



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6 Y OMEGA 3
EN LECHE DE VACA EN SILVOPASTORIL Y/O
CONFINAMIENTO EN EL TRÓPICO**

TESIS

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

PRESENTA: ANA KAREN VELÁZQUEZ MARTÍNEZ

ASESOR: MIGUEL ÁNGEL GALINA HIDALGO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

C. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES - CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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



ATN: M. en A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.
DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

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

"CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6 Y OMEGA 3 EN LECHE DE VACA EN SILVOPASTORIL Y/O CONFINAMIENTO EN EL TRÓPICO"

Que presenta la pasante: **ANA KAREN VELAZQUEZ MARTINEZ**
Con número de cuenta: **30507478-0** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria 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"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de abril de 2016.

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. Ma. de los Ángeles Ortiz Rubio	
2do SUPLENTE	M. en M.V.Z. Héctor Reyes Soto	

NOTA: Los sindocales 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)
IHM/ntm*

Contenido

INTRODUCCIÓN.....	5
I. ANTECEDENTES DE LA CALIDAD DE LA LECHE DE PASTOREO EN MÉXICO.....	9
II. LÍPIDOS.....	16
III. DIGESTIÓN Y METABOLISMO RUMINAL DE LOS LÍPIDOS.....	21
HIPÓTESIS:.....	36
OBJETIVO DE TRABAJO:.....	36
MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
ANÁLISIS ESTADÍSTICO:.....	39
RESULTADOS.....	40
DISCUSIÓN:.....	43
CONCLUSIONES:.....	50
LITERATURA CITADA:.....	51

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo , ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida universitaria. Algunas aún están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y corazón, sin importar en dónde estén o si alguna vez leen ésta dedicatoria quiero darles las gracias LO LOGRAMOS!!.

Gracias a mi institución UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO por brindarme la oportunidad de formarme en su Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y al Dr. Miguel Ángel Galina Hidalgo asesor de tesis, así como a la Dra. María Magdalena Guerrero por su apoyo incondicional en el proceso de éste trabajo.

A mis padres Minerva y Gonzalo que con su apoyo incondicional y buen consejo contribuyeron siempre en mi formación y carácter. LOS AMO!!.

A mis hermanos Gonz y Poke por su compañía y amistad invaluable.

A mi cuñada Pau y mi sobrino Gonzalito por complementar con alegría a mi familia.

Al amor de mi vida Armando García Rangel que con su confianza, amor, tiempo y ánimo, hizo posible que diera el último paso para mi titulación GRACIAS MI AMOR!!.

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% se proviene de las altas o medianas productoras, en 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 lechero nacional y participa tan sólo con el 20% de la producción del lácteo a nivel nacional. Este sistema utiliza ganado Cebú criollo o con cruza con Suizo, Holstein y/o Simental, las vacas son ordeñadas principalmente en las épocas de lluvia. El ganado criollo se encuentra en praderas siendo ocasionalmente alimentado con 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 es mantener un estricto control a la baja, del precio de la leche, mediante la importación de leche en polvo, de Estados Unidos y Nueva Zelanda, 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 productores del lácteo. Si los ganaderos exigen un mejor precio los industrializadores recurren a sus cuotas de importación de leche en polvo, manteniendo los precios bajos a los productores, 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 se 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, (CONILEC, 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 concentración 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 (CONILEC, 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. El modelo es totalmente dependiente de los forrajes de corte y 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%. Lo 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 (CONILEC, 2014).

Recientemente el Dr. Roberto Rubino de ANFOOSC en Italia, 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 o una propuesta alternativa, sino la letanía habitual y ahora obsoleta: *“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 ha 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 8 o 10 mil litros por lactación, recordamos cuando iniciamos nuestra práctica profesional en los 60's un establo de 100 vacas era un buen negocio, con animales de 4 o 5 mil litros ordeña, 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 y Nueva Zelanda, los ganaderos siguen en la producción porque no encuentran quién les compre los ranchos, los establos, eventualmente por la urbanización, producto del constante fenómeno de migración del campo a las ciudades, venden sus ranchos 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 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 coronarias (Pfeuffer., Schrezenmeir., 2000).

Los resultados de investigadores en México, permiten suponer que el sistema de alimentación, en general, y en particular el pastoreo libre, en un ambiente silvopastoril, permite a cada vaca como individuo, componer una dieta de acuerdo a sus propias necesidades, teniendo 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; Sicchiari, 2008).

Los efectos negativos de los ácidos grasos trans en patología coronaria y citotoxicidad, 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 revaluados 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, el número de hierbas, ya que, como ha sido señalado en numerosos estudios, cada hierba trae diferentes componentes de la leche. De hecho, la mayoría de las hierbas son silvestres, denominadas genéricamente "malas hierbas", esta complejidad es importante porque se refleja en una leche “diferente”, de calidad superior, 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 sistema 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 hemos desarrollado 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 natural desbalance 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 lácticas (LAB). Esto se debe a su efecto sobre la biohidrogenación (BH) ruminal, 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 permite suponer que las bacterias lácticas es 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 hemos 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 benéficos entre las leches de pastoreo con la adición de un suplemento de bacterias lácticas comparados con la leche comercial, demuestra 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 (Sima *et al.*, 2000; Rubino, 2002).

- 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, 2002; 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).

Los trabajos originales sobre el manejo de la fermentación ruminal fueron elaborados por investigadores de Cuba (Elías, 1971) con una extensa revisión posterior sobre su utilización (Elías, 1983), posteriormente en México se han publicado varios trabajos sobre el efecto de los promotores de la fermentación (PF) en diferentes especies y sistemas de pastoreo, con un resultado consistente en un aumento de la utilización de la celulosa de los forrajes fibrosos, debido a un incremento significativo en la población de bacterias celulolíticas (Galina *et al.*, 2000; 2002; 2003; 2004a; 2004b; 2004c; Puga *et al.*, 2001a; 2001b; 2001c; Ortiz *et al.*, 2001; 2002). Por otra parte, el conocimiento de la importancia de la degradación del nitrógeno por los microorganismos ruminales ha permitido una inclusión racional de la urea en las dietas, además de tratamientos mecánicos o químicos de los forrajes que mejoran su digestibilidad, tanto con el uso de PF como probióticos (LAB) (Galindo *et al.*, 2001; Ortiz-Rubio *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b). La formación de proteína digestible intestino microbiana (PDIM) puede llegar a ser el 80% o más en dietas que contengan una producción abundante de microorganismos ruminales, en formulas suplementadas con fuentes de nitrógeno no proteico, mientras que con concentrados comerciales la mayor parte de la proteína digestible intestino proviene del alimento (PDIA) por ello se han utilizado varias técnicas de protección de la proteína, contra la acción de los microorganismos ruminales (Elías., 1983; Galina *et al.*, 2000; 2003).

Las gramíneas y algunas leguminosas, proveen la base de la alimentación animal en la ganadería tropical; caracterizada por una gama de géneros y especies y por su amplia adaptación a diferentes ambientes “plasticidad” (Peters *et al.*, 2010; Tiftonnell *et al.*, 2010). Es posible utilizar eficientemente

estos forrajes cuando las poblaciones bacterianas del rumen cubren sus requerimientos de energía, constituyentes nitrogenados esenciales, minerales y otros nutrientes (Elías, 1983), de no lograrlo, se reduciría su consumo y aprovechamiento aspecto que pudiera ser corregir con el uso de activadores de la fermentación ruminal, productos biológicos que incrementan la eficiencia digestiva (Puga *et al.*, 2001a; 2001b; 2001c). Las respuestas que con mayor frecuencia se repiten en estos trabajos, de utilización de activadores microbianos, se asocian con la producción de ácidos grasos volátiles (AVG), modificación del pH ruminal e incremento de las bacterias responsables de la degradación de la fibra (Lila *et al.*, 2004).

En los últimos años, el Instituto de Ciencia Animal (ICA) de Cuba, desarrolló un producto biológicamente activo, denominado VITAFERT, rico en levaduras y lactobacilos, ácidos orgánicos de cadenas carbonadas cortas, minerales traza un bajo pH (Elías & Herrera, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b), que se ha utilizado como aditivo microbiano en cerdos y terneros, para prevenir o disminuir cuadros diarreicos, como estimulante del crecimiento, en el caso de animales no rumiantes, en la fermentación ruminal del ganado vacuno (Gutiérrez, 2005).

A partir de la primera década del presente siglo se adicionaron a los trabajos originales sobre fermentadores ruminales (FR) modificaciones sobre el uso de bacterias lácticas en rumiantes (Elías & Herrera, 2008) demostrando su efectividad en la digestibilidad de forrajes fibrosos (Galindo *et al.* 2001; Galina *et al.*, 2007a; 2007b; Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b), con todo estas investigaciones se ha obtenido un efecto significativamente mayor de degradación de la fibra en el rumen, que ha permitido el desarrollo de sistemas de manejo alternativos con o sin suplementación de LAB para mejorar la calidad del producto (Galina *et al.*, 2008a; 2008b).

Por otro lado estudios sobre el perfil de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) particularmente el ácido linoléico (C_{18:3} cis-9, cis-12, ALI) y el ácido alfa-linoléico conjugado (C_{18:3} cis-9, cis-12, cis-15 ALC) han demostrado que se encuentran en altas proporciones en los lípidos de los forrajes y de algunos

suplementos (Shen, 2011; Castillo *et al.*, 2013; Zened *et al.*, 2013; Rubino, 2014). Estos ácidos forman parte de la dieta de los rumiantes y dependiendo de su concentración, modifican el perfil de ácidos grasos de la leche de la carne, su composición se caracteriza por la presencia de un mayor volumen de ácidos grasos insaturados, que saturados, que aumentan en su saturación debido al proceso de biohidrogenación en el rumen (Castillo *et al.*, 2013). Se han estudiado diversos factores que afectan el proceso de BH del ALI y ALC, como también estrategias nutricionales que muestran resultados positivos en el incremento de ácido trans-vaccenico (C_{18:3} trans-11, ATV) y ácido linoléico conjugado (C_{18:3} cis-9, cis-12, ALC) en la leche (Galina *et al.*, 2009a; 2009b; 2010; 2012). Se han reportado que estos compuestos tienen efectos potencialmente benéficos a la salud humana (O'shea *et al.*, 1998; Harfoot *et al.*, 1997; Herrera *et al.*, 2004; Khanal, 2004).

Los probióticos lácticos (LAB) podrían ser una alternativa importante, particularmente si se toma en consideración el perfil de ácidos grasos no saturados del producto (Galindo *et al.*, 2001; Galina *et al.*, 2012). En los rumiantes, la flora microbiana sirve para desdoblar la mayoría de los nutrientes, los cuales después son absorbidos en el intestino por el animal (Newbold *et al.*, 2005). Por ello se han desarrollado diferentes sistemas biotecnológicos para manipular las actividades microbiológicas de la cámara de fermentación de los bovinos (Newbold *et al.*, 2005). Los ácidos grasos no saturados que se producen durante la hidrólisis de los lípidos de la dieta, son saturados por los microorganismos ruminales, mediante biohidrogenación (BH), proceso que requiere de H₂ (Jin *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2013). El mayor intermediario para la BH son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), mientras que por las bacterias ruminales son el ácido linoleico conjugado (ALC) y el ácido α linoléico (C_{18:3}) (Castillo *et al.*, 2013). Una manipulación recomendable de la fermentación ruminal podría incrementar las principales formas de ALC – ácido linoléico conjugado isómero cis 19, trans-11C 18:2; cis-9, T11 ALC (Newbold *et al.*, 2005). Debido a que la remoción de ALC como intermediario depende de la BH, quizás sea posible incrementar este proceso, proveyendo alternativamente receptores de electrones, las bacterias lácticas en el rumen pueden utilizar estos electrones disminuyendo la BH, además de que no producen metano, por

eso la importancia de estudiar el efecto de BH de los suplementos lácticos, para mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche (Galina *et al.*, 2012).

II. LÍPIDOS

Los lípidos son uno de los tres componentes básicos (proteína, carbohidratos y lípidos) de 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).

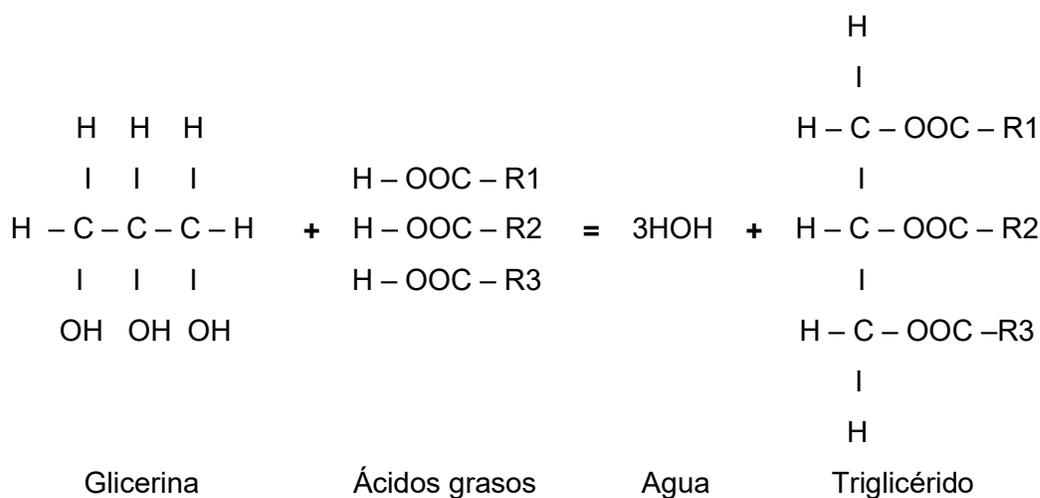


Figura 1. Estructura de un triglicérido. Fuente: Vodet., Voet., 1992

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 hidrógeno unidos a los átomos de carbono de doble enlace. Si los átomos de hidrógeno 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-linoléico 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 linoléico 18:2 (LA) y el ácido araquidónico 20:4 (AA) (Ronayne., 2000).

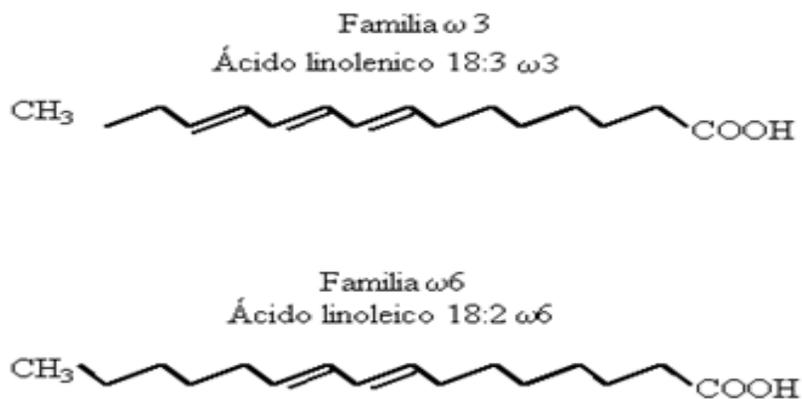


Figura 2. Ácidos grasos esenciales. Fuente: Ronayne, 2000.

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 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 de la dieta de las vacas lactantes de 500g/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 (1kg/d) no produjo una mejora adicional de esta relación, lo que indica la forma en la transferencia de los 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 100g 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 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 omega-6:omega3 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).

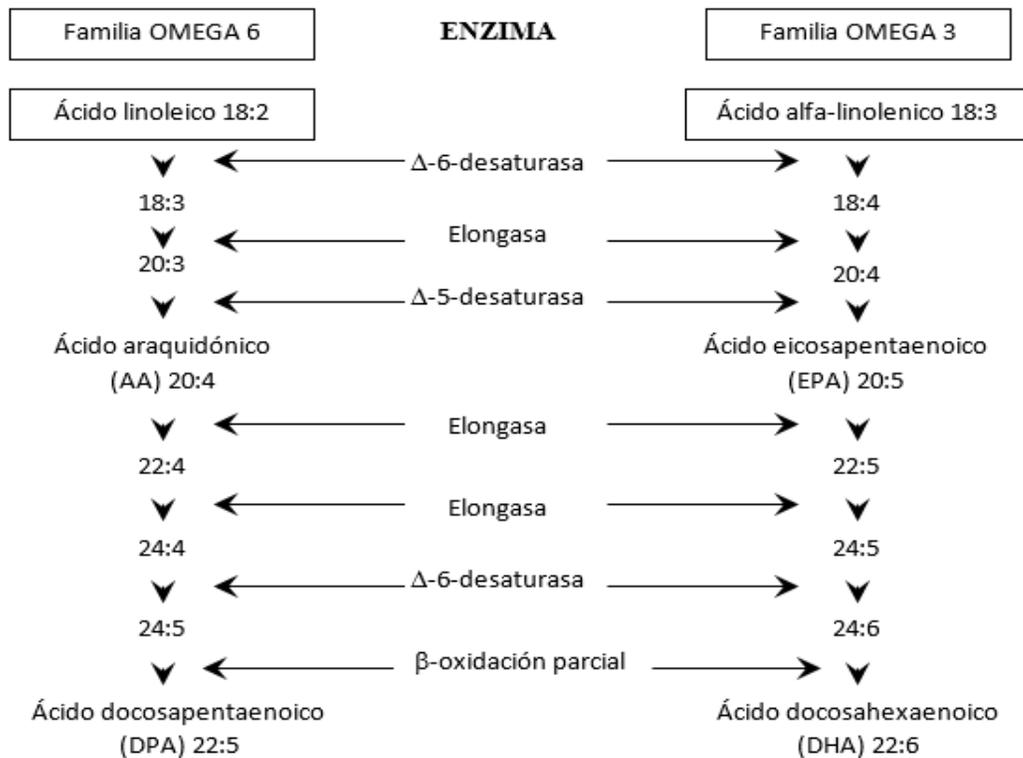


Figura 3: Metabolismo de los ácidos grasos ω -3 y ω -6 (elongación y desaturación).

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, frijol de soya y casi todas las semillas de las plantas; es abundante por lo tanto, en aceites vegetales como maíz o girasol. El ALA 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 de 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, existieron 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 el forraje, las cuales tendrán como producto final al ácido acético (Lehninger., 1995).

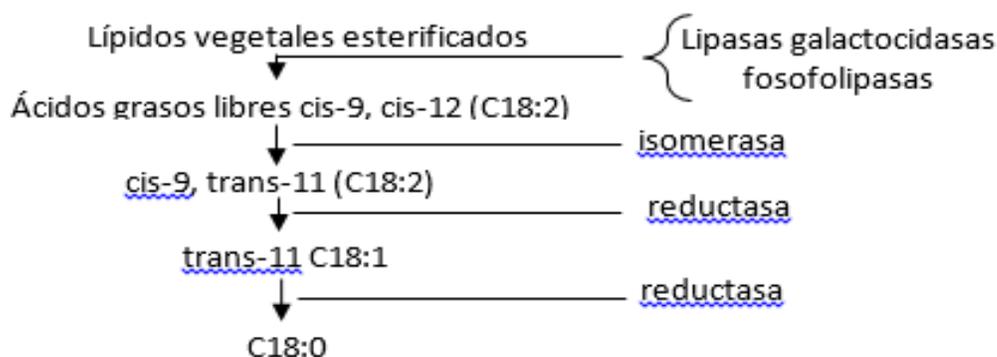


Figura 4. Lipólisis en rumiantes. Fuente: Chilliard, 1993.

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 enseguida de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados libres. La biohidrogenación da lugar a la producción de ácidos grasos 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 biohidrogenación 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 con 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.* 20011; 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 a 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 transvaccénico (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.* 1012).

Sachan., Davis (1969) hallaron que la especie *Borrelia* B25 biohidrogenada 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 pp* y *Fusocillus sp.*

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).

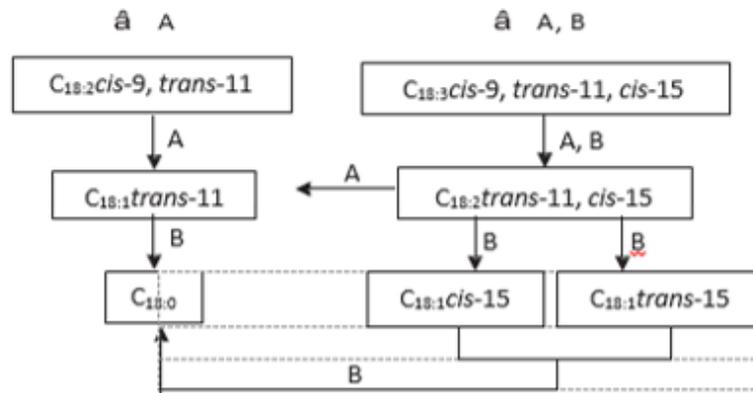


Figura 5. Rutas principales de la biohidrogenación del ácido linoléico y alfa-linolénico en el rumen, junto con los grupos de microorganismos implicados (Harfoot., Hazlewood, 1997; Buccioni *et al.* 2012).

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 *Butivibrio fibrisolvens* (IBF), *Propionobacterium filicina* (IPF) y *P. anes* (IPA) (Liavonchanka, Feussner, 2008). Se tiene conocimiento para el ALi, que 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, $+16,7 \text{kJ.M}^{-1}$, 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 (ΔGrxn) a 37°C , para la isomerización del ALi ($-4,856 \text{kcal/mol}$) y ALn (-

754kcal/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).

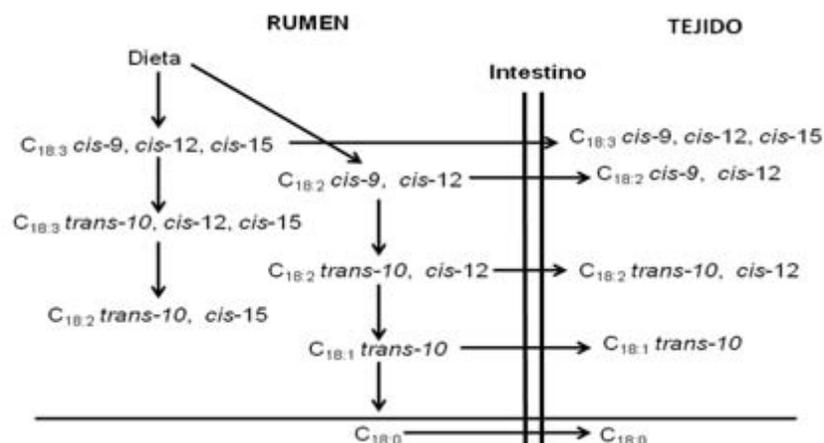


Figura 6. Biohidrogenación de ácidos grasos insaturados en el rumen, a pH bajo (adaptado de Buccioni *et al.* 2012).

Wallace *et al.* en 2007, sugirieron que el mecanismo de biosíntesis del ALC, se inicia con la abstracción de H del carbono 11 del ALi, formándose un radical termodinámicamente inestable, en el cual, se produce la traslocación 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 y 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 fructosa y 12 de galactosa por mol de enzima y que presenta Fe³⁺ 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. fibrisolvens* (Rosenfeld., Tove, 1971; Lee., Jenkins, 2011). Yamazaki., Tove en 1979 aislaron, a partir de *B. fibrisolvens*, un electrodonor para la BH del enlace *cis*-9, que fue identificado como alfa-tocoferolquinol (TQH2) (Hughes., Tove, 1980^a). 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 (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 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, C18:2) y ácido *trans-vaccenico* (*trans*-11 C18:1 TVA). El ALC se deriva del ácido linoleico (C18:2) y el ácido linoleico (C18:3). La manipulación recomendable de la fermentación ruminal podría incrementar las principales formas de ALC-ácido linoleico conjugado isómero *cis*19, *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 estéarico y palmítico; así como de monoinsaturados; donde, los más representativos son los ácidos palmitoléico 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 los AG, aunque se ha observado que existe 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 sérico 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 los 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 y baja y alta densidad, siendo también conocidas como VLDL, IDL, LDL Y HDL por sus siglas en inglés, respectivamente (Aro *et al.*, 1998). Los quilomicrones transportan AG libres; siendo sintetizados en el intestino, aumentan su concentración cuando la dieta 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-hidoxibutirato, 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).

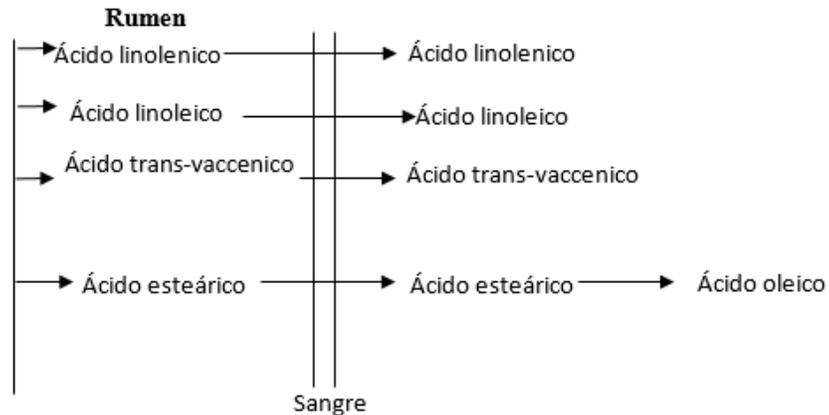


Figura 7. Desaturación de ácidos grasos en la glándula mamaria. Fuente: Chilliard, 1993

Aunque podría parecer que puede aumentarse la grasa de la leche con el simple consumo de una mayor cantidad de grasa. La captación 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 esterol de las grasas, es una molécula de 27 carbonos que estructuralmente es un núcleo derivado de ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 8) (Guevara., 1994).

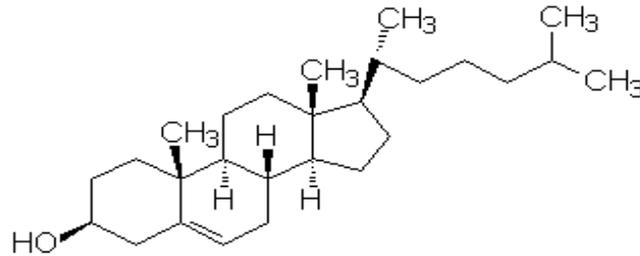


Figura 8. Estructura del colesterol. Fuente: Roach, J. O y Benyon, S. 2004.

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 G 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).

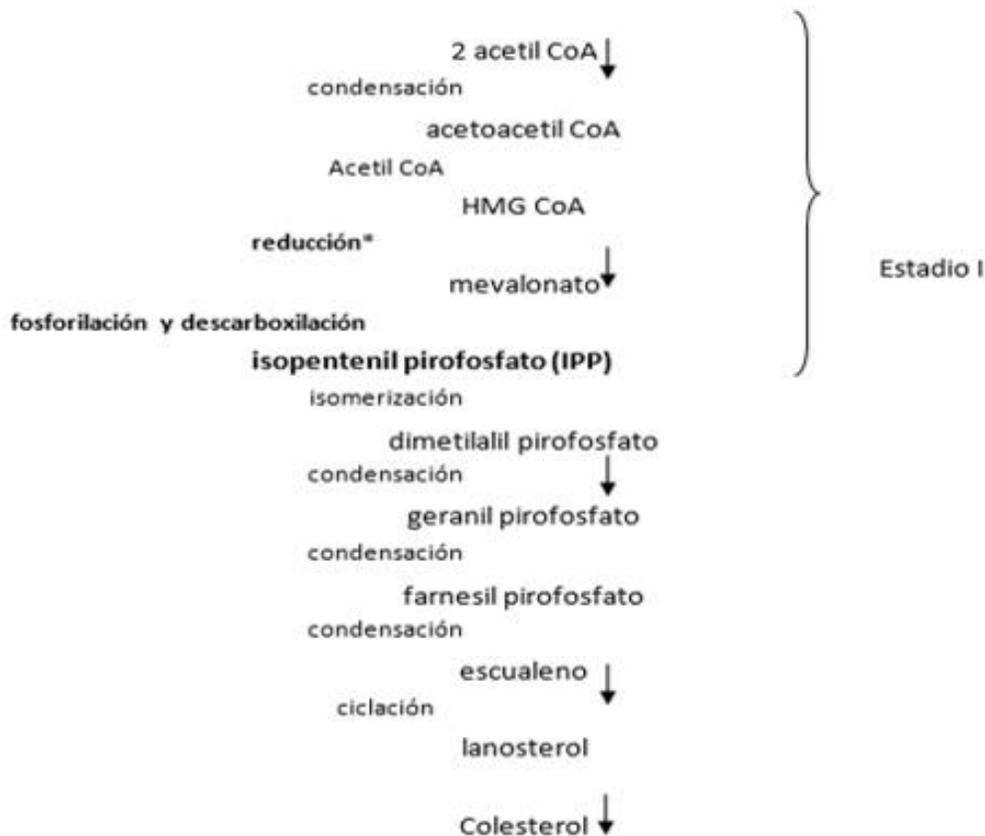


Figura 9. Síntesis de colesterol. Fuente: Roach y Benyon, 2004.

Los ácidos grasos no saturados producidos por hidrólisis de los lípidos, son saturados por los microorganismos ruminales, mediante biohidrogenación (BH), proceso que requiere H_2 (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.*, 2004a; 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 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).

HIPÓTESIS:

La leche de vacas que se encuentran pastoreando y ramoneando en un sistema mixto de praderas y bosque tropical, con o sin la utilización de fermentadores ruminales (FR), solo o con LAB, tienen un perfil superior en cantidad y calidad de ácidos grasos no saturados que los provenientes de animales en confinamiento y con la leche comercial.

OBJETIVO DE TRABAJO:

El objetivo de este estudio fue medir y evaluar los valores obtenidos de omega 6 y omega 3 en el manejo de la fermentación ruminal, en la producción de leche con un análisis de perfil de ácidos grasos esenciales, en animales pastoreando y ramoneando en un sistema mixto de praderas y bosque tropical, con o sin la utilización de fermentadores ruminales (FR), solo o con LAB, comparándolo con suplementación con concentrados comerciales (COM) y con Leche comercial (LC).

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el rancho "El Fresno" en Suchitlán, Colima, a 19°23' latitud norte, 103°41' longitud oeste y 1,400 m sobre el nivel del mar.

Colima Köppen's clasificado como Awl(w) con lluvias de Julio a Octubre, 1,000 mm anuales. La duración del período seco es de 8 a 9 meses con una temperatura promedio de 25°C.

Un hato de 35 vacas lecheras en la mitad de la lactación (511 ± 12 kg), cruza de Cebú, los animales se mantuvieron sobre un sistema silvopastoril a partir de julio (SP), formado por una mezcla de gramíneas tropicales de zacates: estrella (*Cynodon plectostachyus*), e insurgente (*Brachiaria brizantha*), acompañados de ramoneo de leguminosas en bosque tropical, suplementados con 3kg de fermentador ruminal con o sin la adición de 1.5kg/día, de un probiótico de bacterias lácticas (LAB) como suplemento durante el período silvopastoril. El área de pastoreo total fue de 20.9 ha, una mezcla de pastoreo sobre gramíneas tropicales de zacates: estrella (*Cynodon plectostachyus*), e insurgente (*Brachiaria brizantha*) acompañados de ramoneo de leguminosas en bosque tropical. El bosque tropical ramoneado fue de *Mimosa pudica*, *Plumera rubra*, *Bunchosia palmeri*, *Cordia alliodora*, *C. dentata*, *Platymiscium fasicarpum*, *Erythroxylum mexicanum*, *E. rotundifolium*, *Caesalpinia plumeria*, *Guttarda elliptica*, *Randia capitata*, *Caesalpinia coriaria* y *Desmodium spp.* Con una carga animal de 3.6 a 5.9 UA/ha. Paralelamente un segundo hato de 28 animales (514 ± 14 kg) pastoreando en 16.5 ha de silvopastoril suplementados con 6kg de un concentrado comercial para cada vaca lechera de 160g de PC (COM). Se pesaron la leche de tres tratamiento en forma individual cada semana durante la observación. Se tomaron muestras semanales de leche de cada grupo para medir los ácidos grasos.

Durante todo el estudio el forraje excedía la capacidad de ingestión voluntaria de las vacas en lactación. La administración de suplementos de probióticos (LAB) contenía aproximadamente 4×10^7 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. El promotor de la fermentación (3kg/d) contenía una mezcla de melaza (18%), harina de algodón (16%), cascarilla de arroz (10%), maíz (14%), pollinaza (10%), harina de pescado (8%), cebo de res (5%), sal común (4%), cal, carbonato cálcico (3%), cemento (1%), sales minerales (2%), ortofosfato cálcico (2%), urea (5%) y sulfato de amonio (2%).

Se calcularon los volúmenes de MSI por vaca tomando muestras representativas en pastoreo, con base a las necesidades de energía y proteína para mantenimiento, crecimiento, producción de leche y estado fisiológico de acuerdo a la metodología utilizando el sistema de unidades forrajeras leche, desarrollada por el INRA (1995).

Se obtuvieron muestras de leche de vacas, los cuales fueron inmediatamente congeladas a -17°C hasta su análisis de ácidos grasos éter metálicos FAME realizados por extracción por separado utilizando cromatografía de gases (Varian modelo 380) equipado con un muestreado automático (CP 8410) equipado con un detector FID.

La cromatografía de gases consta de las siguientes etapas:

Extracción de grasa; Para la extracción de la grasa, se pesaron 20g de leche, a la cual se le añadieron 100g de hexano grado cromatográfico (J.T. Baker, Center Valley, PA) y la mezcla se dejó en agitación durante una hora usando un agitador magnético C-MAG HS7 (IKA, Wilmington, NC). Transcurrido el tiempo la mezcla se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min a 4°C . Se recogió la fase orgánica y se colocó en un matraz, donde la muestra se sometió a una corriente de nitrógeno para la evaporación del hexano utilizando un evaporador Mini Vap 22970 (Supelco, Belfonte, PA) por un periodo de treinta minutos. La grasa obtenida fue transferida a viales de borosilicato desactivado de 20mL (I-CHEM modelo C126-0020; Thermo Scientific, Alemania), purgados con nitrógeno y posteriormente almacenados a -17°C hasta el momento de la esterificación.

Perfil de ácidos grasos; Se realizó de acuerdo a la metodología Ce1-62. Se pesaron 500mg de grasa de leche en un matraz de fondo redondo (24/40, KIMBLE CHASE, Vineland, NJ), se adicionaron 8ml de hidróxido de sodio 0.5N en metanol (Baker), posteriormente el matraz se conectó a un refrigerante (Alihn-Ground, 24/40; 300mm; LAB GLASS, Vineland, NJ) y se dejó en reflujo por 15 min utilizando un nido de calentamiento (Thermo Fisher Scientific, Maryland), después se adicionaron 9ml de BF₃ (20% en metanol, Merck, Alemania) a través del condensador. Se continuó con ebullición por dos

minutos, después se agregaron 2ml de hexano y se continuó en ebullición por 1min. Finalmente se detuvo el calentamiento, se retiró el matraz con la muestra y posteriormente se añadieron 15ml de una solución saturada de cloruro de sodio, se tapó el matraz y se agito por 15s. Se continuó añadiendo solución saturada de cloruro de sodio hasta que la muestra alcanzó el cuello del matraz. Se transfirió 1ml de la muestra a un vial de 20mL y se hicieron las diluciones pertinentes para después analizar por cromatografía de gases. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases 7890A (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA), acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar modelo 5975C (Agilent Technologies, Inc.). La columna capilar de sílice fundida empleada fue una DB-5 (60m x 0.25mm de diámetro, 0.25µm de espesor de fase, (Agilent Technologies Inc.); con helio como gas acarreador a un flujo constante de 1ml/min. El programa de temperatura del horno fue: 80°C, 5°C/min hasta 230°C (5min), 30°C/min hasta 280°C (8min). El espectrómetro de masas, fue operado en el modo de impacto de electrones (70 eV). El rango de masa utilizado fue 30 a 400 uma, las temperaturas de línea de transferencia, fuente de ionización y cuadrupolo fueron 280, 230 y 150°C respectivamente. El puerto de inyección se operó en el modo Split 1:400, a 250°C. La identificación de los metil ésteres se realizó a partir de su espectro de masas, tomando como identificación positiva un 80% de parecido al localizado en la base de datos NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library, versión 1.7, (NIST, Gaithersburg, MA), y por medio de la comparación de tiempos de retención de estándares químicos (37 Component FAME mix, Supelco, Bellefonte, PA) inyectados bajo las mismas condiciones de cromatografía (Galina *et al.*, 2015).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Los resultados obtenidos se analizaron a través de un análisis de varianza, con un diseño completamente al azar, las diferencias entre promedios fueron establecidas con una probabilidad de error menor al 0.05, mediante la prueba de Tukey. El análisis de las variables estudiadas se realizaron mediante procedimientos PROC GLM, con apoyo del programa Statical Analysis Sistem.

El modelo empleado fue:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + E_j$$

Y_{ij} = Valor de ácidos grasos

μ = Es una medida general

t_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

E_j = Efecto del error aleatorio

RESULTADOS

Como se observa en la Figura 10, el promedio de producción de leche en ambos grupos fue de 17.5; LAB 14.1 (SP) y 16.5 (COM) kg/d ($P < 0.05$). El sistema de alimentación afectó significativamente el perfil de ácidos grasos de la leche de las vacas estudiadas. Este efecto fue medido por el contenido de ácidos grasos de los sistemas de alimentación, en porcentajes de saturados e insaturados LAB 66.17:34.04%; SP 65.82:34.23%; COM 67.97:32.30%; LC 67.77:32.35% como se muestra en el cuadro 1. El contenido de ácidos grasos polinsaturados, omega-3 fue LAB 0.51%; SP 0.33%; COM 0.27% superiores a las de la leche comercial (LC) que tuvo en promedio un 0.18% los resultados de omega 6 fueron 1.77% LAB; 1.59% SP; y 1.50% COM mientras que la leche comercial tuvo un promedio de 1.47% ($P < 0.05$). La relación de omega 6/omega 3 fue de 3.47:1 de LAB; 4.82:1 de SP; 5.16:1 de COM y 8.17:1 de LC.

Con respecto a los ácidos grasos saturados la LC y la COM fueron superiores a las leches de pastoreo, que no mostraron diferencias entre ellas ($P > 0.05$), los no saturados se comportaron en forma similar pero LAB y SP fueron superiores a COM y LC ($P > 0.05$). Las diferencias entre las cuatro leches fue en el porcentaje de polinsaturados siendo mayor para LAB intermedia para SP y COM y menor para LC ($P > 0.05$). A través del análisis de la varianza se observó que el sistema de alimentación sólo modificó la concentración de AG polinsaturados (< 0.01), por el contrario los AG monoinsaturados solamente fueron afectados ($P < 0.01$) entre LAB y SP comparados con COM y LC. Si observamos los ácidos grasos polinsaturados, tanto LAB fue mayor ($P < 0.05$) en porcentaje (0.51%) siendo superior a los demás tipos de leche. Se observó efecto significativo ($P < 0.01$) del sistema de alimentación sobre los diferentes tipos de leche.

Porcentajes de ácidos grasos en la leche						
			LAB	SP	COM	LC
Saturado	Capríco	C6	0.47	0.47	0.53	0.44
Saturado	Caprílico	C8	0.46	0.46	0.5	0.41
Saturado	Capríco	C10	1.50a	1.73a	1.22b	1.15b
Saturado	Laurico	C12	2.50a	2.84a	1.95b	2.14b
Mono	Mirostoleico	C14.1	0.74b	1.03a	1.02a	0.65b
Saturado	Mirístico	C14	10.35	11.43	10.62	9.16
Saturado	Pantodecílico	C15	1.94	1.59	1.79	1.54
Mono	Palmitoleico	C16.1	1.17a	1.17b	1.82a	1.65a
Saturado	Palmitico	C16	32.10b	31.52b	35.67a	31.55b
Saturado	Margarico	C17	1.48b	1.08c	1.32b	1.83a
Poli	Linoléico omega 6	C18.2	1.77a	1.59b	1.50b	1.47b
Mono	Oléico	C18.1	29.27	30.11	27.69	28.4
Saturado	Esteárico	C18	14.60b	13.23b	13.43b	18.90a
Poli	A Linoléico omega 3	C18.3	0.51a	0.33b	0.27c	0.18d
Saturado	Arquídico	C20	0.77b	0.47a	0.94a	0.65b
			100.21	100.05	100.27	100.1
	Relación omega3:omega6		3.47c	4.82b	5.56b	8.17a
	Saturados		66.17b	65.82b	67.97a	67.77a
	No Saturados		34.04a	34.23a	32.30b	32.35b
	Mono		31.76a	32.31a	30.53b	30.70b
	Poli		2.28a	1.92b	1.77c	1.65d

Figura 10. Porcentajes de ácidos grasos en la leche de tres tratamientos solvopastoril con probiótico (LAB); Silvopastoril (SP); Silvopastoril con concentrado comercial COM) y Leche Comercial (LC).

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

LB Leche de pastoreo con probiótico

SP Leche de pastoreo

COM Leche de pastoreo con concentrado comercial

LC Leche comercial

A través del análisis de varianza se observó que existe interacción de los

factores ($P < 0.01$) sobre el contenido de AG omega 3, omega 6, así como en la relación que guardan éstos elementos, además de efecto por el sistema de alimentación en leche.

Concentración total de ácidos grasos en leche				
	LAB	SP	COM	LC
Saturados	66.17a	65.82b	67.97a	67.77a
No Saturados	34.04	34.23	32.3	32.35
Monosaturados	31.76a	32.31a	30.53.b	30.40b
Poliinsaturados	2.28a	1.92b	1.77c	1.65d
Omega 3	0.51a	0.33b	0.27b	0.18c
Omega 6	1.77a	1.59b	1.50c	1.47c
Relación omega 6: omega3	3.47c	4.82c	5.56b	8.17a
Colesterol (mg/100ml)	83.2b	84.4b	87.5a	89.1a

Figura 11. Concentración total de ácidos grasos en leche de pastoreo con diferente suplementación (porcentaje).

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

LB Leche de pastoreo con probiótico

SP Leche de pastoreo

COM Leche de pastoreo con concentrado comercial

LC Leche comercial

Al analizar el contenido de colesterol en los diferentes tipos de muestras se observó en LAB registró un contenido de 83.2 mg/100ml y SP 84.4 mg/100ml, mostrando diferencias significativas con COM 87.5 mg/100ml y LC 89.1 mg/100ml. En este sentido el sistema de alimentación con o sin probióticos, mostró una menor cantidad de colesterol en ambos tratamientos.

Un elemento de primordial importancia es la relación de omega 6/ omega 3 que en la presente observación fue de 3.47 para LAB y 4.82 par SP ligeramente dentro de los márgenes menores a 5 mientras que el mismo sistema silvopastoril al ser suplementado con concentrado comercial tiene una relación de 5.56 a 1 probablemente bloqueando el efecto benéfico del omega 3 y el promedio de las leches comerciales fue de 8.17 a 1 que es muy superior a los

límites que permitan una utilización benéfica para el humano.

DISCUSIÓN:

El comportamiento en la ingestión y rumia ha sido ampliamente documentado, sí se tiene en cuenta la naturaleza de la dieta, en lo esencial, su alta madurez vegetativa y forma física suministrada, aspectos que pudieron influir en el llenado de los órganos y velocidad de degradación de la materia seca en el tracto digestivo (Van Soest, 1982).

Los PF han demostrado tener los elementos que permiten una mejor utilización de las paredes celulares, debido a varios factores incluyendo la presencia de una fuente de carbohidratos solubles para la formación de energía de las bacterias anaerobias, una proporción adecuada de azufre para el mantenimiento de las bacterias sulfuro dependientes, fuentes de nitrógeno no protéico para el crecimiento bacteriano, además de elementos de sobrepeso como la harina de pescado que complementan el efecto benéfico del PF entre otros (Galina *et al.*, 2003).

Al analizar el medio ruminal, los valores de pH obtenidos con el uso de PF (± 6.9), aún cuando no existe un consenso único del valor de pH donde se optimice el funcionamiento ruminal, las cifras encontradas en la totalidad de los tratamientos se mantienen entre los límites fisiológicos de 6.0 y 7.2 (Elías, 1971; 1983; Calsamiglia *et al.*, 2002, Krause y Oetzel, 2006), como valores óptimos para garantizar la digestión de la celulosa, y posibilitar incremento del ritmo de crecimiento de los microorganismos celulíticos/hemicelulíticos, su actividad enzimática, y con ello, los productos de su metabolismo (Marrero, 2005).

Los valores de pH alcanzado con los PD tienen un efecto positivo que ejercen los activadores microbianos al estimular el crecimiento bacteriano y contribuir al mayor consumo de MS, fundamentalmente FDN (Puga *et al.*, 2001a; 2001b; 2001c).

Castañeda *et al.*, (2010) lograron resultados semejantes en el comportamiento

de cabras y ovinos, al constatar aumento de las concentraciones de AGVs a partir de las 2 y 8 horas posteriores a la ingestión de alimento. A la vez, que afirmaron alcanzar una correlación negativa ($r^2 = -0.454$, $P < 0.01$) entre el pH y las concentraciones de estos ácidos orgánicos. Un comportamiento análogo es probable con el uso de FR/LAB en este nivel, indica que en el ecosistema mixto ruminal, hubo de estar influenciado no solo por la concentración de estos ácidos, sino también, por otros factores como la capacidad amortiguadora del medio (Ramos y Antonio, 2009; Elías *et al.*, 2010). Como debió ocurrir en estos tratamientos, producto del aumento de la masticación y rumia, como se evidencio anteriormente, lo que trae consigo una mayor producción y segregación de saliva (Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b). La posibilidad de buferar estas sustancias (carbonatos y fosfatos), además de la urea, y las cantidades de AGVs, acético y láctico contenidos en LAB, y producidos en el rumen, unidas a la estabilidad del pH, debieron mejorar sustancialmente la síntesis de proteína microbiana (Elías, 1983), y con ello aumentar la respuesta animal.

Según Smith (1975), a partir de las concentraciones AGVs, es posible estimar la masa microbiana del rumen. Trabajos en Cuba determinaron el nivel óptimo de 6ml Kg PV-1 de LAB en la ración, para obtener una mayor producción de biomasa microbiana (Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b). Esto evidencia mejor fermentación ruminal y, como consecuencia, mayor degradación de los forrajes ricos en paredes celulares, masa microbiana, que se convierte en parte de la digesta como proteína de sobrepaso de excelente composición aminoacídica, sale del rumen y se absorbe en el intestino delgado (López, 2009).

Aunque existen numerosos estudios in-vivo que describen mejoras en la tasa de degradación de la MS en la dieta de vacunos que consumen básicamente fibra, con la adición de aditivos microbianos a partir de cultivos mixtos de levaduras y lactobacilos, como los realizados por Flores (2000) al utilizar el 1% de cepas de *Lactobacillus plantarum* en una dieta básica elaborada a partir de concentrado y alfalfa, donde se obtuvieron mejoras en la degradabilidad, otros estudios desarrollados por Castillo (2009), Galindo *et al.*, (2001) y Marrero, (2005), al evaluar un preparado microbiano de *S. cerevisiae*, relacionados con las características de la fermentación ruminal en vacas alimentadas con dietas

fibrosas, encontraron un aumento de las bacterias viables totales y celulolíticas; con el uso de LAB se mejoró significativamente el contenido de ácidos grasos esenciales en la leche de los animales (Galina *et al.*, 2009; 2012 y Elías *et al.*, 2010). Sin embargo, las diferencias encontradas en la ingestión de la MS y FDN con la dieta de LAB con respecto al resto de los tratamientos en este estudio, puede atribuírseles a efectos similar a los logrados anteriormente en vacunos, y con ello, un incremento en la tasa de desaparición del material fibroso del rumen, similar a lo descrito por Galina *et al.*, (2007b).

Gutiérrez *et al.*, (2012a; 2012b) documentaron al respecto, que en la totalidad de sus tratamientos con probióticos en los diferentes tiempos, durante la cinética de incubación, se observó que a pesar del alto contenido en fibra, se encontraron niveles altos de degradación de la MS; esto a pesar que con anterioridad se había observado que en forrajes fibrosos se tenía baja digestibilidad, definidos como materiales de bajo valor nutritivo (Pérez-Infante, 2010), con altos niveles de FDN, cuyos efectos en la degradación ruminal habían sido discutidos por Vergara-López Araujo-Febres (2006), quienes aseveran encontrar una correlación negativa del material fibroso con la digestión ruminal. Aunque, según Offer *et al.*, (2003) la degradabilidad de la MS en el rumen con materiales similares, oscilan en un rango entre el 20 y 55%; por otro lado los resultados en digestibilidad de forrajes fibrosos en otros trabajos utilizando FR fueron cercanos al 70% quizás por un mayor incremento de la población celulítica del rumen, con liberación de la energía contenida en las paredes celulares y la formación basta de proteína microbiana (Puga *et al.*, 2004a; 2004b; 2004c; Ortiz *et al.*, 2007; Galina *et al.*, 2009b).

Como afirmación a lo anterior, los resultados de las regresiones de la degradabilidad de la materia seca en relación con el consumo de fibra en detergente neutro (FDN 0.75), proteína bruta (PB 0.75) y la relación de la FDN con el nitrógeno total (FDN-NT-1) durante la cinética, en los tratamientos donde se ha aplicado LAB dejan ver, que la degradabilidad de la materia seca aumenta, mayormente, influenciada por el consumo de FDN, más que por la proteína (Gutiérrez *et al.*, 2012a).

Los resultados con LAB en la ración, parecen indicar que se producen mayores cambios en la actividad microbiana ruminal, lo que provoca aumento de la capacidad fermentativa de carbohidratos estructurales, al degradar cadenas carbonatadas complejas y liberar cadenas simples que se utilizaron por las bacterias celulolíticas, como fuentes de energía para su crecimiento desde sus inicios, unido a la contribución que hiciera LAB de péptidos y aminoácidos presentes en su proteína verdadera (Elías, 1983 y Galina *et al.*, 2008a; 2008b; 2009b). Esto se demuestra durante el comportamiento cinético de la curva, donde se observó fluido ruminal, desde los inicios de la cinética degradativa y en su extensión (Gutiérrez *et al.*, 2012b).

Varios son los modelos que describen los procesos de digestión y pasaje in-situ de los alimentos en el rumen. Estos modelos permiten predecir el valor nutricional de los alimentos fibrosos utilizados. Para mejorar la precisión de su comportamiento, todos tienen como eje común, el ajuste estadístico y biológico de las variables de ingestión, digestibilidad y consumo (Leichtle y Cristian, 2005). Aún cuando es poca la información que se tiene de la aplicación de estos modelos con FR (Puga *et al.*, 2001a; 2001b; 2001c), más cuando utilizan aditivos microbianos como los empleados en este estudio, la digestibilidad con LAB ha sido determinado por el modelo de Ørskov y McDonald (1979) en varios estudios (Gutiérrez *et al.*, 2012a; 2012b; Galina *et al.*, 2013).

En trabajos de Gutiérrez *et al.*, (2012a; 2012b) utilizando probióticos, la respuesta a las características durante la cinética degradativa de la MS mostro que para fracción soluble (A) fue la misma en todos los tratamientos, debido fundamentalmente a que el material fibroso incubado era el mismo (heno de *B. brizantha*). Indicador que se estimó a partir del material perdido durante el lavado de la bolsa, a la hora cero, sin incubación ruminal. Al respecto, se pudiera argumentar que los valores de la degradación potencial (A+B) estuvieron determinados, básicamente, por la fracción insoluble, pero degradable (B). Esta fracción, según Ortiz-Rubio *et al.*, (2007) en trabajos desarrollados con gramíneas, expresa el tiempo de permanencia de este tipo de alimento en el rumen, y está relacionado con el tiempo de adaptación y colonización de los microorganismos para degradar esta fracción. A la vez, que

se presenta una alta velocidad de degradación (c), de la fracción insoluble (B) con valores de 2.9 h⁻¹, de igual manera, el mayor valor de la degradabilidad efectiva (DE) de la fracción potencialmente degradable estuvo determinado por la menor tasa de recambio ruminal (2%/h). En esta última se aprecia con el aumento de la tasa de recambio ruminal, disminuye la degradación efectiva. Esto reafirma la importancia de utilizar la degradación efectiva y no la potencial, para el cálculo de la dieta, según lo planteado por Leichtle y Cristian (2005).

De acuerdo a lo anterior, los parámetros calculados para la utilización de probióticos en un volumen de 6ml kg PV-1 con respecto al resto, podrían estar asociados a los resultados positivos obtenidos en la degradabilidad de MS y su velocidad de degradación (Gutiérrez *et al.*, 2001a; 2001b). Esto se pudiera reflejar con el menor tiempo de retención del alimento en el rumen. A lo que se podría argumentar, que la degradación de la MS en gramíneas tropicales de mediana a baja calidad, se relaciona, en general, con la composición de paredes celulares y el bajo contenido de nitrógeno, factores que afectan negativamente el mejoramiento de la digestión ruminal de los nutrientes presentes en los forrajes (Ramírez *et al.*, 2002 y Ku Vera, 2010), tal como ocurrió en este experimento. Esto podría variar, si la calidad del forraje fuera mayor o si se administra continuamente como estimulante de la celulólisis ruminal, mediante un aditivo microbiano a partir de levaduras y *Lactobacillus*, sin interrupción, y durante un tiempo prolongado a la ración (Elías, 1983; Elías *et al.*, 2008; 2010) como el empleado en este estudio.

Lo que demuestra que mejorar y estabilizar las condiciones del ecosistema ruminal es prioritario para el desarrollo de microorganismos fibrolíticos como agentes deslignificantes, particularmente los Lactobacilos (Elías, 1983 y Galina *et al.*, 2010), pudo ser, no solo una función directa del sustrato que llegó al rumen, de su composición y balance, sino también de un efecto sincronizado y de sinergia de utilización del sustrato por los microorganismos y el manejo de la ración (Marrero, 2005; Gutiérrez, 2005 y Elías *et al.*, 2010).

En lo que respecta a la calidad de producto el contenido mínimo de ácidos grasos saturados (AGS) se observó en la leche procedente de los animales en pastoreo, siendo significativamente superior cuando se agregó el probióticos,

es reconocido en la literatura que un menor contenido de AGS parece favorecer la salud humana, debido a la información acumulada sobre el efecto de bloqueo de los vasos sanguíneos, en las enfermedades coronarias (Pfeuffer y Schrezenmeir., 2000). Los resultados del presente trabajo permiten suponer que el sistema de alimentación, en general y en específico el pastoreo libre en un ambiente silvopastoril, permite que cada vaca, particularmente en la diversidad de forrajes, formar una dieta de acuerdo a sus propias necesidades, que tienen un efecto sobre las características nutricionales en la leche, favorable a la salud. El mayor contenido de ácidos grasos trans, estuvieron 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 (Secchiari. 2008). Los efectos negativos de los ácidos grasos trans en patologías coronarias y citotoxicidad, se determinó a partir de observaciones sobre el metabolismo 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 (Wencelová *et al.*, 2015). En el presente trabajo se observó, de hecho, para la mayoría de los C18:1 trans vaccénicos. Esto último, a través de la acción de la 9 desaturación, donde se metaboliza en C18:2 11-trans 9cis que representa uno de los precursores más importantes del ALC benéfico (Castillo *et al.*, 2013). Por lo tanto, a la luz de este conocimiento relativamente novedoso, el papel de los ácidos grasos trans en el sistema de alimentación de los rumiantes en pastoreo libre, tienen que ser revaluados en el marco de producir una “mejor” leche desde el punto de vista de la salud del consumidor. Fenómeno que en México, es una gran preocupación. Debido a que una parte significativa de la población sufre de obesidad o sobrepeso, que se traduce en las enfermedades crónico degenerativas, particularmente los trastornos coronarios (Galina *et al.*, 2008a; 2008b).

Particularmente en efecto benéfico de los ácidos poliinsaturados omega 3 y omega 6 ha sido abundantemente documentados recientemente (Colavilla *et al.*, 2014; Rubino, 2014).

Estudios últimos han demostrado la importancia de mantener una relación menor a 5:1 entre omega 6 y el omega 3 ya que concentraciones superiores bloquean los efectos benéficos del omega 3, siendo contraproducentes a la salud (Colavilla et al., 2014), solamente LAB con 3.48 y SP con 4.79 cumplieron con este parámetro mientras que el pastoreo suplementado con concentrados comerciales supera ligeramente esta frontera (5.54) y el promedio de 8 leches comerciales fue de 8.40 lo que significaría que el poco omega 3 contenido, no tendría ningún efecto sobre la salud por ser bloqueado por el omega 6 (Simopoulos, 2002; Strandvik, 2011). Incluso a pesar de las diferencias que se demostraron entre los dos sistemas, los valores de ALC y la relación de omega 3/omega 6 fueron favorables para ambos sistemas, lo que permite demostrar la importancia de la biohidrogenación en la producción de la leche, BH que se disminuye con el uso de las bacterias lácticas. Las diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos benéficos entre las leches de pastoreo o estabulación con la adición de un suplemento de bacterias lácticas comparados con la leche comercial, demuestra la importancia de la biohidrogenación en el metabolismo ruminal, para la calidad de la leche, en relación a la salud del consumidor (Galina et al., 2013).

La suplementación con probióticos de bacterias lácticas (LAB) puede probablemente disminuir la biohidrogenación (BH) ruminal, fenómeno que se traduce en una saturación de los AGNS, abundantes en las plantas, para ello suplementamos con LAB que no BH, aunado a que no son bacterias metanogénicas, permite no solamente mejorar el perfil de AGV, sino disminuye la contaminación ambiental (Galina *et al.*, 2012; 2013). Los resultados sobre BH con LAB fueron similares a los obtenidos en dietas suplementadas con ácidos orgánicos o plantas de aceites (Wencelová *et al.*, 2015) lo que permite suponer que las bacterias lácticas tienen una forma de fermentación ruminal que permite tener un efecto similar, que se traduce en una mejor calidad de 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,

demonstraron la importancia de la BH 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 PF 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).

CONCLUSIONES:

Los resultados han demostrado que los dos sistemas de alimentación en silvopastoril, incluso si ambos se componen principalmente de forrajes frescos verdes, mejoran la calidad del lácteo probablemente debido a un aumento de AGNS de la dieta.

No obstante que por la disminución de BH utilizando LAB se produce una leche de mayor calidad, pues en su perfil de ácidos grasos esenciales, se observó una diferencia significativa favorable aún comparándola con el SP ($P \leq 0.05$), lo que significó una caída de BH producto de la flora láctica, que se disminuye cuando existe un substrato de mayor diversidad de forrajes, como fue el caso de los animales en LAB.

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.; Monocoulon, R.; Enjanbert, P. 2004. In situ ruminal biohydrogenation of fatty acid from extruded soybeans: effects of dietary adaptation and of mixing with lecithin or wheat straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:165-175.

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 I., 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 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.

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 ruminantes. En: Church D.C. editors. *El rumiante: Fisiología digestiva y nutrición.* España: Acribia, 1993; 339-356.

Calsamiglia, S., Ferret, A. & Devant, M. 2002. Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *J. Anim. Sci.* 85:574.

CANILEC, 2014. Estadísticas de Producción e Importación de Leche en México. Cámara Nacional de la Industria de Leche, México.

Castañeda, A., Díaz, L.H., Muro, A., Gutiérrez, H., García, D. M., Lozano, A.R. & Ortiz, U. 2010. Parámetros de fermentación ruminal en ovinos y caprinos sometidos a cambios de dietas. III Congreso de Producción Animal Tropical y I Simposio FOCAL. La Habana. Cuba. Memoria en soporte electrónico. ISBN:978-959-7171-31-7.

Castillo, C.Y. 2009. Fermentación *in-vitro* para obtener la levadura *Candida norvegensis* en mezcla de alfalfa con bagazo de manzana fermentado y sus efectos sobre la actividad microbiana ruminal. Tesis de Doctor en Philosophia.

Universidad Autónoma de Chihuahua. México.

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.C.A. 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., Schiavons, 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., ColognaN., 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.

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.

Colavilla, G., Amadoro, C., & Mignona, R. 2014. Rapporto omega 6/omega 3 e GPA nel Latte Nobile in Molise en R.Rubino IIModello Latte Nobile un'altra vie é possibile. Caseus Italia: 118-128.

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.

Elías, A. 1971. The rumen bacteria of animals feedon molases-urea diet. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Universidad Aberdeen. Escocia. p.180.

Elías, A. 1983. Digestión de pastos y forrajes tropicales. En: Los pastos en Cuba. Tomo 2. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. P. 187.

Elías, A. & Herrera, F.R. 2008. EL VITAFERT en el tracto gastro intestinal. En

Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA) p.8.

Elías, A., Chilibroste, P., Michelena, J.B. , Iriñiz, J. & Rodríguez, D. 2010. Evaluación de ACTIVIOL y MEBA con ensilaje de sorgo y despunte de caña de azúcar: valor nutritivo, fermentabilidad in-vivo e in-vitro y pruebas con animales en crecimiento y vacas lecheras. Informe de avance Proyecto: "Potencial de uso de forrajes de baja calidad en la alimentación de rumiantes, con énfasis en subproductos de la caña de azúcar" República de Uruguay.

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.

Flores, M.N. 2000. Elaboración de cultivos microbianos a partir de coco, su utilización en dietas para borregos en engorde. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Pecuarias. Instituto Nacional de Nutrición. Salvador Zubiran. México.

Galina, M.A., Guerrero, C.M., Serrano, G., Morales, R. & Haenlein, G. 2000. Effect. Complex catalytic supplementation with non protein nitrogen on ruminal ecosystem of growing goats pasturing shrub land in México. Small Rum. Res. (36): 33-42.

Galina, M., Ruiz, G. & Ortiz, M.A. 2002. Ceba de bovinos con punta de caña y planta de maíz suplementados con bloque de urea o concentrado. Fermentación ruminal, consumo y digestibilidad. Pastos y Forrajes. 25 (3) 209-221.

Galina, M., F. Perez-Gil, F., Hummel, J.D., Orti, R.M.A. & Orskow, E.R., 2003.

Effect of slow intake urea supplementation on fattening of steers feed sugar cane tops (*Saccharumofficinarum*) and maize (*Zea mays*) with or without SIUS, ruminal fermentation, feed intake and digestibility. *Lives Prod Sci.* 83 (1): 1-1.

Galina, M., Guerrero, M. Puga, D.C. & Haenlein, G.F.W. 2004a. Effect of a slow intake urea supplementation on Goat kids pasturing natural Mexican rangeland. Ruminal fermentation, feed intake and digestibility. *Small Rum Res.* Vol. 55: 85-95.

Galina, M.A., Guerrero, M., Puga, D.C. & Haenlein, G.F.W. 2004b. Effect of a slow intake urea supplementation on growing kids feed con stubble or alfalfa with a balanced concentrate. *Small Rum Res.* Vol 53, Núm 1-2: 29-38.

Galina, M.A., Hummel, J. Sanchez, M., & Haenlein, G. 2004c. Fattening rambouillet lambs with corn stubble or alfalfa hay, slow urea intake supplementation or balanced concentrate. *Small Rum Res.* Vol. 53, Núm. 1-2: 89-98.

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.

Galina, M.A.; Ortiz-Rubio, M.A. & Guerrero, M. 2007 a. Desarrollo de cabras con o sin suplementación, con un probiótico de bacterias lácticas. V° Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Mendoza. Argentina. p.11.

Galina, M.A.; Ortiz-Rubio, M.A; Delgado-Pertínez, M. & Pineda, L.J. 2007b. Effect of a lactic probiotic supplementation on goat kids growth. 12th Seminar of the sub-NY FAO-CIHEAM on Sheep and Goat Nutrition. October. Thessaloniki (Greece). p.11.

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., Ortiz-Rubio, M.A.; Guerrero, M., Mondragón, D.F., Franco N.J.L., & Elías A. 2008a. 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., Ortiz-Rubio, M.A.; Guerrero, M. & Elías, A. 2008b. Efecto de un ensilado de maíz solo o inoculado con probióticos lácticos y adicionado con un suplemento nitrogenado de lento consumo en ovinos. En: REDALYC. 12:23.

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., Delgado-Pertiñez, M., Ortiz-Rubio, M.A., Pineda, L.J. & Puga, D.C. 2009b. Cinética ruminal y crecimiento de cabritos suplementados con un probiótico de bacterias ácido-lácticas. *Rev. Pastos y Forrajes experimental de Pastos y Forrajes. Indio Hatuey.* 32:4.

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., Pineda, L.J. & Morales, R. 2010. Suplementación en pastoreo de cabras lecheras con una fuente de liberación lenta de nitrógeno (SLNN) con o sin la adición de un probiótico de bacterias lácticas. III Congreso de Producción Animal Tropical y I Simposio FOCAL. La Habana. Cuba. Memoria en soporte electrónico. ISBN: 978-959-7171-31-7.

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., 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. 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., Guerrero, 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.A., Cuellar, A., Galina, C., Romero, J., Rubino, R., Delgadillo, C., Milera, M., Infascelli, F., Pineda, J., Vázquez, P. 2015. El modelo de Latte Nobile, otra vía de producción de leche. Omega 3, leche de pastoreo y manejo integral del sistema. Ed. PUERTA ABIERTA.

Galindo, J., Marrero Y., González, N. & Sosa, A. 2001. Uso de microorganismos viables y productos microbiales. En Manipulación de la fermentación microbiana ruminal. Pp.70-83.

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.

Gutiérrez, B.R. 2005. Actividad probiótica de un producto biofermetado (VITAFER), en pollos de ceba. Tesis en Opción al Título de Master en Producción Animal para la Zona Tropical. ICA. La Habana. Cuba. p.52.

Gutiérrez, D., Elías, A., Galina, M., García, R., Herrera, F., Jordán, H., & Sarduy, L. 2012a. Efecto del aditivo VITAFERT en el consumo de la materia seca y fibra en detergente neutro de cabras alimentadas con heno de *Brachiaria Brizanta*. II Foro Internacional de Ciencia e Innovación Tecnológica: FOCAL, Colima, México. Memorias. 318-322 ISBN 978-607-95853-7-2.

Gutiérrez, D., Elías, A., Galina, M., García, R., Herrera, F., Jordán, Sarduy, L. 2012b. Influencia de un aditivo microbiano en el consumo voluntario de materia seca e indicadores de la fermentación ruminal en cabras alimentadas con heno de *Brachiaria Brizanta*. II Foro Internacional de Ciencia e Innovación Tecnológica: FOCAL, Colima, México. Memorias. 312-317 ISBN 978-607-95853-7-2.

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.

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.

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

INRA, 1995. *Nutritions de ruminants domestiques. Ingestion et digestion.* INRA. Paris. p. 905.

Jenkins T C. 1993. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* ; 76:3851-3863.

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.

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 insaturated 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.

Krause, K.M. & Oetzel, G.R. 2006. Understanding and preventing subacuteruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal. Feed Sci. and Techn.* 126:2015-236.

Ku Vera, J.C. 2010. Requerimientos de energía en rumiantes en el trópico. Implicaciones del concepto de mantenimiento. Taller de fisiología y procesos fermentativos. III Congreso de Producción Animal Tropical y I Simposio FOCAL. La Habana. Cuba. Memoria en soporte electrónico. ISBN: 978—959-7171-31-7.

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*. 2ª. ed. Barcelona (España): Ediciones Omega.

Leichtle, S. & Cristian, J. 2005. Degradabilidad ruminal de henos de praderas de la zona sur de Chile. Tesis Lic. Agro. Univ. Austral de Chile. Fac. Cienc. Agrarias. Chile. p.18.

Liavonchanka, A.; Feussner, I. 2008. Biochemistry of PUFA Double Bond Isomerases Producing Conjugated Linoleic Acid. *ChemBioChem.* 9:1867-1872.

Lila, Z.A., Mohammed, N., Ysui, T., Kutokawa, Y., Kanda, S. & Itabashi, H. 2004. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* of live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. *J. Dairy Sci.* 82: 1847.

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.

López, R.J. 2009. Efecto de la suplementación con concentrado en indicadores de la fisiología digestiva y consumo de nutrientes en becerros (*Bubalus bubalis*) alimentados con pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). Tesis en Opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. ICA. La Habana. Cuba. p.140.

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.

Marrero, Y.R. 2005. Las levaduras como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis presentada en opción al grado científico de doctor en Ciencias Veterinaria. Inst. Ciencia. Animal. Habana. Cuba. p.93-104.

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 posible 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 cáncer chemoprevention. *Trends in Food Sci. & Technol.* 9:192-196.

Offer, N.W., Bach, A. & Sauvant, D. 2003. Quantitative review of in situ starch

degradation in the rumen. Anim. Feed. Sci: Techn. 106:81.

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.

Ørskov, E.R. & McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Camb. 92:499.

Ortíz, R.M.A., Haenlein, G.F.W & Galina, M. 2001. Effects on feed intake and body weight gain when substituting maize with sugar cane in diets for Zebu steers complemented with slow release urea supplements. Intern, J. Animal Sci. 16 (2): 239.

Ortíz, R.M.A., Galina, M.A., & Carmona, M.M.A. 2002. Effect of a slow non-protein nitrogen ruminal supplementation on improvement of *Cynodonlemfuensis* or *Brachiaria brizanta* utilization by Zebu steers. Livestock Production Sci. 78 (2) 125-131—245.

Ortíz-Rubio M.A., Orskov, E.R., Milne, J., & Galina, M.A. 2007. Effect of different sources of nitrogen on in situ degradability and feed intake of Zebu cattle fed sugarcane tops (*Saccharum officinarum*) Feed Science and Technology. (139) 143-158.

Pedersen, J.I. 2001. More on trans fatty acids. British Journal Nutrition, 85 (3):249-250.

Pérez-Infante, F. 2010. Estimado de la calidad del pasto y los forrajes verdes cuando la disponibilidad no es limitante. En: Ganadería del Futuro Producción y eficiencia. Ed. Palcogra. La Habana. Cuba. p.33.

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.

Peters, M., Van der Hoek, R. & Schultze-Kraft, R. 2010. Los pastos y forrajes en el trópico-retos en el marco de un desarrollo sostenible. V Foro Latinoamericano de Pastos y Forrajes. III Congreso de Producción Animal Tropical. La Habana. Cuba. Memoria en soporte electrónico. ISBN: 978-959-7171-31-7.

Pfeuffer, M., Schrezenmeir, J., 2000. Bioactive substances in milk with properties decreasing risk of cardiovascular diseases. British Journal of Nutrition, 84, 155–159.

Puga, D. C. Galina, M.A., Pérez-Gil, R.F., Sanguinés, G.L., Aguilera, B. A., Haenlein, G.FW. 2001a. Effect of a controlled-release urea supplement on rumen fermentation in sheep fed a diet of sugars tops (*saccharumofficinarum*), corn (*Zea mays*) and king gras (*Pennisetum purpureum*). Small Rum Res. 39 (3); 269-276.

Puga, D. C. Galina, M.A., Pérez-Gil, R.F., Sanguinés, G.L., Aguilera, B. A., Haenlein, G.FW., Barajas, C.R. & Herrera, H.J. 2001b. Effect of a controlled-release urea supplementation on feed intake, digestibility, nitrogen balanced and ruminal kinetics of sheep fed low quality tropical forage. Small Rum Res. 41 (1): 9-18.

Puga, D. C. Galina, M.A., Pérez-Gil, F., Rosado, J. & Murillo, J.C. 2001c. Efecto de un Alimento Complejo Catalítico sobre el pH, amoníaco ($N-NH_3$) ruminal y la desaparición in situ de *Cynodonnlem fuensis*, *Cynodondactilon*, *Panicum masimum* y *Brachiaria brizanta* en bovinos en Pastoreo en el Trópico Mexicano, Pastos y Forrajes Cuba. Vol. 24, Número 2:157-166.

Ramírez, R.O., Gonzalo, R.L. & López, F.G. 2002. Factores estructurales de la pared celular del forraje que afectan la digestibilidad. CIENCIA UANL. 2:180.

Ramos, N. y Antonio, J. 2009: Acidosis Ruminal y su Relación con la Fibra de

la Dieta y la Composición de Leche en Vacas Lecheras. Seminario Avanzado de investigación Cajamarca. Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos (Sirives) p.2-3.

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.

Simalopus, A.P. 2002. The importance of the ratio of omega6/omega3 essential fatty acids. *Biomedical Pharmacoter* 56:365-379.

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.

Smith, R.H. 1975. Nitrogen metabolism in the rumen and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum. En: *Digestion and metabolism in the Ruminant*. (W. McDonald, A.C.I. Warner Eds) New England University Publishing Unit. Armidale, Australia. p.399-415.

Strandvik, B. 2011. The omega-6/omega-3 ratio its of importance. *Prostaglanins, Laukotrienes and Essential Fatty Acids* 85:405-406.

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.

Tittonell, P., Rufino, M.C., Janssen, B.H. & Griller, K.E. 2010. Carbon and nutrient losses during manure storage under traditional and improved practices in smalholder crop livestock systems-evidence from Kenya. *Plant and Scoil.* 328:253.

Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant: metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fibers*. O. & B. Books. Corvallis. Oregon. p.24.

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.

Vergara-López, J. y Araujo-Febres, O. 2006: Producción, composición química y degradabilidad ruminal in-situ de *Brachiaria humidicola* (rendle) schweick en el bosque seco tropical. Revista Científica. FCV-LUZ. Venezuela. 16:3 p. 239-248.

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.

Wencelová, M., Vardayová, M., Mihalikova, Z., Cobanová, K., Placha, I., Pristas, P., Jalac, D., & Kisidayová, S. 2015. Rumen fermentation pattern, lipid metabolism and the microbial community of sheep fed a high-concentrate diet supplemented with a mix of medicinal plants. Small Rum Res on line.

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.