



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“EFECTO DE UN PROBITICO DE BACTERIAS LÁCTICAS EN LA DIETA DE BOVINOS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE Y/O QUESO EN PASTOREO O ESTABULACIÓN”.

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

IRVING HERNÁNDEZ OSORNIO

ASESOR:

Dr. MIGUEL ÁNGEL GALINA HIDALGO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES - CUAUTILÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTILÁN
PRESENTE

ATN: M. en A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautilán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos **La Tesis:**

“Efecto de un probiótico de bacterias lácticas en la dieta de bovinos sobre la concentración de ácidos grasos de la leche y/o queso en pastoreo o estabulación”

Que presenta el pasante: **IRVING HERNÁNDEZ OSORNIO**

Con número de cuenta: **30709327-3** para obtener el Título de: **Médico Veterinario Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautilán Izcalli, Méx. a 27 de marzo de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

| | NOMBRE | FIRMA |
|---------------------|-------------------------------------|-------|
| PRESIDENTE | Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo | |
| VOCAL | Dr. Fernando Osnaya Gallardo | |
| SECRETARIO | Dra. María Magdalena Guerrero Cruz | |
| 1er SUPLENTE | Dra. Marisela Leal Hernández | |
| 2do SUPLENTE | Dra. Ma. de los Ángeles Ortiz Rubio | |

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.

(Art 127 REP)

HHA/Vc

AGRADECIMIENTOS:

A mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme a través de sus profesores e instalaciones la instrucción y capacitación necesaria para desarrollar mis capacidades.

A su programa PAPIIT con el proyecto IT202014-3 “Efecto del uso de probióticos como suplemento de rumiantes en pastoreo, sobre el perfil de ácidos grasos saturados y no saturados en queso y/o leche”, gracias al cual obtuve una beca para facilitar mi trabajo.

Agradezco a todas las personas involucradas en este proyecto, a mis asesores, pero sobre todo especialmente a mi tutor, el Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo.

Por su apoyo y conocimiento brindados, pero principalmente por sus amistad y sus consejos.

A mis padres que siempre me apoyaron en cada momento, por todo su esfuerzo para darme todo lo que necesite y mucho más, por todo su amor, muchas gracias.

A mis hermanos por todos sus buenos deseos y creer en mí, gracias por todo su apoyo y comprensión.

A mi novia y mejor amiga Estefania que ha compartido a mi lado todos los aspectos de mi vida, por su apoyo incondicional y por todos los momentos felices y difíciles que hemos pasado juntos, muchas gracias, solo puedo decirte “Te amo con todo mi corazón”.

A todos mis amigos por darme alegría en el día a día, por compartir conmigo una etapa tan importante y por ser mis compañeros de vida.

INDICE:

| | |
|--|-----------|
| Introducción..... | 6 |
| Antecedentes de la calidad de la leche de pastoreo en México..... | 10 |
| Lípidos..... | 15 |
| Estructura y clasificación..... | 15 |
| Ácidos grasos (AG)..... | 15 |
| El perfil de ácidos grasos y la proporción de ácidos grasos insaturados omega 6: omega 3..... | 16 |
| Digestión y metabolismo ruminal de los lípidos..... | 20 |
| Lipólisis..... | 20 |
| Biohidrogenación..... | 21 |
| Bioquímica del proceso de biohidrogenación..... | 22 |
| Descripción del mecanismo de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados..... | 24 |
| Síntesis microbiana de ácidos grasos..... | 28 |
| Digestión y absorción intestinal..... | 28 |
| Transporte séricos de lípidos en el rumiante..... | 29 |
| Lipoproteínas en la síntesis láctea..... | 30 |
| Colesterol..... | 31 |
| Síntesis del colesterol..... | 32 |
| Hipótesis..... | 33 |
| Objetivo(s) del trabajo..... | 33 |
| Material y métodos..... | 34 |
| Análisis estadístico..... | 39 |
| Resultados..... | 40 |
| Discusión..... | 52 |
| Conclusiones..... | 57 |
| Literatura citada..... | 58 |

INTRODUCCIÓN:

La leche representa la quinta parte del valor total de la producción pecuaria en México, siendo la tercera en importancia, en nuestro país se ordeñan 11 millones de litros de leche diariamente, de los cuales el 80% proviene de altas o medianas productoras, de aproximadamente 50 mil establos de 100 vacas o más, solo el 20% lo producen estacionalmente ganaderos de menos de 50 vacas, principalmente en los trópicos. El sistema de manejo tradicional de lechería no especializada concentra al 67 % del hato de nuestro país participando tan sólo con el 20% de la producción del lácteo a nivel nacional. Este sistema tradicional utiliza ganado Cebú criollo o cruza con Suizo, Holstein y/o Simental, las vacas son ordeñadas principalmente en las épocas de lluvia.

Estos animales se encuentran en praderas, ofertando ocasionalmente suplementos alimenticios. Los hatos en las unidades productivas tienen entre 30 y 40 cabezas. La infraestructura es escasa y la rentabilidad baja. La producción es estacional y se destina fundamentalmente a la venta directa al consumidor. La dispersión de la oferta, la presencia de la leche rehidratada, los costos del combustible y la inseguridad en el campo, hacen que este sistema de producción sea muy vulnerable (SAGARPA, 2014).

Las políticas gubernamentales en México y en mayoría de los países de América Latina, quizás con la excepción de Argentina, Uruguay, Brasil y Cuba, ha sido mantener un estricto control a la baja del precio de la leche, esto lo logran mediante la importación de leche en polvo, de Estados Unidos y Nueva Zelanda principalmente, en México prácticamente de los 16 millones de litros que se consumen al día, por los más de 100 millones de mexicanos, 5 millones provienen de la importación o sea el 31.7% mientras que se producen 11 millones o sea el 68.3% del consumo nacional, con una política de subsidio para las clases marginadas a costa de los productores que no tienen sostenibilidad económica, por ello a las grandes industrializadoras de leche se les dan cuotas de importación de leche en polvo para regular la oferta con perjuicio de los ganaderos. Si los productores exigen un mejor precio, los industrializadores recurren entre otras medidas a sus cuotas de importación de leche en polvo, manteniendo los precios bajos a los ganaderos, que en ocasiones han tirado volúmenes importantes de leche para demostrar su descontento (Galina, 2014).

En México el 95% de los ganaderos tienen menos de 50 vacas y muchos de ellos las tienen básicamente en pastoreo, particularmente en los trópicos, donde se ordeñan alrededor de 2 millones de litros de leche diarios, con enormes desviaciones estándar, dependiendo de la época del año, en el invierno sube el precio que se le paga al ganadero, pero pocos tienen leche, mientras que en el verano baja cuando todos los productores dependientes de los pastizales ordeñan, las vacas en promedio dan 10 a 15 litros diarios, en lactancias de 150 a 210 días, se calcula que son más un millón de ganaderos que emplean entre 3 a 4 millones de trabajadores fijos o eventuales, (CANILEC, 2014).

Pese a que no existe en México un estudio con un enfoque de organización empresarial para el mercado de la leche, con el objeto de determinar su estructura, es claro que ésta tiende a observar un cierto grado de concentración por la industria. Las decisiones de localización de las transformadoras dominantes han determinado la condensación de la producción en algunas regiones productivas del país (Comarca Lagunera, Jalisco, Guanajuato, Querétaro e Hidalgo) cerca de las grandes urbes. Sin embargo, pese a que la disponibilidad de los insumos de producción a través de una integración horizontal de diferentes empresas, se ha desarrollado acorde con las necesidades de la industria, la intensidad con la que el sistema productivo de la leche, tecnificado o familiar, utiliza recursos naturales; plantea una seria limitante para un incremento sostenido de la escala de la producción (CANILEC, 2014).

Uno de los problemas estructurales es la importación de leche en polvo, en nuestro país se hidratan diariamente 5 millones de litros de leche en polvo, lo que en los últimos 5 años ha mantenido el precio de la leche de vaca con moderados incrementos, que no son comparables a los aumentos en los insumos necesarios para la producción de lácteos. El modelo es totalmente dependiente de los forrajes de corte acompañada de un altísimo uso de concentrados, que son más del 50% del alimento de los bovinos, el precio de los suplementos se ha incrementado 45% en los últimos cinco años, la gasolina 75% mientras que la leche solamente un 15%. Los márgenes de rentabilidad se han disminuido por lo que los ganaderos sobrevivientes tienden a incrementar el número de vacas o la producción de las mismas, que se traduce generalmente en bajos índices de fertilidad,

las vacas literalmente son usadas dos o tres años y remplazadas por novillas gestantes (CANILEC, 2014).

Recientemente el Dr. Roberto Rubino de ANFOSC (Asociación Nacional de Queso Cerca del Cielo, siglas en italiano), cuestionaba el sistema de cuotas de leche que ha beneficiado a los grandes productores (en México a los industrializadores), pero que ha dañado severamente a los pequeños ganaderos, que cada día con mayor frecuencia abandona la actividad, a pesar de las diferencias entre sistemas y productores los problemas son muy similares, los costos se incrementan los beneficios disminuyen, hay desaliento y abandono de la actividad por los pequeños productores. (Rubino, 2014).

En México no tenemos a la vista una solución alternativa, sino la propuesta habitual y en opinión del investigador italiano obsoleta: *“de reducir los costos de producción, para disminuir los precios a la venta, para poder competir con los precios de la leche en polvo rehidratada”*, que en Estados Unidos, cuenta con un importante subsidio gubernamental, decía Albert Einstein *“si aplicamos la misma solución para el mismo problema, tendremos el mismo resultado”*.

Es curioso que una industria que ha estado en permanente desarrollo y que utiliza hasta el máximo de la innovación tecnológica y el mundo de la investigación, ni siquiera haya sido capaz de desarrollar un modelo teórico para salir de la crisis, del 95% de los ganaderos en México, que esperan alternativas, abandonando la actividad, desapareciendo gradualmente. La mejora genética continúa con la misma premisa para seleccionar los animales, para perpetuar y mantener vivo un sistema económico, que ha llevado a la ganadería a una crisis permanente, que en el principal de los escenarios, mejora algún aspecto de la producción animal (Rubino, 2014).

Estas vacas altas productoras, al menos deberían tener acceso a una fuente de alimentación capaz de salvaguardar la salud del animal, mejorando la calidad de la leche y la carne, pero ni este objetivo tiene viabilidad económica, debido a que una buena nutrición es demasiado cara, siendo lo más importante la rentabilidad, que en México se hace viable solo con 500 vacas, en línea de ordeña, de producciones de 6 a 10 mil litros por lactación, discutía un investigador mexicano recientemente, que cuando iniciaba su práctica profesional en los 60's un establo de 100 vacas era un buen negocio,

con animales de 4 o 5 mil litros ordeña, ese modelo es hoy económicamente obsoleto, por lo tanto han desaparecido miles de ganaderos (Galina, 2014).

Por lo tanto la producción se ha concentrado en un menor número de operarios, que se encuentran también en “crisis” por el precio de la leche, que deja márgenes muy pequeños de rentabilidad y que no puede competir con los precios subsidiados de la leche en polvo de importación (Galina, 2014).

En México se importa particularmente de los Estados Unidos o Nueva Zelanda, los ganaderos siguen en la producción porque no encuentran quién les compre los ranchos, los establos, eventualmente por la urbanización permanente, producto del constante fenómeno de migración del campo a las ciudades, venden sus propiedades como terrenos urbanos, para el desarrollo de las grandes metrópolis, abandonando la actividad (Galina, 2014).

El equilibrio económico es por lo tanto, de baja rentabilidad, debido al precio de la leche, para sobrevivir, se mantienen por las enormes cuotas de producción, dependientes de forrajes de corte y concentrados lo que les crea una deuda impagable a los proveedores, lo que ha reducido la calidad de la leche, de la carne y el número de ganaderos en el campo mexicano. Los grandes productores no abandonan el negocio porque no encuentran quién les compre mil o más vacas, se mantienen con múltiples deudas y a su vez con aparentemente muchos ingresos, sin embargo los márgenes de ganancia se reducen por los altísimos costos de la alimentación. Y así el agro nacional se transforma en monocultivo principalmente de alfalfa, forraje que requiere de altos insumos de agua, con altas cuotas de subproductos y suplementos, en detrimento de las praderas y la biodiversidad florística (Galina, 2014).

Paradoja cuando la nueva ecologización a nivel global, busca el mantenimiento de la biodiversidad (Rubino, 2014). Nuestros Gobiernos, incluyendo el Mexicano pregona que debemos producir “amigablemente con cuidado de los animales y el medio ambiente” sin dar herramientas por lo que los condena por la vía de costos de producción y precios de la leche, a su extinción. Es curioso observar que en la Italia meridional y en México, países distantes con economías distintas, los problemas de los pequeños productores en el campo son muy similares (Galina, 2014).

El pequeño ganadero, no es solamente como se ha discutido anteriormente un ser económico, es un ente social, el abandono del campo incrementa la inseguridad, afecta las vías de comunicación, disminuye la mano de obra de los campesinos, que se van en la obligación de migrar hacia el extranjero o hacia las grandes urbes en busca de trabajo. La mayor parte de las fuentes de trabajo en el campo en México la genera los pequeños productores agrícolas o ganaderos, siendo en muchas ocasiones mano de obra familiar (Galina, 2014).

I. ANTECEDENTES DE LA CALIDAD DE LA LECHE DE PASTOREO EN MÉXICO

Se han realizado por investigadores de la Universidad Nacional Autónoma de México una serie de trabajos sobre la calidad nutricional de la leche en México, que ha permitido certificar las bondades del pastoreo tanto en vacas, como en cabras y recientemente en borregas (Galina *et al.*, 2012; 2013). Un contenido mínimo de ácidos grasos saturados (AGS) se observó en la leche procedente de los animales en pastoreo, contrastado con una presencia significativa de AGS en leche de animales en estabulación (Galina *et al.*, 2012; 2013; 2014a; 2014b). Recientemente ha sido probado en la literatura que un menor contenido de AGS favorece la salud humana, debido a su papel en las enfermedades crónico degenerativas y coronarias (Pfeuffer., Schrezenmeir., 2000).

Los resultados de investigaciones en México, permiten suponer que el sistema de alimentación, en general, y en particular el pastoreo libre, en un ambiente silvopastoril, permite que cada rumiante como individuo, componer una dieta de acuerdo a sus propias necesidades, que tienen un efecto positivo sobre el aroma, sabor y características nutricionales de la leche (Galina *et al.*, 2012; 2013). Un resultado interesante fue que se demostró un mayor contenido de ácidos grasos trans, presentes en la leche de pastoreo. Hasta hace poco un efecto negativo de los ácidos grasos trans en la salud fueron considerados similares a los documentados para los ácidos grasos saturados (Pedersen, 2001; Secchiari, 2008).

Los efectos negativos de los ácidos grasos trans en patología coronaria y citotoxicidad, se determinaron a partir de observaciones de los ácidos grasos hidrogenados, producidos durante la manufactura de alimentos industriales. Los trans derivados de los procesos de

biohidrogenación ruminal, como los producidos por el rumen, han mostrado en cambio, efectos positivos sobre la salud humana (Váradyová *et al.*, 2008).

Por lo tanto, a la luz de este conocimiento relativamente novedosos, el papel de los ácidos grasos trans en el sistema de alimentación de los rumiantes en pastoreo libre tienen que ser reevaluados en el marco de producir una “mejor” leche desde el punto de vista de la salud del consumidor. Salud, que en México, es una gran preocupación debido a que una parte significativa de la población del 65% al 70% sufre de obesidad o sobrepeso (ENSNUT, 2014), que se traduce en las enfermedades crónico degenerativas, particularmente los trastornos coronarios y el cáncer.

Para este grupo de investigación en México, un primer objetivo fue certificar si la leche de pastoreo tenía calidad similar a la reportada en numerosos estudios en Europa, particularmente en Italia, donde habían probado el nivel de calidad de la leche y queso como la expresión de una serie de moléculas aromáticas: terpenos, fenoles, flavonoides, antioxidantes, vitaminas y ácidos grasos insaturados (Galina *et al.*, 2007a). Todos estos componentes dependen esencialmente de la cantidad de pasto que el animal ingiere, y, aún más, del número de diferentes hierbas que contenga, ya que, como ha sido señalado en numerosos estudios, cada hierba transfiere diferentes componentes a la leche. De hecho, la mayoría de las hierbas en los animales en libre pastoreo, son silvestres, denominadas genéricamente "malas hierbas", esta complejidad es importante porque se refleja en una leche “diferente”, de calidad superior en su perfil de ácidos grasos esenciales, el consumidor poco a poco empieza a diferenciar entre una leche de pastoreo y una de estabulación, por su aroma y sabor (Rubino, 2014).

Una primera premisa demostrada es que los sistemas de producción ganaderos que se manejan en pastoreo, pueden impactar en forma positiva en la salud de la población, produciendo leche, queso o carne de mejor calidad nutricional para el consumidor (Galina *et al.*, 2009a; 2009b; 2009c). Los alimentos de origen animal provenientes de estos sistemas, pueden ser considerados como alimentos funcionales y/o como fuente de compuestos nutraceuticos (Galina *et al.*, 2007; 2014a; 2014b). En segundo lugar ha sido ampliamente demostrado en la literatura científica la insostenibilidad de los sistemas en estabulación con vacas productoras de 40 litros o más por día, desde el punto de vista

de calidad de la leche, o de bienestar animal, para lograr una oferta de mayor calidad nutricional a los consumidores, evitando paralelamente la destrucción y degradación de los ecosistemas (Galina, 2014).

En trabajos previos se ha demostrado que los sistemas silvopastoriles son una alternativa biosostenible de producción que permite una repoblación vegetal de gramíneas y leguminosas dentro de un entorno biodiverso que contribuye a la protección y mejoramiento del medio ambiente (Galina *et al.*, 2012).

Otra premisa estudiada sería la producción orgánica, que ha surgido como respuesta a la degradación del medio ambiente, para sostener los sistemas ha sido desarrollada una alternativa orgánica con formación de proteína de los microorganismos ruminales y liberación de la energía de los forrajes fibrosos con sistemas de soporte, debido al desbalance natural de energía de los sistemas silvopastoriles producto de la alternancia de una producción abundante de biomasa forrajera en la época de lluvias, contrastada con la escasez de la época de secas (Galina *et al.*, 2009a; 2009b).

Otro mecanismo que pudiera contribuir a la producción de leche de calidad sería la suplementación con probióticos de bacterias ácido lácticas (BAL). Esto se debe a su efecto sobre la biohidrogenación (BH) ruminal, fenómeno que se traduce en una saturación de los ácidos grasos no saturados, abundantes en las plantas, para ello suplementamos con LAB, que no BH, o lo hacen en menor volumen (Galina *et al.*, 2012; 2013). Los resultados de biohidrogenación con LAB fueron similares a los obtenidos en dietas suplementadas con ácidos orgánicos o plantas con aceites (Váradyová *et al.*, 2008) lo que hace suponer que las bacterias lácticas tienen una forma de fermentación ruminal que permite tener el mismo efecto, que se traduce en una mejor calidad de la leche, (Galina *et al.*, 2012).

Para ello se han realizado varias observaciones comparando sistema de alimentación en estabulación o pastoreo, con o sin el uso de suplementos de bacterias lácticas. Las diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos esenciales entre las leches de pastoreo con la adición de un suplemento de bacterias lácticas comparados con la leche comercial, demostraron la importancia de la biohidrogenación en el metabolismo ruminal, para la calidad de la leche, en relación a la salud del consumidor, desde luego los

animales en sistema silvopastoril con suplementación de promotores de la fermentación y probióticos, fueron las que significativamente produjeron una leche de mejor calidad comparadas con las de pastoreo sin probióticos o las de estabulación con o sin probióticos, (Galina *et al.*, 2013).

Otros factores como la presencia de flavonoides, antioxidantes y ácidos aromáticos aumentan significativamente en pastoreo, particularmente en sistemas silvopastoril. Cuando se habla de calidad de la leche, la ordeñada de animales en pastoreo presenta un contenido variado, pero en general más bajo en elementos como el colesterol, porque proviene de un origen vegetal diverso comparado con productos de animales en estabulación.

La Leche de animales en pastoreo tiene un contenido de ácidos grasos no saturados mayor que el de animales en estabulación. Los ácidos grasos saturados son los implicados en la mayor parte de las enfermedades cardiovasculares asociados con la obesidad, disminuyendo la concentración de alfa tocoferol en los tejidos de los animales en pastoreo. La calidad de los productos pecuarios, leche o carne es superior cuando los rumiantes son manejados en pastoreo, superando significativamente a los animales en estabulación (Secchiari *et al.*, 2008; Rubino *et al.*, 2012).

i) El ácido linoleico conjugado que tiene propiedades antitumorales, y anticolesterémicas, se encuentra solamente en productos de origen animal, particularmente en la leche y carne de animales en pastoreo, en concentraciones cuatro veces mayor que en animales en estabulación. Se acumula particularmente en el queso. (Rubino, 2014; Rubino *et al.*, 2012).

ii) Siempre la leche de pastoreo contiene un nivel inferior de colesterol y un nivel mayor de antioxidantes. Esto se traduce en una capacidad antioxidante mayor, uno de los elementos probados contra el crecimiento de tumores, acompañados de derivados del alcohol como los monoterpenos que reducen la formación de células tumorales (Cuchillo, 2004; Cuchillo *et al.*, 2009).

iii) El componente aromático es mucho más fuerte en la leche de pastoreo (Rubino, 2014).

Si bien diversas investigaciones han mostrado la asociación entre la ingesta de ácidos grasos saturados (AG) en la dieta, con los niveles de colesterol sérico y las enfermedades cardio vasculares (ECV), en las últimas décadas ha quedado demostrado que no todos los AG tienen los mismos efectos. En estudios metabólicos se ha observado que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) disminuyen los niveles de colesterol mientras que los ácidos grasos saturados (AGS) lo aumentan (Rubino., 2014).

En el aparato digestivo de los rumiantes el alimento experimenta una fermentación pre gástrica muy extensa. Este fenómeno es de naturaleza anaerobia, en el rumen podemos encontrar un gran número de bacterias, la cantidad promedio se halla alrededor de 25 a 50 millones por ml de líquido ruminal (Roach., Benyon, 2004). Los forrajes fibrosos son el principal sustrato para los rumiantes, por ello se ha generado un conocimiento preciso de la degradación de la fibra, permitiendo desarrollar mejores sistemas de suplementación (Galina et al., 2008). El consumo de lípidos por los animales es bajo a causa de que la mayoría de los forrajes contienen solo cantidades limitadas de dichos compuestos, estos lípidos son en un alto porcentaje ácidos grasos insaturados, lo que significa que uno o más carbonos de su estructura lineal están unidos por un doble enlace, eliminando el hidrogeno. (Roach., Benyon, 2004).

La flora microbiana del rumen, sirve para desdoblar los nutrientes, para ser absorbidos en el intestino. Por ello se han desarrollado diferentes manipulaciones de las actividades microbiológicas del rumen (Newbold et al., 2005). *Bifidobacteria* y *Lactobacilli* constituyen probablemente los microorganismos más hábiles en sobrevivir el paso por el ambiente ácido del estómago, y en general dominan todos los compartimentos a lo largo del tracto gastrointestinal de jóvenes terneros. Entre estas bacterias ácido lácticas se ha encontrado que son las *Bifidobacterias* la más dominantes a nivel de flora cecal, reportando hasta un 10% de los conteos de bacterias totales (Shen et al., 2011). Los probióticos lácticos (BAL) podrían ser una alternativa para los rumiantes (Galina et al., 2008). Particularmente considerando el perfil de ácidos grasos no saturados del producto (Galina et al., 2012).

II. LÍPIDOS

Los lípidos son uno de los tres componentes básicos (proteína, carbohidratos y lípidos) de la alimentación, además de ser la principal forma en que la energía es almacenada. Se le denomina "grasa" a todos los triglicéridos sólidos de origen animal y "aceite" a las grasas líquidas que normalmente son de origen vegetal (Vodet., Voet., 1992).

Estructura y clasificación

Los aceites y grasas están formados por triglicéridos, compuestos que representan más del 95% de su peso. Un triglicérido está formado por la condensación de una molécula de glicerina con tres ácidos grasos (Figura 1); por lo que las características físicas y químicas de las grasas y aceites dependen principalmente del tipo y cantidad de los ácidos grasos que la componen con su distribución en los triglicéridos (Vodet., Voet., 1992).

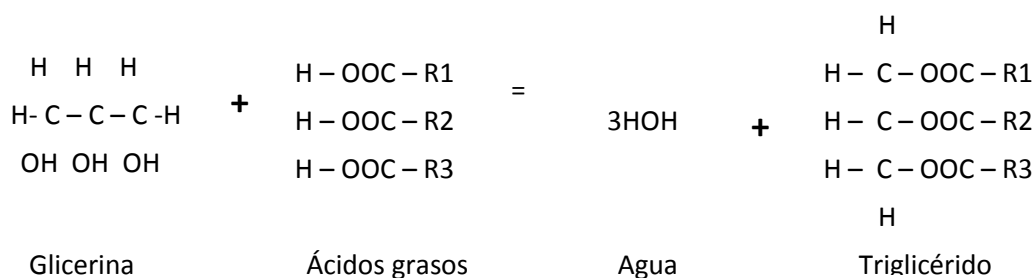


Figura 1. Estructura de un triglicérido. Fuente: Vodet., Voet., 1992

Ácidos Grasos (AG)

Los ácidos grasos son cadenas de hidrocarburos que terminan en un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro. Se les puede clasificar por la longitud de su cadena en cortos con 4 a 6 átomos de carbono, medianos con 8 a 12 átomos de carbono y largos con 14 o más átomos de carbono. También se clasifican por el grado de saturación; agrupándose en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados; en los saturados no existen dobles ligaduras en la cadena de hidrocarburos, los monoinsaturados tienen una doble ligadura en la cadena y poliinsaturados con dos o más dobles ligaduras en la cadena (Chow., 2000; Lobb., 2000).

La mayoría de los ácidos grasos naturales contienen un número par de átomos de carbono, también contienen solo un grupo carboxilo y son de cadena lineal que puede ser saturada o insaturada. La existencia de un doble enlace en la molécula de un ácido graso significa que

pueden existir dos formas dependiendo de la disposición de los átomos de hidrogeno unidos a los átomos de carbono del doble enlace. Si los átomos de hidrogeno se encuentran del mismo lado del doble enlace se trata de la configuración cis, y se llama configuración trans cuando se encuentran de ambos lados (Chow., 2000; Lobb., 2000).

Para expresarlos se emplean notaciones cortas, indicando el número de carbonos, el número de enlaces y la posición en que se encuentra la primera doble ligadura. La letra griega omega (ω) es usada para indicar la localización de la primera doble ligadura a partir del carbón metílico (CH_3) terminal de la molécula del ácido graso (Figura 2). Las familias más importantes son los AG ω -3 a la cual pertenecen el ácido alfa-linoleico 18:3 (ALA), ácido eicosapentaenoico 20:5 (EPA) y el ácido docosahexaenoico 22:6 (DHA) y los AG ω -6 entre los que destacan el ácido linoleico 18:2 (LA) y el ácido araquidónico 20:4 (AA) (Ronayne., 2000).

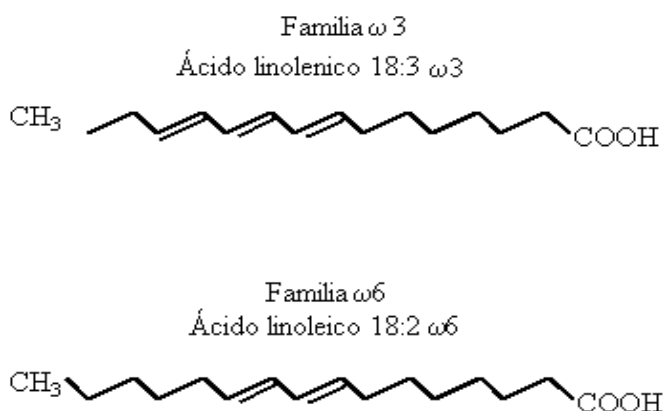


Figura 2. Ácidos grasos esenciales. Fuente: Ronayne, 2000.

El perfil de ácidos grasos y la proporción de ácidos grasos insaturados omega 6: omega 3

Como es conocido, el perfil de ácidos grasos de la leche y derivados es muy diferente de la recomendada por los nutricionistas en la dieta diaria del hombre, que incluye una ingesta de

ácidos grasos saturados que no exceda de 25% y un alto consumo de mono y poliinsaturado. El uso de los pastos y las dietas altas en forraje puede mejorar la relación de la leche no saturada como se ha demostrado en muchos estudios (Bailoni *et al*, 2005a; Bailoni *et al*, 2005b; Secchiari *et al*, 2008.).

Dos ácidos grasos de bajo peso molecular butírico y caproico se encuentran en cantidades importantes en la grasa de la leche de los rumiantes. Los triacilgliceroles se denominan de acuerdo a los ácidos grasos que contienen, la configuración de los triacilgliceroles que componen la grasa puede influir en la magnitud en que son digeridas. La grasa de la leche de los rumiantes se caracteriza por un alto contenido de ácidos grasos de bajo peso molecular representando hasta el 20% del total de ácidos grasos, como consecuencia son menos consistentes que las de los depósitos de los mismos animales, aunque no son tan blandas como las grasas de origen vegetal o la de los animales marinos (Bauman *et al.*, 1999).

La hidrólisis de los triglicéridos (triacilgliceroles) produce glicerol y ácidos grasos que constituyen fuentes de energía, la variación entre fuentes de grasa en cuanto a cantidad de energía que contiene se relaciona con la digestibilidad (Roach., Benyson., 2004).

Los ácidos linoleicos (c18:2) y (c18:3) no son sintetizados por los tejidos animales o al menos en cantidades necesarias para prevenir patologías, por lo que deben de suministrarse en la dieta. El ácido araquidónico puede sintetizarse a partir de (C18:2) por lo que solo se adiciona en la dieta si no se dispone del (C18:2). Las prostaglandinas se biosintetizan a partir del ácido araquidónico y tienen una amplia variedad de efectos metabólicos como disminución de la presión sanguínea, estimulación de la contracción del músculo liso, inhibición de la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo (Roach., Banyon., 2004).

En la leche, además, la ingesta de ácidos grasos omega-3, y en concreto de EPA y DHA, que realizan importantes acciones en los seres humanos, con especial atención a la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares. La adopción de estrategias nutricionales capaces de cambiar la proporción de omega 6: omega 3 en la leche es un tema de investigación actual de gran interés. La proporción de omega 6: omega 3 es más favorable en la leche procedente de animales de montaña en pastoreo, en comparación a la

de las vacas en estabulación de las grandes empresas con un mayor uso de concentrados de 1:4 a 1:8 en pastoreo y estabulación respectivamente (Bailoni *et al.*, 2005b).

El uso de alimentos ricos en ácidos grasos omega 3 puede mejorar el contenido de estos ácidos grasos en la leche y el queso, como se ha demostrado recientemente por Cattani *et al.* 2011; 2014. En esta prueba, con la adición a la dieta de las vacas lactantes de 500 g/d de semilla de lino se tradujo en la leche en una reducción de la proporción de ácidos grasos omega 6 y omega 3, que pasó de 9:6 a 5:5 en comparación con la dieta control. Niveles de inclusión de semilla de lino extrusionada más alto (1 kg/d) no produjo una mejora adicional de esta relación, lo que indica la forma en la transferencia de los ácidos grasos omega 3 los ácidos de los alimentos a la leche está relacionada linealmente con la cantidad de ácidos grasos omega 3 en la dieta. Respuestas bastante comparables a los obtenidos en la leche se observaron en el queso elaborado con procesos estandarizados después de 90 días de maduración.

Debe tenerse en cuenta que la administración de suplementos de semillas de lino en la dieta, no permiten que la leche y el queso alcance los niveles mínimos de los ácidos grasos omega 3 (0,3 gramos de ácido alfa-linolénico por 100 g de alimento) indicados por el Reglamento de la UE. 116/2010 para poder escribir en el envase la declaración "fuente de ácidos grasos omega-3."

La relación omega 3/omega 6 es importante porque nos da la medida del grado de protección de colesterol de la oxidación por radicales libres (con el mismo contenido de colesterol de sus aumentos de oxidabilidad con la disminución en el GPA). El segundo se estudia mucho en el mundo de la medicina de manera que ahora se ha señalado también el valor recomendado para la salud humana. Un estudio estadounidense reciente ha detenido la barra de 8:1, que se considera ideal para observarse efectos benéficos de antioxidación. Se sabía que era necesario para mantenerse por debajo del 5:1. Posteriormente se recomienda casi universalmente alrededor de 3:1, por lo que se ha reducido para "latte nobile" el valor de la relación de 4 omega/6 por 1 de omega/3 (Cattani *et al.*, 2014).

En el hígado, el LA es metabolizado hacia AA y el ALA hacia EPA y DHA, aumentando el largo de la cadena y el grado de insaturación mediante agregación de dobles ligaduras al grupo carboxilo, como se observa en la Figura 3 (Chow., 2000). Se ha observado que la

ingestión de ácidos grasos ω -6: ω -3 en una relación 10:1 puede paralizar la formación de EPA y DHA por lo que será importante tomar en consideración esta recomendación durante la formulación y administración de los alimentos (Roach., Benyon., 2004).

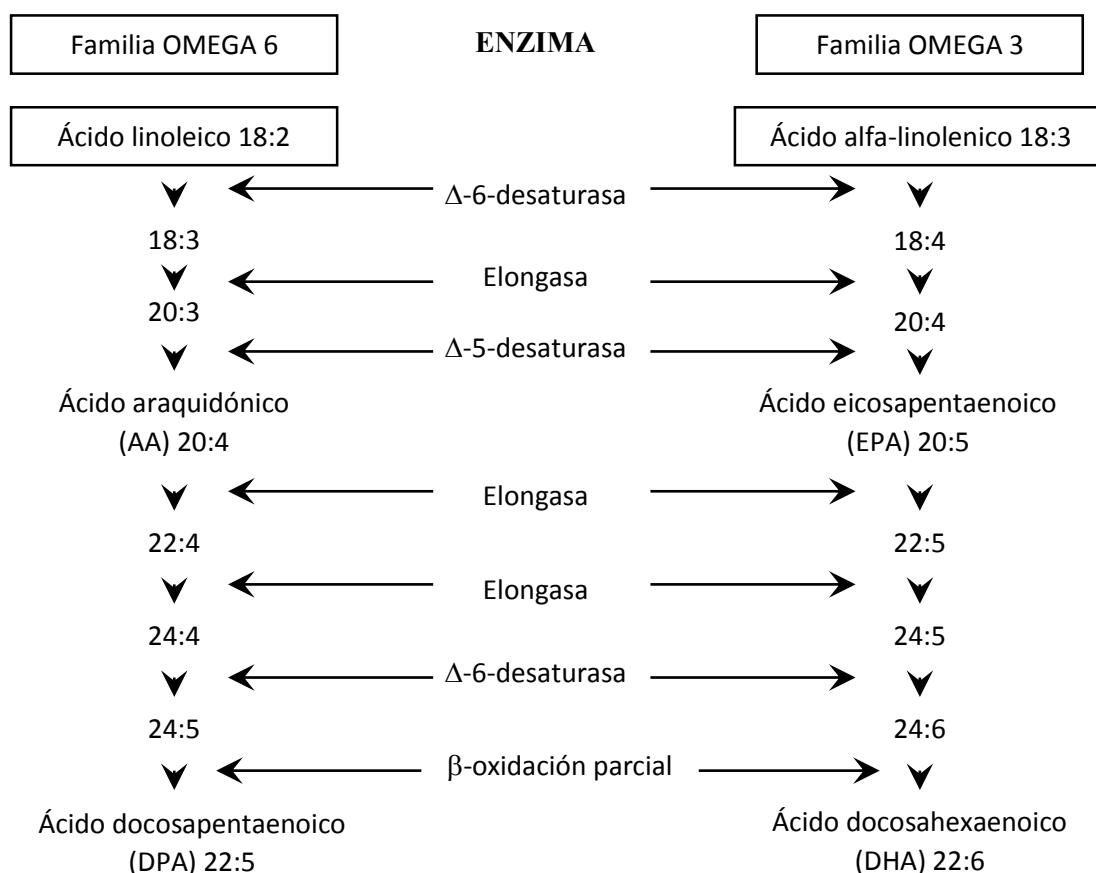


Figura 3: Metabolismo de los ácidos grasos ω -3 y ω -6 (elongación y desaturación).

Fuente: Ronayne, 2000

El ALA está presente en el aceite de linaza y en los vegetales de hojas verdes. El EPA y el DHA se encuentran principalmente en peces de aguas frías, en sus aceites y en las algas marinas. El LA es abundante en el maíz, cacahuate, semillas de algodón, fríjol de soya y casi todas las semillas de las plantas; es abundante por lo tanto, en aceites vegetales como maíz o girasol. El AA se encuentra principalmente en el cacahuate y es componente importante en los fosfolípidos de animales alimentados con granos (Chow., 2000).

III DIGESTIÓN Y METABOLISMO RUMINAL DE LOS LÍPIDOS

Existen dos fenómenos importantes en el rumiante con respecto a la grasa ingerida dentro de la ración: la lipólisis y la biohidrogenación. Dependiendo el grado de saturación de los ácidos grasos consumidos, estos seguirán rutas diferentes en la digestión, los saturados sufrirán el proceso de lipólisis y seguirán su destino metabólico hasta el abomaso e intestino, a diferencia de los poliinsaturados los cuales al inicio serán biohidrogenados por la microbiota ruminal con la consecuente reducción de dobles enlaces, para continuar con el mismo proceso que los ácidos grasos saturados (Lehninger., 1995; Castro 2002).

Los microorganismos ruminales tienen la capacidad de realizar una síntesis *de novo* de ácidos grasos a partir de los carbohidratos, por lo que al duodeno llegan ácidos grasos de origen dietario y microbiano, existiendo diversas formas para modificar el aporte de grasas en la leche y así mejorar la calidad del queso, por ejemplo en animales que pastorean durante el verano aumenta el consumo de AG poliinsaturados y monoinsaturados incrementando la proporción de ácido oleico y de otros ácidos en configuración *trans* (productos del metabolismo ruminal) por lo que se observa una disminución en la concentración de AG saturados (Lehninger., 1995; Jenkins., 1993).

Lipólisis

Después de la ingesta, los lípidos que se encuentran esterificados son hidrolizados por lipasas microbianas dentro del rumen, causando la liberación de ácidos grasos libres y glicerol (Figura 4) estos productos son fermentados rápidamente hasta ácido propiónico en dietas ricas en cereales, a diferencia de las que tienen como principal componente al forraje, las cuales tendrán como producto final al ácido acético (Lehninger., 1995).

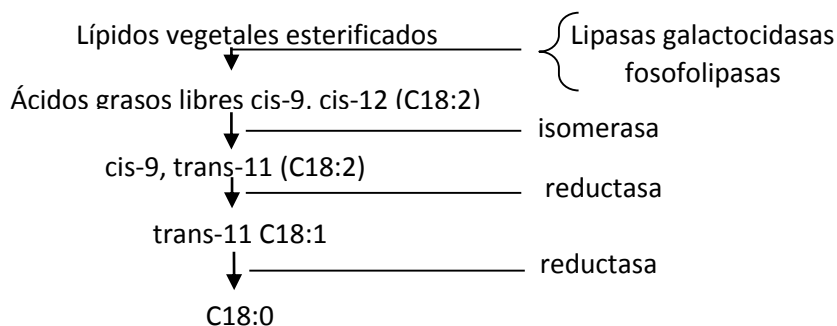


Figura 4. Lipólisis en rumiantes. Fuente: Chilliard, 1993.

Biohidrogenación

Este proceso es el resultado de la adición de un hidrógeno a los AG con dobles enlaces, constituye un mecanismo importante a través del cual los microorganismos pueden disponer de hidrógeno. Si éste proceso se completa, todos los dobles enlaces se convierten en sencillos y los AG quedan saturados (Chilliard *et al.*, 2003).

Casi todos los AG vegetales insaturados presentan configuración *cis* entre los átomos de carbono insaturados, sin embargo la microbiota ruminal produce una variedad de isómeros *trans* de los AG, así como alteraciones en el largo de la cadena, cambios en la posición de los dobles enlaces y producción de AG de cadenas impares o ramificadas, todos los cuales hacen que la grasa ingerida por un rumiante sea diferente de la depositada (Chilliard *et al.*, 2003).

Las grasas de las raciones consumidas por los rumiantes experimentan una hidrólisis en el rumen seguida de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados libres. La biohidrogenación da lugar a la producción de ácidos saturados y también a los ácidos *trans*. Además tiene lugar una redistribución de los dobles enlaces de la cadena del ácido graso, lo que explica la presencia en los rumiantes de grasas como son los ácidos vaccenoico (*trans*-11,18:1) y elaidico (*trans*-9,18:1) (Perfield *et al.*, 2007).

Los ácidos grasos insaturados tienen una vida promedio corta dentro del ambiente ruminal, debido a que son hidrogenados rápidamente, hacia compuestos saturados o productos finales. La biohidrogenación de estos compuestos puede ser bloqueada por la presencia de grandes cantidades de ácido linoleico y otros AG poliinsaturados, debido a que estos son tóxicos para los microorganismos ruminal, como sucede en los animales en dietas de pastoreo (Aro *et al.*, 1998). En este proceso, se puede dar origen a una serie de isómeros como productos intermedios; se considera que solamente un 10 a 30% de estos AG escapa al proceso de biohidrogenación; continuando su camino hacia el tracto gastrointestinal posterior, para ser metabolizados y absorbidos (Roach., Benyon., 2004; Lehninger., 1995; Aro *et al.*, 1998).

La hidrogenación es un proceso de endurecimiento que tiene gran importancia industrial en la obtención de grasas firmes a partir de los aceites vegetales y de pescado para la

obtención de margarina este proceso tiene la ventaja de que prolonga el mantenimiento de la calidad de las grasas ((Roach., Benyon., 2004).

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), particularmente, el ácido linoléico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12, ALi) y el ácido alfa-linolénico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, ALn), se encuentran en altas proporciones en los lípidos de los forrajes y de algunos suplementos (Agazzi *et al.* 2004; Bauman *et al.* 1999; Choi *et al.* 2009; Kelly *et al.* 1998; Shen *et al.* 2011; Zened *et al.* 2013).

Estos ácidos forman parte de la dieta de los rumiantes y dependiendo de su concentración en la dieta, modifican el perfil de ácidos grasos de la leche y la carne. La composición de ácidos grasos en la leche y en la carne de los rumiantes, se caracteriza por la presencia de una mayor concentración de ácidos grasos saturados que insaturados, debido al proceso de biohidrogenación (BH) en el rumen (Ashes *et al.* 1992; Bauman *et al.* 1999; Chow *et al.* 2004; Grinari., Bauman, 1999; Dhiman *et al.* 2000; Abughazaleh., Jacobson, 2007; Shen *et al.* 2011; Zened *et al.* 2013). Es por esto, que el conocimiento del proceso de BH, se considera un punto crítico para modificar la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados, en la leche y en la carne. El bloqueo de la Biohidrogenación de ALA y la producción de ácidos grasos conjugados, en general benéficos para la salud por las bacterias lácticas ha sido revisado por Ogawa *et al.*, (2005)

Se han estudiado diversos factores que afectan el proceso de BH del ALi y ALn, como también estrategias nutricionales que muestran resultados positivos en el incremento de ácido *trans*vaccénico (C18:1 *trans*-11, ATV) y ácido linoléico conjugado (C18:2 *cis*-9, *trans*-11, ALC), en la leche y en la carne. Se ha reportado que estos compuestos tienen efectos potencialmente benéficos para la salud humana (Harfoot., Hazlewood, 1997; O'shea *et al.* 1998; Khanal, 2004; Herrera *et al.* 2004; Perfield *et al.* 2007).

Bioquímica del proceso de Biohidrogenación

Desde principios del siglo XX, se descubrió que los lípidos que forman los tejidos de los rumiantes eran más saturados que los de los no rumiantes (Banks., Hilditch, 1931)

y, por muchos años, se creyó que el proceso de BH de los lípidos ocurría en los tejidos. En la actualidad, se sabe que este proceso ocurre en el rumen por acción de los microorganismos y, en una pequeña proporción, en el tracto intestinal posterior (Harfoot., Hazlewood, 1997; Lee., Jenkins, 2011).

Wright en 1959 encontró que las bacterias son los microorganismos más importantes en el proceso de BH, lo cual, también fue demostrado por Dawson., Kemp en 1969 y Singh., Hawke en 1979. En otros estudios, se halló que, aproximadamente, la mitad de los microorganismos involucrados en la digestión de los lípidos se encuentran asociados a la porción líquida del rumen (BAL) y los restantes se hallaban adheridos a las superficies del alimento (BAS) (Hungate, 1966).

Las mezclas bacterianas pueden biohidrogenar totalmente al ácido linoleico y es posible que la biohidrogenación total de los enlaces dobles dependa mucho de las especies de los microorganismos ruminales y que cada especie solo pueda hidrogenar determinados enlaces dobles. Tanto las bacterias como los protozoarios pueden actuar como enzimas hidrogenando los ácidos grasos no saturados (Singh., Hawke., 1979).

Utilizando contenidos ruminales, se evidenció que la presencia de partículas del alimento aumenta la velocidad del proceso de biohidrogenación (Herrera *et al.* 2004). Martin., Valeille (2002) notaron que el proceso de BH del ALi en el rumen ocurre por la adhesión del ALi a las partículas de alimento.

Legay-Carmier., Bauchart (1989) encontraron que en una dieta para vacas suplementada con aceite de soya, el 70% en masa de las bacterias eran BAS y, solamente un 7%, BAL; el restante 23% era de bacterias pobremente adheridas a la superficie o se transferían, de manera constante, desde las partículas al medio líquido ruminal. Bauchart *et al.* en 1990 mostraron que existe “preferencia” por parte de los ácidos grasos a adherirse a las partículas de alimento y que la concentración total de los ácidos grasos que se adherían a las BAS era casi del doble, con respecto al del BAL. Se puede concluir que después de la lipólisis y de la liberación de ácidos grasos, éstos se adhieren a las partículas sólidas de alimento y son hidrogenados de manera preferencial por las BAS, pudiéndose generar competencia entre las partículas y las bacterias.

Descripción del mecanismo de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados:

La lipólisis constituye un paso obligado antes de la BH y las bacterias son las principales responsables del proceso de BH, aunque los hongos y los protozoos pueden participar en la biohidrogenación (Harfoot., Hazlewood, 1997; Maia *et al.* 2007; Váradyová *et al.* 2008a; 2008b; Buccioni *et al.* 2012).

Sachan., Davis (1969) hallaron que la especie *Borrelia* B25 biohidrogenaba el ALi, pero no el ácido oléico (C18:1 *cis*-9, AOI). Kemp *et al.* en 1975 registraron tres especies bacteriales implicadas en la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, siendo estas *Ruminococcus albus*, *Eubacterium spp* y *Fusocillus spp*.

La especie *Fusocillus* biohidrogenó el AOI y ALi hasta ácido esteárico (C18:0) y el ALn hasta C18:1 *cis*-15. La especie *R. albus* y la de *Eubacterium* no biohidrogenaron el AOI, pero sí convirtieron el ALi y ALn en una mezcla de ácidos octadecenóicos, donde el ATV fue el isómero predominante (Kemp *et al.* 1975).

La identificación de los intermediarios producidos y de los diferentes microorganismos ruminales que participan en el proceso de BH ruminal, ha permitido establecer su mecanismo (Bauman *et al.* 1999; Lee., Jenkins, 2011; Buccioni *et al.* 2012). El proceso de BH involucra varios pasos bioquímicos, con velocidades, intermediarios y especies bacteriales características diferenciados (Bauman *et al.* 1999).

Para los pasos principales, Kemp *et al.*, (1975) dividieron las bacterias en dos grupos, considerando las reacciones químicas en que intervenían y los productos de la BH. El grupo A es el responsable de transformar el ALi hasta el ATV; por su parte, el grupo B transforma el ATV en C18:0. Para el ALn, la BH es más compleja e involucra los dos grupos de bacterias en todos los pasos (Figura 5). Ambos mecanismos presentan, como paso inicial, la isomerización del enlace *cis*-12, de lo cual, resulta la formación de un intermediario químico con un sistema conjugado con isomería geométrica *cis*-9, *trans*-11 (Harfoot., Hazlewood, 1997; Buccioni *et al.* 2012).

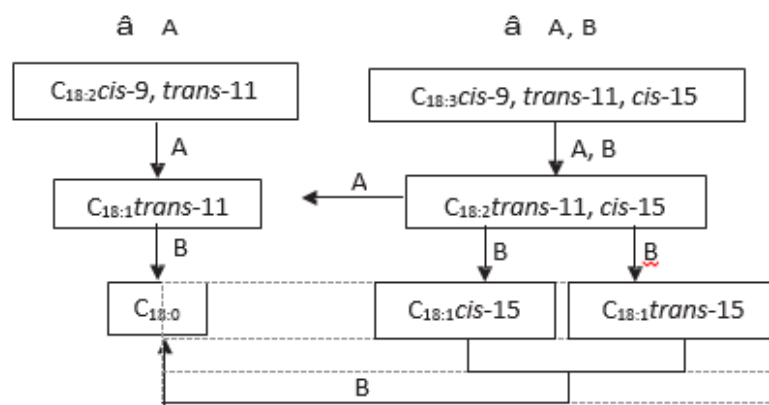


Figura 5. Rutas principales de la biohidrogenación del ácido linoléico y alfa-linolénico en el rumen, junto con los grupos de microorganismos implicados (Harfoot., Hazlewood, 1997; Buccioni *et al.* 2012).

Las letras A y B indican los dos grupos bacteriales implicados en el proceso.

Los mecanismos de isomerización mejor conocidos son los de las isomerasas producidas por *Butirivibrio fibrisolvens* (IBF), *Propionobacterium filicina* (IPF) y *P. acnes* (IPA) (Liavonchanka., Feussner, 2008). Se tiene conocimiento para el ALi, que la IPA transfiere un hidrógeno del carbono 11 con estereoquímica R al carbono 9, con la misma estereoquímica R, (Liavonchanka., Feussner, 2008).

Termodinámicamente, la isomerización de ALi en C_{18:2} *trans*-10, *cis*-12 es un proceso que demanda energía, porque se requiere la ruptura de un enlace C-H, como paso previo a la isomerización del doble enlace. Para la formación del intermediario alílico, se requiere, aproximadamente, +16,7kJ.M⁻¹, haciendo de esta reacción, un proceso termodinámicamente irreversible (Liavonchanka., Feussner, 2008). Aunque no se tiene claro cómo es suministrada esta energía para las IBF e IPF, para la IPA se sabe que la activación y la transferencia del hidrógeno de la posición 11, es mediada por el FAD. La energía libre de Gibbs (ΔG_{rxn}) a 37°C, para la isomerización del ALi (-4,856 kcal/mol) y ALn (-754 kcal/ mol), a sus intermediarios conjugados, permite definir que dichos procesos se constituyen como termodinámicamente favorables, según los valores calculados en Colombia (Castillo *et al.*, 2013).

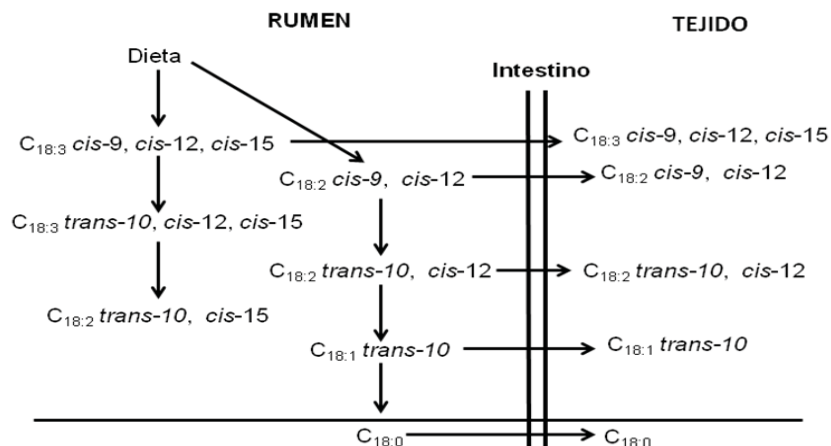


Figura 6. Biohidrogenación de ácidos grasos insaturados en el rumen, a pH bajo (adaptado de Buccioni *et al.* 2012).

Wallace *et al.* en 2007, sugirieron que el mecanismo de biosíntesis del ALC, se inicia con la abstracción del H del carbono 11 del ALi, formándose un radical termodinámicamente inestable, en el cual, se produce la translocación del doble enlace, de la posición 12 a la posición 11, con cambio de geometría *cis* a *trans*, con lo que se forma un radical, cuyo electrón desapareado se ubica en el carbono 13. A partir de marcación isotópica y mediante espectrometría de masas, se sugirió que los isómeros geométricos del ALC que presentaban insaturaciones en las posiciones 10 y 12, eran sintetizados por un mecanismo que difiere de la síntesis de los isómeros 9, 11. Finalmente, un átomo de hidrógeno es proporcionado por una molécula de agua al carbono 13, para producir ALC (Castillo *et al.*, 2013).

El segundo paso en el proceso de BH es la reducción del enlace *cis*-9 del sistema conjugado, para producir el ATV a partir del ALi y el $C_{18:2}$ *trans*-11, *cis*-15 a partir del ALn. Este paso involucra la adición de dos hidrógenos al enlace *cis*-9 del sistema dieno conjugado *cis*-9, *trans*-11, por la enzima *cis*-9, *trans*-11 octadecadienoato reductasa (EC 1.3.1.-), la cual, ha sido aislada y purificada de *B. fibrisolvens* (Hughes *et al.* 1982; Jenkins *et al.* 2008; Sterk *et al.* 2010).

La enzima es una glicoproteína con 10 moles de fucosa y 12 de galactosa por mol de enzima y que presenta Fe^{3+} coordinado, indispensable para su actividad enzimática y se encuentra involucrado directamente en el proceso de reducción (Harfoot., Hazlewood, 1997; Buccioni *et al.* 2012).

El segundo paso de la BH en el rumen, ha sido estudiado para la especie *B. fibrisolvans* (Rosenfeld., Tove, 1971; Lee., Jenkins, 2011). Yamazaki., Tove en 1979 aislaron, a partir de *B. fibrisolvans*, un electrodonor para la BH del enlace *cis*-9, que fue identificado como alfa-tocoferolquinol (TQH₂) (Hughes., Tove, 1980a). Los mismos autores (1980b), sugirieron que dos moléculas de TQH₂ fueron oxidadas a dos semiquinonas (TQH), aportando así cada una, un electrón para la reducción del enlace *cis* del sistema conjugado (Castillo *et al.*, 2013).

Estudios *in vitro* usando ALi marcado mostraron que la isomerización del enlace *cis*-12 involucra la rápida BH del ALC hasta ATV. La BH del ATV (tercer paso de la BH) ocurre más lentamente y, por lo tanto, se acumula y puede aumentar su disponibilidad para su absorción (Singh., Hawke, 1979; Moate *et al.* 2008; Buccioni *et al.* 2012).

Por otro lado los probióticos lácticos (BAL) han sido utilizados en la alimentación de los rumiantes, por su habilidad para degradar la fibra, el bloqueo de la biohidrogenación, la no producción de metano y la formación de proteína bacteriana (Galina *et al.*, 2013). Particularmente si se toma en consideración el perfil de AGNS del producto, debido a la disminución de la biohidrogenación de los AGNS en el rumen, fenómeno mediante el cual la microflora los transforma en AGS, (Galina *et al.*, 2013). En los rumiantes, los microorganismos, sirven para digerir la mayoría de los nutrientes, los cuales después son absorbidos en el intestino (Newbold *et al.*, 2005). Por ello se han desarrollado diferentes sistemas biotecnológicos para manipular las actividades microbiológicas de fermentación de los bovinos (Newbold *et al.*, 2005).

Los AGNS que se producen durante la hidrólisis de los lípidos de la dieta, son saturados por los microorganismos, mediante biohidrogenación (BH), proceso que requiere de H₂ (Jin *et al.*, 2008). El mayor intermediario para la BH son los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), metabolizados por las bacterias ruminales en ácido linoleico (AL, C 18:2) y ácido

trans-vaccenico (trans 11 C18:1 TVA). El ALC se deriva del ácido linoleico (C 18:2) y el ácido α linoleico (C 18:3).

Una manipulación recomendable de la fermentación ruminal podría incrementar las principales formas de ALC – ácido linoleico conjugado isómero cis 9, trans 11 y ALC 18:2; isómero cis 9, trans 11 (Newbold *et al.*, 2005). Debido a que la remoción de ALC como intermediario depende de la BH, se podría bloquear este proceso, proveyendo alternativamente receptores de electrones, las bacterias lácticas en el rumen pueden utilizar el hidrógeno disminuyendo la BH.

Finalmente un simbiótico es la asociación de un probiótico, generalmente de bacterias lácticas, con un suplemento que mejore la fermentación ruminal (Galina *et al.*, 2014). Por eso la importancia de estudiar el efecto de una dieta rica en AGNS (pastoreo) y la reducción de la BH por los simbióticos, tanto para la producción de leche, como para mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche y el queso (Galina *et al.*, 2014; 2007).

Síntesis Microbiana de ácidos grasos

Los microorganismos ruminales tienen la capacidad de realizar la síntesis de ácidos grasos saturados, principalmente ácido esteárico y palmítico; así como de monoinsaturados; donde, los más representativos son los ácidos palmitoleico y oleico. Este proceso es conocido como síntesis *de novo* y es considerado como un aporte lipídico endógeno. Los ácidos grasos poliinsaturados no son sintetizados por los microorganismos ruminales, éstos provienen de la dieta básicamente (Lehninger., 1995; Aro *et al.*, 1998).

Digestión y Absorción Intestinal

La digestión de los ácidos grasos en el duodeno, se inicia con su disociación a partir de las partículas del alimento por medio de la acción detergente de las sales biliares, en un medio relativamente ácido. En ausencia de la formación de monoglicéridos, la lisolecitina y el ácido oléico funcionan como sustancias anfipáticas que causan la formación de micelas solubles. Por otra parte, se ha observado que la actividad lipolítica de la lipasa pancreática es suficiente, y no constituye un factor limitante en la digestión de triglicéridos que escapan del rumen (Aro *et al.*, 1998; Byers., 1993).

Conforme aumenta el pH en el trayecto intestinal proximal; la actividad de la lipasa y fosfolipasa pancreática aumenta, el contenido de ácido oleico y lisolecitina mejoran aun el proceso de micelización y absorción de los AG, aunque se ha observado que existe absorción de AG en el rumen, su importancia fisiológica en comparación con el grado de absorción que ocurre en el yeyuno, es muy limitada. A este respecto se ha identificado a la región intermedia y distal del yeyuno como el principal sitio de absorción de lípidos (Aro *et al.*, 1998; Byers., 1993).

Transporte séricos de Lípidos en el Rumiante

A nivel intestinal, una vez realizada la absorción de las micelas. Los AG de más de 14 carbonos son re-esterificados, por la vía del glicerofosfato, siendo la glucosa el precursor del glicerol; dando origen a los triglicéridos (TG), iniciando su transporte en pequeñas cantidades de mono y di glicéridos, además de fosfolípidos y colesterol uniéndose a las lipoproteínas, saliendo por la base y lados de la célula intestinal hacia la lámina propia, conductos linfáticos y finalmente hacia los vasos sanguíneos portales (Chow., 2000; Byers., 1993). Por su parte los AG inferiores a esta longitud, entran directamente al torrente sanguíneo y son transportados en forma libre hacia el músculo, tejido adiposo y/o glándula mamaria (Byers., 1993). Estos elementos en el torrente sanguíneo son transportados en asociación con proteínas, debido a su baja solubilidad, formándose complejos denominados lipoproteínas; Las cuales de acuerdo a su densidad, se dividen en 5 clases: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja, intermedia, baja y alta densidad, siendo también conocidas como VLDL, IDL, LDL y HDL por su siglas en inglés, respectivamente (Aro *et al.*, 1998). Los quilomicrones transportan AG libres; siendo sintetizados en el intestino, aumentan su concentración cuando la dietas es rica en AG poliinsaturados y disminuyen con la presencia de grasas saturadas. Por su parte, las lipoproteínas VLDL son las principales transportadoras de lípidos hacia hígado, tejido adiposo y glándula mamaria en los rumiantes a pesar de su baja concentración (Aro *et al.*, 1998). Por otra parte, las lipoproteínas conocidas como IDL, se generan a partir de la lipólisis de las VLDL, como producto intermedio en la formación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Estas últimas están directamente implicadas en la distribución del colesterol a los tejidos; incluyendo a la glándula mamaria (Aro *et al.*, 1998). Por su parte, las lipoproteínas de alta densidad

(HDL) se encuentran en mayor proporción que las anteriores, son sintetizadas y secretadas por el hígado e intestino encargándose de incorporar el exceso de colesterol circulante hacia el hígado, para su excreción biliar y subsecuente síntesis de VLDL (Aro *et al.*, 1998).

Lipoproteínas en la síntesis láctea

Aunque existen informes contradictorios sobre la síntesis de grasa de la leche realizados en diferentes tipos de animales y con diferentes dietas, parece ser que los quilomicrones y las VLDL son los principales agentes transportadores de los AG; aproximadamente un 50% de éstos son sintetizados *de novo* en la glándula mamaria y de ellos la sexta parte es a partir de beta-hidroxibutirato, siendo la mayoría a partir de acetato (Byers., 1993). Así mismo, se considera que aproximadamente el 44% de los AG de origen dietario, principalmente palmítico (C:16) y esteárico (C:18) se obtienen a partir de los triglicéridos de la sangre por medio de la lipoprotein-lipasa, siendo desaturados en la glándula mamaria (Figura 7). Por otra parte, se ha señalado que una dieta rica en grasas poliinsaturadas disminuye la síntesis *de novo* en la glándula mamaria de AG de cadena corta (C4-C14), ocasionando un aumento en la actividad de la lipoprotein-lipasa, lo que aumentará la captación de AG de cadena larga (Castro., 2002; Aro *et al.*, 1998; Byers., 1993).

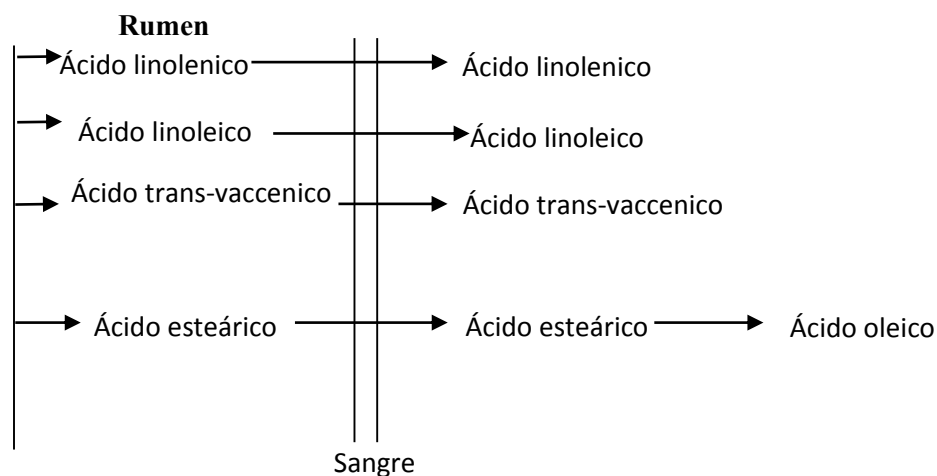


Figura 7. Desaturación de ácidos grasos en la glándula mamaria. Fuente: Chilliard, 1993

Aunque podría parecer que puede aumentarse la grasa de la leche con el simple consumo de una mayor cantidad de grasa. La captación de grasa por la glándula mamaria inhibe la síntesis *de novo*, impidiendo de forma efectiva cualquier incremento en la grasa total de la

leche. Probablemente la única excepción suceda cuando se consume grasa protegida que eleva los contenidos de VLDL en plasma lo suficiente para exceder la retroalimentación negativa de grasas de cadena larga para la síntesis de grasa mamaria. En este caso suele aumentar la grasa total de la leche. (Chilliard et al., 2003; Fedele *et al.*, 2002).

Se ha observado que los derivados lácteos, fabricados a partir de leche rica en ácidos grasos de cadena larga, en especial C18:2 (ácido linoleico), presentan oxidación más rápida y por lo tanto se observan cambios en las características físicas de éstos (Bauchart., 1993).

Colesterol

El colesterol pertenece al grupo esteroide de las grasas, es una molécula de 27 carbonos que estructuralmente es un núcleo derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 8) (Guevara., 1994).

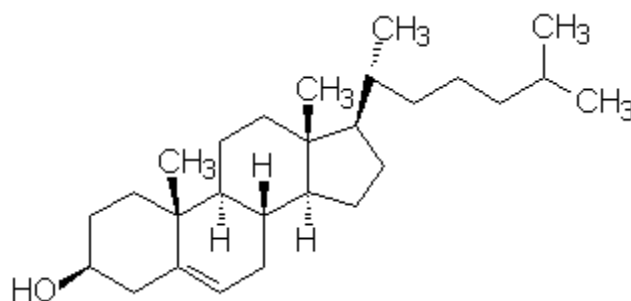


Figura 8. Estructura del colesterol. Fuente: Roach, J. O y Benyon, S. 2004.

Puede ser de origen exógeno principalmente de los fosfolípidos de las plantas o endógeno. El colesterol es sintetizado por el mismo organismo principalmente en el hígado, aunque se sabe que otros tejidos como intestino, piel, corteza adrenal y pared arterial entre otros, también participan en éste proceso. Es un componente esencial de las membranas celulares, precursor de la vitamina D, de los ácidos biliares, de adrenocorticoides y de algunas hormonas como los andrógenos, estrógenos, etc. El 75% es transportado en la sangre a través de lipoproteínas de las cuales las LDL son las que llevan a cabo esta acción en mayor proporción; las HDL eliminan el colesterol de las paredes arteriales, devolviéndolo al hígado donde es degradado por los hepatocitos siendo utilizado para la síntesis de ácidos

biliares, también puede ser transformado a ésteres de colesterol por medio de la LCAT (lecitina colesterol acil transferasa) para volver a sintetizar lipoproteínas (Guevara., 1994).

La dieta influirá en el contenido de colesterol en leche debido al balance energético en el que se encuentren los animales. Es decir, si un rumiante se encuentra en balance energético negativo debido a un deficiente aporte nutricional, iniciará la movilización de lípidos almacenados, causando elevación en sangre y leche, tanto de AG como del colesterol (Guevara., 1994).

Síntesis

La síntesis de colesterol se realiza en el citosol celular, aunque algunas enzimas se encuentran en el retículo endoplásmico. La manera más sencilla de entender éste proceso es estudiándolo por separado en dos estadios esquematizándose en la Figura 9 (Guevara., 1994).

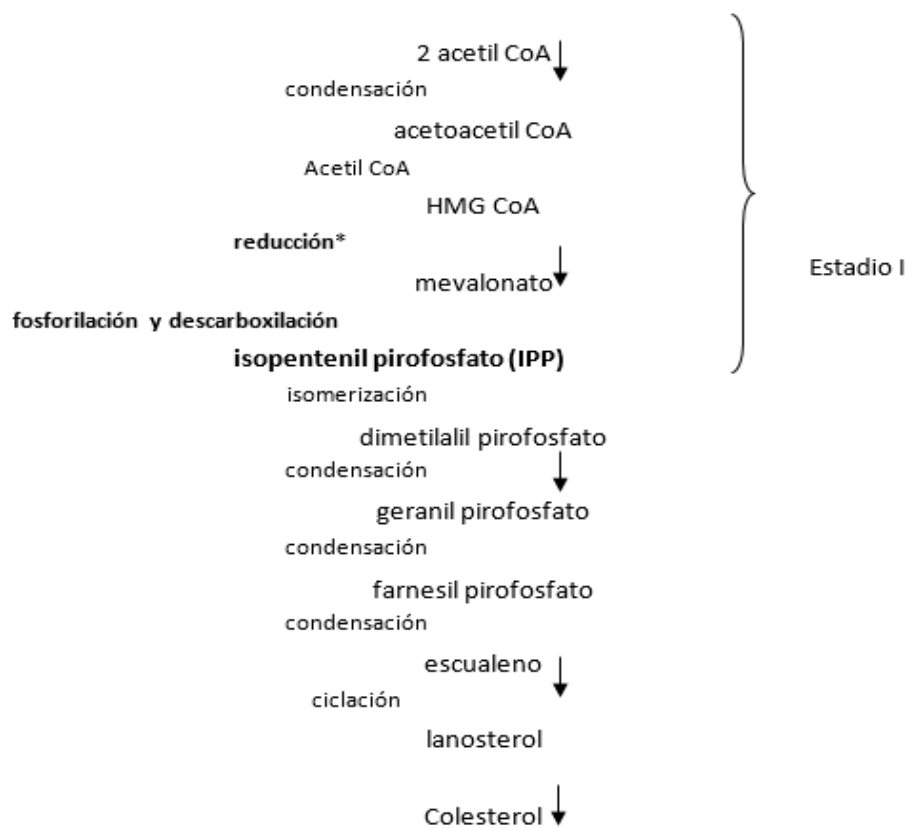


Figura 9. Síntesis de colesterol. Fuente: Roach y Benyon, 2004.

Los ácidos grasos no saturados producidos por hidrólisis de los lípidos, son saturados por los microorganismos rúminales, mediante biohidrogenación (BH), proceso que requiere H₂ (Jin *et al.*, 2008). Una manipulación de la fermentación podría incrementar el ácido linoleico conjugado (ALC) (Newbold *et al.*, 2005). La remoción de ALC depende de la BH, quizás sería posible disminuirla, proveyendo receptores de electrones, las bacterias lácticas pueden proveer estos electrones, disminuyendo la BH (Galina *et al.*, 2014a; 2014b).

Los tejidos de los rumiantes contienen cantidades relativamente grandes de ácidos grasos insaturados como resultado de la fermentación ruminal y su posterior absorción y depósito, estos almacenes pueden ser modificados para que exista aun mayor cantidad de estos ácidos grasos insaturados si se protegen de la BH (Galina *et al.*, 2014b).

Los AGS son aquellos AG que en su estructura química sólo poseen enlaces simples. Los AGS más comunes en la dieta son los de 14, 16 y 18 átomos de carbono, excepto en el caso de la leche y el aceite de coco en que encontramos AGS que tienen entre 4 y 12 átomos de carbono. Dada su estructura los AGS son sustancias extremadamente estables desde el punto de vista químico (Roach., Benyon, 2004).

HIPOTESIS:

Los productos; leche y queso de pastoreo tienen un perfil superior en cantidad y calidad de ácidos grasos no saturados que los provenientes de animales en estabulación gracias a la utilización de probióticos de bacterias lácticas que aumentan la cantidad de ácidos grasos no saturados en estos productos.

OBJETIVO(S) DEL TRABAJO:

Medir la cantidad de ácidos grasos insaturados en la leche y el queso de bovinos que se encontraron tanto en estabulación como pastoreo con o sin un probiótico de bacterias lácticas adicionado en la dieta.

Aprender a realizar la toma de muestras y su tratamiento experimental para la obtención de resultados.

Llevar a cabo el analisis de resultados para interpretarlos y dar un veredicto que confirme o rechace la hipótesis planteada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Lugar de trabajo

El estudio se realizó en “El Fresnal” Suchitlán, Colima a 19° 23’ LN (latitud norte), 103° 41’ LO (latitud oeste), 400 msnm. Clima Köppen’s Aw1 (w) con lluvias de Julio a Octubre, 1000 mm anuales. Sequia de 8 a 9 meses (Noviembre-Junio), con una temperatura promedio de 25°C.

Animales experimentales

Se mantuvieron a 4 bovinos cruce de razas Cebú y Suizo Americano con un peso vivo de 457± 25 kg adaptados durante 15 días al manejo de alimentación en pastoreo con suplementación de un promotor de la fermentación ruminal adicionados con un probiótico de bacterias lácticas en un sistema silvopastoril en la mitad de la lactación, se mantuvieron en una primera observación 24 h/d en pastoreo con una mezcla de pastoreo sobre gramíneas tropicales de zacates: estrella (*Cynodon plectostachyus*), e insurgente (*Brachiaria brizantha*) acompañados de ramoneo de leguminosas en bosque tropical, con la adición de 1.5 kg al día, de un probiotico de bacterias lácticas (BAL) como suplemento. El bosque tropical ramoneado fue de *Mimosa pudica*, *Plumera rubra*, *Bunchosia palmeri*, *Cordia alliodora*, *C. dentata*, *Platymiscium fasicarpum*, *Erythroxylum mexicanum*, *E.rotundifolium*, *Caesalpina plumeria*, *Guttarda elliptica*, *Randia capitata*, *Caesalpina coriaria* y *Desmodium spp*. Se mantuvo una carga animal de 3.6 a 5.9 UA/ha.

Durante todo el estudio el forraje excedía la capacidad de ingestión voluntaria de las vacas. Después de la primera observación, los mismos animales se estabularon en un corral por 30 días, (15 d de adaptación y 15 d de ordeño). Los animales en cero pastoreo (ET), fueron alimentado con cortes de King grass (*Penicetum purpureum*) y puntas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) suplementados con 1.5 kg de BAL. La leche se ordeño de forma individual para cada vaca en los dos períodos experimentales y se tomaron muestras de cada animal también de forma individual. La administración de suplementos de probióticos (BAL) contenía aproximadamente 4 x 10⁷/UFC de bacterias lácticas compuesto por *Lactobacilos plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*; *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, y *Bifidus spp* sobre una mezcla de 35% melaza y 65% suero de quesería. Se

calcularon los volúmenes de MSI por vaca pesando todo el alimento y el rechazo en estabulación y tomando muestras representativas en pastoreo.

Elaboración del queso experimental

Dentro de la quesería, el total de la leche obtenida de cada grupo (A y B) fue dividida en dos, leche de animales en pastoreo o de confinamiento, pero siempre se mantuvieron por separado las muestras de cada vaca, el procedimiento fue el siguiente; la leche de cada grupo fue pasteurizada a una temperatura de 63° C por 30 minutos, enfriándose rápidamente hasta 10° C. Para iniciar el proceso de coagulación de la leche, se añadieron 260 ml de cultivo iniciador el cual contenía *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus plantarum*, además de 1 ml de cuajo enzimático comercial (Cuamex). Cabe señalar que todas las muestras de leche registraron una temperatura de 28° C antes de la inclusión del fermento. Después de 24 horas de haber cuajado la leche, se inició la separación del precipitado de caseína del suero (desuerado), a través de un paño de tela filtrando lentamente el material; el contenido total se dejó reposar por 72 horas; posteriormente la pasta resultante fue salada con 14 gramos de sal comercial (“La Fina”) amasándose para permitir su distribución uniforme, finalmente se pesaron porciones de 100 g de queso, moldeándose manualmente en forma circular; este producto fue envasado, rotulado y conservado en congelación a (- 4° C), para su posterior análisis (Figura 10). Al final de este proceso se obtuvieron dos tipos de quesos, grupo (A y B).

Tipo 1: queso de leche pasteurizada de animales alimentados en pastoreo con promotor de la fermentación y probiótico.

Tipo 2: queso de leche pasteurizada de animales alimentados en estabulación con promotor de la fermentación y probiótico.

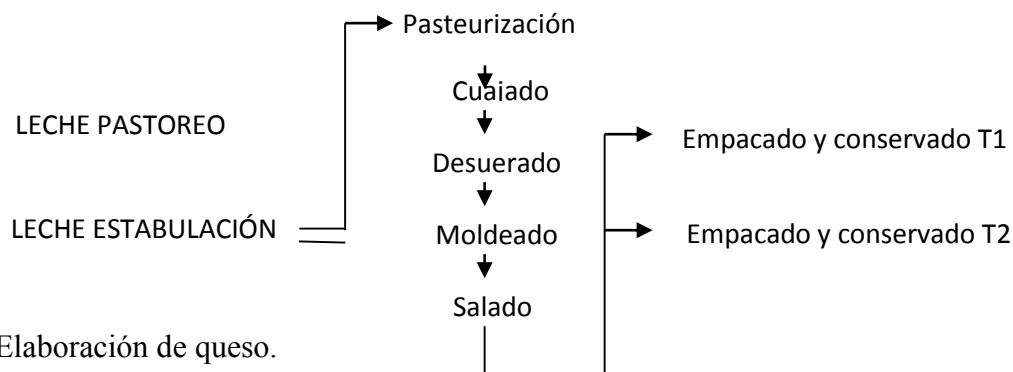


Figura 10. Elaboración de queso.

Composición química

Todos los análisis de laboratorio fueron trabajados por duplicado. La composición química del queso (humedad, proteína cruda y cenizas) fue determinada según la metodología del AOAC (1997). El valor energético de las muestras fue determinado a través de calorimetría.

Determinación de aminoácidos

La concentración de aminoácidos fue obtenida a través del Método ACCQ-TAG de Waters por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Este método está basado en un reactivo derivatizador desarrollado específicamente para análisis de aminoácidos. El AccQ-tag fluor es un 6-aminoquilonil-N-hidroxisuccimonil carbamato o AQC (reactivo derivatizante) que convierte aminoácidos primarios y secundarios en derivados estables de ureas que fluorescen fuertemente a 395 nm, para la lectura se utilizó un cromatógrafo de líquidos marca Waters equipado con 2 bombas 510, automuestreador 717, un controlador de temperatura Millipore y un horno para columna con las siguientes características: Columna AccQ-TAG de alta eficiencia NOVA-PAK C18 de 4 μm ; se empleó una fase móvil con tres eluyentes buffer waters accq-tag, acetonitrilo y agua milli-Q grado HPLC. El tiempo total de la corrida fue de 60 min, los aminoácidos se leyeron con un detector de fluorescencia waters 470 con filtro 0.5, a una longitud de excitación de 250 nm, con una longitud de emisión de 395 nm, la temperatura de la columna fue de 37° C. El volumen de inyección fue de 5 μl . Los datos obtenidos fueron analizados con una estación de trabajo Millennium 2010.

Determinación de lípidos totales

La determinación de lípidos totales se llevó a cabo mediante una extracción de lípidos de la muestra con solvente orgánico (Hexano); seguida de una centrifugación para posteriormente ser evaporados a sequedad con nitrógeno gaseoso, quedando únicamente el contenido graso de la muestra; para la cuantificación de este compuesto es necesario registrar el peso inicial y final de la muestra; siendo un resultado gravimétrico. Como se resume en la figura 11.

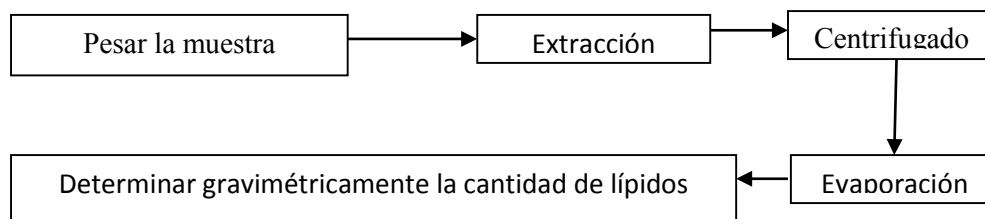


Figura 11. Determinación de lípidos totales

Determinación de ácidos grasos

Los análisis de ácidos grasos éter metálicos FAME fueron realizados por extracción por separado, utilizando cromatografía de gases (Varian modelo 3800) equipado con un muestreado automático (CP 8410) equipado con un detector FID. El cromatógrafo tenía una columna capilar de sílice fundida (60 m, 0.25 mm (di) 0.25 micras; película DB 23, J y W Supelco). Los picos FAME fueron identificados por comparación con los tiempos de retención, con los de una mezcla conocida de estándares de ácidos grasos (Sigma-Aldrich). Los compuestos volátiles se determinaron mediante la técnica modificada de dinámica del espacio de cabeza. Las muestras fueron purgadas por burbujeo de helio y la extracción se llevó a cabo durante 60 min con helio a una velocidad de 50 ml/min. Los componentes volátiles fueron absorbidos en una trampa de vidrio lleno de 0.20 mg de Tenax TA, malla 60/80 y 0.05 mg de Carbopack C, malla 40/60. La desorción térmica se llevó a cabo por una trampa de calentamiento a 220 °C durante 5 minutos con un flujo de gas portador de helio (50 ml/min) en un sistema automático de desorción térmica (TDS2, Gerstel GmbH). El análisis gaseoso se realizó en un cromatógrafo modelo Agilent 6890 GC N instrumento conectado a un detector de masas cuádruple selectivo (TME) modelo 5973. Una columna capilar de sílice fundida revestida con dimetilpolisiloxano (HP 1, Agilent Technologies, USA.) de 30 m, 0.32 mm (di) 0.25 micras de espesor de la película, fue utilizado para analizar el perfil volátil de la leche. Las condiciones de funcionamiento fueron en un caudal de helio de 1.2 ml /min, la línea de transferencia a la EM 250°C de interfaz abierto splitless la temperatura del programa fue de 10 min a 40°C, con velocidad de calentamiento de 10°C/ min hasta un pico de 150°C calibrada durante 12 min. El espectrómetro de masas escaneada fue de m/z 29 a m/z 400 en tiempo de ciclo de 0.5 s. La fuente de iones se fijó en 230°C y los espectros se obtuvieron por impacto de electrones (70 eV). Los compuestos

volátiles detectados fueron identificados por el estudio de los espectros de MS en comparación con los datos de Wiley (Wiley and son, Alemania). Cada muestra se analizó por duplicado. Los perfiles de ácidos grasos volátiles de la leche fueron expresados en porcentajes. El cromatógrafo efectúa un muestreo automático (CP 8410) con detector FID. El aparato tenía una columna capilar de sílice fundida (60 m. 0.25 mm (di) 0.25 micras con una película DB 23, (J y W; Supelco). Los picos FAME fueron identificados por comparación de los tiempos de retención con los de mezcla conocida de estándares de ácidos grasos (Sigma-Aldrich). El estándar de ALC (cis-9, trans-10, cis-12 3%) se obtuvo de Larodan (Malmö, Suecia).

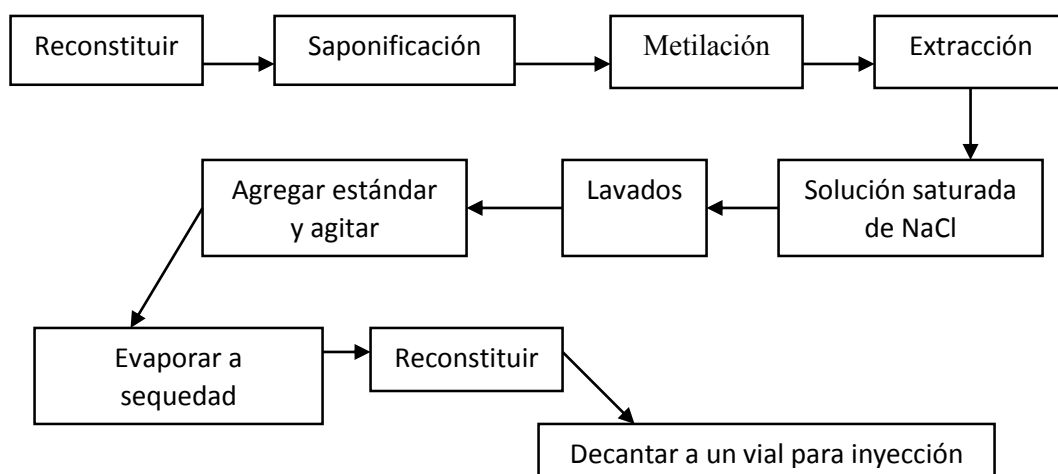


Figura 12. Determinación de ácidos grasos.

Determinación de colesterol

La determinación de colesterol se llevó a cabo mediante la saponificación directa de éste esterol utilizando etanol, hidróxido de potasio (KOH) al 40% y 100 µl de estándar interno (α -colestano a una concentración conocida); seguida de la extracción del compuesto con el uso de agua desionizada y hexano, se realizan 2 lavados con el mismo solvente, una vez terminados se evapora con nitrógeno gaseoso. Finalmente se reconstituye la muestra con heptano °HPLC como se resume en la figura 13.

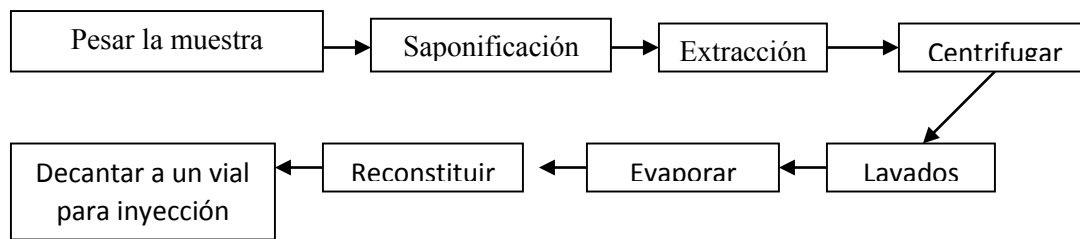


Figura 13. Determinación de colesterol.

Para la lectura se inyectó 1 μ l en un cromatógrafo de gases marca Varian 3,400x con detector de ionización de flama (FID) con las siguientes características: columna capilar DB-5 con una película de 1 μ m de 5% de fenil-metil polisiloxanos, con una longitud de 3 metros y un diámetro interno de 0.25 mm; un automuestrador 8200CX. La temperatura del inyector fue de 280° C, la temperatura del detector de 300° C y la de la columna inició a 180° C con un incremento de 40° C por minuto hasta alcanzar los 290° C manteniéndose esta temperatura por 1.25 minutos teniendo un tiempo de retención total de 5 minutos. Se utilizó como gas acarreador Nitrógeno. Los datos obtenidos fueron procesados en una estación de trabajo equipada con un software Chromatography workstation versión 4.51,1996 Varian Associates, Inc.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos (proteína, energía, colesterol, aminoácidos, lípidos totales, y ácidos grasos) de las leches y quesos, se analizaron a través de un análisis de varianza, con un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 2x2, con dos tipos de alimentación (pastoreo y estabulado) y dos diferentes tipos de muestras (leche o queso), las diferencias entre promedios fueron establecidas con una probabilidad de error menor al 0.05, mediante la prueba de Tukey. El análisis estadístico de las variables estudiadas se realizó mediante los procedimientos PROC GLM, con apoyo del programa Statical Analysis System.

El modelo empleado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = variable respuesta (proteína, energía, colesterol, aminoácidos, lípidos totales, y ácidos grasos) en la repetición k (cinco), nivel j de B y nivel i de A

μ = media general

A_i = efecto del factor A al nivel i (sistema de alimentación; pastoreo o confinamiento)

B_j = efecto del factor B al nivel j (Leche o queso)

$(AB)_{ij}$ = efecto de la interacción AB al nivel ij (interacción de los factores)

E_{ijk} = error aleatorio

RESULTADOS:

En el Cuadro 1 se presentan los valores proteicos, energéticos y de humedad entre otros, de los diferentes tipos de leche y quesos estudiados.

Cuadro 1. Algunos valores nutrimentales de la leche y el queso de vaca en pastoreo o/ en confinamiento (g/100g de muestra fresca).

| Variables | L1 | L2 | Q1 | Q2 |
|---------------------------|-----------------|---------------------|------------------|---------------------|
| | Leche pastoreo | Leche confinamiento | Queso pastoreo | Queso confinamiento |
| Humedad | 94.2a ±2.48 | 95.5a ±2.40 | 58.8b ±2.49 | 54.2a ±2.67 |
| Proteína cruda (N x 6.38) | 16.6* ±0.5 | 14.8 ±1.3 | 15.8 ±1.1 | 15.1 ±1.2 |
| Nitrógeno | 2.60 ± 0.08 | 2.48 ± 0.20 | 2.37 ± 0.18 | 2.33 ± 0.18 |
| Cenizas | 1.62 ±0.51 | 1.61 ±0.39 | 1.61 ±0.39 | 1.93 ±0.30 |
| Energía bruta (Mcal/ kg) | 2.49a ±0.06 | 2.24b ±0.15 | 2.48ab ±0.11 | 2.27ab ±0.12 |
| Lípidos | 15.33a ±2.06 | 17.90b ±2.57 | 13.60ab ±2.13 | 14.50ab ±1.62 |

a, b: literales distintas en la misma hilera indican diferencia estadísticas significativa ($P < 0.05$).

* Sin literal en la misma hilera indica que no existió diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastoreo; Q2 Queso de estabulación

El contenido de humedad en el queso tipo 2 (59.4%) fue 9.6% superior al registrado en el queso tipo 1 (54.2%), siendo estadísticamente diferente ($P < 0.05$); afectando el contenido de materia seca, observándose que el sistema de alimentación afectó esta variable. En este

sentido, la concentración de proteína (16.6%) y lípidos totales (15.3%) en la leche de animales en pastoreo (L1) tendieron a ser superiores al resto de los productos, sin ser estadísticamente diferentes ($P>0.05$).

Al analizar el contenido energético mediante el análisis de la varianza, se encontró que existe interacción entre los factores ($P<0.03$) con un bajo nivel de significancia, donde la L1 registró un contenido de 2.49 Mcal/kg siendo mayor ($P<0.05$) respecto a L2. Sin embargo, no fue diferente al resto de los productos. En este sentido, se observó marcadamente que el pastoreo elevó el valor energético ($P<0.02$), tanto en leche como en queso.

En el Cuadro 2. Se presenta el perfil de aminoácidos de las muestras estudiadas; los resultados se encuentran distribuidos en aminoácidos esenciales y no esenciales, así como totales para cada grupo.

Cuadro 2. Aminoácidos en el queso y leche de vaca en materia seca (g/100g).

| Aminoácidos | Muestras | | | |
|----------------------------|--------------------------|---------------|-------------------|---------------|
| | L1 | L2 | Q1 | Q2 |
| Esenciales | | | | |
| Isoleucina | 0.66* | 0.58 | 0.64 | 0.60 |
| Leucina | 1.23 | 1.07 | 1.17 | 1.05 |
| Lisina | 1.27 ^a | 1.06ab | 1.18ab | 1.04b |
| Metionina | 0.34 | 0.29 | 0.32 | 0.29 |
| Fenilalanina | 0.70 | 0.63 | 0.65 | 0.62 |
| Valina | 0.86 | 0.77 | 0.82 | 0.78 |
| Treonina | 0.51 | 0.43 | 0.44 | 0.44 |
| Histidina | 0.44 ^a | 0.34b | 0.37ab | 0.33b |
| Triptofano | ND | ND | ND | ND |
| Total | 6.01 | 5.17 | 5.59 | 5.16 |
| No esenciales | | | | |
| Cisteína | 0.07a | 0.05b | 0.05b | 0.05b |
| Tirosina | 0.73a | 0.61b | 0.67ab | 0.64ab |
| Arginina | 0.55a | 0.47b | 0.51ab | 0.47b |
| Alanina | 0.41a | 0.34b | 0.36ab | 0.33b |
| Ácido aspártico | 1.04 ^a | 0.85b | 0.98 ^a | 0.88b |
| Ácido glutámico | 2.55 ^a | 2.31ab | 2.43ab | 2.21b |
| Glicina | 0.26 ^a | 0.19b | 0.24 ^a | 0.17b |
| Prolina | 1.59a | 1.12c | 1.36b | 1.30bc |
| Serina | 0.70a | 0.58b | 0.63ab | 0.58b |
| Total | 7.90a | 6.52b | 7.23ab | 6.64b |
| Aminoácidos totales | 13.91^a | 11.69b | 12.82ab | 11.80b |

a, b, c: literales distintas en la misma hilera indican diferencia estadísticas significativa (P<0.05).

Sin literal en la misma hilera indica que no existió diferencia estadística significativa (P>0.05).

ND=No determinado

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastoreo; Q2 Queso de estabulación

En este sentido se observa que para los aminoácidos esenciales, únicamente se registraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en lisina e histidina, sin embargo en el análisis de varianza no se observó interacción de los factores. La concentración de lisina fue más alta en la leche en pastoreo (1.27%); que en la leche de confinamiento (1.06%). La histidina fue mayor ($P < 0.05$) en leche y queso de pastoreo (0.44%) respecto a la leche y el queso de confinamiento (0.34).

Por otra parte, la concentración de aminoácidos no esenciales fue más dinámica, mostrando diversas variaciones; las cuales a través del análisis estadístico pudieron agruparse mayoritariamente a favor de la leche en pastoreo LI, sobre todo cuando se comparan con los productos de confinamiento leche o queso. Sin embargo, es importante observar con detenimiento los resultados, ya que estos son muy similares a los encontrados en el queso de pastoreo.

En los Cuadros 3, 4, 5 y 6, se presentan los resultados de la composición lipídica de la leche y el queso de pastoreo, comparadas con la leche y el queso de los animales estabulados.

Las concentraciones totales de ácidos grasos se resumen en el Cuadro 3; se encuentran clasificados en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y las proporciones correspondientes a las series omega 3 y 6, además del contenido de colesterol.

Cuadro 3. Concentración total de ácidos grasos en la leche y el queso de pastoreo o estabulación en materia seca (g/100g)

| Variables | | | | |
|--|--------|--------|--------|--------|
| | L1 | L2 | Q1 | Q2 |
| Ácidos grasos totales | 4.63a | 4.67a | 4.55b | 4.69a |
| Saturados | 2.18c | 2.96ab | 2.13b | 3.25c |
| Monoinsaturados | 1.21a | 1.12c | 1.14bc | 1.18ab |
| Poliinsaturados | 0.31a | 0.24c | 0.29a | 0.25b |
| Omega 3 | 0.057a | 0.038b | 0.061b | 0.040b |
| Omega 6 | 0.16c | 0.31a | 0.17c | 0.30a |
| Relación entre $\omega 6$: $\omega 3$ | 3.23c | 10.3a | 2.83c | 7.5b |
| Colesterol (mg/100g) | 83.2a | 84.4a | 87.5ab | 89.1ab |

a, b, c: literales distintas en la misma hilera indican diferencia estadísticas significativa ($P < 0.05$).

* Sin literal en la misma hilera indica que no existió diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastoreo; Q2 Queso de estabulación

En el total de ácidos grasos totales no mostraron diferencias significativas entre leches, quesos o sistemas de alimentación.

Con respecto a los ácidos grasos saturados y monoinsaturados la leche y el queso de confinamiento mostraron las mayores concentraciones, siendo similares ($P > 0.05$), por su parte, la leche y el queso de pastoreo que mostraron una menor concentración, siendo inferior a los demás tipos. A través del análisis de varianza se observó que el sistema de alimentación sólo modificó la concentración de AG saturados ($P < 0.0002$), por el contrario los AG monoinsaturados solamente fueron afectados ($P < 0.01$) por la muestra sea de leche o de queso.

Con respecto a los ácidos grasos poliinsaturados, omega 3 tanto la leche como el queso de pastoreo fueron significativamente mayores ($P<0.05$) contenido (0.57 y 0.61 g/100g), siendo superior a los demás tipos. Se observó efecto significativo ($P<0.0001$) del sistema de alimentación sobre éstos elementos.

Con relación al total de AG $\omega 3$ tanto la leche como el queso de pastoreo (0.057 y 0.06) fue superior ($P<0.05$) a los demás tratamientos; en contraste, se encontró en esos mismos productos la menor concentración de ácidos grasos $\omega 6$, observándose que el queso obtenido de estabulación tiene una mayor proporción de ácidos grasos $\omega 6$ por cada $\omega 3$. A través del análisis de varianza se observó que existe interacción de los factores ($P<0.0001$) sobre el contenido de AG $\omega 3$, $\omega 6$, así como en la relación que guardan éstos elementos.

Al analizar el contenido de colesterol en los diferentes tipos de muestras se observó en L1 registró un contenido de 83.2 mg/100g, no habiendo diferencias significativas entre tratamientos. En este sentido el sistema de alimentación no ejerce efecto sobre éste parámetro.

En el Cuadro 4 se muestra la concentración de ácidos grasos saturados de los cuatro tipos de productos.

Cuadro 4. Ácidos grasos saturados en la leche y queso de vaca de pastoreo o confinamiento (mg/100g)

| No. de carbonos y Nombre común | Nombre sistemático | Tipos de muestras | | | |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|--------------|------------------|-------------------|
| | | L1 | L2 | Q1 | Q2 |
| 4:0 Butírico | Butanoico | 0.38c | 0.57b | 0.78a | 0.84 ^a |
| 6:0 Caproico | Hexanoico | 0.79a | 0.634b | 0.34c | 0.24c |
| 8:0 Caprílico | Octanoico | 6.1b | 8.7a | 4.9c | 4.4d |
| 10:0 Cáprico | Decanoico | 268.1a | 164.5c | 234.6b | 226.4b |
| 11:0 Undecílico | Undecanoico | 1.7c | 1.9c | 2.5 ^a | 2.3b |
| 12:0 Láurico | Dodecanoico | 261a | 220bc | 201c | 235b |
| 13:0 Tridecílico | Tridecanoico | 3.1a | 2.5c | 2.7b | 2.4c |
| 14:0 Mirístico | Tetradecanoico | 476b | 460b | 611a | 627a |
| 15:0 Pentadecílico | Pentadecanoico | 43bc | 41c | 48 ^a | 45ab |
| 16:0 Palmítico | Hexadecanoico | 1603b | 1551b | 1584b | 1668a |
| 17:0 Margárico | Heptadecanoico | 45 ^a | 43ab | 39c | 42b |
| 18:0 Esteárico | Octadecanoico | 437a | 440a | 369b | 367b |
| 20:0 Araquídico | Eicosanoico | 17 ^a | 15b | 16 ^a | 16 ^a |
| 21:0 Heneicosanoico | Heneicosanoico | 4.7a | 3.5c | 3.3c | 3.8b |
| 22:0 Behénico | Docosanoico | 7.3a | 5.6b | 5.9b | 5.6b |
| 23:0 Tricosanoico | Tricosanoico | 4.4a | 3.6b | 4.7a | 3.2b |
| 24:0 Lignocerico | Tetracosanoico | 4.5a | 3.6b | 3.4b | 3.6b |

a, b, c: literales distintas en la misma hilera indican diferencia estadísticas significativa ($P < 0.05$).

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastore; Q2 Queso de estabulación

Con relación a la concentración de los ácidos grasos C4:0-C10:0; se encontró que existe una gran variación; la cual se ve reflejada en el análisis estadístico, ya que no hubo un patrón constante a favor del queso tanto de pastoreo como de estabulación. Sin embargo mediante el análisis de varianza se encontró que existe interacción de los factores para el ácido butírico ($P < 0.026$) así como para los ácidos caproico, caprílico y cáprico ($P < 0.0001$), mostrándose que para el primer ácido graso existió además efecto por el tratamiento a queso, a diferencia de las muestras de leche tanto de vacas en pastoreo como en confinamiento.

Al analizar el comportamiento de los ácidos grasos saturados del carbono 12 al 18; se pueden señalar algunas características principalmente en las concentraciones de los ácidos grasos láurico, mirístico, palmítico y esteárico. Los resultados para el primero fueron más altos en el queso de pastoreo (Q 1), siendo estadísticamente diferente ($P < 0.05$) al resto de las muestras, observándose interacción ($P < 0.0001$) de los factores. En relación a los ácidos mirístico a través del análisis de varianza se observó que no existe interacción de los factores ($P > 0.05$), en contraste con el ácido palmítico ($P < 0.0001$); las concentraciones más altas fueron encontradas en el queso de estabulación Q2, siendo estadísticamente diferente ($P < 0.05$) a las leche L1 o L2. Por su parte, al analizar la concentración de esteárico, se puede observar que este comportamiento es inverso, donde las leches 1 y 2 registraron los valores más altos ($P < 0.05$), siendo diferentes a los quesos tipo 1 y 2, elaborados con leche de animales alimentados en estabulación o pastoreo.

Las concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados detectados en los quesos estudiados (Cuadro 3), muestran una tendencia a favor de L1. Al observar particularmente la concentración de ácido oleico el análisis de varianza muestra que existe interacción de los factores ($P < 0.0001$); se destaca que los quesos tipo 1 y 2 tuvieron la mayor cantidad, siendo estadísticamente similares ($P > 0.05$), siendo distintos comparados con las muestras de leche.

Cuadro 5. Ácidos grasos monoinsaturados en las muestras de leche y quesos de vaca en pastoreo o confinamiento (mg/100g)

| No. de carbonos y Nombre común | Nombre sistemático | Tipos de quesos | | | |
|--------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | L1 | L2 | Q1 | Q4 |
| 15:1 | cis10-pentadecenoico | 18.5 ^a | 14.7 ^c | 17.3 ^b | 17.1 ^b |
| 16:1 Palmitoleico | cis9-hexadecenoico | 37.8 ^a | 32.2 ^c | 37.7 ^a | 35.1 ^b |
| 17:1 | cis10-heptadecenoico | 16.2 ^b | 18.4 ^a | 14.6 ^c | 15.2 ^c |
| 18:1 Oleico | cis9-octadecenoico | 1134^a | 1054^c | 1168^a | 1105^{ab} |
| 20:1 Eicosanoico | cis11-eicosanoico | 5.3 ^b | 3.9 ^c | 5.8 ^a | 5.4 ^b |
| 22:1 Erucico | cis-13-docosenoico | 1.7 ^a | 1.4 ^b | 1.3 ^c | 1.3 ^{bc} |
| 24:1 Nervonico | cis-tetracosenoico | 0.60 ^b | 0.47 ^c | 0.61 ^b | 0.67 ^a |

a, b, c: literales distintas indican diferencia estadísticas significativa (P<0.05)

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastoreo; Q2 Queso de estabulación

Como parte del perfil lípidico de la leche y queso de pastoreo y confinamiento de vaca, a continuación se presentan los resultados de los ácidos grasos poliinsaturados (Cuadro 6).

Cuadro 6. Ácidos grasos poliinsaturados en la leche y queso de vaca de pastoreo y confinamiento (mg/100g)

| No. de carbonos y nombre común | Nombre Sistemático | Serie | Tipos de quesos | | | |
|-----------------------------------|--|------------|------------------|------|------|-----------------|
| | | | L1 | L2 | Q1 | Q2 |
| 18:2 Linoleico (LA) | cis-9,12-octadecadienoico | ω 6 | 161b | 310a | 171b | 300a |
| 18:2 Linoleaidico | trans-9,12-octadecadienoico | - | 15c | 17c | 24b | 28 ^a |
| 18:3 Alfa-linolénico (ALA) | cis-9,12,15-octadecatrienoico | ω 3 | 57 ^a | 38b | 61b | 40c |
| 18:3 Gama-linolenico | cis-6,9,12-octadecatrienoico | ω 6 | 8.2a | 9.4b | 8.5b | 8.9b |
| 20:2 | cis-11,14-eicosadienoico | - | 4.6 ^a | 3.5c | 4.3b | 4.7a |
| 20:3 homo- γ -linolenico | cis-8,11,14-eicosatrienoico | ω 6 | 4.1 ^a | 3.4c | 4.6a | 3.3c |
| 20:3 | cis-11,14,17-eicosatrienoico | ω 3 | 8.5 ^a | 7.9c | 8.7a | 6.1c |
| 20:4 Araquidónico (AA) | cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico | ω 6 | 18 ^a | 13c | 19a | 14b |
| 20:5 Timnodónico (EPA) | cis-5,8,11,14,17- eicosapentaenoico | ω 3 | 5.4 ^a | 3.6d | 5.7b | 4.3c |
| 22:2 | cis-13,16-docosadienoico | - | 4.2 ^a | 1.5d | 3.8b | 3.5c |
| 22:6 Cervónico (DHA) | cis-4,7,10,13,16,19- docosahexaenoico | ω 3 | 3.1 ^a | 2.7b | 3.5a | 2.4b |

a, b, c, d: literales distintas en la misma hilera indican diferencia estadísticas significativa ($P < 0.05$).

L1 Leche de pastoreo; L2 Leche de estabulación; Q1 Queso de pastoreo; Q2 Queso de estabulación

Los productos más relevantes en esta clasificación son los ácidos grasos omega 3 y 6; en éstos la mayor concentración se encontró en la leche y el queso de pastoreo. Entre los omegas 3, se encontraron interacciones con diferentes niveles de significancia para todos los ácidos que conforman ésta familia. Los ácidos alfa-linolénico (ALA) y timnodónico

(EPA) registraron las más altas concentraciones en L1; siendo estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) al resto de los productos. En relación al ácido cervónico (DHA), la cantidad fue más alta ($P < 0.05$) en L1 y Q1, respecto a L2 y Q2. A través del análisis de varianza se observó que los productos obtenidos a partir de pastoreo presentarán mayor cantidad de ALA; a diferencia de éste el contenido de EPA mejoró en los quesos de pastoreo. Con respecto a las concentraciones de DHA éstas fueron afectadas por el sistema de alimentación en estabulación o pastoreo.

La mayor cantidad de linoleico (LA), gama-linoleico, homo-gama-linolenico, y araquidónico (AA) correspondientes a la serie omega 6, se encontró en L2 y Q2. Con respecto al contenido de LA y AA se encontró a través del análisis de varianza que los productos obtenidos de estabulación (L2 y Q2) tuvieron la mayor concentración ($P < 0.05$), además de observarse interacción entre los factores, en contraste el ácido gama-linoleico y homo-gama-linolenico se presentaron en mayor proporción en productos de pastoreo, encontrándose únicamente interacción en el caso del ácido homo-gama-linolenico.

DISCUSIÓN:

Con relación a la concentración de proteína y lípidos, al analizar los resultados obtenidos para los quesos tipo 1 (pastoreo) y 2 (estabulado), el contenido proteico fue de 15.8 y 15.1%, sin ser estadísticamente diferentes. En relación al contenido de lípidos esta tendencia fue similar, ubicándose en 13.60 para el queso tipo 1 y en 15.60% para el queso tipo 2; en éste estudio se encontró que el sistema de alimentación no afecta cuantitativamente la concentración de proteína y grasa, en concordancia con Soryal *et al.*, (2004) que determinaron éstas variables en dos tipos de queso clasificados como suaves, comparando el efecto de diferentes sistemas de alimentación. Formaron dos grupos de animales, el primero fue alimentado en estabulación con una dieta a base de heno de alfalfa y concentrado de cereales; el segundo grupo fue conducido en pastoreo sobre 8 variedades de forrajes (trigo, centeno, trébol, pasto sudan y pasto nativo), además de recibir concentrado sistema que denominaron “dieta mixta”. A través del análisis de las variables encontraron una concentración de proteína de 15.0 y 14.0% para cada dieta, así como un 14.5 y 14.0% de grasa respectivamente, sin registrarse efecto significativo, concluyeron que el sistema de alimentación no ejerce efecto sobre éstas variables.

Ramanzin *et al.*, (1997) señalaron que el sistema de alimentación modifica el contenido de grasa, debido al incremento en la cantidad de concentrado dentro de la ración, en contraste con lo reportado por Soryal *et al.*, (2004) y con lo obtenido en éste estudio, modificaciones en la dieta, influyen en la biohidrogenación ruminal, particularmente con el uso de probióticos lácticos, lo que probablemente expliquen las diferencias entre resultados (Galina *et al.*, 2013).

La concentración promedio total de aminoácidos en este estudio fue de 12.31g/100g de leche, resultando muy inferior al compararla con los reportes de Kosikowski y Mistry en 1997 quienes señalaron una concentración total de 16.7 g/100g de muestra. Al comparar el promedio obtenido de los dos tipos de quesos con lo reportado por Gambelli, *et al.* en 1999 y Franco *et al.* 2003; 8.75 y 9.03 g/100 g respectivamente, éstos últimos fueron muy inferiores. El mismo comportamiento se observó al estudiar los aminoácidos esenciales y no esenciales, donde Posati y Orr (1976), así como Kosikowski y Mistryr en 1997 reportaron concentraciones de 7.5 y 9.2 g/100g respectivamente, siendo superiores a lo observado por Gambelli, *et al.* 1999 y Franco *et al.* 2003, quienes reportaron 3.63 y 5.24

g/100g de aminoácidos esenciales y no esenciales. Esta variación se debió quizás a los diferentes niveles de proteína en la dieta, encontrados por cada autor ya que el producto evaluado por aquellos autores, registró un reducido nivel de proteína.

Los resultados del presente trabajo muestran que el contenido de colesterol no tuvo una variación significativa entre tratamientos cuantitativa, sino cualitativamente las diferencias que mostraron los animales de pastoreo como fue demostrado con anterioridad (Galina *et al.*, 2013). Andrikopoulos *et al.*, (2003) señalaron que no existe una relación directamente proporcional entre el contenido de grasa y la cantidad de colesterol. Asimismo estos autores mencionaron, que el contenido de grasa y colesterol pueden variar debido al proceso y tratamiento que sufra la leche durante la elaboración del queso, en particular por la cantidad de suero que se pierda. Contrastando esto con los resultados muestran que la leche tipo 1 y tipo 2 tienen 4.63 y 4.67 g/100g de contenido de grasa respectivamente y al elaborar el queso se obtuvo una concentración de 4.55 en el queso tipo 1 y 4.69 en el queso tipo 2 mientras que de colesterol tenemos el 83.2 y 84.4 mg/100g para la leche tipo 1 y tipo 2 respectivamente y 87.5 y 89.1 para el queso tipo 1 y tipo 2.

Park, 1999; Jensen, 2002; Chapkin, 2001; Bauchart, 1993 y Banskalieva *et al.*, 2000; señalaron que a nivel mundial el consumo de grasa y colesterol se ha incrementado, en los últimos años convirtiéndose en un riesgo para la salud, debido a que incrementan la probabilidad de enfermedades coronarias; por su parte, la organización mundial de la salud, reporta que un consumo de menor a 300 mg de colesterol al día, no incrementan los niveles del esteroles en sangre, señalando que el consumo de quesos frescos no representa un riesgo en el incremento de estos padecimientos; los cuales están estrechamente vinculados con otros trastornos como el tabaquismo, hipertensión y obesidad entre otros, el nivel de colesterol del presente trabajo de 80 a 90 g/100 g de queso significaría que el consumidor tendría que comer más de medio kilogramo de queso o 5 litros de leche para rebasar los niveles de riesgo para la salud.

Elliott *et al.* (1989) y Kin y Lindsay (1990) mencionaron que las concentraciones de ácidos de cadena corta (C:4 a C:11) se pueden ver afectadas dentro del análisis de laboratorio, debido a algunos factores en la preparación de la muestra, además cabe mencionar que son muy volátiles y por lo tanto se encontrarán valores poco consistentes, sin embargo, señalan que se han desarrollado técnicas para mejorar la extracción de dichos compuestos, logrando

disminuir el error hasta un 10%. En este sentido las concentraciones encontradas por Kin y Lindsay, (1990) fueron de 0.98 g/100g siendo muy variables en los resultados obtenidos en este experimento. En contraste Martín-Hernández, *et al.*, en 1992 reportaron concentraciones de 0.12 g/100g para queso fresco, valor inferior al antes reportado, resultados similares fueron observados en el presente trabajo (Cuadro 4), el uso de la misma tecnología con sus limitaciones pudiera ser la explicación para los presentes resultados como fue discutido con anterioridad (Galina *et al.*, 2009b).

Franco *et al.* 2003 y Mallatou *et al.* 2003 evaluaron el contenido de ácidos grasos en el queso de leche pasteurizada, con la adición de cultivos iniciadores, cuajo sintético además de la inmersión del queso en una solución de cloruro de sodio por más de 16 horas; obteniendo una concentración de 4.9 y 4.6 mg/100g de ácido láurico (C:12), 2.3 y 5.4 mg/100g de ácido mirístico (C:14), así como 7.3 y 8.9 mg/100g de ácido palmítico (C:16), respectivamente. En este sentido, al observar los resultados obtenidos en los 2 tipos de quesos en éste estudio; las concentraciones de láurico, mirístico y palmítico fueron superiores a las reportadas por los anteriores autores, probablemente debido al tipo de salado que se utilizó, como lo señalaron Pavia *et al.* en 2000 quienes mencionaron que la sal reduce e incluso llega a inhibir la actividad de la lipoprotein lipasa, enzima involucrada en la lipólisis del producto, reflejándose en una baja concentración de ácidos grasos libres, fenómeno observado principalmente en quesos salados mediante inmersión. Las concentraciones en leche de 4.63 y 4.67 para L1 y L2 fueron similares a las reportadas con anterioridad para leche de pastoreo (Rubino, 2014)

En contraste Martín-Hernández y colaboradores en 1992 evaluaron queso fresco elaborado con leche pasteurizada, con la adición de cuajo natural; encontrando concentraciones de 37.5, 50.7 y 135.4 mg/100g para láurico, mirístico y palmítico respectivamente, siendo muy superiores a las reportadas por Franco *et al.* (2003) y Mallatou *et al.* (2003). Martín-Hernández y colaboradores en 1992 mencionaron que el cuajo natural, contiene una gran cantidad de esterasas, lo que puede incrementar la concentración de ácidos grasos, debido a la intensa actividad lipolítica.

Carpino *et al.* en 2004 señalaron que las concentraciones de ácidos grasos de cadena mediana (C12 a C18) en queso de vacas alimentadas bajo pastoreo se vieron influenciadas significativamente debido al sistema de alimentación, característica similar a este estudio ya

que en algunos si se observó una diferencia donde el queso de tipo 1 tuvo valores mayores (C 13:0, C 15:0, C 18:0), pero no son significativos, sin embargo los mismos autores no encontraron diferencias significativas en el total de ácidos grasos, señalando que la razón de éstas diferencias aún no es clara, no obstante estas diferencias se manifestaron en el sabor de la leche y del queso.

Por su parte Urbach, en 1997 señaló que la lipólisis puede disminuirse mediante la pasteurización además del proceso de salado, siempre y cuando ésta sea realizada a temperaturas menores o iguales a 78°C, disminuyendo la producción de ácidos grasos libres; sin embargo éste efecto no es observado en los quesos del presente estudio, ya que no existe evidencia estadística significativa ($P>0.05$) por efecto de la pasteurización, quizás se deba a que en la presente observación se realizó a 63°C, lo cual puede explicar las diferencias.

Park, 1999; Jensen, 2001; Chapkin, 2001; Bauchart, 1993 y Banskalieva *et al.*, 2000 señalaron que el consumo de ácidos grasos saturados, en especial láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) se encuentran relacionados con un incremento en los niveles de colesterol en sangre, ya que son caracterizados como productos hipercolesterolémicos debido que pueden incrementar las concentraciones de LDL en plasma y esto puede desencadenar diversos padecimientos de importancia cardiovascular en el consumidor. Los niveles de láurico, mirístico y palmítico fueron menores a los reportados en los estudios anteriores, por lo que están dentro de niveles bajos, que son consistentes con los propuestos para mejorar el consumo de estos ácidos en productos lácteos para la salud humana (Galina *et al.*, 2012; Rubino, 2014)

Zlatanov *et al.*, en 2002 obtuvieron un perfil completo de ácidos grasos en queso, los productos fueron obtenidos del mercado por lo que no se detalla la alimentación de los animales, sin embargo, señalaron que ésta variable puede afectar las concentraciones de éstos compuestos. Con respecto a la presencia de ácido esteárico y oleico reportaron concentraciones de 9.8% y 14.8%, respectivamente, siendo valores inferiores a los encontrados en éste estudio para los quesos tipo 1 y 2, observando que el sistema de alimentación influye sobre los niveles de éste compuesto, en concordancia con lo señalado por Carpino *et al.*, 2004 y reafirmando lo indicado por Zlatanov *et al.*, 2002. Por su parte Park, 1999; Jensen, 2001; Chapkin, 2001; Bauchart, 1993 y Banskalieva *et al.*, 2000

señalaron que el consumo de ácido esteárico (C18:0) y oleico (C18:1) disminuyen los niveles de colesterol en sangre, debido a que reducen los niveles de LDL e incrementan los de HDL, fomentando el retorno de los excedentes de dicho esteroles hacia el hígado, para ser utilizado en la formación de sales biliares o en la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Estos datos confirmarían el carácter de alimento funcional de las leches y quesos de pastoreo de la presente información.

Con respecto a los ácidos grasos poliinsaturados precursores de las familias omega/6 y omega/3; se observó que los niveles de ácido linoleico (LA) y alfa-linoleico (ALA) son afectados por el sistema de alimentación como lo señalaron Zlatanov et al., (2002) y Carpino et al., (2004). En relación al LA, el queso tipo 2 registró la mayor concentración (4%), a diferencia del ALA donde el tipo 1 fue superior (6%). Estos resultados fueron significativamente superiores a los reportados por Zlatanov *et al.*, 2000, quienes obtuvieron un 2% y 1% respectivamente, señalando que además de la alimentación, estas concentraciones pueden verse afectadas por el proceso de manufactura, principalmente la pasteurización. Las tendencias en concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados en la leche fueron comparativamente similares a los observados en el queso, con un porcentaje favorable en omega 3 pero diferente en omega 6 lo que produciría un efecto de bloqueo en la leche y queso de estabulación donde los porcentajes de relación fueron superiores a 5:1 de acuerdo con los trabajos publicados con anterioridad (Colavita *et al.*, 2014).

En relación con el ácido araquidónico (AA) producto final de la elongación del ácido linoleico se encontró que el queso tipo 1 (19%) obtuvo la mayor concentración, al respecto Jensen, 2001; Chapkin, 2001 y Banskalieva *et al.*, 2000 señalaron que un consumo elevado de AA es poco recomendable ya que a partir de éste se sintetizan prostaglandinas 12, 1 y tromboxanos A2 que se han relacionado con desórdenes cardiovasculares y condiciones inflamatorias no deseables.

Por su parte los niveles de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) fueron de 17 y 15% para L1 y L2 con 16 y 16% para Q1 y Q2 (EPA) y 7.3%; 5.6% para leche L1 y L2 (DHA) y 5.9% y 5.6% para los quesos Q1 y Q2 (pastoreo y estabulación, cuadro 4) respectivamente; encontrándose en la mayor concentración en el queso tipo 1. Castro, 2002 señaló que el EPA y DHA presentan funciones muy variadas, así como diversos efectos positivos sobre la salud del consumidor, disminuyendo la agregación

plaquetaria e incrementando la permeabilidad y contractilidad de los vasos sanguíneos, además de atenuar los procesos inflamatorios e incrementar la respuesta del sistema inmunológico. En este sentido Park, 1999; Jensen, 2001; Chapkin, 200; Bauchart, 1993 y Banskalieva *et al.*, 2000, discutieron que cuando una dieta contiene altos niveles de LA, bajos niveles de ALA y muy bajos de EPA y DHA, la conversión de LA a AA dentro del cuerpo compite con la conversión de ALA a EPA y a DHA, generándose un exceso relativo de AA produciendo mayor cantidad de prostaglandinas y tromboxanos, debido a la competencia que existe para la síntesis de AA, EPA y DHA. Los resultados de la presente observación coinciden dentro de los límites y proporciones discutidos con anterioridad.

Los resultados superiores en ácidos grasos no saturados mono o polinsaturados de la presente observación, así como superiores en omega 3 y una mejor relación con omega 6 (Cuadro 3) comparados con resultados similares con queso de vaca en el trópico (Galina *et al.*, 2007) probablemente se deba al efecto de la utilización de electrones por las bacterias lácticas por el probiótico (Galina *et al* 2009c; 2014) lo que disminuye la biohidrogenación y por lo tanto la cantidad de ácidos grasos no saturados en los productos lácteos, tanto leche como queso (Castillo *et al.*, 2013; Agazzi *et al.*, 2004)

En este sentido Castro, 2002 considera que la proporción óptima de ácidos grasos $\omega 6:\omega 3$, debe ser en torno a 5:1. Al analizar dicha recomendación en los quesos aquí estudiados se observa que tienen una relación promedio de 3.7:1 para el total de las muestras de leche y queso, demostró que aunque los productos lácteos ya sean quesos o leche son ricos en $\omega 6$, pero que no sobrepasan la relación propuesta anteriormente, como benéfica para la salud.

CONCLUSIONES:

Los sistemas de pastoreo tienen ventajas importantes ya que se pudo observar un aumento en la cantidad de ácidos grasos insaturados tanto en la leche como el queso, principalmente de omega 3 y su relación con omega 6, por cual probablemente resulten benéfico para la salud el consumo de este tipo de productos.

LITERATURA CITADA

- Abughazaleh, A.A.; Jacobson, B.N. 2007. The effect of pH and polyunsaturated C18 fatty acid source on the production of vaccenic acid and conjugated linoleic acid in ruminal cultures incubated with docosahexaenoic acid. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136:11-22.
- Agazzi, A.; Bayourthe, C.; Nicot, M.C.; Troegeler- Meynadier, A.; Moncoulon, R.; Enjanbert, P. 2004. In situ ruminal biohydrogenation of fatty acids from extruded soybeans: effects of dietary adaptation and of mixing with lecithin or wheat straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:165-175.
- AOAC. 1997. Association of Official Agricultural Chemists, Maryland, Estados Unidos
- Andrikopoulos N K, Kalogeropoulos N, Zerva A, Zerva U, Hassapidou M y Kapoulas V M. 2003. Evaluation of cholesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. *J. Food Comp. Anal.*; 16: 155-167.
- Aro A, Antoine J M, Pizzoferrato L, Reykdal O., Van Poppel G. 1998. Trans fatty acids in dairy and meat products from European countries: the TRANSFAIR study. *J. Food Comp. Anal* ; 11:150-160.
- Ashes, J.R.; Siebert, B.D.; Gulati, S.K.; Cuth- Bertson, A.Z.; Scott, T.W. 1992. Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids.* 27:629-631.
- Bailoni l., Bortolozzo A., Mantovani R., Simonetto A., Schiavon S., Bittante G. 2005a. Feeding dairy cows with full fat extruded or toasted soybeans seeds as replacement of soybean meal and effects on milk yield, fatty acid profile and CLA content . *Italian J. of Animal Science* , vol. 3, p. 243-258.
- Bailoni L., Prevedello G., Schiavon S., Mantovani R., Bittante G. (2005b). CLA content and n-3/n-6 ratio in dairy milk as affected by farm size and management . In: Hocquette J.F; Gigli, S. Indicators of milk and beef quality. EAAP Publication No. 112, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, p. 333- 338.
- Banks, A.; Hilditch, T.P. 1931. The Glyceride structure of beef talows. *Biochem. J.* 25:1168-1182.

- Banskalieva V, Sahlu T., Goetsch A. L. 2003. Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: A review. *Small Rumin Res*; 7: 255-268.
- Bauchart D. 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci*; 76: 3864-3881.
- Bauchart, D.; Legay-Carmier, F.; Doreau, M., Gaillard, B. 1990. Lipid metabolism of liquid associated and solid adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid supplemented diet. *Br. J. Nutr.* 63:563-578.
- Bauman, D.E.; Baumgard, L.H.; Corl, B.A.; Griinari, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *J. Anim Sci.* 77:1-15.
- Buccioni, A.; Decandia, M.; Minieri, S.; Molle, G.; Cabiddu, A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174:1-25.
- Byers F M., Schelling G T. Capítulo 15. 1993. Los lípidos en la nutrición de los rumiantes. En: Church D C editor. *El rumiante: Fisiología digestiva y nutrición*. España: Acribia, 1993; 339-356.
- CANILEC, 2014. Estadísticas de Producción e Importación de Leche en México. Cámara Nacional de la Industria de Leche, México.
- Carpino S, Mallia S, La Terra S, Melilli C, Licitra G, Acree T E, Barbano D. M., Van Soest P J. 2004. Composition and aroma compounds of ragusano cheese: native pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci*; 87:816-830.
- Castillo, V.J., Olivera, A., Carulla, M. 2013. Descripción del mecanismo bioquímico de la biohidrogenación en el rumen de ácidos grasos poliinsaturados: una revisión. *Rev V.D.CA Acta & Div. Ciencias* 16 (2): 459-465
- Castro G. M. 2002. Ácidos grasos ω 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27: 128-136.
- Cattani M., Montovani, R., Schiavoni, S., Bittante G., Bailoni L. 2014 Recovery of n-3 polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acids in ripened cheese obtained from milk of cows fed different levels of extruded flaxseed. *J. Dairy Sci.*, 97:123-135
- Cattani M., De Marchi M., Cologna N., Bittante G., Bailoni L. 2011. Effect of different amounts of extruded flaxseed in diets for dairy cows on chemical and fatty acid composition of milk and cheese. In: *Book of Abstract of the 62nd Annual Meeting of the*

- European Federation of Animal Science. Stavanger, 29 August-2 September 2011, vol. 17. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, p. 320.
- Chapkin R S. 2001. Reappraisal of the essential fatty acids. En: Chow C editor. Fatty acid in foods and their health implications USA: Marcel Dekker ; 557-568.
- Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J., Lamberet G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci*; 86: 1751– 1770.
- Choi, N.; Park, H.G.; Kim, J.H.; Hwang, H.; Kwon, K.H.; Yoon, J.A.; Kwon, E.G.; Chang, J.; Hwang, I.H.; Kim, Y.J. 2009. Characterization of environmental factors in Conjugated Linoleic Acid Production by mixed rumen bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 57:9263-9267.
- Chow C. 2000. Fatty acids in foods and their health implications. USA: Marcel Dekker.
- Chow, T.T.; Fievez, V.; Moloney, A.P.; Raes, K.; De- Meyer, D.; Smet, S. 2004. Effect of fish oil in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediated. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:1-12.
- Colavita, G., Amadoro, C., Mignona, R. 2014. Rapporto omega6/omega 3 e GPA nel Latte Nobile in Molise. En “Il modelo latte Nobile. Un'altra via e possibile. R. Rubino ed. Casesus ISBN 978-88-901965-7-7: 126-135
- Cuchillo H. M. 2004. Efecto de suplementación sobre el consumo de alimento, la fermentación ruminal y la cinética de la desaparición *in situ*, en ovinos alimentados con rastrojo de maíz (*Zea mays*) y heno de alfalfa (*Medicago sativa*). Tesis FES-Cuautitlán UNAM, México
- Cuchillo, H.M., Puga, D.C., Galina, M.A., Pérez-Gil, R.F. 2009. Influence of semiarid summer browsing on chemical composition in Goat's milk cheeses. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 11:25-28
- Dawson, R.M.C.; Kemp, P. 1969. The effect of defaunation on the phospholipids and on the hydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen. *Biochem. J.* 115:351-352.

- Dhiman, T.R.; Satter, L.D.; Pariza, M.W.; Galli, M.P.; Albright, K.; Tolosa, M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (ALC) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016-1027.
- Elliott J M, Haan B., Parkin K L. 1989. An improved liquid chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk products. *J. Dairy Sci.* 72: 2478-2482.
- ENSNUT. 2014. Encuesta Nacional sobre Nutrición. Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición. Salvador Zubirán, México.
- Fedele V, Claps S, Rubino R, Calandrell M., Pilla A. M. 2002. Effect of free choice and traditional feeding systems on goat feeding behavior and intake. *Livest. Prod. Sci.*; 74: 19-31.
- Franco I, Prieto B, Bernardo A, González J P., Caballo J. 2003. Biochemical changes throughout the ripening of traditional Spanish goat variety (Babia-Laciana). *Int. Dairy J.*; 13: 221-230.
- Galina, M. 2014. El modelo de “Latte Nobile” una vía alternativa para la producción de leche de calidad en México. En “Il modelo latte Nobile. Un'altra via e possibile. R. Rubino ed. Casesus ISBN 978-88-901965-7-7: 71-86
- Galina, M.A., Puga, D.C., Pineda, J., Hummel, J.D., Ortíz, R.M., Haenlein, G.F.W. 2014 a. Effect of Lactobacilli symbiotic on rumen, blood, urinary parameters and milk production of Jersey cattle during late pregnancy and early lactacion. *Cuban Journal of Animal Science* 54:65-72
- Galina, M., Pineda, J., Guerero, M., Ortíz, M.A. 2014 b. Perfil de ácidos grasos de queso de oveja en pastoreo. *Memorias del XXXVIII Congreso Nacional de Buiatría, Villahermosa, Tabasco: 481-484*
- Galina, M., Pineda, J., Guerrero, Ortíz, M. 2013. Efecto del pastoreo sobre la calidad del queso de oveja. *Memorias XXIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, ALPA. La Habana, Cuba: F-038 2682-2690*

- Galina, M.A., Guerrero, M., Pineda, J., Ortíz, Ma., Osnaya, F. 2012. Efecto de la biohidrogenación ruminal de probióticos lácticos en la calidad de la leche. XXXVI Congreso Nacional de Buiatría Mérida, Yucatán, México. Memorias: 753-761
- Galina M.A., M.A. Ortiz-Rubio, Mondragón, F., Delgado-Pertiñez, M., Elías A. 2009a. Rendimiento de terneros alimentados con silo de maíz o láctico con un promotor de la fermentación ruminal. Archivos de Zootec 58
- Galina M.A., M.A. Ortiz-Rubio, Mondragón, F., Delgado-Pertiñez, M y Elías A. 2009b. Rendimiento de terneros alimentados con silo de maíz o láctico con un promotor de la fermentación ruminal. Archivos de Zootec. 58
- Galina, M.A, Ortiz-Rubio, M.A., Delgado-Pertiñez, M., Pineda, L.J. 2009c. Effect of a lactic probiotic supplementation on goat kids growth. J. Options Méditerranées Serie A No 85: 309-314
- Galina M.A., M.A. Ortiz-Rubio, Guerrero, M., Mondragón, D. F., Franco N.J.L., Elías A. 2008. Engorda de ovinos con silo de maíz, silo inoculado con un probiótico láctico, solo o adicionado con un suplemento de liberación lenta de nitrógeno. Av. Inves. Agropecuarias 12(2):23-34
- Galina, M.A., Osnaya, F., Cuchillo, H.M., Haenlein G.F.W. 2007. Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats Small Rum Res 71:264-272
- Gambelli L, Manzi P, Panfili G, Vivanti V y Pizzoferrato L. 1999. Constituents of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. Food Chem ; 6: 353-358.
- Grinari, J.M.; Bauman, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecs, M.P.; Mossoba, M.M.; Kramer, J.K.; Pariza, M.W.; Nelson, G.J.; (eds.). Advanced in conjugated linoleic acids reseach Vol. 1 Champaign (IL): AOCS Press. p.180-200.
- Guevara A E. 1994. Utilización de ácidos grasos saponificados en la alimentación de ovinos. (tesis de maestría). Distrito Federal (México):Universidad Nacional Autónoma de México.

- Herrera, J.A.; Shahabudin, A.K.M.; Faisal, M.; Ersheng, G.; Wei, J.; Lixia, D.; Gandaho, T.; Lopez, P. 2004. Efectos de la suplementación oral con Calcio y ácido linoléico conjugado en primigrávidas de alto riesgo. *Colombia Médica*. 35(1):1-8.
- Hartfoot, C.G., Hazlewood, G.P. 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S., (eds). *The rumen Microbial Ecosystem*, Ed Chapman and Hall, London, U.K: 382-426
- Hughes, P.E.; Tove, S.B. 1980a. Identification of an endogenous electron donor for biohydrogenation as α -tocopherolquinol. *J. Biol. Chem.* 255:4447-4452.
- Hughes, P.E.; Tove, S.B. 1980b. Identification of deoxy- α -tocopherolquinol as another endogenous electron donor for biohydrogenation. *J. Biol. Chem.* 255:11802-11806.
- Hughes, P.E.; Hunter, W.J.; Tove, S.B. 1982. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. Purification and properties of cis-9, trans-11-octadecadienoate reductase. *J. Biol. Chem.* 257(1):3643-3649.
- Hungate, R.E. 1966. *The rumen and its microbes*. New York academic press, New York, NY, USA. p.315-328
- Jenkins T C. 1993. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* ; 76:3851-3863.
- Jenkins, T.C. 2011. Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *J. Nutr.* 141(8):1445-1450
- Jenkins, T.C.; Wallace, R.J.; Moate, P.J.; Mosley, E.E. 2008. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86: 397-412.
- Jensen R G 2002. Fatty acids in milk and dairy products. En: Chow C editor. *Fatty acid in foods and their health implications USA*: Marcel Dekker; 109-124.
- Jin,G.L., Choi, S.H., Lee, H.G., Kim, Y.J., Song, M.K. 2008. Effects of monensin and fish oil on conjugated linoleic acid production by rumen microbes in Holstein cows fed diets supplemented with soybean oil and sodium bicarbonate. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21:1728-1735

- Kelly, M.L.; Kolver, E.S.; Bauman, D.E.; Van Amburgh, M.E.; Muller, L.D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:1630-1636.
- Kemp, P.; White, R.W.; Lander, D.J. 1975. The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. *J. Gen. Microbiol.* 90:100-114
- Khanal, R.C. 2004. Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Asian- Australasian J. Anim. Sci.* 17(9):1315-1328.
- Kin H J., Lindsay R C. 1990. Method for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty acids in cheeses and milk fat. *J. Dairy Sci*; 78: 1988-1999.
- Kosikowski F V., Mistry V V. 1997. Cheese and fermented milk foods. Origins and principles. USA: Edwards Brothers, INC
- Lee, Y.; Jenkins, T.C. 2011. Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *J. Nutr.* 141(8):1445-1450.
- Legay-Carmier, F.; Bauchart, D. 1989. Distribution of bacteria in the rumen contents of dairy cows given a diet supplemented with soya-bean oil. *Br. J. Nutr.* 61:725-740.
- Lehninger A.L. 1995. *Bioquímica*. 2^a. ed. Barcelona (España): Ediciones Omega.
- Liavonchanka, A.; Feussner, I. 2008. Biochemistry of PUFA Double Bond Isomerases Producing Conjugated Linoleic Acid. *ChemBioChem.* 9:1867-1872.
- Lobb, C. 2000. Fatty acid classifications and nomenclature. 2002. En Chow C editor. Fatty acid in foods and their health implications USA: Marcel Dekker; 1-15.
- Maia, M.R.G.; Chaudhary, L.C.; Figueres, L.; Wallace, R.J. 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 91:303-314.
- Mallatou H, Pappa E., Massouras T. 2003. Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *Int. Dairy J.* ; 13:211-219.

- Martín-Hernández M C., Juárez M. 1992. Biochemical characteristics of three types of goat cheese. *J. Dairy Sci* ; 75:1747-1752.
- Martin, J.C.; Valeille, K. 2002. Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? *Reprod. Nutr. Dev.* 42:525-536.
- Moate, P.J.; Boston, R.C.; Jenkins, T.C.; Lean I.J. 2008. Kinetics of ruminal lipolysis of triacylglycerol and biohydrogenation of long chain fatty acids: New insights from old data. *J. Dairy. Sci.* 91:731-742
- Newbold, C.J., López, S., Nelson, N., Ouda, J.O., Wallace, R.J., Moss, A.R. 2005. Propionate precursors and other metabolic intermediates as possible alternative electron acceptors to methanogenesis in ruminal fermentation in vitro. *Br. J. Nutr.* 94:27-35
- O'Shea, M.; Lawless, F.; Staton, C.; Devery, R. 1998. Conjugated linoleic acid in bovine milk fat: a food based approach to cancer chemoprevention. *Trends in Food Sci. & Technol.* 9:192-196.
- Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, A., Mihara, K., Shimizu, S. 2005. Production of conjugated fatty acids by Lactic Bacteria. *J. of Bioscience and Bioengineering* (100) 4:355-364
- Park W Y. 1999. Cholesterol contents of U. S. and imported goat milk cheeses as quantified by different colorimetric methods. *Small Rumin Res*; 32: 77-82.
- Pavia M, Trujillo A J, Sendra E, Guamis B., Ferragut V. 2000. Free fatty acids content of Manchego-Type cheese salted by brine vacuum impregnation. *Int. Dairy J.*; 10:563-568.
- Pedersen, J.I. 2001. More on trans fatty acids. *British Journal Nutrition*, 85 (3):249-250
- Perfield, J.W.; Lock, A.L.; Griinari, J.M.; Sæbø, A.; Delmonte, P.; Dwyer, D.A.; Bauman, D.E. 2007. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 2211–2218.
- Pfeuffer, M., Schrezenmeir, J., 2000. Bioactive substances in milk with properties decreasing risk of cardiovascular diseases. *British Journal of Nutrition*, 84, 155–159.
- Posati O L., Orr L M. 1976. Composition of foods. Dairy and egg products, Raw-Processed-Prepared. United States Department of Agriculture-Agriculture Research

- Service, Consumer and Economics Inst., Agriculture Handbook, No. 8-1, Washington D.C
- Ramanzin M, Bailoni M, Schiavon L. S., Bittante G. 1997. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. *J. Dairy Sci* ; 80: 1136-1142.
- Roach J O., Benyon S. 2004. Lo esencial en metabolismo y nutrición. USA: ELSEVIER.
- Ronayne F P. 2000. Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante. *Arch. Argent. Pediatr.*; 98: 231-238.
- Rosenfeld, I.S.; Tove, S.B. 1971. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Source of hydrogen and stereospecificity of reduction. *J. Biol. Chem.* 246:5025-5030.
- Rubino, R. 2014. Il modello Latte Nobile. Un'altra via è possibile. ANFOSC, Italia. 7-35
- Rubino, R., Galina, M., Pizzillo, M., Masoero, G. 2012. La leche es un alimento importante, su calidad cambia en función de la alimentación y puede ser medida por métodos veloces. Conferencia Magistral II Foro internacional de Ciencia e Innovación Tecnológica: FOCAL, Colima, México. Memorias. 38-46 ISBN 978-607-95853-7-2
- Sachan, D.S.; Davis, C.L. 1969. Hydrogenation of linoleic acid by a rumen spirochete. *J. Bacteriol.* 98(1):300-301.
- SAGARPA, 2014. Estadísticas de Producción de leche, Secretaria de Agricultura y Ganadería, Gobierno de México.
- Secchiari, P.L. 2008. Nutritional and nutraceutical value of foods of animal origin. *Italian Journal Agronomy*, 1,73-101.
- Shen, X.; Dannenberger, D.; Nuernberg, K.; Nuernberg, G.; Zhao, R. 2011. Trans-18:1 and CLA isomers in rumen and duodenal digesta of bulls fed n-3 and n-6PUFA-based diets. *Lipids.* 46:831- 841.
- Singh, S.; Hawke, J.C. 1979. The in vitro lipolysis and biohydrogenation of monogalactosyldiglyceride by whole rumen contents and its fractions. *J. Sci. Food Agric.* 30:603-612.

- Soryal K A, Zeng S S, Min B R., Hart S P. 2004. Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk Domiati cheese. *Small Rumin Res* ; 52: 109-116.
- Sterk, A.; Hovenier, R.; Vlaeminck, B.; Van Vuu- Ren, A.M.; Hendriks, W.H.; Dijkstra, J. 2010. Effects of chemically or technologically treated linseed products and docosahexaenoic acid addition to linseed oil on biohydrogenation of C18:3n-3 in vitro. *J. Dairy Sci.* 93:5286-5299.
- Urbach G. 1997. The flavour of milk and dairy products. II. Cheese: Contribution of volatile compounds. *Int. J. Dairy Technol.*; 50:79-89.
- Váradyová, Z., Kišidayová, S., Siroka, P., Jalč, D. 2008a. Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Animal Feed Sci. Technol.* 144:44-54
- Vodet D., Voet J G. 1992. *Bioquímica*. Barcelona (España): Ediciones Omega.
- Wallace, R.J.; Mckain, N.; Shingfield, K.J.; De- Villard, E. 2007. Isomers of conjugated linoleic.
- Wright, D.E. 1959. Hydrogenation of lipids by rumen protozoa. *Nature*. 184:875-876.
- Yamazaki, S.; Tove, S.B. 1979. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. Presence of dithionite and an endogenous electron donor in butyrivibrio fibri- solvens. *J. Biol. Chem.* 254(10):3812-3817.
- Zened, A.; Enjalbert, F.; Nicot, M.C.; Troege- Ler-Meynadier, A. 2013. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a trans-11 to trans-10 shift of biohydrogenation. *J. Dairy Sci.* 96:451-459.
- Zlatanov S, Laskaridis K, Feist C., Sagredos A. 2002. CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chem.* ; 78:471-477.