a su vez demuestran esto mismo, a través de la relación precursor: producto (trans-C18:1:cis-9,trans-11 C18:2), la cual se muestra en la figura 6. BAUMAN et al 1999, atribuyen esta relación a que estos dos ácidos grasos presentan un origen común, como intermediarios de la biohidrogenación ruminal

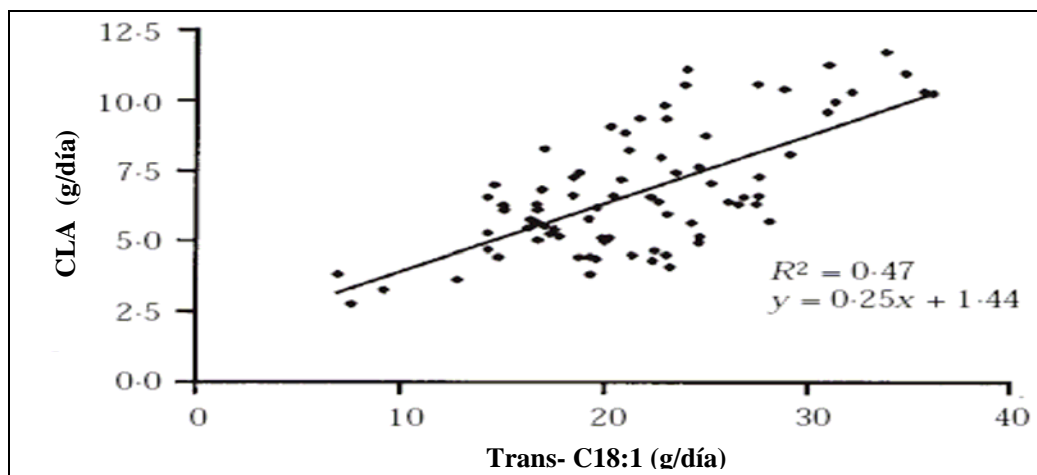


FIGURA 6: Relación entre los ácidos grasos trans-C18:1 y cis-9, trans-11 CLA (g/día).

FUENTE: LOCK, y GARNWORTHY, 2002.

CORL et al (1998), suplementaron directamente TVA al abomaso (12,5g/d), a vacas en lactancia por un periodo de tres semanas; al final de este tiempo, se evidenció un aumento de un 40%, en el CLA de la grasa láctea.

La síntesis endógena, depende directamente de la actividad de la enzima Δ 9 desaturasa. Esto se comprobó en investigaciones como la realizada por KAY et al (2004), en la cual se evaluó, en vacas en pastoreo, el efecto de la infusión abomasal con aceite de semillas de *Sterculia foetida*, el cual contiene ácido malvalico y ácido esterculico, que son dos potentes inhibidores de la enzima Δ 9 desaturasa. En estas condiciones la concentración de CLA disminuyó de 1,21% (sin este aceite) a 0,36% de la grasa total; la misma tendencia se observó con otros ácidos grasos de la leche que son producto de la acción de esta enzima.

Asimismo, GRIINARI et al (2000) demostraron, la relación existente entre el ácido trans-vaccénico (como sustrato) y el CLA (como producto), a través de la infusión abomasal de 9,7 g/d de aceite esterculico. Claramente se observa la disminución en la concentración de CLA en aproximadamente un 45%; esto se representa en la figura 7.

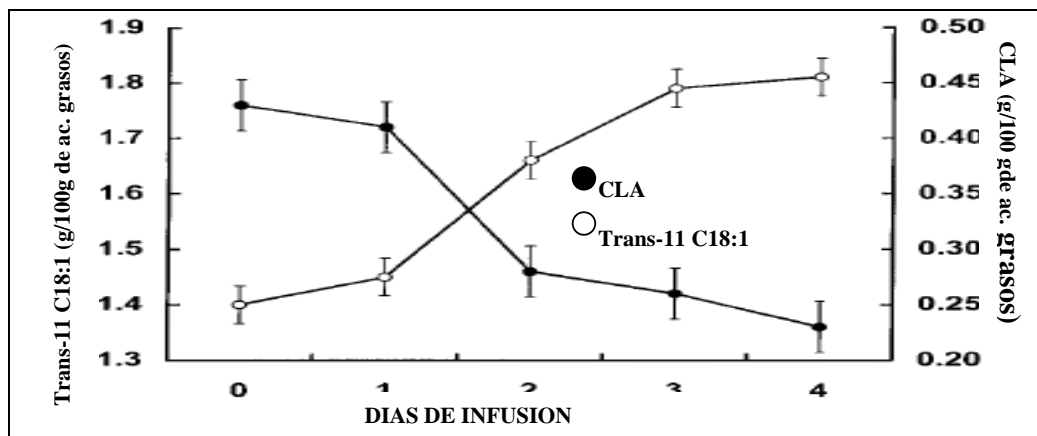


FIGURA 7: Concentración (g/100g de ácidos grasos) trans-11 C18:1 (TVA) y cis-9, trans-11 C18:2 (CLA) en la grasa láctea de vacas lactantes, sometidas a infusión abomasal de ácido esterculico por cuatro días.

FUENTE: GRIINARI et al 2000.

Cuatro ácidos grasos son producto de la acción de esta enzima, (cis-C14:1, cis-C16:1, cis-C18:1 y cis-9, trans-11 CLA), provenientes de la desaturación de C14:0, C16:0, C18:0 y trans-11 C18:1, respectivamente. Se puede evaluar la actividad de esta enzima, en la glándula mamaria, a través de la relación producto:

substrato de los ácidos grasos anteriormente mostrados en la figura 6. Según LOCK y GARNWORTHY (2002) y PETERSON, et al (2002), el indicador que mejor define la actividad de esta enzima resulta ser la relación entre los ácidos grasos C14:1/C14:0, ya que todo el ac. mirístico (C14:1), presente en la grasa láctea, se produce *de novo* en la glándula mamaria y consecuentemente la desaturación (por acción de la enzima $\Delta 9$ desaturasa) es la única fuente de este ácido.

En la figura 8, se visualiza la relación entre los ácidos grasos obtenidos en la hidrogenación ruminal, y la formación de CLA en la glándula mamaria.

El isómero CLA (cis-9, trans-11 C18:2), tiene dos orígenes. Por un lado, absorción intestinal del ácido ruménico sintetizado en el rumen y movilizado a la glándula mamaria; y por otro, síntesis endógena en la glándula mamaria, a partir del ácido trans vaccénico (trans-11 C18:1), también sintetizado en el rumen, por acción de la enzima delta-9 desaturasa.

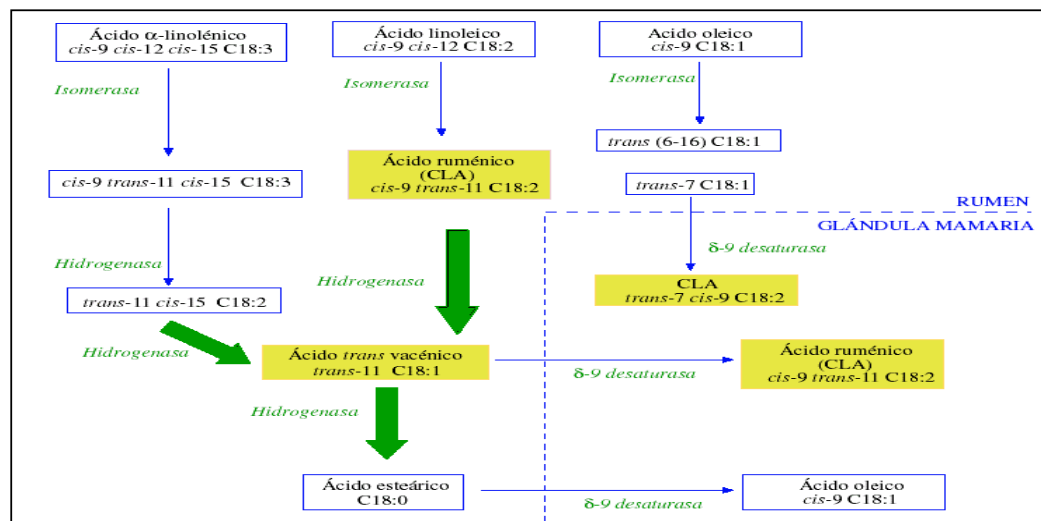


FIGURA 8: Rutas principales de formación de ácido linoleico conjugado (CLA) en el rumen y en la glándula mamaria de los rumiantes.

FUENTE: Khanal y Dhiman, 2004.

2.3 MANIPULACION DEL NIVEL DE ACIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA LECHE.

Existe una gran variabilidad en el contenido de ácido ruménico en la leche bovina, que puede estar presente en un rango desde menos del 1% hasta un 3%, del total de ácidos grasos. Los factores más influyentes, según BAUMAN (2003), son la dieta de la vaca y las variaciones entre animales. Con respecto a este último factor, son dos básicamente las razones que permiten vincular el factor animal con el contenido de CLA. Primero, las diferencias individuales en las producciones de ac. vaccénico y CLA ruminales, entre animales que consumen una misma dieta. Y segundo, diferencias en la expresión del gen responsable de la acción de la enzima delta-9 desaturasa en la glándula mamaria, entre vacas; lo cual influye directamente en la síntesis endógena del CLA.

KELSEY *et al*, (2003); quisieron determinar si existía efecto de la raza (Holstein v/s Pardo Suizo), del número de pariciones y de la etapa de la lactancia sobre la concentración de CLA en la leche. Concluyeron que los parámetros evaluados presentaban una mínima influencia; sin embargo, identificaron una amplia variación individual entre vacas en la concentración de CLA en la grasa láctea. Asimismo, PETERSON, *et al* (2002), encontraron variaciones individuales de dos a tres veces, entre vacas bajo una misma dieta. Estos autores atribuyen esta variación a las mismas razones citadas por BAUMAN (2003).

La alimentación de la vaca, resulta ser el factor más gravitante sobre el contenido de CLA o ácido ruménico en la leche. De acuerdo con una revisión bibliográfica hecha por GAGLIOSTRO (2004), un manejo nutricional estratégico de las raciones de rumiantes constituye el primer paso para lograr un producto diferenciado (alto en CLA). Este autor considera que estas estrategias alimenticias deben apuntar a la optimización de la producción del ácido trans vaccénico, inducir cambios en la población microbiana asociada a la biohidrogenación y, eventualmente considerar también la suplementación con CLA y TVA (sintéticos) protegidos contra la acción ruminal.

Existen variadas posibilidades, que pueden ser complementarias, para manipular la alimentación y cambiar los contenidos del ácido graso de interés; que en este caso, en particular, será el ácido linoleico conjugado.

2.3.1. Suplementación con fuentes concentradas de precursores de CLA. Se ha visto que mediante un aumento en la biodisponibilidad de ácido linoleico (C18:2), a nivel ruminal se amplifica la concentración de CLA (cis 9, trans 11) en la leche. Esto queda, por ejemplo, de manifiesto en un estudio realizado por GAGLIOSTRO., et al (2002); en el cual suplementaron vacas en pastoreo, con 0,9 Kg/día de sales cálcicas de ácidos grasos insaturados (C14:0 (1,6%), C16:0 (16%), C16:1 (1,6%), C18:0 (13,5%), C18:1 (32%), C18:2 (30%), C18:3 (0,8%) y C20:0 (0,3%); aumentando hasta en un 58% los niveles basales de CLA en la grasa láctea de estas vacas.

CHOUINARD et al (2001), compararon tres dietas con una testigo. Estas consistieron en sales calcicas de ácidos grasos de aceites vegetales, de canola, soya y lino. Cada una de estas sales calcicas era fuente de ácido oleico (58,5% del total de ac. grasos), linoleico (54,5%) o linolénico (51,4%), respectivamente. Se encontraron concentraciones de CLA (en mg/g de ácidos grasos totales) de 3,5 (control), 13,2 (sal calcica de ácidos grasos de canola), 22,5 (sal calcica de ácidos grasos de soya), 19,5 (sal calcica de ácidos grasos de lino), esto se muestra gráficamente, en la figura 9.

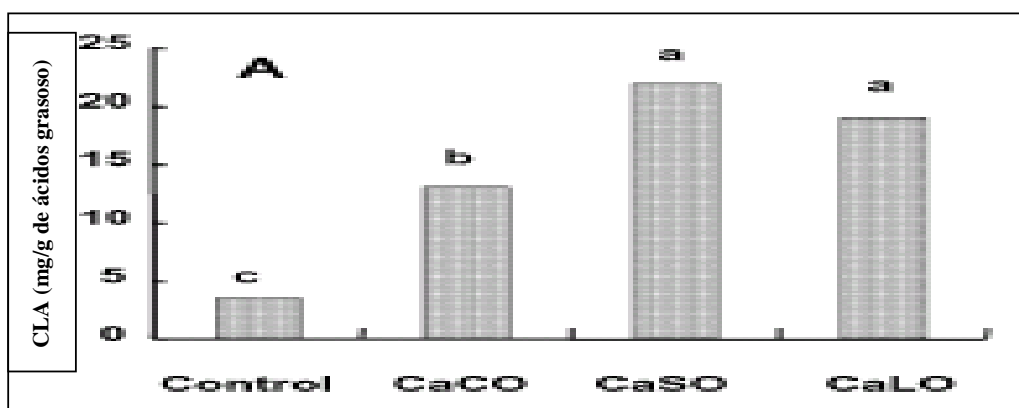


FIGURA 9: Efecto sobre el contenido de CLA en la grasa láctea, de la suplementación de sales calcicas de ácidos grasos de aceite de canola (CaCO), aceite de soya (CaSO) o aceite de lino (CaLO).

FUENTE: CHOUINARD et al, (2001).

El uso de sales calcicas es una alternativa, para evitar utilizar aceites vegetales en forma directa, ya que estos producen efectos inhibitorios al crecimiento normal de las bacterias ruminales, que afectan a la normal fermentación de los alimentos en el rumen (JENKINS, 1993). A la vez, resulta ser un buen medio para aportar ácidos grasos poli-insaturados.

En un trabajo realizado por LOCK y GARNWORTHY (2002) se trató de separar los efectos de altos y bajos niveles de ácidos linoleico y linolénico, sobre la concentración de CLA en la grasa láctea. Se logró poner de manifiesto un efecto sinérgico, al utilizar fuentes (aceites), que presentan altos niveles de ac. linoleico y linolénico. Al incluir altos niveles de ac. linoleico, se incrementa la concentración de cis-9, trans-11 CLA, vía producción directa en el rumen y a través de la síntesis endógena en la glándula mamaria. Mientras que al aportar altos niveles de ácido linolénico, (ver figura 6) solo se proporciona una mayor cantidad de ác. trans-11 C18:1, a la glándula mamaria, donde actúa la enzima delta-9-desaturasa.

HARFOOT et al (1973), afirman que altas concentraciones de ácido linoleico en el rumen, inhiben, de forma irreversible, la biohidrogenación del ácido trans-11 octadecenoico (ac. trans-vaccénico) a ácido esteárico, aumentando así, el flujo ruminal de sustrato para la síntesis endógena de CLA. Asimismo, POLAN et al (1964), experimentando con cultivos ruminales *in vitro*, observaron que el ácido linoleico es un potente inhibidor de la biohidrogenación del ácido oleico (C18:1).

2.3.2 Raciones basadas en forraje. Recordando los mecanismos de síntesis del ácido linoleico conjugado (cis-9, trans-11 CLA), hay que considerar la importancia que tiene el ácido α -linolénico, en la formación del ac. trans vaccénico, principal precursor del CLA, en la glándula mamaria. Según GAGLIOSTRO (2004) el aporte de sustrato (ácido α -linolénico), al rumen, juega un rol permisivo, para producir ac. trans vaccénico, pero no solo esto determina la magnitud de la concentración de C18:1 trans-11. Cabe también la posibilidad de utilizar una suplementación estratégica, de manera que en el ambiente ruminal se disminuya la isomerización del ácido α -linolénico y por otro lado, se inhiba la acción de las bacterias reductasas (del grupo B, ver fig. 4) sobre el ac. trans vaccénico.

Es por esto, el gran interés por encontrar ingredientes de la ración de la vaca lechera, que aporten altas concentraciones de este ac. graso (ac. α -linolénico). Es así, que el forraje verde tiene gran interés como alimento ya que aporta este precursor de CLA. En el cuadro 3, se observa la importancia del contenido de ácido linolénico (18:3; cis-9, cis-12, cis-15) en el perfil de ácidos grasos presentes en una pradera. Asimismo, se observa la tendencia a encontrar mayores contenidos de ac. linoleico (18:2; cis-9, cis-12), en los granos de cereales.

CUADRO 3: Ácidos grasos presentes en forrajes, cereales de grano y sebo (g/100g de ácidos grasos totales).

Ácidos Grasos (%)	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0
Forrajes								
<i>Lolium perenne</i> ²	<0,7	12,9	1,7	3,0	3,2	14,6	65,2	1,9
<i>Trifolium repens</i> ²	1,1	6,5	2,5	0,5	6,6	18,5	60,7	2
<i>Tifolium pratense</i> ²	1,5	14,2	-	3,7	-	5,6	72,3	-
<i>Medicago sativa</i> ²	<0,5	2,7	<0,5	<0,5	<0,5	1,7	95	-
Trebol ¹	0,5	24,1	-	3,5	3,8	22	45,4	-
Pradera	1	16	2	2	3	13	61	
Pradera ¹	0,6	21	-	1,8	2,1	21,1	53,4	-
Cereales de grano								
Maíz	-	16	-	2	30	47	2	-
Trigo ²	<0,5	20	0,7	1,3	17,5	55,8	4,5	-
Cebada ²	-	27,6	0,9	1,5	20,5	43,3	4,3	-
Sebo	3	25	6	18	39	5	1	-
Avena ³	-	22,1	1	1,3	38,1	34,9	2,1	

FUENTE: Adaptado de BAUMAN et al, 2003.¹KHANAL y OLSON, 2004.²SCHROEDER et al, 2004.³ DHIMAN et al, 2005.

Al respecto, BLAS (2004), afirma que el pastoreo de primavera (forrajes fenológicamente inmaduro), coincide con los mayores porcentajes de ac. α -linolénico en el follaje y de ac. linoleico conjugado en la grasa láctea. CHILLIARD et al (2001) demuestran en la figura 10, el efecto del pastoreo sobre la concentración de CLA (cis-9, trans-11), dienos (C18:2 total) y trienos (C18:3). Esto ultimo coincide, con KELLY et al. (1998), que investigaron el efecto dieta (ensilaje de maíz y heno, versus praderas) en dos grupos de 8 vacas Holstein, sobre la concentración de CLA en la leche. El grupo con la dieta en base a heno y ensilaje presentó concentraciones de C18:2(cis-9, trans-11), que fluctuaron entre 0,3 y 0,9 %, en cambio el grupo alimentado con praderas presentó niveles de 0,6 a 1,8 % de CLA, en la grasa láctea.

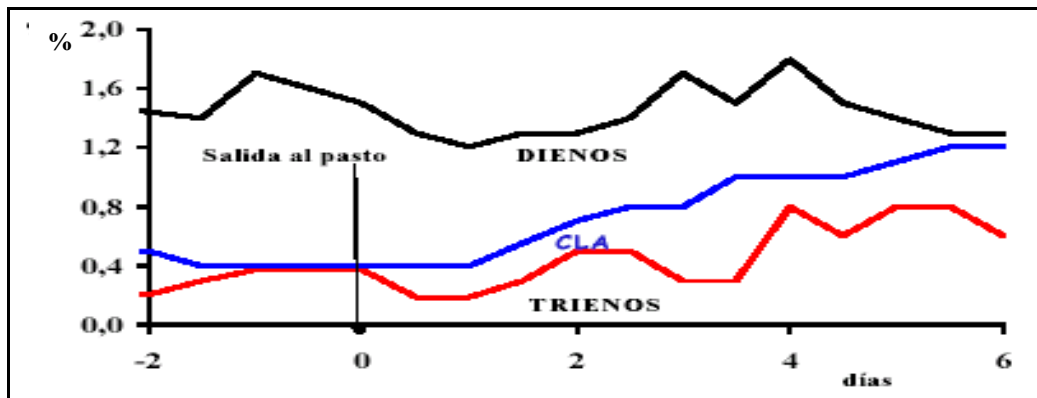


FIGURA 10: Efecto del consumo de forraje verde y tierno (primavera), sobre los contenidos (% del total de ac. grasos) en dienos (principalmente C18:2), dienos conjugados (principalmente CLA) y trienos (principalmente C18:3), presentes en la grasa láctea.

FUENTE: Adaptado de Chilliard et al, (2001).

THORSDDOTTIR et al (2004), estudiaron la variación por país y estacional, en la concentración de cis-9, trans-11 C18:2, de los países nórdicos. Se tomaron muestras de leche para la venta a consumidores en los diferentes países (Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega y Suecia); las muestras fueron tomadas dos veces (Invierno y verano) durante un año. Los resultados se exponen en el cuadro 4. Los autores atribuyen la mayor concentración de CLA, en la leche de Islandia, en comparación, al promedio de todos los países ($0.64\% \pm 0.02$ vs. $0.57\% \pm 0.02$); debido a que en este país, en particular se suele utilizar la harina de pescado en las raciones de las vacas lecheras. Por otro lado, las mayores concentraciones de CLA, en verano comparado con el invierno, se justifican ya que en estos países, los inviernos son largos (animales estabulados sin recibir pradera en la dieta), y la producción de leche, se sostienen con raciones basadas en concentrados, en el verano la pradera (con alta concentración de ácidos grasos Ω 3, principalmente ac. linolénico, uno de los precursores de CLA), es la base en la producción de leche.

CUADRO 4: Efecto de la estación y el país sobre la concentración (g/100g de ácidos grasos) de cis-9, trans-11 C18:2, en la grasa láctea.

	Invierno	Verano	Promedio de las dos estaciones
Dinamarca	0,52	0,74	0,63 ^a
Finlandia	0,41	0,55	0,48 ^{ab}
Islandia	0,51	0,76	0,64 ^b
Noruega	0,51	0,72	0,61
Suecia	0,46	0,64	0,55
Promedio de todos los países	0,48	0,68	0,58

^a= diferencias significativas entre Dinamarca y Finlandia (P=0,024). ^b= diferencias significativas entre Islandia y Finlandia (P=0,003).

FUENTE: THORSDOTTIR et al (2004).

Estudios realizados en Chile por PICÓ (1984) y PINTO et al. (2002), en los cuales se tomaron muestras de leche cruda, durante un año (junio 1998 a mayo 1999), de silos de plantas ubicadas en la VIII, IX y X regiones, han demostrado un mayor nivel de CLA en la leche en el periodo primavera-verano, lo cual coincide con lo señalado por BLAS (2004) y por otros autores (e.g. Chilliard et al 2001). En el estudio de PINTO et al. (2002), se evaluó también el efecto regional, encontrando que en la IX región, se obtenía un contenido promedio anual de CLA de 1,73%, comparado con la X y VIII regiones, las cuales presentaban promedios anuales de 1.41% y 1.64% del total de ácidos grasos, respectivamente. Sin embargo, llama la atención lo elevado de los niveles de CLA encontrados, por estos autores; ya que en investigaciones como las de AVILEZ et al, (2007) y ESCOBAR et al, (2007), realizadas igualmente en la IX y X regiones al evaluar el contenido de la mezcla de CLA cis-9, trans-11 y trans-9, cis-11, encontraron valores entre 0,43 a 0,56%, para la primera investigación y 0,7% en la segunda investigación. Estas diferencias probablemente puedan explicarse en las metodologías aplicadas en el aislamiento y cuantificación de los ácidos grasos presentes en la leche (en especial isomero cis-9; trans-11 C18:2).

2.3.2.1 Concentración de CLA (cis-9, trans-11), en función de la relación forraje:concentrado: En una investigación reciente BARGO et al, (2006),

determinaron una relación inversa entre el nivel de concentrado en la ración y el contenido de CLA en la grasa láctea. En un experimento con cuatro tratamientos se obtuvieron las concentraciones de CLA que se muestran en el cuadro 5. Las ofertas bajas y altas de pradera, correspondieron a 25 y 40 Kg de MS/vaca/ día, respectivamente. El aporte de concentrado a las vacas suplementadas fue de 1Kg/4Kg de leche. El concentrado produjo una disminución en la concentración de ácidos grasos de cadena larga ($\geq 18C$), lo mismo sucedió con el CLA. El contenido de ácidos grasos saturados aumento y por ende, hubo un menor contenido de ácidos grasos insaturados. Esto último fue atribuido a la mayor producción de ácidos grasos volátiles en el rumen. El menor contenido de CLA, se vinculó al menor consumo de pradera, ocasionado por el consumo de concentrado disminuyendo así la ingestión de ac. linolénico, en las vacas.

CUADRO 5: Concentración de CLA y ácidos grasos saturados e insaturados (g/ 100g de ácidos grasos), en la grasa láctea de vacas suplementadas o no, con oferta alta y baja de pradera.

	BAJA OFERTA DE PRADERA		ALTA OFERTA DE PRADERA	
	SIN SUPLEMENTACION DE CONCENTRADO	CON SUPLEMENTACION DE CONCENTRADO	SIN SUPLEMENTACION DE CONCENTRADO	CON SUPLEMENTACION DE CONCENTRADO
(g/100g de ácidos grasos)				
<i>cis-9,trans-11 C18:2 (CLA)</i>	1,35	1,11**	1,36	1,24**
<i>Ac. grasos Saturados</i>	52,97**	58,17**	55,09**	59,07**
<i>Ac. grasos Insaturados</i>	44,73**	40,17**	42,84**	39,69**

En una línea cifras con**=P<0,01

FUENTE: BARGO, et al 2006a.

DHIMAN et al, (1999); midieron la concentración de ac. ruménico presente en la leche de tres grupos de vacas, que recibieron diversos niveles de inclusión de pradera. La suplementación consistió en heno de alfalfa y concentrado. Además, se cuantificaron las concentraciones de ácido linoleico y linolénico, presentes en las tres raciones. Se puede observar, en el cuadro 6, una directa relación entre la inclusión de pradera sobre la concentración de CLA y de ácido linolénico.

CUADRO 6: Concentración de ácido linoleico y linolénico (g/ 100g de ácidos grasos) en la dieta; de CLA y ácido linolénico en la leche de vacas sometidas a tres niveles de inclusión de pradera permanente.

	DIETA		LECHE	
	18:2(%)	18:3(%)	CLA (cis-9, trans-11)(%)	18:3(%)
1/3 Pradera+suplemento	43,9	10,5	0,89	0,81
2/3 Pradera+suplemento	35,5	18,4	1,43	1,46
Solo pastoreo	18,9	51,6	2,21	2,02

FUENTE: DHIMAN et al, 1999.

2.3.3 Suplementación con aceites de origen vegetal. Al considerar el uso de semillas de aceites vegetales, se debe tener en consideración que estas difieren ampliamente en su perfil de ácidos grasos, como se observa en el cuadro 7. Teóricamente son de mayor interés los aceites provenientes de semillas de girasol, soja, algodón, y cartamo; ya que, en general, presentan contenidos más altos de ac. linoleico, y en el caso de la semilla de lino, de ac. α -linolénico.

CUADRO 7: Composición en ácidos grasos (% del total de ácidos) de diferentes aceites vegetales.

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

FUENTE: Stanton et al 2003, citados por GAGLIOSTRO, 2004.

DHIMAN et al (2000), evaluaron el uso de fuentes ricas en ácido linoleico y ácido linolénico sobre la concentración láctea de CLA. Diseñaron dos

experimentos, en el primero se incluyeron cinco dietas, una para cada suplemento. Estos fueron semillas de soya extruída cruda (aportada a un 18% de la ración, BMS), o extruída tostada (18% BMS), o aceite de soya (3,6% BMS) o aceite de lino (incluido al 2,2% o al 4,4% de la dieta, base MS). Se demuestra gráficamente en la figura 11, que el contenido de CLA en la leche aumentó en los tratamientos con soya extruída tostada, con aceite de soya y con aceite de lino, siendo los aumentos promedios de 97%, 438%, 305% y de 318%, respectivamente para cada uno de estos tratamientos.

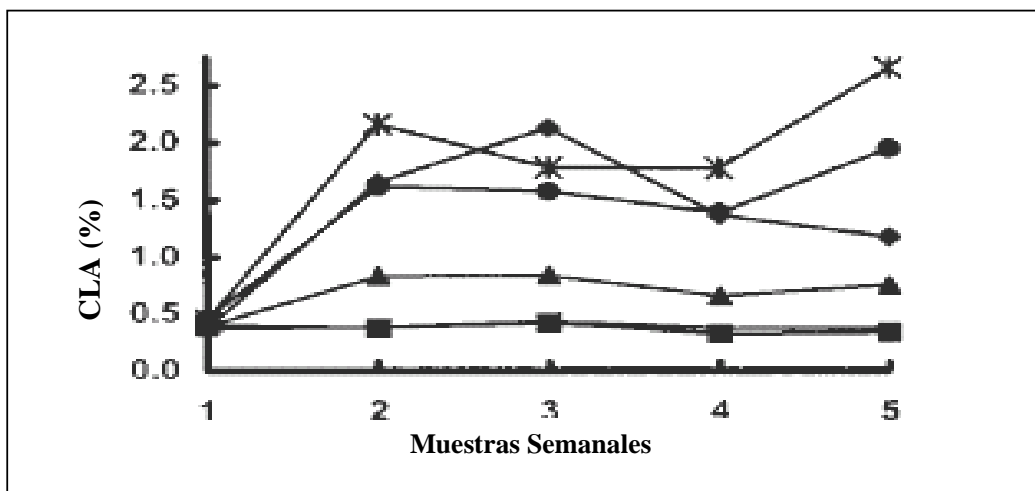


FIGURA 11: Porcentaje de CLA del total de ácidos grasos en la leche de vacas sometidas a dietas conteniendo ya sea soya extruída cruda(■), soya extruída tostada (▲), aceite de soya (*), aceite de lino al 2,2%(◆) y al 4,4%(●), base materia seca; comparado con el grupo control (-).

FUENTE: DIHMAN, et al, 2000.

No se apreciaron efectos en el contenido de CLA en las vacas suplementadas con semillas de soya extruída cruda. Esto se explica, posiblemente porque al someter las semillas a un tratamiento térmico aumentaría la disponibilidad ruminal de aceite presente en la semilla; y por ende, los ácidos grasos presentes en el aceite serían más accesibles para las bacterias ruminales. Por otro lado, los autores afirman que el aceite de soya resulta más eficiente en la producción de CLA, ya que un 3,6% (BMS) de aceite de soya, en la ración produjo una mayor concentración de CLA en la leche, en comparación a 4,4% (BMS) de aceite de lino, como se demuestra en el Cuadro 8.

CUADRO 8: Concentración de CLA (g/100g de ac. grasos) en la leche de vacas alimentadas con dietas con soya extruída cruda (18% RCS), soya extruída tostada (18% ROCS), aceite de soya (3,6% SO), aceite de lino en (2,2% LO) o (4,4% LO), base materia seca; comparado con el grupo control.

	TRATAMIENTOS					
	Control	18% RCS	18%ROCS	3,6% SO	2,2% LO	4,4% LO
CLA (cis-9, trans-11)(%)	0,39	0,37	0,77	2,1	1,58	1,63

FUENTE: DHIMAN, et al, 2000.

Luego de demostrar que el aceite de soya fue más eficiente en elevar el porcentaje de CLA, DHIMAN et al (2000), siguieron estudiando el tema pero ahora incluyendo porcentajes crecientes de este aceite (0,5%, 1,0%, 2,0% y 4,0%, BMS); también incluyeron aceite de lino (1,0% de la dieta, BMS) manteniendo una dieta testigo. CLA aumentó un 237% y 314% (comparado con la dieta control), con 2,0% y 4,0% de aceite de soya, respectivamente. Por otro lado, los tratamientos con aceite de soya (al 0,5 y 1,0%) y 1 % de aceite de lino, no difirieron del control (figura 12). Esto se podría explicar, ya que al ingresar al rumen una mayor cantidad de ácidos grasos poli-insaturados, disminuyen tanto la lipólisis, como la biohidrogenación, al aumentar la cantidad de substrato para la flora microbiana presente en el rumen (JENKINS, 1993). Por lo tanto, se incrementa la biohidrogenación incompleta, generándose un mayor flujo post-ruminal de CLA e incrementándose su absorción intestinal.

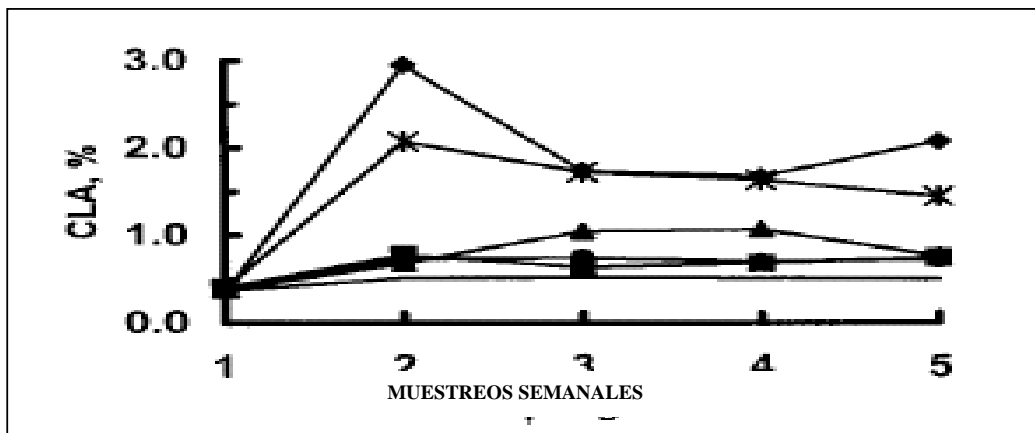


FIGURA 12: Porcentaje de CLA del total de ácidos grasos presentes en la leche de vacas sometidas a dietas conteniendo; ya sea aceite de soya 0,5%(■), 1,0%(▲), 2,0% (*), 4,0%(◆) y aceite de lino 1,0%(●), base materia seca; comparado con el grupo control (-),

FUENTE: DIHMAN et al, 2000.

2.3.4. Suplementación con fuentes de lípidos de origen marino. Raciones que incluyan aceites de pescado o de algas marinas (FRANKLIN et al, 1999) han producido interesantes resultados, con respecto, a la concentración de CLA en la leche. Ensayos como los de DONOVAN et al (2000), CHOUINARD et al (2001) y SHINGFIELD et al (2003) han demostrado, que el aceite de pescado es una buena alternativa para lograr incrementar el CLA. Así, estos autores han determinado las consecuencias, tanto generales (consumo de materia seca, producción de leche) como específicas (composición de la leche) que se pueden esperar al suplementar las dietas con distintas dosis de aceite de pescado. En general, se ha observado una disminución lineal del consumo de materia seca, al aumentar el porcentaje de estos aceites en la ración; algo similar sucede con el porcentaje de grasa en la leche. Sin embargo, el porcentaje de proteína, tiende a mantenerse, pero la producción de proteína láctea disminuye a medida que aumenta el porcentaje de aceite en la ración; esto último se ha atribuido a la disminución en la producción de leche, en las mismas circunstancias. Vinculado con esto, CHILLIARD y FERLAY (2004), exponen que existe un aumento en la producción (+0,2 Kg/d) y una disminución en el contenido de proteína, grasa y producción de grasa (-1,2 g/Kg, -9,1 g/Kg y -208 g/d; respectivamente) al suplementar con aceites marinos raciones de vacas lecheras.

En un estudio realizado por DONOVAN et al (2000), se trató de establecer un óptimo para obtener altos niveles (2,23 g/100g de ácidos grasos) de cis-9, trans-11 CLA, incorporando un 2% (base MS) de aceite de pescado en la ración, (470 g/d). Por su parte, CHOUINARD et al (2001), utilizaron 200 ml/d; obteniendo aumentos de la concentración de CLA en la grasa láctea, del orden del 300%, sin un efecto positivo al aumentar el aporte diario de aceite de pescado a 400 ml, lo cual se muestra gráficamente en la figura 13.

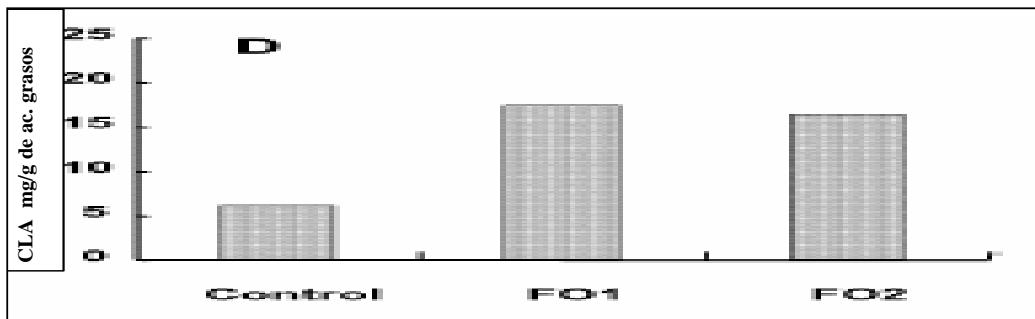


FIGURA 13: Efecto en el contenido de CLA al suplementar con aceite de pescado. FO1 (200ml/d) y FO2 (400ml/d).

FUENTE: CHOUINARD, P. et al (2001).

DE LA FUENTE Y JUÁREZ, (2004), proponen que el efecto positivo del aceite de pescado, sobre la concentración de CLA, se basa en su gran contenido de ácidos grasos poli-insaturados, de 20-22 carbonos; los cuales, a pesar de no aportar precursores de CLA y TVA en el rumen, por biohidrogenación directa, sí afectarían a la flora ruminal (JENKINS, 1993), inhibiendo el crecimiento de bacterias e indirectamente de sus enzimas hidrogenasas, interrumpiendo la biohidrogenación completa de ácidos grasos, como el ácido linoleico y el trans-vaccénico. De esta forma, aumentaría la concentración post ruminal de estos dos principales precursores de CLA, en la glándula mamaria de la vaca.

En diversas investigaciones, tales como la de ABUGHAZALEH et al, (2003) (que aportaron BMS, 1 % de ac. pescado y 4,34% de semillas de girasol) y SHINGFIELD et al, (2006) (1.5% de ac. pescado y 3% de ac. de girasol), se ha evaluado el efecto del uso de ac. de pescado junto con una fuente rica en ácido linoleico, llegándose a obtener, concentraciones de 1,7% y hasta 3,47% de CLA en la grasa láctea, respectivamente. Así, existen evidencias de que el uso de pequeñas dosis de aceites de pescado en la ración de la vaca, provoca un

aumento de los niveles basales de CLA, en la leche. La razón, se atribuye fundamentalmente a cambios que se producen en el ambiente ruminal, que provoca principalmente una disminución en la acción de las saturasas, derivadas del grupo de bacterias del grupo B, que actúan normalmente sobre el ac. trans vaccénico, aumentando así el flujo duodenal de este ácido, lo cual se muestra en forma esquemática en la figura 2. Por esta vía se estimularía la síntesis endógena de CLA. ABUGHAZALEH y JENKINS (2004), en un estudio realizado *in vitro* con cultivos de bacterias ruminales, identificaron al ácido docosahexaenoico (DHA), como el componente del aceite de pescado posiblemente responsable de lo descrito. El efecto inhibitorio (de la biohidrogenación del ácido vaccénico) sería amplificado si el aceite de pescado es complementado con una fuente de ácido linoleico, como el aceite de soya, que aporta un precursor adicional de TVA.

Congruente, con lo anterior, GULATI et al, (1999); determinaron que un incremento en la proporción de aceite de pescado, cambia los productos finales de la biohidrogenación ruminal. Sin la inclusión de aceite de pescado la producción de ácido esteárico fue predominante; en cambio, al incluir aceite de pescado, se incrementó la concentración de trans-11 C18:1 (TVA). Esto se visualiza en la figura 14, en un ensayo en donde se utilizaron distintas proporciones de aceite de pescado v/s aceite de algodón, incubadas *in vitro*, en fluido ruminal de ovejas.

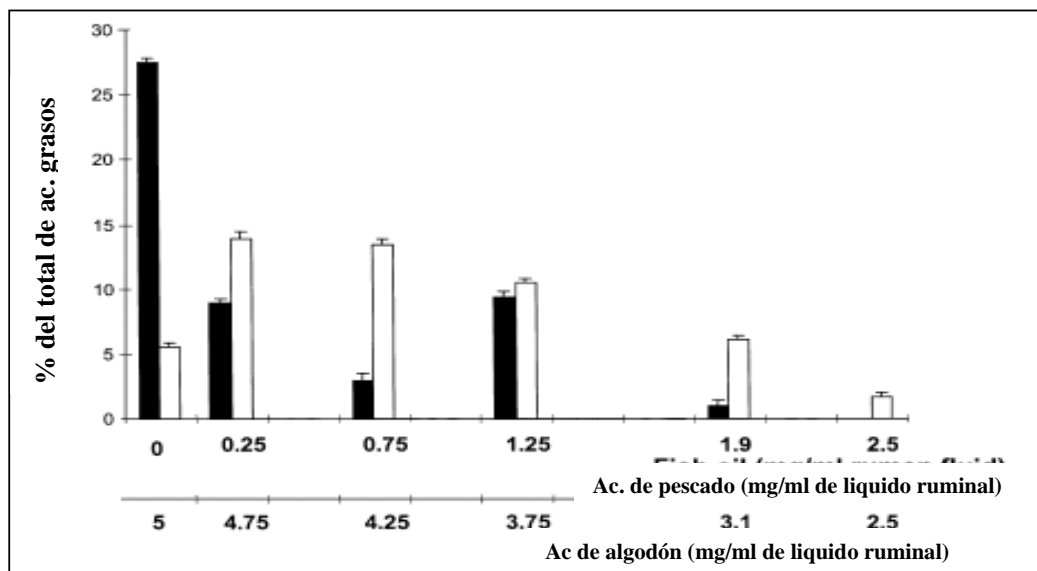


FIGURA 14: Concentración de trans-11 C18:1 (TVA) (barra blanca) y C18:0 (acido esteárico) (barra negra), en el fluido ruminal de oveja, en respuesta a una dosis de 5mg de aceite (con distintas proporciones de aceite de pescado y de aceite de algodón).

FUENTE: GULATI et al, (1999).

Los aceites de recursos de origen marino, producen en la leche un aumento en la proporción de ácidos grasos $\Omega 3$, debido principalmente, los ácidos eicoenoico y docosahexaenoico. (DONOVAN et al, 2000; WHITLOCK et al, 2002). Esto, representa un aspecto benéfico para la salud humana; ya que de esta forma se disminuye la fracción hipercolesterolemica de la grasa láctea. (ABUGHAZALEH et al, 2002).

En un estudio realizado por ABUGHAZALEH et al (2004); se determinó el efecto de una dieta formulada para incrementar el CLA, en la leche por un periodo extenso (10 semanas). La dieta evaluada (FMSB) contenía, 5,5% de harina de pescado (0,5% de aceite), 10,64% de soya extruída y 3% de cascarillas de soya (2% de aceite de soya) todo esto expresado BMS. En la figura 15, se visualiza la tendencia en la concentración de cis-9, trans-11 CLA, durante el estudio. En las diez semanas experimentales la concentración de CLA en la grasa láctea de las vacas alimentadas con la dieta FMSB, fue 250% más alta, comparada con la dieta control (1,16 v/s 0,33 g/100g de ácidos grasos). En la tercera semana

experimental, se alcanzó la mayor concentración de CLA (1,48 %), que fue un 350% más alta comparada con la dieta testigo. Luego se evidenció una paulatina disminución, estabilizándose en la quinta semana, con una concentración de CLA 230% mayor en relación a la dieta control. Los autores sugieren que, a través del tiempo, en el ambiente ruminal, ya sea por parte de la población microbiana y/o de enzimas microbianas; hay una adaptación a la ración, provocando un mayor flujo de C18:1 (trans-10); afectando de esta forma, la síntesis endógena de CLA.

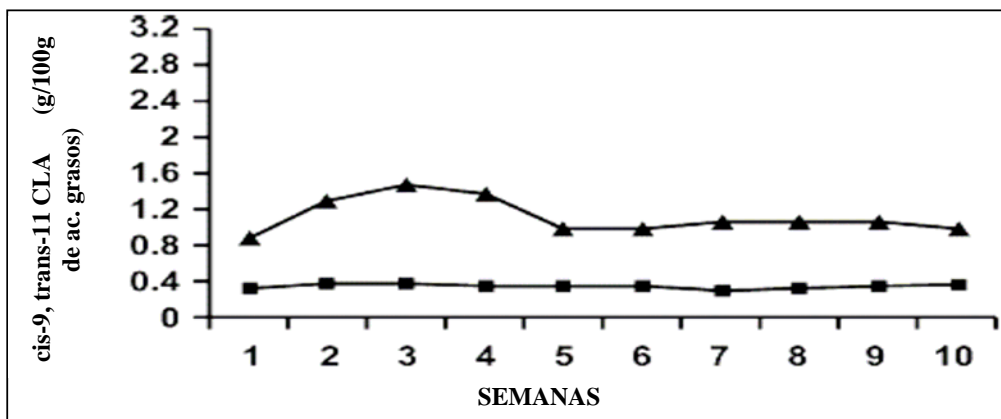


FIGURA 15: Cambios en la concentración de cis-9, trans-11 CLA, en la leche de vacas alimentadas con una dieta control (■) y otra con harina de pescado y soja extruída (▲), durante el periodo experimental.

FUENTE: ABUGHAZALEH et al, 2004.

Al suplementar con aceite de pescado y alguna semilla oleaginosa o aceite vegetal, hay un claro incremento de la proporción de ácidos grasos insaturados, disminuyendo a la vez, los ácidos grasos saturados en la grasa láctea (ver cuadro 9). Además, en este cuadro, se aprecia que el aceite de pescado eleva los niveles basales de CLA, en relación a los respectivos tratamientos testigos. Sin embargo, CHILLIARD y FERLAY (2004) afirman que la suplementación con aceites de origen marino, podría inhibir la relación ácido ruménico (CLA)/ ácido trans-vaccénico. Ya que, si bien estos aceites, aumentan el flujo duodenal de TVA; podrían a la vez, “sobreejigir” a la enzima delta-9 desaturasa, en la glándula mamaria. Esto último concuerda, con lo observado por DONOVAN et al (2000), que determinaron que por sobre un 2% de inclusión de ac. de pescado en la ración, se observa un incremento del TVA, pero sin embargo, no sucede lo mismo con el CLA. En el cuadro 9, se presentan datos recopilados en bibliografía que muestran el efecto de

la suplementación de aceite de pescado sobre los ácidos grasos presentes en la grasa láctea.

CUADRO 9: Efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre la concentración de ac. trans-vaccénico (TVA), ácido linoleico conjugado (CLA) y ácidos grasos saturados e insaturados, en grasa láctea.

AUTOR	TRATAMIENTOS	TVA	CLA (cis-9, trans-11 C18:2)	Ac. grasos saturados	Ac. grasos insaturados
		(g/100g de ácidos grasos)			
<i>AbuGhazaleh et al(2002)</i>	control	1,02	0,4	69,53	24,62
	Aceite de pescado (menhadem) 2%BMS	2,34	0,88	63,06	27,4
	Soya extruida 10,6%BMS	2,41	0,87	61,59	31,64
	Ac. Pescado (1%BMS)+Soya extruida (5,3%BMS)	2,06	0,8	62,11	30,17
<i>Whitlock et al (2002)</i>	control	1	0,6	65,73	27,71
	Aceite de pescado (menhadem) 2%BMS	4,16	2,03	57,45	32,41
	Soya extruida 10,32%BMS	2,17	1,16	57,61	35,14
	Ac. Pescado (1%BMS)+Soya extruida (5,3%BMS)	3,51	1,82	55,89	35,51
<i>Shingfield et al (2003)</i>	control	1,89	0,39	71	28,52
	Aceite de pescado (250 g/día)	9,4	1,66	67,5	31,2
<i>Baer et al (2001)</i>	control	1,42	0,66	69,53	30,47
	Aceite de pescado 2%BMS	6,28	2,43	57,87	41,71
<i>Shingfield et al (2006)</i>	control	0,69	0,5	73,55	26,32
	Ac. pescado(1,5%BMS)+Ac. girasol (3,0%BMS)	6,88	3,47	54,88	45,16
<i>Donovan et al (2000)</i>	control	1,21	0,6	61,07	27,56
	Ac. pescado (1%BMS)	3,07	1,58	54,92	30,77
	Ac. pescado (2%BMS)	6,08	2,23	49,01	35,79
	Ac. pescado (3%BMS)	4,69	1,9	48,2	36,98

FUENTE: Elaboración propia.

Resultan interesantes, investigaciones como la realizadas por RAMASWAMY et al (2001) y BAER et al (2001), en las cuales se evaluaron el sabor y la susceptibilidad al enranciamiento de mantequillas, fabricadas con leche provenientes de vacas alimentadas, con aceite de pescado, no existiendo diferencias significativas en la evaluación sensorial realizada.

2.3.4.1 Aceite de Salmón: En el año 2005, se produjeron en Chile 168.866 ton. de aceite de pescado (SERNAPESCA, 2005). En el cuadro 10, se presentan los diferentes tipos de aceites de pescado, obtenidos en Chile. El 52,53% del aceite corresponde, al proveniente de desechos de pescado. En esta fracción es donde se incluye el aceite de salmón.

CUADRO 10: Producción (año 2005) de aceite de pescado, por tipo.

TIPO	TONELADAS	%
AGUJILLA	12	0,01
ANCHOVETA	23547	13,94
BACALADILLO O MOTE	261	0,15
CABALLA	1739	1,03
CABINZA	24	0,01
DESECHO DE PESCADO	88702	52,53
JUREL	11568	6,85
MACHUELO O TRITRE	108	0,06
PAMPANITO	10	0,01
PEJERREY DE MAR	1	0,00
PELAGICOS PEQUEÑOS SURTIDOS	40540	24,01
SARDINA COMUN	2292	1,36
SARDINA ESPAÑOLA	62	0,04
TOTAL	168.866	

FUENTE: Elaboración propia, en base a datos de SERNAPESCA, 2005.

La producción bruta de salmón, en Chile, finalizado el año 2005; fue de 619.635 Ton, resultando ser el segundo mayor productor, a nivel mundial, después de Noruega (SALMONCHILE, 2005). De la producción bruta, aproximadamente el 45% se va como desecho (278.835 Ton); de los cuales se considera que el 30% proviene de industria procesadora y el 15% de la mortalidad existente en el ciclo productivo (principalmente en la etapa de engorda del salmón). La totalidad de los desechos de la industria del salmón se destinan a la producción de harina y aceite, existiendo un rendimiento para el aceite de un 18% y para la harina de un 16%. Estimándose, una producción anual (año 2005) de aceite y harina de salmón, de 50.190 Ton y 44.613 Ton, respectivamente¹.

1

En cuanto al aceite de salmón el 70% de la producción, se destina a exportación para la formulación de alimentos para mascotas. El porcentaje restante queda en Chile para usos industriales (cosmética)¹. Estadísticas proporcionadas por ChileSur FishOil y el Servicio Nacional de Aduanas, demuestran la tendencia al alza del precio de aceite de salmón y del aceite de pescado en general; actualmente que se tranzas a US\$739/Ton. (AQUA, 2006).

PROCESO DE EXTRACCION: La línea de producción de harina y aceite de salmón, se observa en la figura 16.

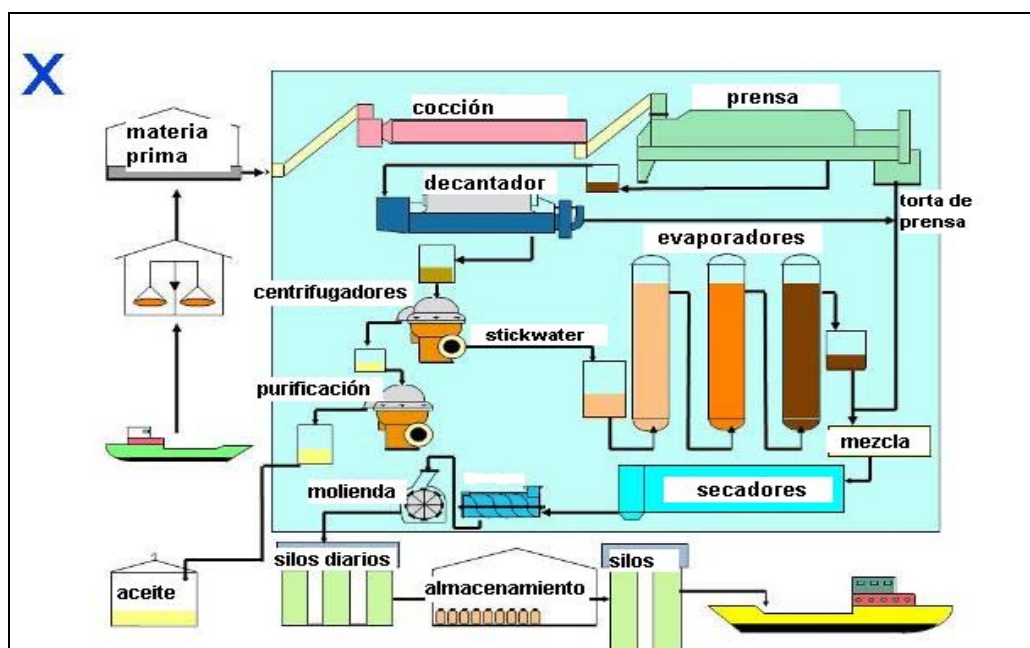


FIGURA 16: Línea de producción de harina y aceite de pescado.

FUENTE: IFFO, 2006

En base a una revisión realizada en IFFO,2006 y FAO, 1986, el proceso de producción de aceite y harina de salmón (de pescado, en general) consta en primera instancia del pesaje y análisis de la materia prima, que en este caso incluye a los desechos de la industria del salmón. Los análisis persiguen determinar la calidad y el grado de deterioro de la materia prima. Esto ultimo está dado principalmente por la autólisis, debido a la acción de lipasas y enzimas gástricas (de los peces) sobre los tejidos; también hay un rol deletéreo de la oxidación o

¹ = Patricio Lazo R. Jefe de Operaciones, Pesquera Pacific Star. Comunicación Personal.(12/10/2006).

rancidez de los lípidos bajo condiciones aeróbicas y por último hay un deterioro por acción microbiana. Bajo las condiciones en que se almacenan los desechos, disponen un medio complejo en el que pueden crecer. La actividad microbiana puede resultar en numerosos compuestos químicos, productos de la degradación, fundamentalmente de la proteína. Las plantas procesadoras de harina y aceite, persiguen eliminar al máximo el daño microbiano, a la materia prima.

Luego, la materia prima es sometida a una etapa de cocimiento. Según FAO, 1986 y COLIN y ALISTER (1993); esta cocción es a una temperatura de 85-90 °C, por un lapso de 15 a 20 minutos. Con ello se coagula la proteína y se comienza a liberar de a poco el aceite; paralelamente, con esto se eliminan los microorganismos. Todo el pescado o materia prima cocida, es prensado (IFFO, 2006). Esto último, tiene por objeto, según COLIN y ALISTER (1993), extraer la mayor cantidad de líquido posible; de manera, de mejorar la producción de aceite y a la vez reducir la humedad de la torta de prensa (fase sólida separada en esta etapa), con ello se ahorra combustible y se incrementa la capacidad de trabajo de los secadores. El líquido extraído, es dirigido a los decantadores, en donde los sólidos aislados son dirigidos a la torta de prensa, en los secadores.

Transcurrida la etapa de decantación, el líquido es llevado a centrifugación; así se aísla el aceite de la fase acuosa ("stickwater"). Todo el stickwater, extraído en forma constante es llevado a los evaporadores. Esta fase acuosa, que llega a los evaporadores, además de agua, contiene proteína soluble, proteína insoluble (suspendida), vitaminas, aceite residual (cantidad depende de la eficiencia del proceso de extracción) y aminos/amoniaco, conformando entre 6-9% de materia seca. En los evaporadores este material se concentra, para luego ser incluido en la torta de prensa, ubicada en los secadores. El 65% de la materia prima que ingresa a la planta, corresponde a la fase acuosa o stickwater. (FAO, 1986).

El aceite que se obtiene de la etapa de centrifugado y de la decantación es conducido a purificadores, en los cuales se va refinando, para luego ser almacenado (IFFO, 2006). COLIN y ALISTER (1993) señalan que la purificación se realiza con agua caliente (100ml/l a 90-95°C), que extrae las impurezas y paralelamente le asegura al aceite, una mayor estabilidad durante el almacenamiento.

La torta de prensa, por su parte, debe ser sometida a una temperatura de secado no superior a los 90°C, de manera de no afectar la calidad de la proteína, principalmente. Para un secado óptimo, la torta de prensa debe ser dividida en partículas más pequeñas, con lo cual se facilita la evaporación del agua. Esto se logra en la etapa de molienda, la cual paralelamente persigue estandarizar el tamaño de las partículas, las que pueden ir de 10 hasta 100 mesh. (FAO, 1986).

Es en la etapa de molienda, en la que se aplican antioxidantes, los cuales estabilizan y le aseguran una mayor durabilidad a la harina. Se ha evidenciado que la efectividad de los antioxidantes, no es alterada si son aplicados antes o después del secado; sin embargo, debido a las pequeñas dosis utilizadas (200-700 ppm), resulta más práctica su dispersión, en esta etapa. Los antioxidantes más utilizados son etoxiquina (artificial) y naturox (natural), el cual se compone principalmente de tocoferoles.

PERFIL DE ACIDOS GRASOS: Los aceites de pescado destacan por su elevada proporción de ácidos grasos, de cadena larga (> 20C); siendo los más característicos los ácidos eicosaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA).(ABUGHAZALEH et al, 2002). En el cuadro 11 se muestra información de los aceites de pescado, más utilizados en alimentación de rumiantes para maximizar el contenido de CLA en la leche, el aceite de salmón resultaría igual de efectivo que los otros (arenque, caballa y menhaden), principalmente por la similitud existente en el contenido de DHA (ABUGHAZALEH y JENKINS, 2004). Asimismo el aceite de salmón contiene similares concentraciones de EPA y DHA (COLIN y ALISTER, 1993).

CUADRO 11: Principales ácidos grasos presentes en aceites de pescado.

TIPO DE ACEITE	ACIDOS GRASOS (g/100 g de ácidos grasos)			
	C18:2 n-6	C20:5 n-3 (EPA)	C22:5 n-3	C22:6 n-3 (DHA)
Salmón*		8,9-9,5		8,9-13,8
Arenque y Caballa ¹	1,13	15,9	1,69	11,3
Arenque y Caballa ²	1,4	17,8	2	13,1
Menhaden ³	1,31	10,9		11,9
Menhaden ⁴	1,14	11,64	2,12	8,77
Menhaden ⁵	1,51	10,8	2	11,1

*= Pesquera Pacific Star, Chile.

¹= SHINGFIELD et al, 2006. (Napro Pharma, AS, Braatvaag, Noruega).

²= SHINGFIELD et al, 2005. (Napro Pharma, AS, Braatvaag, Noruega).

³= ABUGHAZALEH et al, 2003. (Omega Protein Co., Reedville, VA, EEUU).

⁴= ABUGHAZALEH et al, 2002. (Omega Protein Co., Reedville, VA, EEUU).

⁵=DONOVAN et al, 2000. (Omega Protein Co., Reedville, VA, EEUU).

FUENTE: Elaboración propia.

3. MATERIAL Y METODOS.-

3.1 Localización y Duración experimental.

El estudio se realizó en la Estación experimental “Vista Alegre”, dependiente de la Universidad austral de Chile; ubicada 6 Km al norte de la ciudad de Valdivia (Décima región, Chile).

La etapa experimental, se llevó a cabo en los meses de noviembre y mediados de diciembre del año 2005, periodo en el cual se efectuaron los muestreos y la extracción de grasa de la leche.

Esta investigación constó de dos experimentos. En el primero de ellos, se evaluó el efecto del nivel de concentrado en el contenido de CLA, en la leche de vacas en pastoreo; esta fase tuvo una duración de tres semanas. El segundo, persiguió medir el efecto de suplementar a vacas en pastoreo con aceite de salmón; esta fase comprendió un periodo de tres semanas.

3.2 Material Experimental:

3.2.1 Animales. Para el ensayo se utilizaron, vacas pertenecientes al predio experimental Vista Alegre, de la Universidad Austral de Chile. Estas eran utilizadas en un estudio correspondiente al Proyecto FONDECYT N° 1030331, bajo la responsabilidad del Dr. Rubén Pulido. En la primera fase, se trabajó con 28 vacas Holstein Friesan; utilizándose en el segundo experimento, solo 14 de ellas. Las vacas tenían 4,1 partos en promedio, con un peso promedio de 533 Kg. aproximadamente. Al inicio del primer experimento tenían 89 días en lactancia. La información detallada de las vacas, al momento de comenzar el ensayo se presenta en el ANEXO 1.

3.2.2 Alimentos. En el primer experimento, se evaluaron cuatro dietas (una por tratamiento), las cuales consistieron de una dieta base de pradera pastoreada y niveles crecientes de concentrado (cuadro 12). El concentrado, consistió en una formulación simple, a base de cebada (94%), afrecho de raps (4%) y melaza (2%); la composición nutricional se detalla en el ANEXO 2.

CUADRO 12: Primer experimento. Tratamientos (dietas) estudiados.

TRATAMIENTOS	DIETA
1	Pastoreo
2	Pastoreo + 3 Kg de concentrado.
3	Pastoreo + 6 Kg de concentrado.
4	Pastoreo + 9 Kg de concentrado.

En el segundo experimento, se usaron dos dietas o tratamiento (7 vacas por dieta), las cuales se visualizan en el Cuadro 13. La primera dieta consistió en pradera pastoreada, suplementada con 160 g. de aceite de salmón/vaca/día. Este último se aportó mezclado con 300 g. de afrechillo (proveniente de Molinos Collico) y 300g. de germen de trigo (de igual origen), de manera de mejorar la aceptación de las vacas por el aceite. El aceite de salmón, provino de la pesquera Pacific Star. Sus características se detallan en el ANEXO 3. La segunda dieta consistió en pastoreo más 6 Kg de concentrado/vaca/día. El concentrado comercial utilizado esta vez fue Glovigor, cuya composición nutricional, se presenta en el ANEXO 4 en el que se incluye también la composición del afrechillo y del germen de trigo.

CUADRO 13: Segundo Experimento: Tratamientos (dietas) estudiados.

TRATAMIENTOS	DIETA
1	Pastoreo + aceite de salmón*.
2	Pastoreo + 6 Kg de concentrado.

*=160g de aceite de salmón aportado en mezcla con 300g de germen de trigo y 300g de afrechillo (vaca/día).

En la práctica, el concentrado utilizado en cada experimento fue repartido uniformemente, en cada una de las dos ordeñas diarias de la lechería.

3.3 Muestreo de la leche

En ambos experimentos las muestras de leche se obtuvieron de modo de obtener una muestra proporcional a la producción AM y PM en las ordeñas de la tarde anterior y de la mañana siguiente, obteniéndose una muestra total de aprox. 400-500 ml. Una vez efectuado el muestreo de la mañana, inmediatamente las muestras fueron llevadas al laboratorio de química del Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, en donde se efectuó la extracción de la grasa.

3.3.1 Producción y Composición láctea: Una vez por semana, se midieron las producciones lácteas individualmente de las vacas. En esta ocasión se tomó una muestra de leche la que fue enviada al Laboratorio de Calidad de Leche de Cooprinsem (Osorno). Los análisis efectuados a estas muestras fueron: Materia Grasa (%), Proteína (%), Urea (mg/lit) y recuento de células somáticas (x 1000).

3.4 Procedimiento de la extracción de la grasa de la leche:

La extracción se efectuó a través del método de Frank, et al (1975), el cual consiste en mezclar, partes iguales de leche con solución detergente. La solución detergente, consiste en una mezcla de 30 g. de polifosfato de sodio y 70 g. de triton x-100, luego esta mezcla se disuelve en agua destilada y se afora en un matraz de 1 L.

De cada una de las muestras, se mezcló 125 ml de leche, con 125 ml de solución detergente, en matraces de 250 ml. Seguidamente, estos se llevaron a baño María, agitando de vez en cuando cada matraz, de manera de ayudar la separación de la grasa. Una vez que la grasa se encontraba bien definida en el matraz; se procedió a su extracción, mediante una pipeta (Pasteur). Luego, se procedió al filtrado de la grasa, en presencia de sulfato de sodio anhidro, dentro de un horno a una temperatura de 50°C. La grasa filtrada fue depositada en envases de vidrio, de 5 ml aprox. y congelada a -5 °C.

3.5 Trans- esterificación de los ácidos grasos:

Cabe destacar, que en el primer experimento se planteó el someter solo a este análisis aquellas muestras correspondientes a los tratamientos 1 y 4. En el caso de que se manifestasen diferencias significativas (entre tratamientos), en la concentración de CLA, se realizarían los análisis de cromatografía para los grupos intermedios (2 y 3).

Para el análisis de la grasa por cromatografía gas-liquido fue necesario primeramente proceder a una trans-esterificación de las muestras que estaban congeladas; estas fueron calentadas en agua a 50°C de temperatura, de manera que quedaran líquidas, ya que de esta forma se facilita, la extracción mediante pipeta Pasteur de 10 mg de grasa, cantidad necesaria para el proceso de esterificación. Esto se repitió para cada una de las muestras de grasa láctea.

La trans-esterificación se realizó de acuerdo al método descrito por PALMA et al, (2002). Una vez que se tuvo 10 mg de grasa en el reactor, se procedió a adicionarles los reactivos, catalizadores de la esterificación. A cada muestra de grasa, se le agregó 1 ml de Cloruro Acetilo-Metanol 5/100 (v/v). Cada reactor fue tapado cuidadosamente y pesado, luego se llevaron a baño maría (90°C) por un lapso de 1 hora. Bajo estas condiciones, dentro del reactor se manifiesta la metanolisis o ruptura de los enlaces ester, presentes en los triglicéridos, que contiene la grasa láctea.

Retiradas del baño maría, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Más tarde, fueron pesadas nuevamente, para verificar si se presentaron pérdidas o no, por volatilización de materiales. De presentarse pérdidas, en alguna de las muestras, se debió repetir el proceso. Si no se manifestaron, se les adicionó 1 ml de hexano y 1 ml de agua.

3.6 Cromatografía gas-liquido:

Tras obtener los ácidos grasos metil-esterificados (FAME), fueron analizados por cromatografía de gases con un detector de flama incandescente (FID) y una columna capilar de 50 m. de largo con diámetro interno de 0,25 mm. El cromatógrafo utilizado fue un Perkin-Elmer Autosystem 9000, el cual está acoplado con un PE-NELSON-1022. La identificación y cuantificación de los ácidos grasos, presentes en las muestras de leche, se realizaron por comparación directa con un estándar certificado (SUPELCO). Este trabajo se realizó en el laboratorio de química del profesor Hernán Palma; en el Instituto de Química de la Universidad Austral de Chile.

3.7 Diseño experimental:

Ambos experimentos consistieron en un diseño en bloques completos al azar generalizados o diseño en bloques completos al azar con arreglo factorial de los tratamientos. Cada experimento consto de tres bloques (semanas); con cuatro tratamientos en el ensayo 1 y dos tratamientos en el ensayo 2. En cada tratamiento, de cada experimento, se incluyeron siete vacas. Un cuadro explicativo se muestra en el anexo 5; donde además, se detallan las fechas de cada muestreo de la leche.

3.8 Análisis Estadístico:

Se realizó un análisis de varianza, de manera de determinar si se manifestaron diferencias significativas en las variables analizadas, entre los tratamientos. Para ello se trabajó con los programas Microsoft Excel y Statgraphic Plus 5.1.

4. RESULTADOS

4.1. EXPERIMENTO I:

Este experimento se realizó junto al Proyecto FONDECYT N° 1030331. En dicho proyecto se determinaron los datos presentados en el cuadro 14.

CUADRO 14.- Consumo de alimentos en vacas en pastoreo primaveral sin suplementación (I) y suplementadas con 3 Kg (II), 6 Kg (III) o 9 Kg de concentrado/vaca/día (IV).

	I	II	III	IV	P
Cantidad de concentrado ofrecida (Kg/vaca/día)	0	3	6	9	-
Consumo de pradera (kg MS/vaca/día)	17,6 a	15,2 b	11,4 c	7,7 d	0,001
Consumo de concentrado (kg MS/vaca/día)	0	2,6	5,3	7,9	-
Consumo total (kg MS/vaca/día)	17,6 ab	17,8 a	16,6 ab	15,6 b	0,03
Relacion Forraje(%) / Concentrado(%)	100	82,9 / 17,1	68,1 / 31,9	49,4 / 50,6	-
Tasa de Sustitucion (Kg MS prad/Kg MS conc)	-	0,92	1,17	1,25	-
Consumo MS total respecto al peso vivo (%)	3,31 a	3,17 ab	3,08 ab	2,87 b	0,01
Consumo de FDN (Kg FDN/vaca/día)	9 a	8,3 ab	7 c	5,7 d	0,001
Consumo de FDN en racion (%)	51,1a	47,2 ab	42,8 c	37,2 d	0,001

Valores con letras distintas, presentan diferencias significativas al 5% (TUCKEY).
FUENTE: RIQUELME, C. (2007).

Principalmente resulta interesante observar el consumo de pradera, que disminuyó al aumentar el aporte de concentrado; observándose una relación inversa con la suplementación, ocasionando además que la relación forraje / concentrado efectiva de la dieta, disminuya con el aumento de la suplementación. La disminución en el consumo de pradera entre grupos, manifestó diferencias altamente significativas ($P < 0,001$). El consumo total, fue similar en los tratamientos II (3 Kg. de concentrado) y I (sin concentrado); siendo levemente superior al de los tratamientos III y IV; sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre estos. La tasa de sustitución, tendió a aumentar con la mayor suplementación.

4.1.1. Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína en los distintos tratamientos. En el cuadro 15, se puede observar los resultados promedios obtenidos para las características productivas, evaluadas en esta investigación. Se puede apreciar, que se manifestaron diferencias, en la producción

promedio de leche, en los distintos tratamientos. Al analizar la producción promedio durante las 3 semanas del experimento se observa que la producción diaria fue significativamente mayor en el tratamiento II (3 Kg. de concentrado), seguido por el tratamiento con 6 Kg. y 9 Kg. de concentrado; siendo el grupo sin suplementación el que menor producción de leche manifestó en el periodo experimental. La concentración de materia grasa muestra una tendencia similar. Siendo el contenido mayor para el grupo de vacas, mantenidas solo en pastoreo. Los grupos suplementados no manifestaron diferencias significativas; aunque hubo una tendencia a la disminución de la materia grasa con mayor suplementación. En cuanto a la concentración de proteína, en la leche no se detectaron diferencias significativas.

CUADRO 15: Producción de leche, concentración de Materia grasa y Proteína en los distintos tratamientos del Experimento I.

	semanas	TRATAMIENTOS				P		
		I	II	III	IV	tratamiento	semana	tratamiento x semana
PROD. LECHE (KG/vaca/día)	1	25,7	30,1	29,9	27,7	0,0061	0,6497	0,9946
	2	27,3	30,2	29,9	27,6			
	3	25,8	29,6	29,4	27,4			
	x	26,28 b	29,9 a	29,47 ab	27,59 b			
MAT. GRASA (%)	1	4,2	3,4	3,5	3,2	0	0,6306	0,6931
	2	3,9	3,4	3,3	3			
	3	3,9	3,5	3,5	3,2			
	x	3,99 a	3,45 b	3,39 b	3,17 b			
PROTEINA (%)	1	3,3	3,3	3,3	3,4	0,1843	0,2328	0,9145
	2	3,29	3,19	3,19	3,36			
	3	3,34	3,26	3,33	3,36			
	x	3,31	3,26	3,28	3,38			

Valores con letras distintas, presentan diferencias significativas al 5% (TUCKEY).

4.1.2. Perfil de ácidos grasos en la grasa láctea: En el cuadro 16, se presenta el contenido promedio, entre tratamientos y semanal de los ácidos grasos más representativos, de la grasa láctea en los respectivos tratamientos.

Como se estableció en un principio, solo en el caso de manifestarse diferencias significativas entre tratamientos extremos (I y IV) en contenido de CLA, se realizarían los análisis (cromatografía gas-liquido) de los ácidos grasos, de la grasa láctea de los tratamientos II y III. Al no suceder esto, solo se realizaron para

los tratamientos I y IV (vacas solo pastoreo v/s vacas en pastoreo y suplementadas con 9 Kg de concentrado).

El contenido de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (\leq C13:0), no presentó diferencias significativas entre estos tratamientos. Al suplementar las vacas en pastoreo con 9 Kg de concentrado no se produjo efecto alguno sobre el nivel de AGCC, mas bien los contenidos fueron similares para ambos tratamientos (8,28% v/s 8,40%). En los ácidos grasos de cadena larga (\geq C18:0), si se manifestaron diferencias significativas entre tratamientos, mostrando el tratamiento de solo pastoreo un mayor contenido de estos ácidos grasos (29,92% v/s 25,44%). En el caso, de los ácidos grasos de cadena media (C14:0 – C18:0), no se manifestaron diferencias significativas; siendo la concentración de estos, similares para ambos grupos (46,43% v/s 44,49%).

No se evidenciaron diferencias significativas, para la concentración de ácidos grasos saturados e insaturados. Sin embargo, en el tratamiento I (solo pastoreo), el contenido de ácidos grasos saturados fue, notoriamente más elevado (61,55% v/s 54,77%), que en el tratamiento IV.

Las vacas suplementadas con 9 Kg de concentrado, presentaron un contenido significativamente menor de ácido esteárico (C18:0) (6,19% v/s 10,76%), al igual que de C18:1 (trans-9) (8,97% v/s 13,06%). En el caso del ácido linolénico, el contenido fue similar (0,8% y 0,74% para tratamientos I y II, respectivamente), sin diferencias significativas.

CUADRO 16: Perfil de ácidos grasos (g/100g de ac. grasos totales) en la leche en los tratamiento I y IV del Experimento I.

ACIDOS GRASOS	SEMANAS	TRATAMIENTOS						P		
		I		IV		PROMEDIO (%) / SEMANA	Tratamiento	Semana	Tratamiento x Semana	
		PROMEDIO(%) / TR ATAMIENTO	DS	PROMEDIO(%) / TR ATAMIENTO	DS					
C10:0	1	3,32	1,14	3,48	1,80	3,40				
	2	3,84	0,20	3,49	1,42	3,67				
	3	3,34	1,49	2,79	2,24	3,07				
	x	3,50	0,94	3,25	1,82	3,38	0,6061	0,5842	0,8137	
C12:0	1	3,74	1,36	4,25	2,29	4,00				
	2	4,43	0,35	4,09	1,89	4,26				
	3	4,38	0,58	5,13	0,78	4,78				
	x	4,18	0,76	4,49	1,65	4,34	0,4824	0,3564	0,5572	
C13:0	1	0,16	0,06	0,24	0,11	0,20				
	2	0,23	0,07	0,22	0,07	0,23				
	3	0,21	0,07	0,18	0,06	0,20				
	x	0,20	0,07	0,21	0,08	0,21	0,5922	0,4657	0,1587	
C14:0	1	11,35	3,95	10,45	5,17	10,90				
	2	12,95	0,86	12,77	1,39	12,86				
	3	11,32	5,04	11,22	4,99	11,27				
	x	11,87	3,28	11,48	3,85	11,68	0,7489	0,3934	0,9687	
C14:1	1	1,49	0,55	1,61	0,79	1,55				
	2	1,65	0,24	1,83	0,30	1,74				
	3	1,32	0,71	1,04	0,94	1,18				
	x	1,49	0,50	1,49	0,68	1,49	0,9847	0,074	0,5786	
C16:0	1	27,22	9,35	23,87	12,20	25,55				
	2	30,79	2,04	25,54	11,60	28,17				
	3	31,3	1,98	29,80	4,31	30,55				
	x	29,77	4,46	26,40	9,37	28,09	0,2025	0,2903	0,8431	
C18:0	1	10,56	3,37	5,62	2,87	8,09				
	2	11,16	0,78	5,98	2,50	8,57				
	3	10,56	1,53	6,97	2,10	8,77				
	x	10,76 a	1,89	6,19 b	2,49	8,48	0	0,7407	0,6324	
C18:1 (trans-9)	1	12,54	5,64	9,63	5,97	11,09				
	2	14,11	5,04	11,22	7,41	12,67				
	3	12,53	6,24	6,07	4,93	9,30				
	x	13,06 a	5,64	8,97 b	6,10	11,02	0,0321	0,3335	0,6599	
C18:2 (cis-9, trans-11)	1	0,31	0,14	0,47	0,26	0,39 b				
	2	0,42	0,15	0,47	0,14	0,45 ab				
	3	0,56	0,34	0,89	0,31	0,63 a				
	x	0,43	0,21	0,54	0,24	0,49	0,1312	0,0317	0,8311	
C18:3 (cis-9, cis-12, cis-15)	1	0,73	0,22	0,89	0,31	0,71				
	2	0,77	0,10	0,82	0,14	0,80				
	3	0,89	0,10	0,72	0,34	0,81				
	x	0,80	0,14	0,74	0,26	0,77	0,4085	0,451	0,4483	
AC. GRASOS DE CADENA CORTA	1	7,62	2,59	8,45	4,29	8,04				
	2	8,87	0,88	8,17	3,55	8,52				
	3	8,34	1,86	8,57	2,94	8,46				
	x	8,28	1,71	8,40	3,60	8,34	0,8948	0,8917	0,7792	
AC. GRASOS DE CADENA MEDIA	1	43,10	14,37	38,98	18,96	41,04				
	2	48,66	2,63	48,38	5,24	48,52				
	3	47,53	6,29	46,10	8,03	46,82				
	x	46,43	7,76	44,49	10,74	45,46	0,565	0,1748	0,8912	
AC. GRASOS DE CADENA LARGA	1	29,04	29,04	22,23	9,19	25,64				
	2	31,10	31,10	27,79	2,74	29,44				
	3	29,62	29,62	26,29	6,96	27,96				
	x	29,92 a	29,92	25,44 b	6,30	27,68	0,0376	0,3308	0,7321	
AC. GRASOS SATURADOS	1	53,44	19,31	56,91	23,81	55,17				
	2	64,96	13,02	54,56	15,66	59,76				
	3	66,25	6,71	52,85	8,11	59,55				
	x	61,55	13,01	54,77	15,86	58,16	0,1592	0,6722	0,3089	
AC. GRASOS INSATURADOS	1	26,53	6,84	20,75	7,80	23,64				
	2	23,24	11,81	27,44	11,73	23,46				
	3	19,47	5,84	22,47	5,56	22,85				
	x	23,08	8,09	23,55	8,36	23,32	0,868	0,9716	0,1411	

Valores con letras distintas, difieren significativamente al 5% (TUCKEY).

4.1.2.1. Contenido de CLA en la grasa láctea: La concentración del isomero C18:2 (cis-9, trans-11), no manifestó diferencias significativas por efecto de tratamiento; sin embargo, numéricamente fue levemente superior en el tratamiento IV (0,54% v/s 0,43%). Se observaron diferencias significativas, por efecto del transcurso del periodo experimental (semanas). El incremento de su concentración, a medida que se desarrollaba el experimento, fue la tendencia que caracterizó a este ácido graso.

4.2. EXPERIMENTO II

Este ensayo se realizó, una vez finalizado el proyecto FONDECYT N° 1030331. A diferencia del experimento anterior, no se estimaron los consumos de alimento. Solo se cuantificaron los caracteres productivos y cualitativos de la leche de las vacas en los respectivos tratamientos.

4.2.1. Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína en los distintos tratamientos: Los promedios por tratamiento y por semana de estos parámetros se presentan en el cuadro 17.

CUADRO 17: Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína en los distintos tratamientos (Experimento II).

		TRATAMIENTOS	
		I	II
PROD. LECHE (KG)	1	21,89	25,86
	2	21,50	26,00
	3	24,27	28,84
	prom/trata	22,55b	26,9a
MAT. GRASA (%)	1	4,25	3,65
	2	4,19	3,82
	3	3,98	3,77
	prom/trata	4,14a	3,75b
PROTEINA (%)	1	3,23	3,25
	2	3,28	3,20
	3	3,09	3,14
	prom/trata	3,200	3,198

Valores con letras distintas, en una línea, difieren significativamente al 5% (TUCKEY).

Se observan diferencias significativas ($P = 0,0001$) en la producción de leche (Kg/vaca/día). Así las vacas en el tratamiento I (dieta de pastoreo con suplementación de aceite de salmón), en promedio, tuvieron una menor producción (al considerar el promedio de las 3 semanas experimentales este fue 22,6 vs 26

kg/vaca/día, $P= 0.05$). En cuanto a la concentración de materia grasa (%), hubo diferencias significativas entre tratamientos ($P=0,0276$). Se observó, una mayor concentración en el tratamiento de pradera suplementada con aceite de salmón (4,14%), comparado con el tratamiento de pradera y 6 kg de concentrado (3,75%). La concentración de proteína (%), no se vio afectada por la dieta.

4.2.2. Perfil de ácidos grasos en la grasa láctea: En el cuadro 18, se presenta el contenido promedio de los ácidos grasos más representativos de las muestras de leche obtenidas semanalmente.

Uno de los propósitos, de esta investigación fue determinar el efecto de agregar aceite de salmón, a la dieta de vacas mantenidas solo en pastoreo; comparado con aquellas bajo la misma situación pero suplementadas con 6 Kg de concentrado. En general se puede decir que el efecto de la dieta no fue muy evidente en modificar la composición de la grasa láctea.

La proporción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) ($\leq C13:0$), tendió a ser menor en el tratamiento con aceite de salmón. Los ácidos grasos de cadena mediana (AGCM) ($C14:0 - C18:0$), presentaron una tendencia a la baja ($P=0,0283$), en el transcurso de las tres semanas experimentales; sin manifestarse diferencias entre los tratamientos; aunque, se detectaron diferencias significativas durante transcurso del experimento. Resulta interesante destacar que ambos tratamientos, presentaron una disminución en la concentración de AGCM, entre la primera y tercera semana (5,8 y 2,34 unidades porcentuales, respectivamente); de esta manera, se refleja el efecto de la suplementación con aceite de salmón del tratamiento I. Al observar los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) ($\geq C18:0$), se manifestó una leve diferencia favorable al tratamiento I (38,37% v/s 36,81%), sin embargo, estas cifras no son estadísticamente significativas.

CUADRO 18: Perfil de ácidos grasos (g/100g de ac. grasos totales) en la leche de las vacas, en tratamientos del Experimento II.

ACIDOS GRASOS	SEMANAS	TRATAMIENTOS						P		
		I		II		PROMEDIO (%) / SEMANA	Tratamiento	Semana	x Semana	
		PROMEDIO(%) / TR ATAMIENTO	DE	PROMEDIO(%) / TR ATAMIENTO	DE					
C10:0	1	2,90	0,33	2,88	1,30	2,89	0,176	0,2412	0,5252	
	2	2,57	0,51	3,19	0,34	2,88				
	3	2,29	0,93	2,64	0,49	2,47				
	x	2,59	0,59	2,90	0,71	2,75				
C12:0	1	2,78	1,23	3,17	1,61	2,98	0,0849	0,6897	0,7163	
	2	2,51	1,18	3,50	0,46	3,01				
	3	2,48	1,10	2,89	0,54	2,88				
	x	2,59	1,17	3,19	0,87	2,89				
C13:0	1	0,16	0,03	0,18	0,05	0,17	0,32	0,5736	0,3446	
	2	0,22	0,26	0,19	0,03	0,21				
	3	0,13	0,04	0,54	1,03	0,34				
	x	0,17	0,11	0,31	0,37	0,24				
C14:0	1	11,60	0,70	10,72	4,90	11,16	0,2702	0,596	0,3054	
	2	10,36	1,25	11,93	1,20	11,14				
	3	9,21	3,94	11,30	0,35	10,25				
	x	10,39	1,96	11,31	2,15	10,85				
C14:1	1	1,60	0,31	1,80	0,35	1,70	0,0391	0,7149	0,7607	
	2	1,49	0,21	1,71	0,33	1,60				
	3	1,38	0,24	1,79	0,79	1,58				
	x	1,49 b	0,25	1,77 a	0,49	1,63				
C16:0	1	29,04	1,60	26,13	11,78	27,59	0,2871	0,528	0,6716	
	2	26,05	2,27	26,31	1,83	26,18				
	3	26,82	1,97	22,10	10,39	24,46				
	x	27,30	1,95	24,85	8,00	26,07				
C18:0	1	12,74	0,89	10,51	2,79	11,62	0,6043	0,2443	0,0812324	
	2	12,07	0,92	13,07	1,88	12,57				
	3	12,86	1,17	12,96	2,85	12,81				
	x	12,49	0,99	12,18	2,51	12,33				
C18:1 (trans-9)	1	15,16	8,16	10,55	8,53	12,86 a	0,0821	0,006	0,6285	
	2	13,87	8,19	8,13	7,25	11,00 a				
	3	19,92	2,01	18,97	4,06	19,45 b				
	x	16,32	6,12	12,55	6,61	14,44				
C18:2 (cis-9, trans-11)	1	0,41	0,13	0,52	0,13	0,47 a	0,4492	0,0064	0,0202	
	2	0,66	0,17	0,70	0,31	0,68 b				
	3	0,63	0,13	0,36	0,11	0,5 a				
	x	0,57	0,14	0,53	0,18	0,55				
C18:3 (cis-9, cis-12, cis-15)	1	0,86	0,19	0,72	0,08	0,79 a	0,0631	0,0125	0,601	
	2	0,74	0,14	0,70	0,08	0,72 ab				
	3	0,66	0,11	0,60	0,17	0,63 b				
	x	0,75	0,15	0,67	0,11	0,71				
AC. GRASOS DE CADENA CORTA	1	6,13	1,62	6,55	3,08	6,34	0,0708	0,5612	0,6897	
	2	5,12	2,10	7,20	0,42	6,39				
	3	5,58	1,84	6,29	0,92	5,70				
	x	5,61	1,85	6,68	1,47	6,14				
AC. GRASOS DE CADENA MEDIA	1	46,17	1,30	46,88	7,06	46,53 a	0,0669	0,0283	0,567	
	2	41,50	3,42	44,08	2,18	42,79 ab				
	3	40,37	4,88	44,54	4,17	42,46 b				
	x	42,68	3,19	45,17	4,47	43,93				
AC. GRASOS DE CADENA LARGA	1	37,14	1,98	34,96	4,51	36,05	0,2772	0,0524	0,7333	
	2	40,09	3,95	40,10	5,06	40,10				
	3	37,88	2,57	35,36	7,34	36,62				
	x	38,37	2,83	36,81	5,64	37,59				
AC. GRASOS SATURADOS	1	58,08	13,27	55,38	18,51	56,73	0,6444	0,7892	0,849	
	2	53,04	13,15	56,97	11,63	55,01				
	3	52,08	11,50	56,67	11,33	54,37				
	x	54,40	12,64	56,34	13,82	55,37				
AC. GRASOS INSATURADOS	1	31,36	11,62	31,82	10,95	31,59	0,9663	0,6946	0,9946	
	2	34,13	10,06	34,42	9,18	34,27				
	3	31,28	10,79	30,95	10,20	31,12				
	x	32,26	10,82	32,40	10,11	32,33				

Valores con letras distintas, difieren significativamente al 5% (TUCKEY).

La concentración de ácidos grasos saturados, en las vacas suplementadas con aceite de salmón (tratamiento I), fue numéricamente menor (54,4% v/s 56,34%), aunque no estadísticamente significativa. Para el nivel de ácidos grasos insaturados, no se presentaron diferencias significativas, de ningún tipo.

4.2.2.1. Contenido de CLA en la grasa láctea: En general, no hubo diferencias significativas entre tratamientos (0,57% v/s 0,53%); sin embargo, si las hubo en la variación semanal de la concentración de CLA, para ambos tratamientos. Además, se manifestaron diferencias significativas ($P=0,02$), para la interacción tratamiento x semana.

5. DISCUSION

5.1 EXPERIMENTO I

5.1.1 Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína: Al observar la producción de leche promedio, en los distintos tratamientos, presentada en el cuadro 15; se puede constatar que la suplementación creciente de concentrado provocó una respuesta curvilínea. Esto concuerda con PEYRAUD et al (1997), quienes en una revisión de literatura, afirman que con altas ofertas (18 Kg MS/vaca/día) de pradera el efecto de la suplementación en vacas en pastoreo es curvilíneo y no lineal como ocurre con bajas ofertas de pradera (15 Kg MS/vaca/día). BARGO et al (2003), aseveran que con ofertas altas de pradera (> 25 Kg MS/vaca/día), tiende a aumentar la tasa de sustitución (TS) lo cual concuerda, con lo sucedido en este experimento en donde con una oferta muy alta de pradera (36 Kg MS/vaca/día) la suplementación creciente de concentrado provocó un deterioro de la TS. Estos autores relacionan además este fenómeno, con la respuesta en producción de leche por unidad de concentrado aportada (Kg de leche con suplementación - Kg de leche sin suplementación/ Kg de suplemento), afirmando que esta tiende a disminuir al incrementarse la TS (ver cuadro 14). En esta investigación, la respuesta en producción de leche a la suplementación fue de 1,19, 0,6 y 0,16 Kg de leche/Kg de concentrado; para los tratamientos II, III y IV, respectivamente. Esto confirma que hay una relación inversa entre la tasa de sustitución y la respuesta en producción de leche a la suplementación con concentrado, lo que concuerda con BARGO et al, 2003.

DIXON y STOCKDALE (1999), afirman que con altas ofertas de pradera (Kg MS/vaca/día) y altas tasas de sustitución se limita la oportunidad de incrementar el consumo de energía metabolizable (EM), al suplementar con concentrados a base de cereales de grano. Esto se demuestra en el cuadro 19, en donde se muestra el mayor consumo de EM, con 3 Kg de concentrado; lo cual corresponde al tratamiento de mayor consumo total con la menor tasa de sustitución y la mayor

producción de leche; además de ser el tratamiento en donde se obtuvo la mayor respuesta en producción de leche por Kg. de concentrado suministrado.

CUADRO 19: Consumo de Energía y Proteína, en vacas en pastoreo (I) suplementadas con 3 (II), 6 (III) y 9 Kg. de concentrado. (Experimento I).

	I	II	III	IV
Consumo de Energía (Mcal/v/d)	49,456	50,98	48,888	46,759
Consumo de Proteína (K/v/d)	3,33696	3,20822	2,82659	2,45137

En el cuadro 15, además se visualiza la relación lineal existente entre la suplementación con concentrado y la disminución en la materia grasa (%); esta ya ha sido reportada en vacas en pastoreo. (BERZAGHI et al (1996); REIS y COMBS (2000); BARGO et al (2002); STOCKDALE (2004)). PALMQUIST (1993), señalan que con grandes consumos de granos de cereal, la lipogénesis mamaria decrece, manifestándose una depresión de la síntesis de grasa láctea. En este experimento la inclusión creciente de concentrado en la ración provocó, la disminución en el consumo de FDN (ver cuadro 14); con ello disminuyó el aporte de fibra al rumen. Junto a esto se debe considerar, que incluir en la dieta de las vacas grandes cantidades de concentrados, con alto porcentaje de cereal (en este caso cebada) provoca una disminución en el pH ruminal, afectando negativamente la digestibilidad de la fibra. Bajo estas condiciones, se reduce la relación (acetato+butirato)/propionato, esperándose una merma en la concentración de grasa en la leche (BARGO et al, 2003; WALKER et al, 2001; 2004).

La concentración de proteína en la leche, tiende a incrementarse con la suplementación con concentrado. DE PETERS Y CANT (1992) y BARGO et al (2003), en sus revisiones de literatura indican que hay una relación positiva entre el consumo de concentrado y la concentración de proteína en la leche. Sin embargo, en la presente investigación no se manifestaron resultados tan claros; ya que el tratamiento con 3 Kg de concentrado, presentó una menor concentración de proteína que el tratamiento con solo pradera. Los tratamientos II, III y IV (suplementados), presentan niveles crecientes de proteína en la leche. Contenidos de proteína, similares encontraron WALKER et al (2001), al suplementar vacas en pastoreo con un concentrado a base de cebada.

5.1.2. Ácidos grasos presentes en la grasa láctea: La concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y media (AGCM) (con 4 y hasta 14 carbonos), depende principalmente de la síntesis *de novo* de ácidos grasos en la glándula mamaria (BLAS, 2004). Suplementando con granos se reduce la proporción de ácidos grasos de 6-16 carbonos; incrementando los ácidos grasos de 18 carbonos, sin embargo esto va a depender del tipo de grano de cereal y su contenido de lípidos (PALMQUIST et al, 1993; JENKINS y MCGUIRE, 2006). Además al suplementar con concentrado al inicio de la lactancia se espera una reducción en el balance energético negativo, típico de las vacas de alta producción en este período. Las vacas en balance negativo, incrementan la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo, hacia la glándula mamaria y sintetizan menos AGCC y AGCM (WALKER et al, 2004). Todo esto puede explicar en parte, lo sucedido en esta investigación (ver cuadro 16) en la cual se observa una disminución en la proporción de los ácidos grasos de 6-16 carbonos (51% v/s 47,3%, tratamientos I y IV, respectivamente), es decir 3,7 unidades de porcentaje menos, al suplementar las vacas en pastoreo con 9 Kg. de concentrado, comparado con aquellas mantenidas solo en pastoreo. Por otro lado, se pudo haber manifestado una disminución en la síntesis *de novo* de ácidos grasos, en las vacas suplementadas, debido a una menor producción ruminal de acetato y de β -hidroxibutirato, disminuyendo así la disponibilidad de estos sustratos en la glándula mamaria. La concentración de AGCM, resultó ser mayor en el tratamiento I (sólo pastoreo); con un mayor contenido de C16:0 y C14:0, observado en la grasa láctea en las vacas de este tratamiento. Esto no concuerda con KELLY et al, (1998); DHIMAN et al, (1999); CHILLIARD et al (2001) y WIJESUNDERA et al (2003); quienes encontraron niveles mas altos de estos dos ácidos grasos, en vacas lecheras mantenidas en sistemas pastoriles suplementadas con concentrado.

Al incluir la pradera como parte importante de la dieta de vacas lecheras se espera un incremento en la fracción de ac. grasos de cadena larga (AGCL). (BARGO et al, 2006a; COUVREY et al, 2006; SCHROEDER et al, 2003). BARGO et al (2006a), observaron que al comparar una dieta de pradera suplementada con concentrado (consumo de pradera de 12,9 Kg. MS/v/d) versus una ofrecida como ración completa, totalmente mezclada (TMR), el contenido de AGCL fue respectivamente de 53,7% y 47,74%..De esta forma, se manifiesta la misma tendencia obtenida en este experimento, sin embargo, los valores obtenidos,

resultan estar muy por debajo de los reportados en otras investigaciones. El mayor contenido de AGCL, presente en la grasa láctea de las vacas sin suplementación versus aquellas suplementadas con 9 Kg. de concentrado (29,92% v/s 25,44%, respectivamente); se explica por el mayor contenido de ácidos grasos de 18 carbonos, principalmente de los ácidos esteárico y oleico (C18:1 trans-9).

BARGO et al (2006a), al suplementar con 9 Kg. de concentrado a vacas en pastoreo, ya sea con una disponibilidad de pradera de 25 o de 40 Kg. MS/vaca/día, evidenciaron un aumento en la fracción de ácidos grasos saturados (AGS); comparado con aquellas sin suplementación y con las disponibilidades ya nombradas. COUVREY et al (2006), por su parte encontraron que al disminuir el porcentaje de pradera, y aumentar el consumo de ensilaje de maíz la fracción de AGS en la grasa láctea aumentó significativamente. Esta tendencia no coincide, con lo sucedido en este ensayo; ya que el tratamiento I (sólo pradera) presentó 6,78 unidades de porcentaje más de ácidos grasos saturados, comparado con lo observado en las vacas suplementadas. Esto podría deberse a una disminución de la síntesis *de novo* de ácidos grasos (mayoritariamente AGS), en el tratamiento suplementado.

5.1.2.1. Contenido de ácidos grasos C18 y de CLA en la grasa láctea: En base a la literatura revisada, se pueden estimar los consumos de C18:3 y C18:2, de las vacas en los tratamientos de solo pastoreo (I) y 9 Kg. de concentrado (IV) (Cuadro 20); teniendo en consideración el porcentaje de ácidos grasos totales presentes en la pradera y en el concentrado. Para el concentrado, que en un 96% era grano de cebada se consideraron los porcentaje de C18:3 y C18:2 que presenta este cereal. Al analizar el cuadro 20, se observan consumos similares, de ácidos linoleico e inferiores de linolénico en el tratamiento IV, a los reportados por BARGO et al (2002) para su tratamiento pradera (con disponibilidad de pradera de 48,9 Kg MS/v/d) y 9 Kg. de concentrado (90 y 129 g/d de C18:2 y C18:3, respectivamente); la diferencia en el consumo de C18:3, se explica por el menor consumo estimado de pradera (7,7 Kg. MS/v/d) en nuestro ensayo v/s 16,1Kg MS/v/d reportados por BARGO et al (2002) . Por la misma razón, se justifica el mayor consumo de ácido linolénico en tratamiento I, en el cual las vacas tuvieron un mayor consumo de pradera (17,7 Kg. MS/v/d), valores que son comparables, a los de BARGO et al (2002), con consumos de 76 y 162 g/día, de C18:2 y C18:3, respectivamente; para

vacas en pastoreo sin suplementación con un consumo de pradera de 20,6 Kg. MS/v/d.

CUADRO 20: Estimación del consumo de ácidos grasos precursores de CLA, de las vacas para cada tratamiento (Experimento I)*.

Consumo (g/día)	tratamiento	
	I	IV
Ac. Linoleico (C18:2)	73,9	86,7
Ac. Linolenico (C18:3)	186,6	87,1

*Cálculo estimativo utilizando los datos presentados en el cuadro 4.

Al comparar, los consumos de C18:2 y C18:3, con la concentración de los ácidos grasos de 18 carbonos presentes en la leche de ambos tratamientos se puede decir, que si bien en el tratamiento I hay un elevado consumo de ácido linolénico, esto no se ve reflejado en la composición de la grasa láctea; tanto así que no se presentaron diferencias significativas con las vacas suplementadas. DHIMAN et al (1999) y BARGO et al (2006), al contrario, encontraron los mayores niveles de ácido linolénico en la leche, con las vacas en solo pastoreo y por ende con mayores consumo de ácido linolénico.

Se destaca la mayor concentración de ácidos grasos de 18 carbonos en el tratamiento I (con mayor concentración de AGCL); esto se debe contrastar con el mayor consumo de ácido linolénico de las vacas en este grupo. Este mayor nivel de este conjunto de ácidos grasos, se debe a la mayor concentración de ac. esteárico y C18:1 (trans-9). Esto concuerda en parte, con lo reportado por KELLY et al, (1998); quienes encontraron mayores niveles de estos ácidos grasos en las vacas en pastoreo sin suplementación; estos autores adjudican este incremento a una menor síntesis *de novo* de ácidos grasos, principalmente del C16:0 (considerando que el 50% de este ácido se origina en la glándula mamaria). En este ensayo no se produjo una disminución en la concentración de C16:0, en la leche de las vacas en pastoreo comparado con aquellas suplementadas. Además, WIJESUNDERA et al (2003), consideran que suplementando con grano, se reducen los niveles de C18:0 y C18:1, como lo ocurrido en el tratamiento IV. Según estos investigadores, bajo estas condiciones las vacas reducen la movilización de ácidos grasos provenientes del tejido adiposo. Por último afirman que el efecto de la suplementación sobre el consumo de pradera, provoca un menor ingreso de C18:3 y a la vez, una menor

disponibilidad de ac. grasos de 18 carbonos para la biohidrogenación a C18:1 y C18:0, en el rumen.

Como objetivo principal de este ensayo, se planteó determinar el efecto de la suplementación con concentrado, sobre el contenido de C18:2 (cis-9, trans-11) (CLA). En la figura 17 se representa la variación semanal y por tratamiento en el contenido de CLA. El hecho de que las vacas suplementadas hayan presentado 0,11 unidades de porcentaje más de CLA que aquellas solo en pastoreo, como se presenta en el cuadro 16, se contrapone a gran parte de la bibliografía revisada. Sin embargo, existen investigaciones como las de STOCKDALE et al (2003) que encontraron que el contenido de CLA en vacas en pastoreo se redujo, a medida que aumentaba la cantidad de concentrado en la dieta, aunque observaron que esta tendencia se revertió por sobre los 9 Kg. de concentrado. STOCKDALE et al (2003) postulan que suplementar con altas cantidades de concentrado, resultaría en una mayor concentración de CLA en el flujo post-ruminal; debido a una posible limitación en la biohidrogenación del ácido linoleico a ácido esteárico. Además dietas ricas en almidón, provocan en la vaca una disminución del pH ruminal, lo cual puede reducir el número de las bacterias encargadas de la biohidrogenación. A su vez, JIANG et al (1996), señalan que dietas ricas en concentrado afectan negativamente la hidrogenación terminal y de esta forma se incrementaría el flujo post ruminal de ac. trans-vaccénico (esencial para la síntesis endógena de CLA). WIJESUNDERA et al (2003), afirman que una suplementación con concentrados suficiente como para reducir la grasa láctea, hace que el contenido de CLA, en la leche aumente. Ellos afirman que esta respuesta resulta ser más obvia cuando las vacas muestran depresión de la síntesis de la grasa láctea atribuible a acidosis ruminal. Sin embargo, en este experimento no se evaluó la manifestación de este fenómeno en las vacas muestreadas.

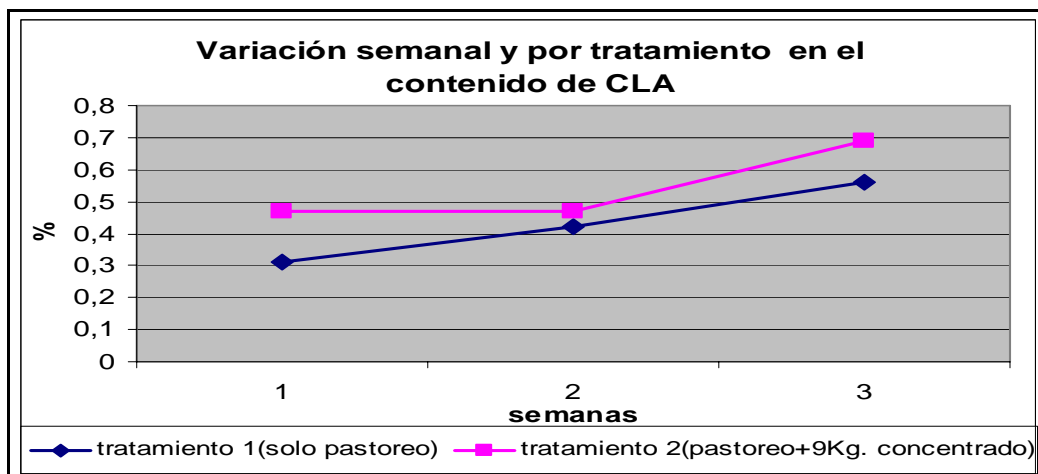


FIGURA 17: Variación semanal y por tratamiento de la concentración de CLA (% del total de ácidos grasos), en grasa láctea en el experimento 1.-

El contenido de CLA, mostró una tendencia a incrementarse al transcurrir las semanas de este experimento, esto se visualiza en la figura 17. KAY et al (2005), al tomar muestras de leche de vacas alimentadas con TMR, a la primera, octava y décimo sexta semanas encontraron que el contenido de CLA aumentó con el transcurso de la lactancia. Ellos atribuyen esta variación en el CLA, al estado de lactancia debido a que las vacas se mantuvieron con la misma TMR, a lo largo de las dieciséis semanas. Señalan que, con el progreso de la lactancia, posiblemente aumentó el flujo post ruminal del ácido vaccénico, provocando el incremento del CLA desde la primera a la décimo sexta semana de lactancia. Además, atribuyen el mayor flujo de ácido vaccénico a la glándula mamaria, al aumento en la biohidrogenación incompleta, a raíz del aumento en la capacidad de consumo de la vaca, al aumentar la lactancia. Sin embargo en esta investigación, no se puede atribuir la tendencia presentada en el CLA solamente al estado de lactancia. Además es posible que la pradera, incluida en forma importante en la dieta haya cambiado en su composición (perfil de ácidos grasos), a través del tiempo.

5.2 EXPERIMENTO II:

5.2.1 Producción de leche, concentración de Materia grasa y de Proteína: La respuesta en la producción láctea en el tratamiento I (pastoreo con un suplemento de aceite de salmón), concuerda con DONOVAN. et al (2000) y SHINGFIELD et al (2003).; que observaron que al suplementar las vacas con aceite de pescado se evidenció una depresión en la producción de leche. DONOVAN et al (2000) y WHITLOCK et al (2002) atribuyen esta respuesta, a la disminución del consumo de materia seca, debido al efecto negativo del aceite de pescado sobre la digestibilidad de la fibra. En este caso, posiblemente el aceite de salmón habría afectado negativamente al consumo de pradera y por ende la producción de leche. La dieta II presentó una mayor concentración energética debido a la inclusión de 6 Kg. de concentrado, lo cual provocó que se manifiesten diferencias significativas entre los tratamientos (ver Cuadro 17).

En el tratamiento II, el efecto de la inclusión de concentrado en la ración generó una menor concentración de materia grasa, debido a un mayor contenido de energía metabolizable (EM). Según WALKER et al (2004) y STOCKDALE (2004), al aumentar el consumo de EM, ya sea a través de la suplementación con granos de cereales o concentrados complejos se provoca una disminución en la relación (butirato+acetato)/propionato en el rumen. Así se limita, la disponibilidad de acetato y de butirato en el tejido mamario, afectando la síntesis “de novo” de ácidos grasos en la glándula mamaria, y por consiguiente la concentración de materia grasa en la leche. Por su parte, las vacas que se encontraban en el tratamiento I, manifestaron una disminución paulatina (por semana) del porcentaje de materia grasa en la leche, lo que concuerda con REGO, et al (2005) y WHITLOCK et al (2002). Esto marca claramente, el efecto depresor en la grasa láctea, del aceite de salmón; lo que se atribuye a que este recurso es rico en ácidos grasos poliinsaturados. Estos ácidos grasos, presentan un efecto tóxico sobre los microorganismos ruminales, responsables de la fermentación de la fibra dietaria (JENKINS, 1993).

La concentración de proteína en la leche, en esta investigación no presentó variaciones significativas; sin embargo, en la bibliografía no está bien establecido el efecto del aceite de pescado sobre el contenido de proteína en la leche. Los

resultados obtenidos en este experimento son congruentes con los reportados por ABUGHAZALEH, et al (2002) que observaron que el adicionar aceite de menhaden (arenque) (2% bMS) a la ración, no produjo diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, CHILLIARD Y FERLAY (2001) en su revisión bibliográfica, resumieron una serie de investigaciones y afirman que el uso de aceites de fuentes de origen marino disminuye la concentración de proteína en la leche (-1,2g/K).

5.2.2. Ácidos grasos presentes en la grasa láctea: Al analizar la fracción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el cuadro 18, no se vieron diferencias estadísticas entre las dietas. Aunque, al utilizar aceite de salmón, esta fracción de ácidos grasos, tendió a ser menor, comparado con el tratamiento II. ABUGHAZALEH et al (2002) y DONOVAN et al (2002) reportaron la misma tendencia, mas aún estos últimos observaron una relación indirecta entre la suplementación con aceite de pescado y la concentración de AGCC. Según GRUMMER et al (1991) y CHILLIARD y FERLAY (2004) la inclusión en la dieta de fuentes, que aporten ácidos grasos insaturados (e.g. aceite de salmón), provoca una baja en la concentración de ácidos grasos de cadena corta y media en la grasa láctea porque los ácidos de cadena larga e insaturados, provenientes de la dieta, inhiben la acción de la enzima acetyl-CoA carboxilasa y reducen la síntesis “de novo” de estos ácidos grasos en la glándula mamaria. Coincidente con esto los ácidos grasos de cadena mediana (C14:0 – C18:0), presentaron una tendencia a la baja. Es así que se manifestaron diferencias significativas ($P=0,0283$), en las semanas en que transcurrió el experimento. Los tratamientos presentaron una disminución de 5,8 y 2,34 unidades porcentuales, desde la primera a la tercera semana, en los tratamientos de pradera suplementada con aceite de salmón y pradera con suplementación de 6 Kg. de concentrado; de esta manera, se refleja la mayor disminución en los AGCM, con la suplementación con aceite del tratamiento 1. (ABUGHAZALEH et al 2002, 2004; DONOVAN et al 2002; SHINGFIELD et al 2006; WHITLOCK et al 2002).

Al igual que lo observado por KELLY et al (1998) los ácidos grasos C14:0 y C16:0, en este experimento disminuyeron su concentración en la grasa láctea de las vacas que consumen pradera y aceite de pescado, manifestando una reducción de la fracción ac. grasos de cadena corta y media. Cabe destacar el efecto

depresor, del aceite de salmón a través del tiempo, sobre la concentración de C12:0, C14:0 y C16:0. Estos dos últimos (ac. mirístico y palmítico) según NEY (1991), son los que presentan un rol hipercolesteroemico, para los humanos.

La reducción de los ácidos grasos de cadena media es compensada por el aumento del ácido oleico (C18:1). Al respecto SHINGFIELD et al (2003), observaron al suplementar con aceite de pescado, un incremento de este ácido, en especial los isómeros trans, a expensas del isómero cis-9 del mismo ácido graso. En este experimento no se midieron todos los isómeros del ácido oleico, pero si se cuantificó el isómero trans-9, el cual, durante el periodo experimental; incrementó significativamente su concentración a la tercera semana. Esto se debe al efecto del tratamiento con suplemento de aceite, el cual presentó un mayor nivel del C18:1 (trans-9) comparado con el tratamiento de concentrado como suplemento.

Cabe destacar, al observar la figura 18, la tendencia detectada en ambos tratamientos; para la fracción de ácidos grasos saturados (AGS) en la leche. En el caso del grupo de vacas suplementadas con aceite, la concentración de los AGS, disminuyó con el tiempo, desde 58,1% a 52,1%. Esto ha sido reportado anteriormente por BAER et al (2001), DONOVAN et al (2000), ABUGHAZALEH et al (2002), SHINGFIELD et al (2003) y REGO et al, (2005). En cambio, en el grupo suplementado con concentrado la concentración de los AGS se incrementó levemente (desde 55,3% a 56,6%), lo cual concuerda con BARGO et al (2006a) que al suplementar vacas en pastoreo con concentrado, observaron que la fracción de ácidos grasos saturados aumentó desde 52,9% a 58,1% y desde 55,1% a 59,1%, con disponibilidad alta y baja de pradera, respectivamente. Similar tendencia encontraron estos mismos autores (BARGO et al., 2006b) al utilizar dietas de pradera más concentrado, de pradera más ración totalmente mezcladas (TMR) o de solo TMR; la concentración promedio de ac. grasos saturados, en la leche fue de 55,46%, 58,24% y 60,96%, para cada una de estas dietas, respectivamente. Similares resultados observaron DHIMAN et al (1999) cuando aumentaron la relación concentrado / forraje en la dieta.

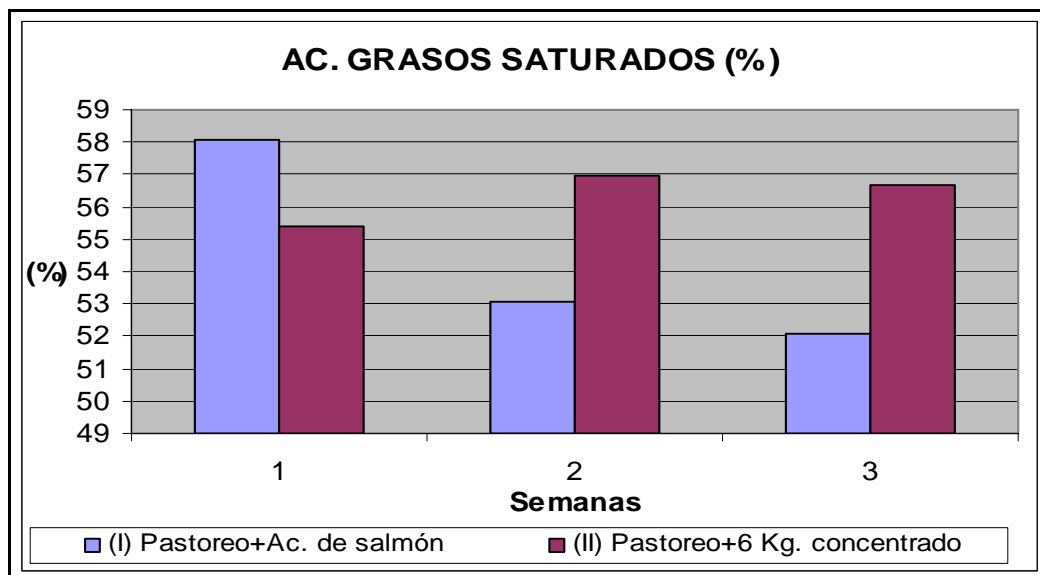


FIGURA 18: Concentración de ácidos grasos saturados en la grasa láctea, durante el periodo experimental, para ambos tratamientos.

5.2.2.1. Contenido de CLA en la grasa láctea. El objetivo principal, en este experimento, fue estimar el efecto de la suplementación con aceite de salmón o concentrado, a vacas en pastoreo, sobre el contenido de CLA en la grasa láctea. Una ilustración de lo observado, se presenta en la figura 19.

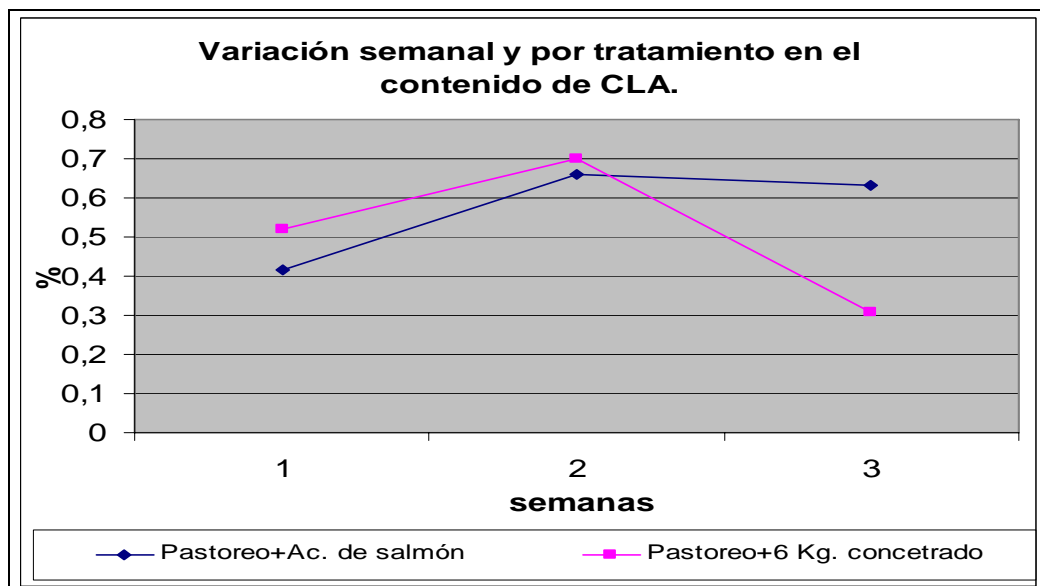


FIGURA 19: Variación semanal y por tratamiento de la concentración de CLA (% del total de ácidos grasos), en grasa láctea en el experimento 2.-

Se puede evidenciar una respuesta no muy bien definida, a la suplementación con aceite de salmón (180 ml de aceite/vaca/día). El comportamiento en la concentración de CLA, a través del tiempo fue algo semejante a lo descrito por ABUGHAZALEH et al (2004) al aplicar un 0,5% bMS de aceite de pescado (ver figura 15) y por SHINGFIELD et al (2006) empleando 45 g de una mezcla de aceite de pescado y aceite de soya (1:2 de aceite de pescado : aceite de maravilla por Kg de MS). Sin embargo en estas investigaciones, se uso aceite de pescado (en forma de harina o tal cual) junto con aceite vegetal (soya y maravilla), por lo cual posiblemente el efecto absoluto fue mayor. En[.1] la presente investigación se observó tan solo el efecto del aceite de salmón en el tiempo. SHINGFIELD et al (2003), afirman que el uso de aceite de pescado (250 g de aceite/vaca/día) es una eficaz herramienta para incrementar los niveles de CLA, en la leche. Sin embargo, el explosivo incremento en la concentración de CLA que se observó en las investigaciones previamente presentadas, resulta ser temporal, como lo observaron recientemente ABUGHAZALEH et al (2004) y SHINGFIELD et al (2006). Estos investigadores atribuyen esta disminución en la concentración de CLA, como la representada en la figura 15, a una paulatina disminución en la liberación post-ruminal de ácido trans-vaccénico, coincidente con un mayor flujo de C18:1 (trans-10); debilitando así la síntesis endógena de CLA, en la glándula mamaria. Además, sugieren que esto ocurre por una adaptación de la cantidad y actividad microbiana en el rumen, a la dieta (con aceite de salmón).

6. CONCLUSIONES

En la presente investigación se analizaron en dos experimentos el efecto de la suplementación de vacas lecheras a pastoreo, ya sea con un concentrado a base de cebada o con aceite de salmón, donde se concluye lo siguiente:

La cantidad de concentrado aportada (3, 6 ó 9 Kg/vaca/día), provocó una respuesta curvilínea, en la producción de leche, con una producción máxima con 3 o 6 kg de concentrado. Esto se atribuye a la alta oferta de pradera (36 Kg MS/vaca/día) utilizada. Por otro lado, la suplementación con aceite de salmón provocó una menor producción de leche al comparar con un grupo suplementado con concentrado; se presume que esta respuesta se debió a un menor consumo de materia seca total de esta dieta.

En cuanto a los parámetros porcentaje de materia grasa y de proteína en la leche se observó una relación lineal entre consumo de concentrado y la disminución en la materia grasa en la leche. La concentración de proteína tendió a incrementarse con la inclusión creciente de concentrado en la dieta. La inclusión en la dieta de aceite de salmón no ocasionó variaciones en la concentración de proteína de la leche pero produjo leche con mayor porcentaje de grasa que el grupo suplementado con concentrado.

Al analizar el perfil de ácidos grasos en la leche, en el primer experimento se observó que al suplementar con 9 Kg. de concentrado tendieron a aumentar los ácidos grasos de cadena corta (\leq C13:0). En las vacas sin suplementación (únicamente en pastoreo), la leche presentó un mayor contenido de ácidos grasos de cadena media (C14:0-C18:0), esto se atribuye a que estas vacas tendieron a manifestar una mayor concentración de C14:0 y C16:0, en su leche y presentaron un mayor contenido de ácidos grasos de cadena larga (\geq C18:0), comparado con aquellas suplementadas con 9 Kg. de concentrado.

Por su parte la inclusión de aceite de salmón (experimento 2), ocasionó una tendencia a disminuir, en el transcurso del experimento, el contenido de ácidos grasos de cadena corta, asimismo sucedió con la concentración de ácidos grasos

de cadena media. Además, la concentración de ácidos grasos de cadena larga tendió a ser mayor. Se destaca la tendencia manifestada en el contenido de ácidos grasos saturados, los cuales disminuyeron en el tiempo con la suplementación de aceite de salmón.

En el primer experimento al suplementar con concentrado el contenido de CLA en la grasa láctea tendió a aumentar, en contrario a lo planteado como hipótesis. Esto puede estar relacionado con la elevada cantidad de concentrado (9 Kg.) suministrada, lo que pudo haber ocasionado una modificación del ambiente ruminal.

La suplementación con aceite de salmón (experimento 2) no ocasionó una respuesta definida. Sin embargo, produjo un efecto positivo transitorio sobre el contenido de CLA.

La falta de un efecto más claro de los tratamientos (en ambos experimentos) se atribuye al bajo número de observaciones y a la alta variabilidad natural en la concentración de CLA en vacas alimentadas con una misma dieta. Además, la metodología utilizada en la extracción de grasa láctea pudo no haber sido la más adecuada.

7. RESUMEN

Dos experimentos con vacas lecheras en pastoreo, fueron conducidos para estudiar el efecto de la suplementación con concentrado (experimento 1) o aceite de pescado (salmón) (experimento 2), sobre el contenido de CLA (cis-9; trans-11 C18:2) en la grasa láctea. En ambos experimentos fue utilizado un diseño en bloques completos al azar. En el experimento 1, cuatro dietas (tratamientos) fueron estudiadas, con 7 vacas holstein friesan en lactancia por tratamiento. En el experimento 2, solo dos dietas (tratamientos) fueron comparadas con similar número de vacas por tratamiento. En el primer experimento las dietas fueron: solo pastoreo y pastoreo con 3, 6 y 9 Kg. de concentrado /vaca/día. Para todos estos tratamientos se utilizó una misma disponibilidad de pradera (36 Kg. MS/vaca/día). En el segundo experimento las dietas comparadas fueron pradera con aceite de salmón (180 ml/vaca/día) y pradera con 6 Kg. de concentrado/vaca/día. Ambos experimentos duraron 21 días; la leche fue muestreada semanalmente, para determinar el contenido de grasa, proteína y el perfil de ácidos grasos.

En el experimento 1, se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la producción de leche y concentración de materia grasa. La producción de leche mostró una respuesta curvilínea con la suplementación (26,2; 29,9; 29,5; 27,6 Kg/vaca/día); la mayor producción fue obtenida con 3 Kg. de concentrado. La concentración de materia grasa mostró una relación inversa con la cantidad de concentrado suministrada en la dieta. La proteína láctea no presentó cambios con el nivel de suplementación con concentrado. En el experimento 2, la producción de leche (22,5 v/s 26,9 Kg/vaca/día) fue menor y el porcentaje de materia grasa mayor ($P < 0,05$) en las vacas suplementadas con aceite de salmón comparada con respecto a las suplementadas con concentrado. La concentración de proteína no manifestó diferencias.

En el primer experimento no hubo diferencias en el contenido de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) ni para los ácidos grasos de cadena media (AGCM). Sin embargo para la concentración de ácidos grasos de cadena larga

(AGCL), solo las vacas en pastoreo presentaron una concentración mayor de AGCL (29,9%), con respecto al grupo suplementado (25,4%). En el segundo experimento la proporción de AGCC tendió a ser menor con la suplementación con aceite de salmón, comparado con el grupo suplementado con concentrado (5,6% v/s 6,6%); la misma tendencia se manifestó para los AGCM (42,6% v/s 45,1%).

El contenido de CLA, en el primer experimento, resultó ser levemente mayor en el grupo de vacas suplementadas con 9 Kg de concentrado comparado con el grupo control (solo pastoreo) (0,54% v/s 0,43% de los ácidos grasos totales); en ambos grupos la concentración de CLA tendió a incrementarse entre las semanas 1 y 3 del experimento. En el segundo experimento, tampoco se detectaron diferencias significativas (0,57% v/s 0,53% de los ac. grasos totales), entre los grupos suplementados con aceite de salmón y 6 Kg. de concentrado, con una leve tendencia a un aumento por semana del experimento.

SUMMARY

Two experiments, with grazing dairy cows, were conducted to study the effect of concentrate supplementation (experiment 1) or with fish oil (salmon) (experiment 2) on CLA (cis-9, trans-11 C18: 2) content in milk fat. In both experiments a completely randomized block design was utilized. In experiment 1 four diets (treatments) were studied, with seven lactating HF cows per treatment. In experiment 2 only two diets (treatments) were compared with a similar number of cows per treatment. In experiment 1, diets were pasture only, or pasture plus 3, 6 or 9 kg of concentrate per cow per day. In all cases a similar pasture allowance was utilized (36 kg of DM/cow/day). In experiment 2, the diets compared were pasture plus 6 kg of concentrate per cow versus pasture plus fish (salmon) oil (180 ml/cow/day). Both experiments lasted 21 days; milk was sampled weekly to determine fat, protein, and fatty acids profile.

In experiment 1 significant differences ($P < 0.05$) in milk production and milk fat concentration were detected. Milk production showed a curvilinear response to concentrate supplementation (26, 2; 29.9; 29.5 and 27.6 kg/cow/day); the highest production was obtained with 3kg of concentrate. Milk fat concentration showed an inverse relationship with the amount of concentrate fed. Milk protein concentration did not change with level of concentrate supplementation. In experiment 2 milk production (22.5 vs. 26.9 kg/cow/day) was less and milk fat percentage higher ($P < 0.05$) in the cows supplemented with salmon oil as compared with those supplemented with concentrate. Milk protein concentration did not change.

In the first experiment there were no differences in milk fat short chain or medium chain fatty acids content. However, cows that grazed without concentrate supplementation showed a higher concentration of long chain fatty acids (29.9 %) as compared with the average of the concentrate-supplemented cows (25.4 %). In the second experiment, the proportion of short-chain fatty acids in milk fat tended to be less in the cows supplemented with salmon oil (5.6 % vs. 6.6 %); however for the

medium chain fatty acids the cows supplemented with salmon oil tended to have a higher percentage of these fatty (45.1 % vs. 42.6%).

The content of CLA in the first experiment was slightly higher in the group of cows that received 9 kg of concentrate as compared with the control (pasture only) (0.54 % vs. 0.43 % of total fatty acids); in both groups the concentration of CLA tended to increase between weeks 1 and 3 of the experiment. In the second experiment no significant differences were detected (0.57 % vs. 0.53 %) between the salmon oil and the concentrate supplemented groups, with a slight trend to an increase with week of experiment.

8. BIBLIOGRAFÍA

- ABUGHAZALEH, A. A., SCHINGOETHE, D. J., HIPPEN, A. R., KALSCHEUR, K. F. Y WHITLOCK, L. A. 2002. Fatty Acid Profiles of Milk and Rumen Digesta from Cows Fed Fish Oil, Extruded Soybeans or their blend. *Journal of Dairy Science*. 85:2266–2276.
- ABUGHAZALEH, A. A. , SCHINGOETHE, D. J., HIPPEN, A. R. Y KALSCHEUR, K. F. 2003. Milk Conjugated Linoleic Acid Response to Fish Oil Supplementation of Diets Differing in Fatty Acid Profiles. *Journal of Dairy Science*. 86:944–953.
- ABUGHAZALEH, A. A. Y JENKINS, T. C. 2004. Short Communication: Docosahexaenoic Acid Promotes Vaccenic Acid Accumulation in Mixed Ruminal Cultures when Incubated with Linoleic Acid. *Journal of Dairy Science*. 87:1047–1050.
- ABUGHAZALEH, A. A., SCHINGOETHE, D. J., HIPPEN, A. R. Y KALSCHEUR, K. F. 2004. Conjugated Linoleic Acid Increases in Milk When Cows Fed Fish Meal and Extruded Soybeans for an Extended Period of Time. *Journal of Dairy Science*. 87:1758–1766.
- AVILEZ, J.P., VASQUEZ, V., VILLAGRAN, K., FABECK, G.V., MATAMOROS, R., NAVARRO, R., GARCIA, F. Y ALONZO, M. Efecto del grano de Raps entero en la cantidad de acido linoleico conjugado (CLA) en leche de vacas. In: Gonzales, H. y Iruira, S.,ed. Libro de resúmenes. XXXII Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. 14-16 de Noviembre de 2007. pp. 119-120.
- BAER, R. J. , RYALI, J., SCHINGOETHE, D. J., KASPERSON, K. M., DONOVAN, D. C., HIPPEN, A. R. Y FRANKLIN S. T. 2001. Composition and Properties

of Milk and Butter from Cows Fed Fish Oil. *Journal of Dairy Science*. 84:345–353

BARGO, F., L. D., MULLER, J. E., DELAHOY Y T. W. CASSIDY.2002. Milk Response to Concentrate Supplementation of High Producing Dairy Cows Grazing at Two Pasture Allowances. *Journal of Dairy Science*. 85:1777–1792.

BARGO, F., MULLER, L. D. , KOLVER, E. S. Y DELAHOY J. E. 2003. Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. *Journal of Dairy Science*. 86:1-42.

BARGO F., DELAHOY, J.E. , SCHROEDER, G.F. Y MULLER L.D.2006a . Milk fatty acid composition of dairy cows grazing at two pasture allowances and supplemented with different levels and sources of concentrate. *Animal Feed Science and Technology* 125:17–31

BARGO, F., DELAHOY, J., SCHROEDER, G., BAUMGARD, L. Y MULLER, L. D. 2006b. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.04.017.

BAUMAN, D., BAUMGARD, L., CORL, B. Y GRIINARI, J. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*. E31: 1-15.

BAUMAN, D. E. 2002. Conjugated acid linoleic (CLA) and milk fat: A goods news story. *Proc. Arizona Dairy. Prod. Conf. Tempe. AZ*. pp 47-52.

BAUMAN, D. E., J. W. PERFIELD II, M. J. DE VETH, Y A. L. LOCK. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* pp. 175-189.

BERZAGHI, P., HERBEIN, J. H. y POLAN, C. E. 1996. Intake, Site and Extent of Nutrient Digestion of Lactating Cows Grazing Pasture. *Journal of Dairy Science*. 79:1581-1589.

- BLANKSON, H., STAKKESTAD, J., FAGERTUN, H., THOM, E., WADSTEIN, J. Y GUDMUNDSEN, O. 2000. Conjugated Linoleic Acid Reduces Body Fat Mass in Overweight and Obese Humans. *Journal of Nutrition*, 130:2943-2848.
- BLAS, C. 2004. Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado. 1 Rumiantes. XX Curso de especialización FEDNA. pp 79-100.
- CHILLIARD, Y., Y FERLAY, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 467–492.
- CHILLIARD, Y., FERLAY, A. y DOREAU, M. 2001. Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras trans, polyinsaturés, acide linoléique conjugué *Productions Animales* 14: 323-325.
- CHOUINARD, P. Y., CORNEAU, L., BUTLER, W. R., CHILLIARD, Y., DRACKLEY, J. K., BAUMAN D. E. 2001. Effect of Dietary Lipid Source on Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk Fat. *Journal of Dairy Science*. 84:680–690.
- COLIN F. M. y ALISTER S . M. 1993. Variability of the composition of fish oils: significance for the diet. *Proceedings of the Nutrition Society* 52: 441-456.
- CORL, B. A., P. Y. CHOUINARD, D. E. BAUMAN, D. A. DWYER, J. M. GRIINARI, Y NURMELA, K. V. 1998. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *Journal of Dairy Science*. 81:233 (Abstract).
- COUVREUR, S., HURTAUD, C., LOPEZ, C., DELABY, L. Y PEYRAUD, J.L. 2006. The Linear Relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet,

milk fatty acid composition, and butter properties. *Journal of Dairy Science*. 89:1956-1969.

De PETERS, E. J. y J. P. CANT. 1992. Nutritional Factors Influencing the Nitrogen Composition of Bovine Milk: A Review. *Journal of Dairy Science*. 75:2043-2070.

DE LA FUENTE M. A, JUÁREZ M. 2004. El ácido linoleico conjugado en la leche y los productos lácteos. *Alimentación Nutrición Salud*. Vol. 11, N. ° 4, pp. 100-112, 2004.

DHIMAN T. R., ANAND, G. R., SATTER, L. D. y PARIZA, M. W. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of Milk from Cows Fed Different Diets. . *Journal of Dairy Science*. 82:2146–2156

DHIMAN T. R., SATTER L. D., PARIZA M. W., GALLI M. P., ALBRIGHT K., TOLOSA M. X. 2000. Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content of Milk from Cows Offered Diets Rich in Linoleic and Linolenic Acid. *Journal of Dairy Science*. 83:1016–1027.

DHIMAN T. R., SEUNG-HEE N. y AMY L. R. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid in milk and meat. *Food Science and Nutrition*. 45:463-482.

DIXON, R. M. y STOCKDALE, C. R. 1999. Associative effects between forages and grains : consequences for feed utilisation. *Australian Journal of Agricultural Research*. 50: 757-773.

DONOVAN DC, SCHINGOETHE DJ, BAER RJ, RYALI J, HIPPEN AR, FRANKLIN ST. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty in milk fat from lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 83: 2620-2628.

ESCOBAR, P.B., AVILEZ, J.P., DIAZ, C., VILLAGRAN, K., FABECK, G.V., MATAMOROS, R., NAVARRO, R., GARCIA, F. Y ALONZO, M. 2007. Efecto de la inclusión de extrusado de soya en el concentrado sobre el contenido

de Acido Linoleico Conjugado en leche Bovina proveniente de vacas Jersey. In: Gonzales, H. y Iraira, S.,ed. Libro de resúmenes. XXXII Congreso Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. 14-16 de Noviembre de 2007. pp. 103-104.

FAO. 1986. The production of fish meal and oil. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Italia. 63p.

FRANK, R., SMITH, E. H., BRAUN, H. E., HOLDRINET, M. Y McWADE, J. W. 1975. Organochlorine insecticides and industrial pollutants in the milk supply of the Southern Region of Ontario, Canada. J. Milk Food Technol., 38(2), 65-72.

FRANKLIN, T. C., MARTIN, R.K., BAER, J. R., SCHINGOETHE, J. D., Y HIPPEN, R..A. 1999. Dietary Marine Algae (*Schizochytrium* sp.) Increases Concentrations of Conjugated Linoleic, Docosahexaenoic and Transvaccenic Acids in Milk of Dairy Cows. Journal of Nutrition. 129: 2048–2052.

GAGLIOSTRO, G.A., VIDAURRETA L.I., SCHROEDER G.F., RODRIGUEZ A., GATTI P. 2002. Incrementando los valores basales de ácido linoleico conjugado (CLA) en la grasa butirosa de vacas lecheras en condiciones de pastoreo. Rev. Arg. Prod. Anim., 22 (Suplem.1), 59-60.

GRIGERA NAÓN, J. J., 2003. Alimentación de bovinos para carne y contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en la grasa intramuscular. Usos Alternativos del Girasol en la Alimentación Animal. Asociación Argentina de Girasol (ASAGIR). Cuadernillo Informativo No 4. pp 8-9.

GRIINARI, J. M., CORL, B. A., LACY, S. H., CHOUINARD, P. Y., NURMELA, K.V.V. Y BAUMAN, D. E. 2000. Conjugated Linoleic Acid Is Synthesized Endogenously in Lactating Dairy Cows by $\Delta 9$ -Desaturase. Journal of Nutrition. 130: 2285–2291.

GRUMMER, R.R. 1991. Effect of Feed on the Composition of Milk Fat. Journal of Dairy Science. 74:3244-3257.

- GULATI S.K. , ASHES J.R. Y SCOTT T.W. 1999. Hydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their incorporation into milk fat. *Animal Feed Science and Technology* 79:57-64.
- HARFOOT, C. , NOBLE, R. Y MOORE. J. 1973. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen micro-organisms in vitro. *J. Sci. Food Agric.* 24:961-970.
- HAZARD, S. Y CHRISTEN, M. 2006. Composición y calidad de la leche. *Rev. Tierra Adentro.* N° 66. pp 34-35.
- IFFO. 2006. International Fishmeal and Fish Oil Organisation. Procesamiento de la harina y aceite de pescado. <http://www.iffo.net/default.asp?fname=1&sWebIdiomas=1&url=174>.
- IP, C., BANNI, S., ANGIONI, E., CARTA, G., MCGINLEY, J., THOMPSON, H., BARBANO, D. Y BAUMAN, D. 1999. Conjugated Linoleic Acid–Enriched Butter Fat Alters Mammary Gland Morphogenesis and Reduces Cancer Risk in Rats. *Journal of Nutrition.* 129:2135-2142.
- JENKINS, T. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science.* 76:3851-3863.
- JENKINS, T. C. y M. A. MCGUIRE. 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *Journal of Dairy Science.* 89:1302–1310.
- JENSEN, R., FERRIS, A. Y LAMMI-KEEFE, C. 1991. The Composition of Milk Fat. *Journal of Dairy Science.* 74:3228-3243.
- JENSEN, R. 2002. Invited Review: The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science.* 85:295–350.

- JIANG, J., BJOERCK, L., FONDEN, R., Y EMANUELSON, M.1996. Ocurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecenoic Acid in bovine milk: Effects of feed and dietary regimen. *Journal of Dairy Science*. 79:438-445.
- KAY, J. C., WEBER, W.J., MOORE, C.E., BAUMAN, D.E., HANSEN, L.B., CHESTER-JONES, H., CROOKER, B.A. Y BAUMGARD, L.H.2005. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*.88:3886-3893.
- KRAMER, J. K., PARODI, P. W., JENSEN, R. G., MOSSOBA, M. M., YURAWECZ, M.P. Y ADLOF, R. O. 1998. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids* 33:835.
- KELLY, M. L., KOLVER, E. S., BAUMAN, D. E., VAN AMBURGH, M. E. Y MULLER, L. D.1998. Effect of Intake of Pasture on Concentrations of Conjugated Linoleic Acid in Milk of Lactating Cows. *Journal of Dairy Science*. 81:1630–1636.
- KELSEY J. A, CORL B. A., COLLIER R. J., BAUMAN D. E. 2003. The Effect of Breed, Parity, and Stage of Lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat from Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 2003; 86:2588–2597.
- KHANAL, R.C. Y OLSON, K.C. 2004. Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content in Milk, Meat, and Egg: A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (2): 82-98.
- LATRILLE, L. 1993. El valor nutritivo de la leche bovina y factores que alteran su composicion. En: Latrille L. (Ed). *Producción Animal*. U. Austral de Chile. Facultad de Ciencias agrarias. Instituto de Producción Animal. 17:27-56.
- LEE, K. N., KRITCHEVSSKY, D., PARIZA, M.W. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108, 19-25

- LOCK, A. y GARNWORTHY, P. 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Animal Science* 74: 163-176.
- LOOR, J.J., FERLAY, A., OLLIER, A., DOREAU, M., CHILLIARD, Y., 2002. Conjugated linoleic acids (CLA), trans fatty acids, and lipid content in milk from Holstein cows fed a high or low fiber diet with two levels of linseed oil. *Journal of Dairy Science*. 85 (Suplem. 1), 297.
- MULLER L. D., DE LAHOY J. E. 2004. Conjugated Linoleic Acid (CLA) Implications for Animal Production and Human Health. Department of Dairy and Animal Science The Pennsylvania State University. Dairy and Animal Science. DAS 04-88. 8p.
- MOLONEY, A. P., MOONEY, M. T., KERRY, J. P. Y TROY, D. J. 2001. Producing tender and flavoursome beef with enhanced nutritional characteristics. *Proc. Nutr. Soc.* 60, 221-229.
- NEY, D.M. 1991. Symposium: The role of the nutritional and health benefits in the marketing of dairy products. Potential for Enhancing the Nutritional Properties of Milk Fat. *Journal of Dairy Science*. 74:4002-4012.
- PETERSON, D. G. KELSEY, J. A. Y BAUMAN, D. E. 2002. Analysis of Variation in cis-9, trans-11 Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 85:2164-2172.
- PALMQUIST, D. L. , BEAULIEU, A. D. Y BARBANO, D. M. 1993. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *Journal of Dairy Science*. 76:1753-1771
- PALMA, H., NAVARRO, J., PEÑA, E. y MARTINEZ, G. 2002. Effect of three conditioning diets on the fatty acid composition of gonads and muscle of *Argopecten purpuratus*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 36:605-620.

- PARODI, P. W. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Nutrition*. 127:1055–1160.
- PEYRAUD, J.L., DELABY, L. Y DELAGARDE, R. 1997. Quantitative approach of dairy cows nutrition at grazing: Some recent developments. In. Latrille y Chahin eds. *Serie Simposios y Compendios. SOCHIPA*. Vol. 5.
- PICÓ, R. 1984. Efecto de la alimentación y números de lactancias sobre la composición de la leche: ácidos grasos y minerales. Tesis presentada como requisito para optar al grado de Ing. Agrónomo. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- PINTO, M., RUBILAR, A., CARRASCO, E. et al. 2002. Efecto Estacional y del Área Geográfica en la Composición de Ácidos Grasos en la Leche de Bovinos. *Agro Sur*, Vol. 30, No. 2, pp. 75-90.
- POLAN, C., MCNEILL J., Y. TOVE S. 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol*. 88:1056-1064.
- RAMASWAMY, N., R. J. BAER, D. J. SCHINGOETHE, A. R. HIPPEN, K. M.KASPERSON, AND L. A. WHITLOCK. 2001. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *Journal of Dairy Science*. 84:2144–2151.
- RIQUELME, C. 2007. Efecto del nivel de suplementación con concentrado sobre el consumo voluntario y comportamiento ingestivo en vacas lecheras a pastoreo. Tesis Med. Vet. Valdivia. Universidad Austral de Chile. 45 p.
- REGO, O.A., ROSA, H.J.D., PORTUGAL, P., CORDEIRO, R., BORBA A.E.S., VOUZELA, C.M., BESSA, R.J.B.2005. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livestck Production Science*. 95:27-33.
- REIS, R. B., Y D. K. COMBS. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy

cows grazing grass-legume pasture. *Journal of Dairy Science*. 83:2888–2898.

SALMONCHILE. 2005. Informe Económico Salmonicultura 2005. 109p.

SCHROEDER, G. F., DELAHOY, J. E., VIDAURRETA, I., BARGO, F., GAGLIOSTRO, G. A. Y MULLER, L. D. 2003. Milk Fatty Acid Composition of Cows Fed a Total Mixed Ration or Pasture Plus Concentrates Replacing Corn with Fat. *Journal of Dairy Science*. 86:3237–3248.

SCHROEDER, G.F., GAGLIOSTRO, G.A., BARGO, F., DELAHOY, J.E. Y MULLER L.D. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science* 86 : 1 –18.

SHINGFIELD, K. J., REYNOLDS, C. K., HERVA´ S, G., GRIINARI, J. M., GRANDISON, A. S. Y BEEVER, D. E. 2006. Examination of the Persistency of Milk Fatty Acid Composition Responses to Fish Oil and Sunflower Oil in the Diet of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 89:714–732.

SHINGFIELD K. J., AHVENJÄRVI S., TOIVONEN V., ÄRÖLÄ A., NURMELA K. V. V., HUHTANEN P. y GRIINARI J. M. 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science*. 77; 165-179.

SCHINGOETHE, D. Y GARCIA, A. 2004. Alimentación y manejo de becerras y vaquillas lecheras. Dairy Science Department. <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4020S.pdf>.

SCHUTZ, M. M., HANSEN, L. y STEUERNAGEL, G. R. 1990. Variation of Milk, Fat, Protein, and Somatic Cells for Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. 73:484-493

STOCKDALE, C. R. 2004. Effects of level of feeding of concentrates during early lactation on the yield and composition of milk from grazing dairy cows with

varying body condition score at calving. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44:1-9.

THORSODDOTTIR, I., HILL, J. Y RAMEL, A. Short Communication: Seasonal Variation in cis-9, trans-11 Conjugated Linoleic Acid Content in Milk Fat from Nordic Countries. *Journal of Dairy Science*. 87:2800–2802.

WALKER, G. P., C. R. STOCKDALE, W. J. WALES, P. T. DOYLE, Y D. W. DELLOW. 2001. Effect of level of grain supplementation on milk production responses of dairy cows in mid-late lactation when grazing irrigated pastures high in paspalum (*Paspalum dilatatum* Poir.). *Aust. J. Exp. Agric.* 41:1–11.

WALKER, G.P., F.R. DUNSHEA, Y DOYLE, P.T. 2004. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 55: 1009-1028.

WHITLOCK, L. A., SCHINGOETHE, D. J., HIPPEN, A. R., KALSCHUR, K. F. , BAER, R. J., RAMASWAMY, N. Y KASPERSON, K. M. 2002. Fish Oil and Extruded Soybeans fed in combination increase Conjugated Linoleic Acids in Milk of Dairy Cows more than when Fed separately. *Journal of Dairy Science*. 85:234–243

WIJESUNDERA, CH., SHEN, Z., WALES, W. J. Y DALLEY, D. E. 2003. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Research*. 70: 257–265.

ANEXOS

Anexo 1: Características de las vacas utilizadas en cada tratamiento.

GRUPO I = SOLO PASTOREO							
CROTAL	N°	Peso vivo	CC	Producción Láctea	N° Parto	Fecha de parto	Días en Lactancia
1252	1	683	3,3	28,4	3	12-07-05	114
2331	2	451	2,5	24	3	05-08-05	90
839	3	535	2,5	30,3	4	27-07-05	99
2227	4	421	2,3	28,2	4	23-08-05	72
1954	5	550	2,3	29	7	16-08-05	79
1221	6	481	1,7	30	6	11-08-05	84
1464	7	540	2,5	25,5	3	28-08-05	67
PROM./GRUPO		523	2,4	27,9	4,3		86,4

GRUPO II = PASTOREO + 3K CONCENTRADO							
CROTAL	N°	Peso vivo	CC	Producción Láctea	N° Parto	Fecha de parto	Días en Lactancia
1337	1	567	3	30,6	3	17-08-05	78
2107	2	610	2,5	32,4	4	04-08-05	91
1228	3	560	2,5	27,2	5	19-07-05	107
408	4	516	2	29,4	7	12-08-05	83
465	5	572	2,3	35,1	3	24-08-05	71
852	6	480	2	35	3	19-07-05	107
1507	7			28	3	11-08-05	84
PROM./GRUPO		551	2,4	31,1	4,0		88,7

GRUPO III = PASTOREO + 6K CONCENTRADO							
CROTAL	N°	Peso vivo	CC	Producción Láctea	N° Parto	Fecha de parto	Días en Lactancia
865	1	600	3	24,8	4	28-08-05	67
643	2	488	2,3	29,2	5	14-08-05	81
2348	3	492	2,3	29,1	3	07-08-05	88
638	4	470	2	33,6	5	22-07-05	104
2117	5	627	2,5	40,3	4	11-08-05	84
678	6	506	2,3	31,6	4	08-07-05	118
2243	7			32	3	01-09-05	63
PROM./GRUPO		531	2,4	31,5	4,0		86,4

GRUPO IV = PASTOREO + 9K CONCENTRADO							
CROTAL	N°	Peso vivo	CC	Producción Láctea	N° Parto	Fecha de parto	Días en Lactancia
1394	1	542	2,7	26,8	3	04-08-05	91
1162	2	500	2,3	29,4	3	04-08-05	91
308	3	589	2,7	38,2	6	06-09-05	58
274	4	557	2,3	32,4	7	23-07-05	103
1174	5	479	2,3	29	3	10-07-05	116
750	6	525	2,3	30,8	4	02-07-05	124
2231	7			22,6	3	04-08-05	91
PROM./GRUPO		532	2,4	29,9	4,1		96,3

Anexo 2:

CARACTERISTICAS NUTRICIONALES DE ALIMENTOS UTILIZADOS EN EL EXPERIMENTO I																							
	M.S. (%)		C.T. (%)		P.B. (%)		E.E. (%)		E.M (Mcal/K)		F.D.N. (%)		F.D.A. (%)										
	prom	d.s.	prom	d.s.	prom	d.s.	prom	d.s.	prom	d.s.	prom	d.s.	prom	d.s.									
Concentrado*	87,3	0,96	2,74	0,13	12,4	0,42	2,42	0,16	3,15	0,08	22,8	1,81	5,7	0,31									
Pradera	18,8	2,32	7,9	0,42	23,3	2,5	3	0,66	3	0,06	42,1	3,01	20,8	-									
*Formulacion del Concentrado utilizado en la fase I																							
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ALIMENTOS</th> <th>% BMS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cebada</td> <td>94</td> </tr> <tr> <td>Afrecho Raps</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Melaza</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table>																ALIMENTOS	% BMS	Cebada	94	Afrecho Raps	4	Melaza	2
ALIMENTOS	% BMS																						
Cebada	94																						
Afrecho Raps	4																						
Melaza	2																						

ANEXO 3:

FICHA TECNICA DEL ACEITE DE SALMON			
ANALISIS TÍPICOS	UNIDADES	MIN	MAX
ACIDEZ	%	1,5	3,5
INDICE DE PEROXIDO	MILIEQUIV. OXIGENO/KG	4	6
HUMEDAD	%	0,1	0,7
ANALISIS ESPECIALES	UNIDADES	MIN	MAX
IMPUREZAS INSOLUBLES	%	0,01	0,09
INDICE DE SAPONIFICACION	MILIEQUIV. KOH/KG	170	190
MATERIAS INSAPONIFICABLES	%	2	2,5
INDICE DE YODO	GR YODO/100 GR	170	175
TOTOX (2IP+1A)		18	19
p-ANISYDIA (A)		6	9,5
ASTAXANTINA	PPM	7	25
COLOR GARDNER		12	13
PRINCIPALES ACIDOS GRASOS			
C16:0 (PALMITICO)		16,2	18,4
C18:1(OLEICO)		23,3	27,9
C20:5 W3 (EPA)		8,9	9,5
C22:6 W3 (DHA)		8,9	13,8
EPA+DHA		17,8	23,3
TOTAL OMEGA-3		23,9	30,8

FUENTE: Pesquera Pacific Star.

ANEXO 4:

CARACTERISTICAS NUTRICIONALES DE LOS ALIMENTOS UTILIZADOS EN EL EXPERIMENTO II (BMS)

	M.S. (%)	C.T. (%)	P.B. (%)	E.E. (%)	F.C. (%)	E.M (Mcal/K)	F.D.N. (%)	Ca (%)	P (%)
Afrechillo de Trigo (Collico)	86,53	4,59	15,39	3,49	8,32	2,52	37,93	0,09	0,81
Germen de Trigo (Collico)	87,7	4,3	30,81	9,97	1,49	3,21	9,92	0,08	0,97
Concentrado (GLOVIGOR)	86,89	3,51	18,15	3,62	6,83	2,92	22,12	0,12	0,51

ANEXO 5:

			EXPERIMENTOS					
vacas (N°)	tratamiento	cod.muestra	I			II		
			03-11-2005	10-Nov	16-Nov	24-Nov	06-Dic	12-Dic
1252	1	13	1	2	3	1	2	3
2331	1	27	1	2	3	1	2	3
839	1	18	1	2	3	1	2	3
2227	1	11	1	2	3	1	2	3
1954	1	10	1	2	3	1	2	3
1221	1	9	1	2	3	1	2	3
1464	1	19	1	2	3	1	2	3
1337	2	14	1	2	3			
2107	2	23	1	2	3			
1228	2	24	1	2	3			
408	2	8	1	2	3			
465	2	20	1	2	3			
852	2	1	1	2	3			
1507	2	2	1	2	3			
865	3	3	1	2	3	1	2	3
643	3	17	1	2	3	1	2	3
2348	3	22	1	2	3	1	2	3
638	3	12	1	2	3	1	2	3
2117	3	15	1	2	3	1	2	3
678	3	16	1	2	3	1	2	3
2243	3	21	1	2	3	1	2	3
1394	4	28	1	2	3			
1162	4	26	1	2	3			
308	4	25	1	2	3			
274	4	7	1	2	3			
1174	4	5	1	2	3			
750	4	4	1	2	3			
2231	4	6	1	2	3			
			Experimento I			Experimento II		
		Trat 1	pastoreo sólo			Trat. 1	supl aceite + 0 conc	
		Trat 2	past + 3 kg conc			Trat. 4	0 aceite + 6 kg conc	
		Trat 3	past + 6 kg conc					
		Trat 4	past + 9 kg conc					
					*	fechas muestreos		

ANEXO 6: Análisis de Varianza de los parámetros medidos en el experimento**1.**

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRODUCCION DE LECHE, EXPRESADO COMO K/VACA/DIA

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	184,872	3	61,6239	4,48	0,0061
B: SEMANAS	11,9467	2	5,97333	0,43	0,6497
INTERACCION					
AB	9,35429	6	1,55905	0,11	0,9946
ERROR	991,437	72	13,77		

TOTAL	1197,61	83			

Test de comparación de Tuckey (95%) para la producción de leche, expresado como k/vaca/día.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION

1	21	26,281	X
4	21	27,5952	XX
3	21	29,4667	X
2	21	29,9952	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*-3,71429	3,0119
1 - 3		*-3,18571	3,0119
1 - 4		-1,31429	3,0119
2 - 3		0,528571	3,0119
2 - 4		2,4	3,0119
3 - 4		1,87143	3,0119

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE MATERIA GRASA (%) EN LA LECHE.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	7,58196	3	2,52732	15,54	0,0000
B: SEMANAS	0,150968	2	0,0754841	0,46	0,6306
INTERACCION					
AB	0,630372	6	0,105062	0,65	0,6931
ERROR	11,3857	70	0,162654		
TOTAL	19,7247	81			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de materia grasa, expresado en %.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
4	21	3,16667	X
3	19	3,39171	X
2	21	3,44524	X
1	21	3,98619	X
CONTRASTE			
		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		*0,540952	0,327568
1 - 3		*0,594484	0,336544
1 - 4		*0,819524	0,327568
2 - 3		0,0535317	0,336544
2 - 4		0,278571	0,327568
3 - 4		0,22504	0,336544

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE PROTEINA, EXPRESADO EN %.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,185941	3	0,0619805	1,66	0,1843
B: SEMANAS	0,111382	2	0,0556911	1,49	0,2328
INTERACCION					
AB	0,0758956	6	0,0126493	0,34	0,9145
ERROR	2,61915	70	0,0374164		
TOTAL	2,98541	81			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C10:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,626593	1	0,626593	0,27	0,6061
B: SEMANAS	2,52663	2	1,26332	0,55	0,5842
INTERACCION					
AB	0,959957	2	0,479979	0,21	0,8137
ERROR	83,3579	36	2,3155		

TOTAL	87,4711	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C12:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,981343	1	0,981343	0,50	0,4824
B: SEMANAS	4,13572	2	2,06786	1,06	0,3564
INTERACCION					
AB	2,31536	2	1,15768	0,59	0,5572
ERROR	70,1165	36	1,94768		

TOTAL	77,5489	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C13:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,00173571	1	0,00173571	0,29	0,5922
B: SEMANAS	0,00927619	2	0,0046381	0,78	0,4657
INTERACCION					
AB	0,0230286	2	0,0115143	1,94	0,1587
ERROR	0,213857	36	0,00594048		

TOTAL	0,247898	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C14:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	1,65212	1	1,65212	0,10	0,7489
B: semanas	30,4033	2	15,2017	0,96	0,3934
INTERACCION					
AB	1,34009	2	0,670045	0,04	0,9587
ERROR	571,55	36	15,8764		

TOTAL	604,945	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C14:1 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,000152381	1	0,000152381	0,00	0,9847
B: semanas	2,28118	2	1,14059	2,80	0,0740
INTERACCION					
AB	0,452319	2	0,22616	0,56	0,5786
ERROR	14,6567	36	0,407132		

--					
TOTAL	17,3904	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C16:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	115,566	1	115,566	1,69	0,2025
B: semanas	175,575	2	87,7877	1,28	0,2903
INTERACCION					
AB	23,5041	2	11,752	0,17	0,8431
ERROR	2397,49	35	68,4997		

TOTAL	2708,86	40			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	219,52	1	219,52	39,71	0,0000
B: semanas	3,3463	2	1,67315	0,30	0,7407
INTERACCION					
AB	5,13209	2	2,56605	0,46	0,6324
ERROR	199,014	36	5,52818		

TOTAL	427,013	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:0 en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION

2	21	6,18952	X
1	21	10,7619	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*4,57238	1,47158

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:1 (trans-9) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	174,869	1	174,869	4,97	0,0321
B: semanas	79,6301	2	39,815	1,13	0,3335
INTERACCION					
AB	29,5724	2	14,7862	0,42	0,6599
ERROR	1265,97	36	35,1659		

TOTAL	1550,04	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:1 (trans-9) en la leche, expresado como g/100g de ácidos grasos totales.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
2	21	8,97762	X
1	21	13,0586	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		*4,08095	3,7115

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:2 (cis-9; trans-11) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,134188	1	0,134188	2,39	0,1312
B: semanas	0,42803	2	0,214015	3,81	0,0317
INTERACCION					
AB	0,0209179	2	0,010459	0,19	0,8311
ERROR	2,0244	36	0,0562334		
TOTAL	2,60754	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:2 (cis-9; trans-11) en la leche, expresado como g/100g de ácidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
1	14	0,389286	X
2	14	0,445714	XX
3	14	0,626	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		-0,0564286	0,219119
1 - 3		*-0,236714	0,219119
2 - 3		-0,180286	0,219119

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:3 (cis-9; cis-12; cis-15) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,0332665	1	0,0332665	0,70	0,4085
B: semanas	0,0774402	2	0,0387201	0,81	0,4510
INTERACCION					
AB	0,0780176	2	0,0390088	0,82	0,4483
ERROR	1,66325	35	0,0475216		

TOTAL	1,85535	40			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA CORTA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	433,061	1	433,061	1,86	0,1812
B: semanas	947,85	2	473,925	2,03	0,1455
INTERACCION					
AB	108,807	2	54,4033	0,23	0,7929
ERROR	8384,49	36	232,903		

TOTAL	9874,21	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA MEDIA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	39,611	1	39,611	0,34	0,5650
B: semanas	430,113	2	215,056	1,83	0,1748
INTERACCION					
AB	27,1406	2	13,5703	0,12	0,8912
ERROR	4227,06	36	117,418		

TOTAL	4723,92	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA LARGA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	210,726	1	210,726	4,66	0,0376
B: semanas	103,157	2	51,5783	1,14	0,3308
INTERACCION					
AB	28,4356	2	14,2178	0,31	0,7321
ERROR	1627,55	36	45,2096		

TOTAL	1969,86	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de ac.grasos de cadena media en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION

2	21	25,4382	X
1	21	29,9181	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*4,47986	4,20833

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS SATURADOS EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	2,36669	1	2,36669	0,03	0,8660
B: semanas	4,7231	2	2,36155	0,03	0,9716
INTERACCION					
AB	339,146	2	169,573	2,07	0,1411
ERROR	2950,96	36	81,9712		

TOTAL	3297,2	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS INSATURADOS
EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	482,363	1	482,363	2,07	0,1592
B: semanas	187,533	2	93,7666	0,40	0,6722
INTERACCION					
AB	566,704	2	283,352	1,21	0,3089
ERROR	8404,21	36	233,45		

TOTAL	9640,81	41			

ANEXO 7: Análisis de Varianza de los parámetros medidos en el experimento**2.****ANALISIS DE VARIANZA PARA LA PRODUCCION DE LECHE, EXPRESADO COMO K/VACA/DIA**

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	198,469	1	198,469	18,58	0,0001
B: SEMANAS	70,5033	2	35,2517	3,30	0,0483
INTERACCION					
AB	0,751905	2	0,375952	0,04	0,9654
ERROR	384,477	36	10,6799		

TOTAL	1197,61	83			

Test de comparación de Tuckey (95%) para la producción de leche, expresado como k/vaca/día.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
1	21	22,5524	X
2	21	26,9	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*-4,34762	2,0454

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE MATERIA GRASA (%) EN LA LECHE.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	1,6284	1	1,6284	5,27	0,0276
B: SEMANAS	0,11293	2	0,0564649	0,18	0,8338
INTERACCION					
AB	0,266858	2	0,133429	0,43	0,6527
ERROR	11,1271	36	0,309086		

TOTAL	13,1353	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de materia grasa, expresado en %.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
2	21	3,74619	X
1	21	4,14	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		*0,39381	0,347964

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE PROTEINA, EXPRESADO EN %.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,0000291667	1	0,0000291667	0,00	0,9800
B: SEMANAS	0,142523	2	0,0712613	1,56	0,2247
INTERACCION					
AB	0,0311083	2	0,0155542	0,34	0,7142
ERROR	1,64799	36	0,0457774		
TOTAL	1,82165	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C10:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	1,04975	1	1,04975	1,91	0,1760
B: SEMANAS	1,63034	2	0,815171	1,48	0,2412
INTERACCION					
AB	0,722305	2	0,361152	0,66	0,5252
ERROR	19,8314	36	0,550873		
TOTAL	23,2338	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C12:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	3,76801	1	3,76801	3,14	0,0849
B: SEMANAS	0,901471	2	0,450736	0,38	0,6897
INTERACCION					
AB	0,808662	2	0,404331	0,34	0,7163
ERROR	43,223	36	1,20064		

TOTAL	48,7011	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C13:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: TRATAMIENTOS	0,190688	1	0,190688	1,02	0,3200
B: SEMANAS	0,211733	2	0,105867	0,56	0,5736
INTERACCION					
AB	0,411733	2	0,205867	1,10	0,3446
ERROR	6,75223	36	0,187562		

TOTAL	7,56638	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C14:0 EN LA LECHE,
EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	9,01647	1	9,01647	1,25	0,2702
B: semanas	7,55006	2	3,77503	0,53	0,5960
INTERACCION					
AB	17,6288	2	8,81439	1,23	0,3054
ERROR	258,811	36	7,18918		

TOTAL	293,006	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C14:1 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,803717	1	0,803717	4,58	0,0391
B: semanas	0,118805	2	0,0594024	0,34	0,7149
INTERACCION					
AB	0,0966333	2	0,0483167	0,28	0,7607
ERROR	6,31186	36	0,175329		

TOTAL	7,33101	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C14:1 en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION

1	21	1,48905	X
2	21	1,76571	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*-0,276667	0,262073

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C16:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	56,9443	1	56,9443	1,17	0,2871
B: semanas	63,3344	2	31,6672	0,65	0,5280
INTERACCION					
AB	39,1782	2	19,5891	0,40	0,6716
ERROR	1555,08	32	48,5962		

TOTAL	1721,49	37			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:0 EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	1,02461	1	1,02461	0,27	0,6043
B: semanas	10,9892	2	5,49462	1,47	0,2443
INTERACCION					
AB	20,2033	2	10,1016	2,69	0,0812324
ERROR		134,949		36	3,74857

TOTAL	167,166	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:1 (trans-9) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	149,009	1	149,009	3,20	0,0821
B: semanas	551,234	2	275,617	5,92	0,0060
INTERACCION					
AB	43,8213	2	21,9106	0,47	0,6285
ERROR	1676,64	36	46,5734		

TOTAL	2420,71	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:1 (trans-9) en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

TRATAMIENTO	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION

2	14	11,0043	X
1	14	12,8571	X
3	14	19,4464	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		1,85286	6,30597
1 - 3		*-6,58929	6,30597
2 - 3		*-8,44214	6,30597

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:2 (cis-9; trans-11) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,0184186	1	0,0184186	0,59	0,4492
B: semanas	0,368303	2	0,184152	5,86	0,0064
INTERACCION					
AB	0,275082	2	0,137541	4,37	0,0202
ERROR	1,10068	35	0,0314481		

TOTAL	1,74424	40			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:2 (cis-9; trans-11) en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
1	14	0,467143	X
3	13	0,495595	X
2	14	0,679286	X

CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)

1 - 2		*-0,212143	0,164064
1 - 3		-0,0284524	0,167447
2 - 3		*0,18369	0,167447

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE C18:3 (cis-9; cis-12; cis-15) EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,0656095	1	0,0656095	3,68	0,0631
B: semanas	0,177086	2	0,0885429	4,97	0,0125
INTERACCION					
AB	0,018419	2	0,00920952	0,52	0,6010
ERROR	0,642	36	0,0178333		

TOTAL	0,903114	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de C18:3 (cis-9; cis-12; cis-15) en la leche, expresado como g/100g de ácidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
3	14	0,628571	X
2	14	0,718571	XX
1	14	0,787143	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		0,0685714	0,123395
1 - 3		*0,158571	0,123395
2 - 3		0,09	0,123395

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA CORTA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	8,02594	1	8,02594	2,90	0,0708
B: semanas	16,7061	2	8,35304	3,01	0,5612
INTERACCION					
AB	27,605	2	13,8025	4,98	0,6897
ERROR	99,7392	36	2,77053		-
TOTAL	152,076	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA MEDIA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	64,8274	1	64,8274	3,57	0,0669
B: semanas	143,045	2	71,5226	3,94	0,0283
INTERACCION					
AB	20,9288	2	10,4644	0,58	0,5670
ERROR	653,459	36	18,1516		-

TOTAL	4723,92	41
-------	---------	----

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de ac.grasos de cadena media en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
3	14	42,4564	X
2	14	42,7943	XX
1	14	46,5293	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		3,735	3,93677
1 - 3		*4,07286	3,93677
2 - 3		0,337857	3,93677

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS DE CADENA LARGA EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P
FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	25,5528	1	25,5528	1,22	0,2772
B: semanas	134,507	2	67,2534	3,20	0,0524
INTERACCION					
AB	13,138	2	6,56898	0,31	0,7333
ERROR	755,762	36	20,9934		
TOTAL	928,959	41			

Test de comparación de Tuckey (95%) para el contenido de ac.grasos de cadena larga en la leche, expresado como g/100g de acidos grasos totales.

SEMANAS	NUMERO	PROMEDIO	COMPARACION
1	14	36,0486	X
3	14	36,6193	X
2	14	40,0979	X
CONTRASTE		DIFERENCIA	LIMITES (+/-)
1 - 2		-4,04929	4,23374
1 - 3		-0,570714	4,23374

2 - 3	3,47857	4,23374
-------	---------	---------

(*)=DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS SATURADOS EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	39,2853	1	39,2853	0,22	0,6444
B: semanas	95,851	2	47,9255	0,26	0,7692
INTERACCION					
AB	59,6127	2	29,8064	0,16	0,8490
ERROR	6526,73	36	181,298		

TOTAL	6721,48	41			

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE AC. GRASOS INSATURADOS EN LA LECHE, EXPRESADO COMO G/100G DE ACIDOS GRASOS TOTALES.

FUENTE	SC	GL	CM	VALOR F	VALOR P

FACTOR DE VARIACION					
A: tratamientos	0,19886	1	0,19886	0,00	0,9663
B: semanas	81,0871	2	40,5436	0,37	0,6946
INTERACCION					
AB	1,19442	2	0,59721	0,01	0,9946
ERROR	3965,39	36	110,15		

TOTAL	4047,87	41			