



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

Grado de protección antioxidante de leche de pastoreo

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

PRESENTA:

GUSTAVO ADOLFO TORRES FRANCO

ASESOR:

DR. MIGUEL ÁNGEL GALINA HIDALGO, PROF TIT C T C

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1 CONTENIDO

2	Introducción.....	2
2.1	Situación de la producción de leche de pastoreo en México.....	3
2.2	Calidad de la leche de pastoreo en México.....	5
2.3	Compuestos oxidantes.....	7
2.4	Estrés oxidativo.....	9
2.4.1	El estrés oxidativo y las enfermedades.....	10
2.5	Compuestos antioxidantes.....	11
2.6	Sistemas de defensa antioxidante en el organismo.....	14
2.6.1	α tocoferol.....	15
2.7	La leche de pastoreo como un alimento funcional.....	17
2.8	Ácidos grasos.....	19
2.9	Grado de protección antioxidante en la leche.....	20
3	Hipótesis y Objetivos.....	23
4	Metodología.....	23
5	Resultados.....	26
6	Discusión.....	30
7	Conclusiones.....	34
8	Bibliografía.....	36

2 INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 1995 las enfermedades transmisibles fueron responsables del 70% de las muertes en todo el país, pero para el 2015 solo contribuyeron con el 12%. Durante ese periodo, la proporción de muertes causadas por enfermedades no transmisibles se elevó del 23 al 76% del total.

El 9.4% de los adultos entrevistados en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2016 contestaron haber recibido el diagnóstico de diabetes por parte de un médico. Se observó un aumento importante con respecto a la ENSANUT del 2006 (7.2%), por otra parte para el 2014, se reporta que el 69% de las mujeres en edad reproductiva y el 61% de los hombres padecen obesidad o sobrepeso (ENSANUT, 2016).

Está reportado que el sobrepeso y la obesidad, así como las enfermedades no transmisibles vinculadas, pueden prevenirse en su mayoría, para lo que son fundamentales unos entornos y comunidades favorables que permitan influir en las elecciones de las personas, de modo que la opción más sencilla (la más accesible, disponible y asequible) sea la más saludable en materia de alimentos y actividad física periódica (OMS, 2016).

La obesidad y el sobrepeso se han definido como una acumulación anormal de grasa perjudicial para la salud, siendo estos un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensión arterial y cáncer. El incremento en la actividad metabólica del tejido adiposo durante la obesidad contribuye al incremento de radicales libres (Zamora, 2007), que de manera normal se regulan por mecanismos antioxidantes endógenos. Cuando la

producción de estos radicales rebasa la capacidad del sistema de defensa antioxidante, se le denomina a este fenómeno estrés oxidativo (Pisoschi & Pop, 2015).

Gracias a numerosos estudios se ha documentado que la leche y sus derivados son algunos de los alimentos más importantes para el ser humano; por ello es valioso el hecho de que además de sus propiedades nutritivas, sean también alimentos funcionales, que además produzcan un efecto benéfico para la salud del consumidor (alimentos nutraceuticos) previniendo la presentación de algunas patologías (Cencic & Chingwaru, 2010). Bustamante (2005), Pizzoferrato, *et al.* (2007) y Cruz (2017), presentaron resultados acerca de que los productos provenientes de sistemas extensivos cuentan con estas propiedades benéficas, como son mayor contenido de ácidos grasos $\omega 3$ y una relación más favorable entre los ácidos grasos $\omega 3$ y $\omega 6$ que aquellos productos lácteos provenientes de sistemas de alimentación basados en granos (Bustamante, 2005). Esta relación además le confiere trazabilidad al producto (Pizzoferrato, *et al.*, 2007).

2.1 SITUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE DE PASTOREO EN MÉXICO

La leche, en los últimos años representó 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, si se cumplieran los lineamientos de una ingesta mínima de 300ml por habitante, se necesitarían 33 millones de litros considerando una población de 110 millones de habitantes sin contar la leche que se transforma en quesos y en otros productos, Por ello se calcula que hay un importante déficit, que se regula con la importación de leche en polvo (Galina & Pineda, 2017).

Datos estadísticos de la Cámara Nacional de Industriales de la Leche (CANILEC) muestran que 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, las vacas en

promedio dan de 10 a 15 litros diarios, en lactancias de 150 a 210 días; Ubicados principalmente en los trópicos, estos bovinos prometen un producto lácteo que contiene una mayor cantidad de ácidos grasos esenciales y antioxidantes en comparación al proveniente de sistemas en estabulación donde predomina el uso de concentrados (CANILEC, 2014) (Galina & Pineda, 2017).

Cimentándose en este principio, se conformó el proyecto *Latte Nobile*; esta maraca de origen italiano (robustamente consolidada en su país de origen) otorga una certificación que identifica al producto lácteo en cuestión con una procedencia de un sistema donde predomina el pastoreo, esto a su vez sugiere una mayor cantidad de antioxidantes con respecto a otros productos. De este modo, a través de conocer el Grado de Protección Antioxidante (DAP) de la leche no solo le confiere trazabilidad, también la hace susceptible a adquirir una certificación que indica ciertos estándares de calidad (Latte Nobile, 2018).

El proyecto de *Latte Nobile* fue implementado en México. En sus inicios durante 2015 participaron 14 productores en la primera fase, que contó con dos programas, uno para la elaboración de queso y otro para embotellar leche, no obstante, los pequeños productores con sistema de manejo tradicional de ordeño no especializado, concentran al 67% del hato lechero nacional y participan tan solo con el 20% del volumen del lácteo producido y son estos mismos quienes pueden ofrecer al mercado un producto procedente de un sistema de alimentación basado en pastoreo, brindándoles una herramienta para hacer frente a las desventajas que el sistema de producción representa (Latte Nobile, 2018; Galina & Pineda, 2017)

Algunas de estas desventajas radican en que si bien los costos de producción son bajos en este sistema, la venta de la leche es complicada principalmente por los métodos de distribución y el costo de combustibles, en los últimos cinco años, la gasolina ha incrementado su precio un 75% mientras que la leche solamente un 15%. Por esto generalmente la infraestructura es escasa y la rentabilidad económica baja; la producción es estacional y se destina fundamentalmente a la

venta directa al consumidor o entrega a queseros regionales (Galina & Pineda, 2017; Galina, *et al.*, 2015 a).

A diferencia de los grandes productores, en cuyo sistema el cultivo nacional tiende a convertirse en un monocultivo, principalmente de alfalfa, en detrimento de las praderas y la biodiversidad florística; los pequeños productores utilizan los recursos forrajeros que ofrece la región, produciendo de una manera más “amigable” con el medio ambiente, manteniendo la biodiversidad y reduciendo la utilización de agroquímicos (Galina, 2014; Rubino, 2014).

Aunado a lo anterior, el pequeño ganadero es una entidad económica y social, la mayor parte de las fuentes de trabajo que ofrece el campo en México las son generadas por estos, siendo en muchas ocasiones mano de obra familiar; se calcula que son más un millón de ganaderos que emplean entre 3 a 4 millones de trabajadores fijos o eventuales. La desaparición de estas entidades en el sector ganadero se traducen en el abandono del campo, donde al disminuir la demanda de mano de obra, los campesinos se ven obligados a migrar hacia el extranjero o hacia las ciudades en busca de trabajo. (Galina, 2014; CANILEC, 2014).

2.2 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 identificar y certificar las bondades del pastoreo tanto en vacas, como en cabras y recientemente en borregas; 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). Los resultados 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 como fue documentado recientemente por Rubio (2014).

La Leche de animales en pastoreo tiene un contenido de ácidos grasos no saturados mayor que el de animales en estabulación, mejorando la calidad de lácteo probablemente debido a un aumento de ácidos grasos insaturados de la dieta. Hecho que cobra gran importancia debido a que su contraparte, los ácidos grasos saturados, son los implicados en la mayor parte de las enfermedades cardiovasculares asociadas con la obesidad. La calidad de los productos pecuarios, leche o carne es superior cuando los rumiantes son manejados en pastoreo (Galina, *et al.*, 2016).

Siempre, la leche de pastoreo contiene un nivel inferior de colesterol y un nivel mayor de antioxidantes, pero la relación aumenta en pro de los antioxidantes a medida que también incrementa el porcentaje que el pastoreo toma parte en la dieta del animal, esto se traduce en una capacidad antioxidante mayor (Cuchillo, *et al.*, 2009); el componente aromático también es mucho más fuerte en la leche de pastoreo (Rubino, 2014), hechos que se traducen en una mayor calidad de la leche y sus derivados tanto como alimento funcional para la salud como en propiedades organolépticas (Rubino, 2014).

En los vegetales, se han identificado más de 5,000 moléculas de polifenoles, algunos de ellos con propiedades antibacteriales, antivirales, antioxidantes y antiinflamatorias. Por otra parte, se ha demostrado que estas sustancias pueden pasar de los alimentos a los productos que se obtienen de los animales (Cuchillo, *et al.*, 2010; Puga, *et al.*, 2011; Galina, *et al.*, 2016). En productos provenientes de rumiantes alimentados en pastoreo han demostrado la presencia de polifenoles con actividad antioxidante, además de otros compuestos con propiedades funcionales como: ácidos hidroxicinámicos (cafeico, clorogénico y ferúlico), flavonoides (catequina y quercetina), terpenos (Galina, *et al.*, 2007), ácidos grasos como eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA), α -linolénico (ALA) y el ácido linoleico conjugado (CLA) (Cuchillo, *et al.*, 2010; Puga, *et al.*, 2014).

2.3 COMPUESTOS OXIDANTES

Los compuestos oxidantes o radicales libres son y existen debido a que usualmente el oxígeno se encuentra en su forma más estable (O_2), de esta manera el oxígeno es poco reactivo y posee una velocidad de reacción baja a temperatura fisiológica; sin embargo por reacciones plenamente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de la radiación, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias pro-oxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo llegando a producir daño celular (Venereo, 2002).

Según otros autores, desde el punto de vista químico, los radicales libres son todas aquellas especies químicas que en su estructura atómica presentan un electrón libre en el orbital externo (Pires & Greggi, 1999), lo que les da una configuración espacial generadora de gran inestabilidad. Son muy reactivos, por lo que tienden a captar un electrón de otras moléculas con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Da Silva, 2007). Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que lo cedió, se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena (Avello & Suwalsky, 2006; Venereo, 2002).

También ha sido documentado que desde el punto de vista molecular son pequeños elementos ubicuos con una vida media corta (por lo que actúan cerca al sitio en que se forman) que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal, y las reacciones de oxidación, por lo que pueden causar daño (oxidativo) directo a las principales biomoléculas del organismo al interactuar con ellas (Venereo, 2002). Sin embargo, los radicales libres cumplen

también funciones fisiológicas como la de participar en la fagocitosis, favorecer la síntesis de colágeno y de prostaglandinas, activar enzimas de la membrana celular, disminuir la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modificar las membranas y favorecer la quimiotaxis (Venereo, 2002).

Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicálicas, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la formación de los agentes pro-oxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (ROS) por sus siglas en inglés, mismas que son listadas en la *ilustración 1* (González, *et al.*, 2008; Venereo, 2002; Avello & Suwalsky, 2006; Da Silva, 2007; Pires & Gregg, 1999).

Radical hidroxilo	HO°
Peróxido de hidrógeno	H₂O₂
Anión superóxido	O₂°
Oxígeno singlete	¹O₂
Óxido nítrico	NO
Peróxido	ROO
RadicalSemiquinona	Q
Ozono	O₃
Hidroperoxilo	HO₂°
Ácido hipocloroso	HOCl
Peroxinitrito	ONOO-

Ilustración 1 Las principales ROS o sustancias pro-oxidantes (Venereo, 2002).

Las ROS pueden ser de varios tipos, los principales grupos de estas incluyen los radicales libres inorgánicos o primarios, libres orgánicos o secundarios y los Intermediarios estables relacionados con las ROS, estos últimos se refieren a especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas (Venereo, 2002).

Es sabido que los radicales libres se generan tanto en el interior como en el exterior de la célula. Entre las células relacionadas con la producción de ROS se encuentran los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las enzimas oxidantes involucradas son la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-oxidasa y la NADPH oxidasa (Venereo, 2002).

Por su parte, el O_2 , hasta el punto en que las células lo utilizan para su metabolismo; es el principal responsable de la producción ROS. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del O_2 obteniendo agua sin la formación de intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (cerca del 5%) forman tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son radicales libres importantes (HO° y O_2°). En situaciones en las que exista una mayor actividad metabólica (etapas de mayor crecimiento, desarrollos activos o procesos inflamatorios) ocurre una mayor demanda tisular de O_2 , generándose un alto número de sustancias oxidantes (Avello & Suwalsky, 2006).

Los oxidantes pueden también proceder del exterior, ya sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias. Algunos ejemplos son la contaminación ambiental, la luz solar, las radiaciones ionizantes, los pesticidas, metales pesados, la acción de ciertos xenobióticos (cloroformo, paracetamol, etanol, tetracloruro de carbono o violeta de genciana) o el humo de tabaco. (Avello & Suwalsky, 2006).

2.4 ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo según se ha estudiado es el desequilibrio entre moléculas oxidantes y antioxidantes que resulta en la inducción de daños celulares por los radicales libres (Pires & Gregg, 1999). Cuando el aumento del contenido intracelular de ROS sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; este desequilibrio puede resultar de una situación en la que hay una disminución en los

niveles de las enzimas antioxidantes, una elevada velocidad de producción de ROS o una combinación de ambas condiciones (Da Silva, 2007). El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas, cáncer (Avello & Suwalsky, 2006), artritis, diabetes, cataratas, enfisema y procesos inflamatorios crónicos (Pires & Greggi, 1999).

El daño celular producido por las ROS ha sido descrito ampliamente sobre diferentes macromoléculas como en los lípidos, afectando todas las membranas biológicas, alterando la permeabilidad de la membrana celular produciendo edema y muerte celular, pero el contenido celular de antioxidantes y la activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción (como es el caso de la glutatión peroxidasa) son factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica (Venereo, 2002; Avello & Suwalsky, 2006).

También se ha documentado como la interacción de oxidantes en el ácido desoxirribonucleico (ADN) conlleva a mutaciones y carcinogénesis, donde hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, dilataciones, fragmentaciones, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes (Venereo, 2002).

2.4.1 El estrés oxidativo y las enfermedades

Existen varios trabajos en los cuales se expone la relación existente entre el estrés oxidativo y algunas enfermedades; Venereo (2002) realizó una revisión bibliográfica sobre el tema, en ella habló de hechos importantes que evidencian las relaciones entre las especies reactivas del oxígeno, las enfermedades y los antioxidantes como la elevación de los niveles de lípidos peroxidados en mujeres que tenían el diagnóstico de displasia mamaria, una reducción significativa del cáncer de estómago en pacientes que ingirieron suplementos de antioxidantes y

una correlación inversa entre los niveles de vitamina E y la mortalidad por infarto del miocardio en 16 ciudades europeas reportada por el Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) realizado por Stephens, *et al.*, (1996) que en estudios previos agruparon a 2,000 pacientes con enfermedad coronaria comprobada por coronariografía, que fueron divididos en 2 grupos: a uno se le administró un placebo y al otro 800 UI de vitamina E; después de un seguimiento de 510 días se observó una disminución de la mortalidad por infarto del miocardio en el grupo tratado (Venereo, 2002).

Según Céspedes, *et al.*, (1996), el desarrollo de lesiones hemorrágicas en la mucosa intestinal es causado por radicales de oxígeno y la activación de la fosfolipasa A2; encontraron también una relación causal entre la generación de radicales libres y el daño isquémico de la retina, también reportan que la infertilidad masculina con una disminución de la motilidad de los espermatozoides parece estar causada por un aumento de especies reactivas, sobre todo de H₂O₂.

Delgadillo & Cuchillo (2015) demostraron también que al producirse el estrés oxidante, se altera la función mitocondrial, induciendo a las señales del estado de inflamación. El tejido adiposo obeso produce un incremento local significativo de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), resultado de la acumulación de macrófagos, contribuyendo a la producción de las citotoxinas inflamatorias como interleucina-6 (IL-6), estas dos sustancias junto con la secreción de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) también producida por las células adiposas en estas condiciones agudizan la inflamación; Actualmente no existe un tratamiento efectivo para mitigar los efectos de este estrés oxidante y la inflamación derivada del mismo, por ello, es importante la identificación y ahora cuantificación de compuestos capaces de incrementar la capacidad antioxidante del organismo (Delgadillo P. & Cuchillo H., 2015).

2.5 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

A medida que las investigaciones en temas de compuestos pro-oxidantes avanzan, lo mismo sucede con las sustancias antioxidantes en aras de mantener

el equilibrio entre ambos grupos como respuesta al creciente índice de enfermedades no transmisibles que ha venido creciendo desmesuradamente (Galina *et al.*, 2017).

De tal modo, un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar las acciones oxidantes de los radicales libres mediante la liberación de electrones, que son captados por los radicales libres (Moura R., *et al.*, 2007; Avello & Suwalsky, 2006). La eficiencia de los antioxidantes se basa en la capacidad de reaccionar rápidamente con radicales oxidantes para así formar un nuevo radical y en que el metabolito formado *de novo* es menos reactivo que el predecesor (González, *et al.*, 2008).

El antioxidante sacrifica su propia integridad molecular para evitar la alteración de biomoléculas funcionalmente vitales o más importantes, con el objetivo de mantener el equilibrio pro-oxidante/antioxidante a favor de estos últimos (Venereo, 2002). Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; estas sustancias se pueden clasificar por el sitio en donde actúan como se muestra en la *ilustración 2* o según sea su origen como se muestra en la *ilustración 3* (Zamora, 2007).

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferinas
DT-deafarasa		Albúminas
GSH		Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

Ilustración 2 Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción (Venereo, 2002).

Origen	Acción
Exógenos	
Vitamina E	- Neutraliza el 1O_2 - Captura radicales libres HO° - Captura O_2 - Neutraliza peróxidos
Vitamina C	- Neutraliza el 1O_2 - Captura radicales libres de HO° - Captura O_2 - Regenera la forma oxidada de la vitamina E
Betacarotenos	Neutraliza el 1O_2
Flavonoides, Licopenos	
Endógenos	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio, manganeso
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutación peroxidasa (GPx)	Selenio
No enzimáticos	
Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	
Ácido Tioctico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

Ilustración 3 Clasificación de los antioxidantes, según origen (Venereo, 2002)

2.6 SISTEMAS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE EN EL ORGANISMO

Los mecanismos homeostáticos con que el organismo enfrenta el daño oxidativo que habitualmente causan estas especies son numerosos y diversos, reflejando la multiplicidad de formas de radicales libres y especies reactivas, como también los numerosos compartimientos donde actúan en el organismo y las propiedades de éstos (Avello & Suwalsky, 2006; Márquez, *et al.*, 2002). De acuerdo a los estudios de Pires y Gregg (1999) los antioxidantes actúan en diferentes niveles en protección de los organismos.

En algunas situaciones puede ocurrir una reacción de adaptación del organismo con el aumento de la síntesis de enzimas antioxidantes. Los organismos eucariotas poseen todo un sistema de protección antioxidante formado por enzimas y compuestos de bajo peso molecular (Céspedes, *et al.*, 1996), entre las que se encuentran las enzimas Catalasa (CAT), Glutación peroxidasa (GPx) y Superóxido dismutasa (SOD) que reaccionan con los compuestos oxidantes y protegen las células y los tejidos del cuerpo (Pires & Gregg, 1999).

Los antioxidantes obtenidos de la dieta, tales como las vitaminas C, E y A, los flavonoides y los carotenoides son extremadamente importantes en la interceptación de los radicales, ya que el primer mecanismo de defensa contra los radicales libres es impedir su formación, principalmente mediante la inhibición de las reacciones en cadena. Así pues, es perfectamente posible que un antioxidante actúe como protector en un determinado sistema, pero que falla en la protección, o incluso que aumente las lesiones inducidas en otros sistemas, la vitamina C, por ejemplo, actúa en la fase acuosa como un excelente antioxidante sobre los radicales libres, pero no es capaz de actuar en los compartimientos lipofílicos para inhibir la peroxidación de los lípidos (Pires & Gregg, 1999).

Entre los antioxidantes no enzimáticos se puede citar la vitamina C, la vitamina E, los carotenoides y algunos minerales. La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el

antioxidante lipofílico mayoritario. El selenio actúa junto con la vitamina E como antioxidante (Da Silva, 2007; Avello & Suwalsky, 2006).

2.6.1 α tocoferol

Para fines de este estudio se utilizó el α -tocoferol como el principal representante de las sustancias antioxidantes que se pueden encontrar en la leche para determinar así el grado de protección antioxidante (Pizzoferrato *et al.*, 2007), por lo que se citan en los siguientes párrafos las generalidades descritas por diversos autores a cerca de esta molécula.

La vitamina E es un componente encontrado en la naturaleza en ocho isoformas: cuatro tocoferoles (α , β , γ y δ) y cuatro tocotrienoles (α , β , γ y δ), siendo el α -tocoferol la forma antioxidante más ampliamente distribuida en los tejidos y en el plasma (González, *et al.*, 2008; Pires & Gregg, 1999; Márquez, *et al.*, 2002), sin embargo cocimiento casero, la congelación prolongada y el procesamiento comercial de alimentos destruyen rápidamente estas isoformas (González, *et al.*, 2008). La vitamina E, de la familia de los tocoferoles cuya forma biológicamente activa, y de la que se muestra la estructura química en la *Ilustración 4*, es el D- α tocoferol (Masa molar 430.71 g/mol), es abundante en la yema de huevos, la leche entera, las vísceras de mamíferos y los aceites de pescados; el hombre debe ingerirla de modo esencial (Benítez, 2006).

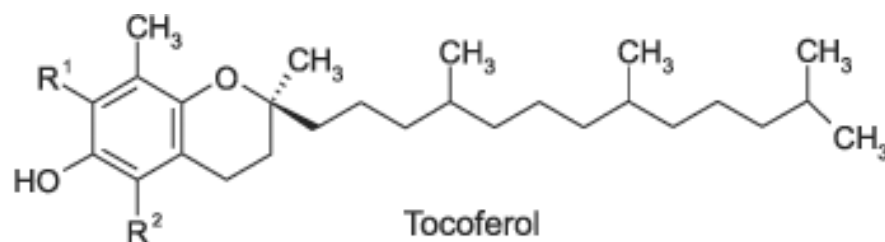


Ilustración 4 Estructura química del tocoferol (Menezes, *et al.*, 2007).

La vitamina E tiene la capacidad de impedir la propagación de las reacciones en cadena inducidas por los radicales libres en las membranas biológicas (principalmente de radicales RO_2°), los daños oxidativos pueden ser inhibidos por esta vitamina, junto con la GPx, la vitamina C y los carotenoides, constituyendo uno de los principales y probablemente el más importante mecanismo de la defensa endógena del organismo (pero no el único). (Da Silva, 2007; Benítez, 2006).

El tocoferol al ser oxidado, forma radicales hidroquinona estables que no perturban la química celular y que posteriormente son regenerados a vitamina E mediante la aceptación de un electrón proveniente de agentes reductores como la vitamina C (González, *et al.*, 2008; Márquez, *et al.*, 2002; Benítez, 2006).

El promedio del porcentaje de absorción de la vitamina E consumido en la dieta (0,4-1 mg) es entre 50 y 70%. Sin embargo la eficiencia de la absorción, puede disminuir cuando se consumen mayores cantidades de tocoferol. Un incremento de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta interfiere con la digestión y absorción de la vitamina E (Márquez, *et al.*, 2002; Benítez, 2006).

Más allá de su función antioxidante, la vitamina E también ha sido involucrada en la regulación de la síntesis de ADN, la expresión genética, el metabolismo mitocondrial y en la proliferación y diferenciación celular. Asimismo se ha relacionado con la regulación de la agregabilidad plaquetaria inhibiendo la actividad de fosfolipasa A2 y la ciclooxigenasa plaquetaria, lo cual tiene implicaciones importantes en la prevención de enfermedad vascular periférica. La vitamina E puede también afectar el sistema inmunológico mediante la modulación del metabolismo de prostaglandinas y leucotrienos (Márquez, *et al.*, 2002).

2.7 LA LECHE DE PASTOREO COMO UN ALIMENTO FUNCIONAL

Como ha dicho Silveira, *et al.* (2003). un alimento funcional está encaminado a modificar aspectos genéticos y fisiológicos así como a la prevención o tratamiento de enfermedades, más allá de la mera cobertura de las necesidades de nutrientes. Bajo la perspectiva de la Unión Europea, pueden ser tanto alimentos naturales como procesados industrialmente. Los alimentos funcionales ejercen su actividad en múltiples sistemas, se comportan como potenciadores del desarrollo y la diferenciación, moduladores del metabolismo de nutrientes, la expresión génica, el estrés oxidativo y la esfera psíquica

Son muchas las razones por las que es valioso poner a disposición del consumidor alimentos nutraceuticos como es el caso de la leche y sus productos que posean un grado de protección antioxidante favorable para el organismo, muchas investigaciones se han encaminado a mostrar evidencias de esto, por ejemplo (Valenzuela, *et al.*, 2011) evidenciaron las múltiples bondades del $\omega 3$; en animales con diabetes mellitus, la suplementación dietaria con la familia $\omega 3$ les permitió prevenir el deterioro anatomofuncional en las neuronas y reducir el daño oxidativo y los problemas de aprendizaje (modelo en laberinto de Morris) en ratas con lesión cerebral traumática. En un estudio en ratas con cáncer de colon, demostraron que los ácidos grasos $\omega 3$ bloquean la formación de tumores inducida por fármacos, mediante el aumento de la diferenciación celular y la apoptosis en las primeras etapas de formación del tumor. (Carrero, *et al.*, 2005), ofrecen una perspectiva general sobre los efectos que el consumo de ácidos grasos $\omega 3$ produce en la salud, haciendo especial énfasis en la salud cardiovascular, a través de un estudio nutricional que llevaron a cabo con un alimento funcional de base láctea que contenía ácidos grasos $\omega 3$, ácido oleico y vitaminas.

Ahora se sabe que los ácidos grasos $\omega 3$ producen un efecto de disminución de los niveles de colesterol y triglicéridos (sustancias altamente susceptibles a la oxidación), y a su vez reducen la agregación plaquetaria en las arterias. Esto implica que las plaquetas que circulan en sangre no se adhieren unas con otras,

previniendo así la formación de coágulos y la trombosis (Bustamante, 2005). Otras razones del interés en estos lípidos son su influencia en el punto de fusión de la grasa de la leche y las características organolépticas que estos, junto con otras sustancias, le confieren a la leche y sus productos (Vlaeminck, *et al.*, 2006).

Es por lo anterior que surge el interés creciente en alterar la composición de ácidos grasos de la leche con el objetivo general de mejorar la salud a largo plazo de los consumidores. Dewhurst, *et al.* (2006) demostraron que tanto la cantidad como el tipo de forraje en la dieta son determinantes importantes del metabolismo lipídico ruminal, identificando la posibilidad de aumentar los niveles de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en la leche producida por vacas lecheras en sistemas de alto forraje; por otro lado Kalscheur, *et al.* (1997) demostraron que la alteración de la función ruminal resultante del pH ruminal bajo para las vacas alimentadas con la dieta baja en forraje puede jugar un papel en el aumento de la producción de ácidos grasos *trans* en la leche como resultado de una biohidrogenación incompleta de ácidos grasos poliinsaturados de la dieta en el rumen.

La calidad de la grasa de la dieta depende de la composición de los lípidos además de un equilibrio entre los distintos ácidos poliinsaturados, ya que se ha descrito que compiten entre sí como precursores en el metabolismo de los eicosanoides por lo que lo importante es buscar una proporción, o mejor expresado, lograr un adecuado equilibrio (Bustamante, 2005).

Hoy día se sabe que los productos animales provenientes de sistemas extensivos sobre praderas cuentan con un mayor contenido de ácidos grasos ω 3 y una relación más favorable entre los ácidos grasos ω 6 y ω 3 que aquellos que provienen de sistemas intensivos con dietas basadas en concentrados (Bustamante, 2005).

2.8 ÁCIDOS GRASOS

Diversas investigaciones respaldan a los ácidos grasos (que son ácidos orgánicos químicamente lineales saturados e insaturados de más de seis carbonos de largo) (Bustamante, 2005) como componentes importantes de la dieta que constituyen no solo un aporte energético que casi duplica al aporte de los carbohidratos y de las proteínas, también tienen funciones metabólicas específicas. Algunos de ellos se caracterizan por ser esenciales y otros destacan por sus efectos, ya sea benéficos o potencialmente dañinos para la salud humana (Sanhueza, *et al.*, 2002).

La isomería geométrica que presentan los ácidos grasos es importante en términos nutricionales, ya que de ello depende en términos generales su efecto en el organismo. La gran mayoría de los ácidos grasos que se encuentran naturalmente poseen isomería *cis*, sin embargo en nuestra dieta habitual consumimos una pequeña, pero no despreciable porción de ácidos grasos con isomería *trans*. Estos últimos provienen esencialmente de la manipulación tecnológica a que son sometidas las grasas y aceites para adaptarlas a nuestro consumo (como la hidrogenación industrial y la desodorización de los aceites a alto vacío y temperatura). El consumo de ácidos grasos *trans* ha sido fuertemente cuestionado, ya que la evidencia científica indica que estos isómeros son dañinos para la salud, pero esta generalización debe ser cuestionada, ya que algunos de estos isómeros pueden tener efectos positivos en la nutrición y salud humana. Este es el caso de ácido linoleico conjugado (ALC) con isomería *trans*. (Sanhueza, *et al.*, 2002)

Ahora sabemos que los ácidos grasos pueden ser oxidados o almacenados en el tejido adiposo, cuando no es así se incorporan selectivamente en las membranas celulares, allí pueden influir directa o indirectamente en muchas funciones celulares afectando la permeabilidad celular, las actividades de transporte y el comportamiento de enzimas y receptores. Esta última, en vista de la importancia de los receptores en la transducción de señales, representa un importante efecto

biológico de los lípidos que está afectado por la cantidad y los tipos de ácidos grasos (Bustamante, 2005).

los ácidos grasos esenciales para el ser humano son el ácido linoleico ($\omega 6$) y el ácido α -linolénico ($\omega 3$), que se caracterizan porque su primer doble enlace está situado a seis y tres carbonos respectivamente del metilo terminal (Bustamante, 2005; Carrero, *et al.*, 2005). Su esencialidad se debe a que los mamíferos carecen de las enzimas necesarias para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono que se encuentran más allá del carbono 9, y por tanto, deben ser aportados en la dieta (Carrero, *et al.*, 2005; Ronayne, 2000).

(Bustamante, 2005; Carrero, *et al.*, 2005; Ronayne, 2000). La relación en la dieta entre los ácidos $\omega 6$ y $\omega 3$ entonces influye sobre la agregación plaquetaria, el tono de los vasos sanguíneos, las actividades trombogénicas y sobre las funciones antiinflamatorias e inmunoprotectoras (Valenzuela, *et al.*, 2011), lo que hace que la proporción entre los ácidos grasos $\omega 6$ y $\omega 3$ sea muy importante.

Los ácidos grasos $\omega 3$ no necesitan estar en grandes cantidades, pero sí tienen que estar, además, si el consumo de ácido linoleico es grande, sus benéficas repercusiones fisiológicas quedan minimizadas (Bustamante, 2005). En trabajos recientes de investigación, han demostrado que productos lácteos ricos en $\omega 3$ con un balance adecuado de $\omega 6$ menor de 4:1 (provenientes de sistemas de producción ganaderos que se manejan en pastoreo) pueden impactar en forma positiva en la salud de la población (Claps, *et al.*, 2014; Galina, *et al.*, 2015 c; Galina, *et al.*, 2016)

2.9 GRADO DE PROTECCIÓN ANTIOXIDANTE EN LA LECHE

Ya se ha hablado de como la leche constituye uno de los principales alimentos para el ser humano; por ello su calidad debe ser óptima y cumplir con todos los aspectos nutricionales y de inocuidad; la leche y sus derivados, además, pueden

aportar una fuente de antioxidantes naturales para el consumidor, lo cual constituye un efecto benéfico para la prevención de algunos procesos patológicos. (Cruz & Lizarazo, 2016). Estudios realizados por Cuchillo, *et al.* (2010) y Delgadillo, *et al.* (2009) demuestran la presencia de este tipo de compuestos en productos lácteos de cabras y ovejas, convirtiéndolos no solo en alimentos de alta calidad sino también productos funcionales para la salud humana (alimentos nutraceuticos) (Cencic & Chingwaru, 2010).

Se han realizado una serie de investigaciones sobre la calidad nutricional de la leche y su capacidad de ofrecer un grado de protección antioxidante en México, que han permitido certificar las bondades del pastoreo tanto en vacas, como en cabras y recientemente en borregas (Galina, *et al.*, 2015 a), utilizando un método propuesto anteriormente por Pizzoferrato, *et al.* (2007). En el presente trabajo se medirá el efecto del pastoreo en la producción de un metabolito oxidante (colesterol) y uno antioxidante (α tocoferol) que determinará el grado de protección antioxidante mediante la ecuación que presenta dicho autor.

Existen otros métodos por los cuales es posible determinar el Grado de Protección Antioxidante, por ejemplo la determinación del potencial antioxidante total (TRAP) ha sido la técnica más ampliamente usada para determinar actividad antioxidante de un fluido. Este ensayo usa un generador de radicales hidrofílicos y una sustancia que detecta estos radicales, la ficoeritrina. Otro sistema usado para evaluar actividad antioxidante es la determinación de malondialdehído (MDA), como medida del efecto protector de la sustancia probada, el cual usa un generador de radicales lipofílicos que reaccionan con el ácido linoleico (Pineda, *et al.*, 1999). Se usa el reactivo ácido-6hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcormano-2-carboxílico (TROLOX).

Si bien diferentes métodos se han desarrollado para determinar la capacidad antioxidante de fluidos, son todos métodos de inhibición, donde se usa una especie generadora de radicales libres y una sustancia que detecta estas especies. La actividad antioxidante de la muestra añadida inhibe la generación de estos radicales (Pineda, *et al.*, 1999; De Jong & Badings, 1990). El índice

calculado mediante la ecuación propuesta por Pizoferrato, supone una alternativa accesible que puede ser utilizada para evaluar la protección antioxidante de productos lácteos donde solo el α tocoferol es seleccionado como el antioxidante debido a los bajos niveles de β caroteno en leche de algunos rumiantes, y el colesterol (masa molar 386,65 g / mol) es el objetivo de oxidación seleccionado dado el bajo contenido de ácidos grasos insaturados oxidables en la grasa de la leche (Cannas, *et al.*, 2005); este método permite así usar como comparación el grado de protección antioxidante (DAP por sus siglas en inglés), que es más importante que el nivel *per se* de colesterol en el producto, entre los productos lácteos que se ofrecen al consumidor.

3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis:

El grado de protección antioxidante está directamente relacionado con el sistema de producción, siendo mayor en animales alimentados en pastoreo.

Objetivo:

- I. Cuantificar en diferentes unidades silvopastoriles, mediante la medición de colesterol como un metabolito de alta oxidación y α tocoferol como antioxidante, el grado de protección antioxidante (DAP, por sus siglas en inglés).

4 METODOLOGÍA

El trabajo de investigación se llevó a cabo en unidades de producción ubicadas en diversas locaciones en el estado de Tabasco, el 95.5% de la superficie de este estado presenta clima cálido húmedo, el restante 4.5% es clima cálido subhúmedo hacia la parte este del estado. La temperatura media anual en la entidad es de 27°C, la temperatura máxima promedio es de 36°C y se presenta en el mes de mayo, la temperatura mínima promedio es de 18.5°C durante el mes de enero. La precipitación media estatal es de 2 550 mm anuales, las lluvias se presentan todo el año, siendo más abundantes en los meses de junio a octubre (INEGI, s.f.).

Con ganado bovino de diversas explotaciones con ganado Cebú, Criollo o sus cruza con Suizo, Jersey, Holstein y/o Simental principalmente, se formaron tres grupos con diez representantes cada uno; el primero bajo condiciones de pastoreo únicamente, el segundo agrupaba aquellas unidades bajo pastoreo pero donde los animales recibían algún tipo de suplemento como parte importante de la dieta y el tercero y último formado por aquellas explotaciones donde los animales de encontraban mayoritariamente estabulados y con alimentos concentrados formando la mayor parte de la dieta. Los pastos y suplementos eran variados, algunos de los forrajes más abundantes en la región son los pastos estrella

(*Cynodon plectostachyus*), humidicola (*Brachiaria humidicola*), insurgente (*Brachiaria brizantha*), guinea (*Panicum máximum*) y jaragua (*Hyparrhenia rufa*), entre otros; en promedio estos recursos forrajeros se constituyen de 11.68% (\pm 3.01) de proteína cruda (PC), 64.58% (\pm 7.71) de fibra detergente neutro (FDN) y aportan 1.85 (\pm 0.72) Mcal/kg de energía metabolizable (EM).

Los principales suplementos utilizados son granos de maíz (*Zea mays*), soya (*Glycine max*), pulidura de arroz (*Oryza sativa*), salvado de trigo (*Triticum aestivum*) y harina de pescado; utilizados en proporciones de 20%, 10%, 30%, 30% y 10% respectivamente para cada ingrediente. La ración de concentrado con un promedio de 20.49% de PC, 10.48% de extracto etéreo (EE) y 36.35% de fibra cruda (FC), además de sales minerales y fósforo; fue proporcionada a razón de 2kg por animal en el caso de pastoreo suplementado y en un 50%-60% de la ración de los animales estabulados (Maya, *et al.*, 2001; Orozco, *et al.*, 2012; Rodríguez, *et al.*, 2010; Duane, *et al.*, 2003).

En todas las unidades se midió el grado de protección antioxidante. De cada unidad se tomaron muestras de leche una vez para cada uno de los meses de Junio, Julio y Agosto (temporada de lluvias) para determinar los compuestos volátiles orgánicos, particularmente el contenido de α tocoferol y el colesterol, mediante de cromatografía de gases (Galina, *et al.*, 2015 b).

Se obtuvieron muestras de leche de vacas, 100g aproximadamente por cada unidad muestreada, las cuales fueron inmediatamente congeladas a -17°C hasta su análisis en el laboratorio. Cada muestra se analizó por triplicado .

El análisis de α tocoferol se realizó mediante cromatografía de gases en un equipo Varian modelo 3800 equipado con un muestreado automático (CP 8410) con un detector FID. Los picos FAME fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de una mezcla conocida de estándares de ácidos grasos (Laboratorios Sigma-Aldrich).

Los resultados fueron analizados por el modelo de ANDEVA bajo un arreglo totalmente aleatorizado para posteriormente realizar una prueba estadística por el método de Tukey..

Cálculo del grado de protección antioxidante (DAP):

El DAP fue calculado como la relación molar entre los compuestos antioxidantes y un objetivo de oxidación seleccionado mediante la ecuación:

$$DAP = \frac{\sum_{i=1}^n AC_i(n^{\circ}moles)}{OT(n^{\circ}moles)}$$

Donde:

AC es el compuesto antioxidante (α tocoferol),

OT el objetivo de oxidación (colesterol), e
i es el número de componentes

Para facilitar la lectura y comparación entre muestras el número indicador de DAP fue expresado de una forma exponencial ($\times 10^3$) tal como fue descrita por Pizzoferrato, *et al.* (2007).

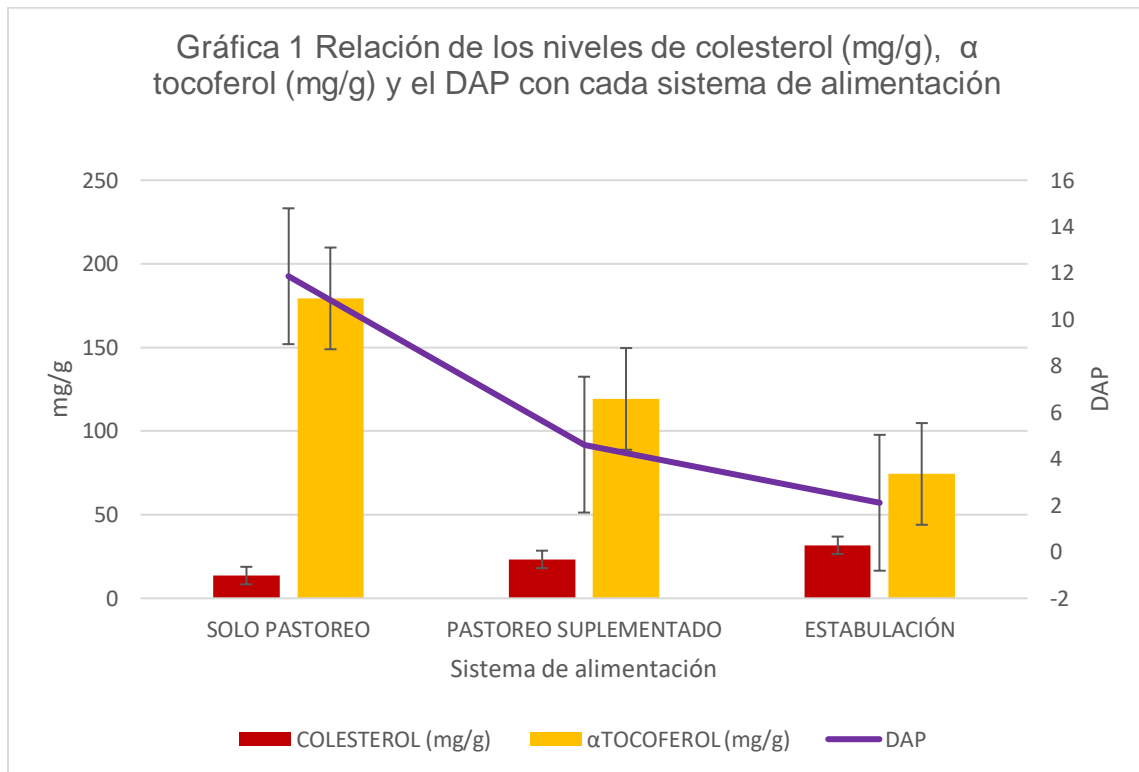
5 RESULTADOS

En la *tabla 1* se presentan los valores promedio de los datos resultantes para para el colesterol y α tocoferol expresados en mg/g y mg/g respectivamente, así como el Grado de Protección Antioxidante (DAP) calculado para los meses de Junio, Julio y Agosto en cada uno de los grupos a comparar.

	COLESTEROL (mg/g)	α TOCOFEROL (mg/g)	DAP
SOLO PASTOREO			
Junio	13.969	175.777	11.30
Julio	13.657	177.01	11.64
Agosto	13.126	185.237	12.67
PASTOREO SUPLEMENTADO			
Junio	22.193	111.177	4.50
Julio	23.107	141.03	5.48
Agosto	24.473	105.503	3.87
ESTABULACIÓN			
Junio	34.57	77.83	2.02
Julio	30.597	74.23	2.18
Agosto	29.847	71.037	2.14

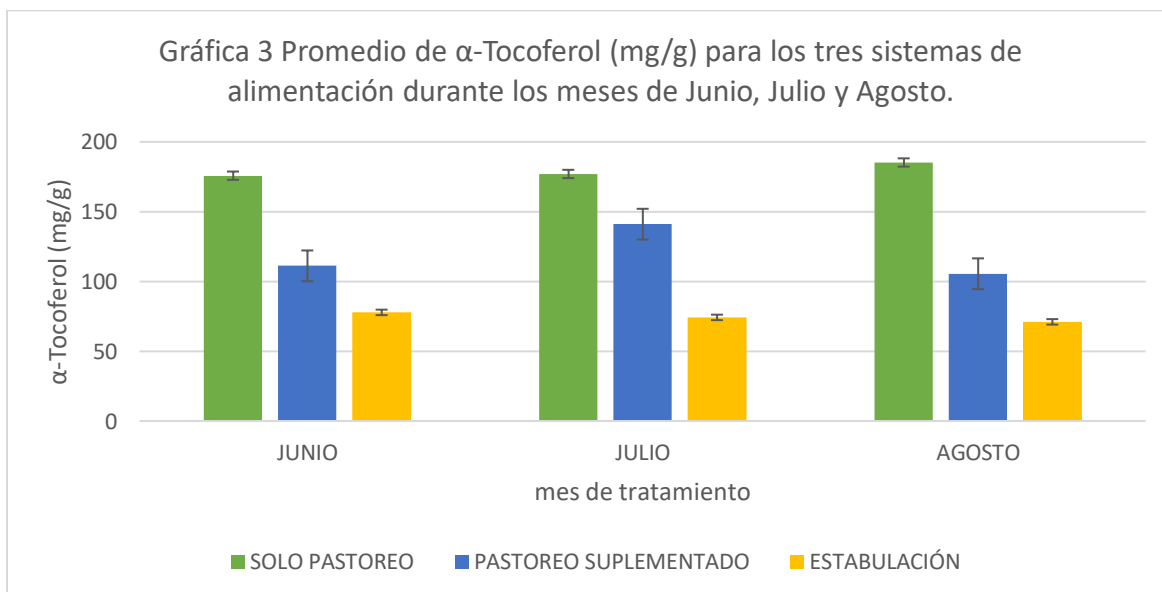
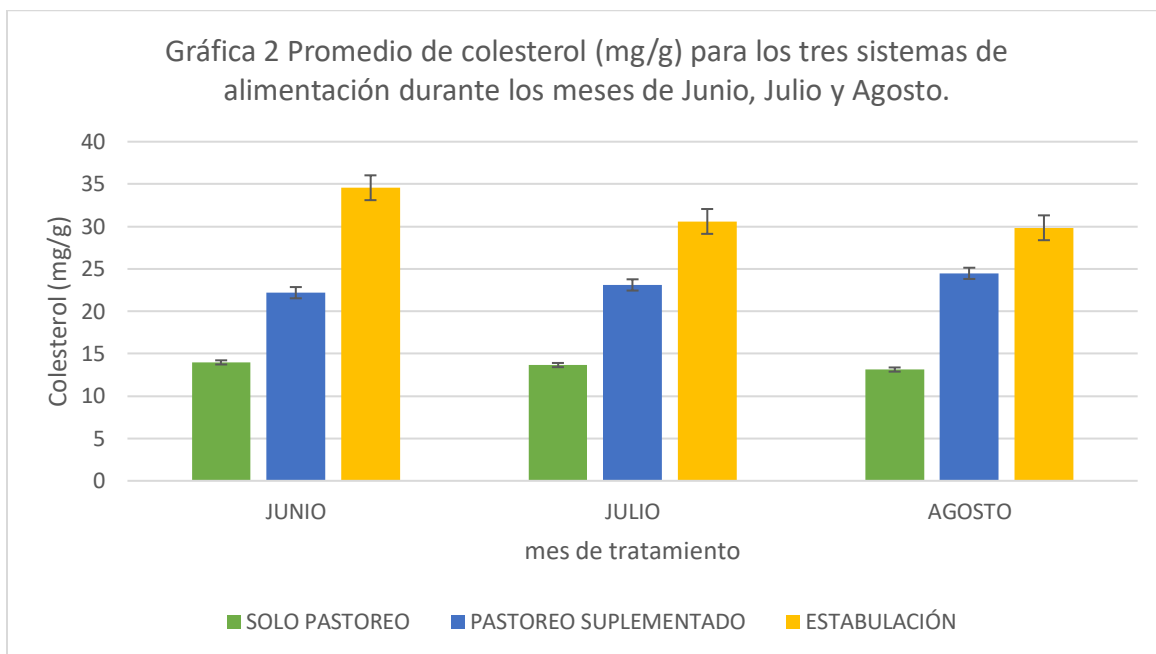
Tabla 1 Promedios (n=10) de colesterol (mg/g) y α tocoferol (mg/g) y Grado de Protección Antioxidante para cada tratamiento durante los meses de Junio, Julio y Agosto.

En la gráfica 1 se presentan en barras los resultados promedio para los tres meses en cuanto a concentraciones de colesterol y α tocoferol y el DAP* en forma lineal; denotando el aumento de este último a medida que la sustancia antioxidante aumenta sus niveles (α tocoferol) y los de la sustancia susceptible a oxidarse (colesterol) disminuyen a medida que incrementa el porcentaje que el pastoreo toma parte en la dieta y viceversa.

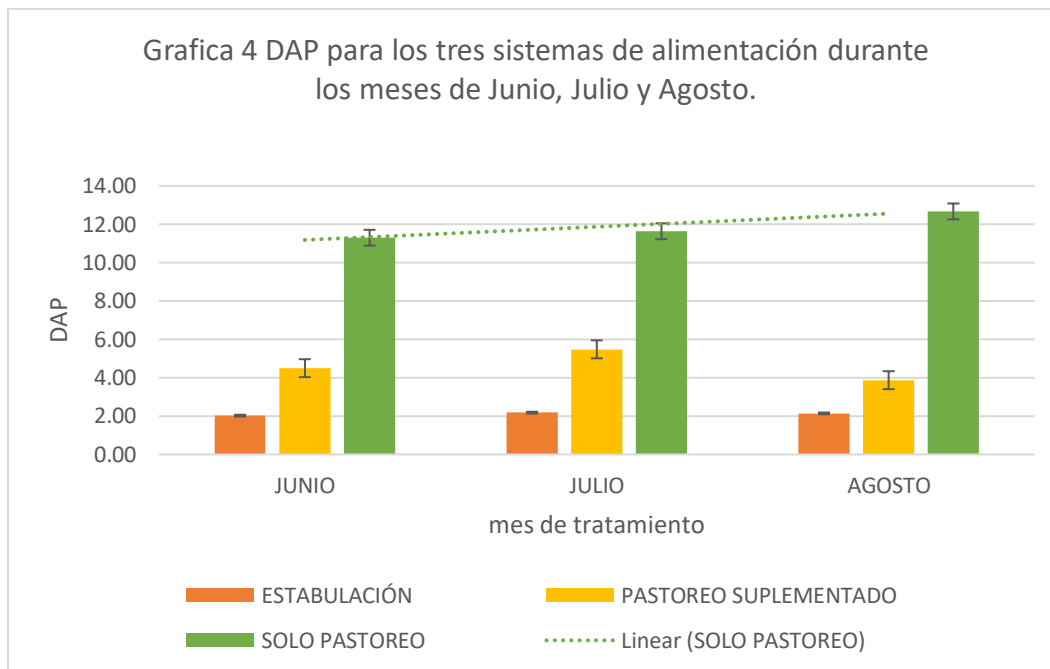


*La diferencia entre los tratamientos es igual o mayor que la diferencia honestamente significativa calculada con un nivel de confianza de 0.05, indicando que las diferencias entre tratamientos es significativa.

En las gráficas 2 y 3 se pueden apreciar, los promedios correspondientes a los niveles de colesterol y α tocoferol respectivamente ($p < 0.05$), a través de los meses, observándose que los valores para el caso de animales en estabulación se muestran con menores variaciones debidas a los cambios en el tiempo en comparación a los medidos en animales con pastoreo parcial o total.



A continuación, en la gráfica 4, se muestra el DAP calculado de cada mes en el que el estudio tuvo lugar para cada uno de los sistemas de alimentación ($p < 0.05$), se pueden observar variaciones en el Grado de Protección Antioxidante al transcurrir los meses en los casos donde el pastoreo toma parte importante de la dieta, caso diferente para los sistemas en estabulación donde el DAP se observa más consistente pero siempre en niveles inferiores en comparación con los sistemas de pastoreo, sugiriendo que el DAP depende fundamentalmente de los pastos en la dieta y la calidad de estos de las condiciones medioambientales .



6 DISCUSIÓN

En los alimentos se encuentran una gran variedad de sustancias que pueden actuar en sinergismo en la protección de las células y tejidos (Pires & Gregg, 1999), como es el caso del α tocoferol y ácidos grasos insaturados por mencionar algunos de los más importantes para el caso de la leche en este estudio; sin lugar a dudas la tendencia en la medicina ha sido crear medicamentos a partir del conocimiento y estudio de este tipo de sustancias, sin embargo la razón de ser de este estudio es la de defender el planteamiento de la sencilla premisa de poner a disposición de los consumidores un alimento funcional, termino del que se habló según Silveira con anterioridad pero se puede remontar mucho tiempo atrás a las palabras de Hipócrates, padre de la medicina, quien dijo... "Que la comida sea tu alimento y el alimento tu medicina."

Varios estudios han demostrado la relación entre la dieta animal y la calidad del queso. Se sabe que el forraje fresco afecta significativamente el contenido de vitaminas solubles antioxidantes del queso. Los niveles más altos de α -tocoferol se encuentran en el queso en respuesta a la ingesta de pasto fresco (La Terra, *et al.*, 2010; Marino, *et al.*, 2012) En este contexto, (Pizzoferrato, *et al.*, 2007) introdujeron el nuevo parámetro Grado de Protección Antioxidante (DAP), con el fin de discriminar los quesos de pastoreo de los de estabulación. Además, los quesos de animales alimentados con pastos muestran un perfil de aroma más complejo que los de los de establos (Rapisarda, *et al.*, 2013).

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en el (Pineda, *et al.*, 1999). Con base a lo anterior se podría pensar que entre mayor la cantidad de antioxidantes, el alimento es mejor para el consumidor, ¿Pero, en qué punto se puede decir que un producto tiene un Grado de Protección Antioxidante conveniente para quien lo consume? De acuerdo con Pizzoferrato *et al.* (2007), cuando los valores de DAP son mayores o iguales a 7.0, la alimentación a partir

del pasto es predominante en la dieta animal y se trata de leche que además de representar un excelente DAP, prometiendo comportarse como un alimento funcional o nutraceutico, posee componentes aromáticos más ricos y complejos que además aportan sabor al lácteo y los subproductos que de él se elaboren.

En resultados recientes de Carpino, *et al.*, (2017), quienes midieron el DAP de quesos en Italia, se obtuvieron datos con promedio 9.5 en el grupo sometido a libre pastoreo, mientras que en este estudio para el grupo con este tratamiento fue de 13.25, es decir, 39.5% mayor en las regiones del trópico mexicano durante los meses de Junio, Julio y Agosto. Por otra parte Carpino *et al.* (2017) obtuvieron valores de 5.1 en promedio para los quesos provenientes de estabulación mientras que el presente estudio arrojó el valor de 2.35 (54% menor) para animales en estabulación y de 5.12 para animales en pastoreo suplementado. Pizzoferrato en su estudio de 2007 sugiere que probablemente el consumo de pasto *per se* no es el factor determinante del DAP; el pastoreo permite a los rumiantes seleccionar las hierbas que van a ingerir, esta capacidad selección juega un papel fundamental mejorando el bienestar animal y la composición de la leche, debido a esto es posible suponer que los datos menores obtenidos para los grupos en estabulación y suplementados en comparación con los de Carpino *et al.* (2017) Pudieran deberse en gran parte a las características de la estabulación y a la naturaleza, calidad y variedad de los suplementos utilizados, siendo estos, factores que afectan de manera directa la capacidad de elegir los alimentos y el bienestar animal de los que habla Pizzoferrato.

De acuerdo con Pizzoferrato *et al.* (2007), a pesar de las muestras de quesos procedentes de animales alimentados con heno y concentrado sin pastos frescos, los valores de DAP fueron en promedio superiores a los de otras muestras de estabulación (6,5 frente a 4,3, respectivamente), sugiriendo un heno de alta calidad y un buen manejo agrícola, lo que también nos dice que algo diferente sucede en el campo mexicano ya que como se mencionó previamente el cultivo nacional se transforma en monocultivo, principalmente de alfalfa, en detrimento de las praderas y la biodiversidad florística, cuando, como dijo Rubino (2014)

Como se mencionó anteriormente y como Pizoferrato sugirió, es probable que en cualquier sistema de alimentación donde figure el pastoreo, el aumento en el DAP dependa no del hecho de pastorear, sino de la variedad y disponibilidad de forrajes; la capacidad de selección que tiene el semoviente en cuestión. Así como de las condiciones ambientales en general.

El mantenimiento de la biodiversidad en los forrajes permite la composición de una mejor leche donde la calidad es aroma, sabor y valores nutricionales, que no tienen nada que ver con la grasa y proteína o la relación es tan pequeña que se puede pasar por alto; y la carga de bacterias y de células somáticas, que son parámetros de higiene que, incluso en este caso, no tienen ningún impacto en la calidad. De hecho, hoy el mundo del queso tiene muchos problemas de coagulación debido a que la carga bacteriana es muy baja, la leche está prácticamente “muerta”.

Maxin, *et al.*, (2017) mostraron que la composición nutritiva y los contenidos de carotenoides y tocoferol era diferente entre diferentes especies de plantas y sus etapas de crecimiento, las diferencias entre las especies son más importantes en la etapa de floración que en la etapa vegetativa y junto con Borreani & Tabacco, (2017) sugieren que contribuir a mantener y aumentar el valor de la biodiversidad ambiental de las granjas es de gran valor natural y además una amplia variedad de plantas con diferentes composiciones nutritivas permiten a cada animal estructurar una dieta de acuerdo a sus propias necesidades, teniendo un efecto positivo sobre la leche y más adelante en sus subproductos enriqueciendo el aroma, sabor y características nutricionales de la leche.

En términos generales los forrajes frescos tienen una concentración elevada de α -tocoferol, que disminuye con el secado del forraje, por lo que se puede pensar que por esta razón el DAP es más alto en sistemas donde gracias al pastoreo, la ingesta de este tipo de alimentos es mayor (Molino, *et al.*, 2011) por otra parte, por ejemplo el grano de maíz, utilizado como suplemento en la estabulación contiene dos vitaminas liposolubles, la provitamina A, o carotenoide, y la vitamina E; ambos antioxidantes que superan en cantidad al colesterol. Para determinar la relación entre el contenido de antioxidantes y de colesterol de cada alimento y el que

contienen los productos del animal que los consume, sería útil hacer un estudio en donde se mida esta relación y así sea más concreta la determinación de en qué medida contribuyen los componentes alimenticios a un mayor DAP y en cual lo hacen los componentes ambientales de cada sistema de alimentación en general.

Como se dijo al comienzo de este apartado, Pizzoferrato *et al.* introdujeron el parámetro DAP, con el fin de discriminar los quesos de pastoreo de los de estabulación, lo que le confiere gran importancia en términos de trazabilidad ya que como indicador, un producto lácteo con un DAP de 7.0 o más indica que proviene de un hato que goza de un grado de bienestar animal superior, es un alimento de calidad de pastoreo con todas las repercusiones en aroma y sabor que esto implica, además de que es más rico en antioxidantes, entre otras sustancias, que son agentes importantes en la prevención de algunas condiciones y enfermedades crónicas (Márquez, *et al.*, 2002).

Sin embargo (Pineda, *et al.*, 1999) muestran en sus resultados que diversos alimentos que a pesar de tener grandes cantidades de sustancias que de manera individual son reconocidas por su actividad antioxidante, al probar el grado de protección antioxidante del alimento completo en cuestión resulta no ser tan efectivo cuando de protección se habla, por lo que, aunque la ecuación de Pizzoferrato ofrece un parámetro sumamente práctico para identificar alimentos ricos en antioxidantes que deben tener un Grado de Protección Antioxidante real importante sobre el organismo de quien lo consume, sería valioso averiguar en investigaciones posteriores cuales son los beneficios *in vivo* en quienes consumen estos alimentos en específico. El Grado de Protección Antioxidante de un alimento completo puede ser diferente porque los compuestos que contiene son efectivos contra algunas especies reactivas y no tanto con otras (las utilizadas para el ensayo) pero sin lugar a dudas es más placentero disfrutar un alimento que garantiza contener las vitaminas antioxidantes que benefician nuestra salud que tomar una cápsula de la vitamina en cuestión.

7 CONCLUSIONES

La obtención del DAP según la fórmula propuesta por Pizoferrato demuestra ser una herramienta útil y práctica para estimar la relación entre los compuestos antioxidantes y aquellos susceptibles a oxidarse, dando de esta forma un valor de referencia que nos puede sugerir el valor de un alimento, como es en este caso la leche, con respecto a su capacidad antioxidante y los beneficios que este puede representar para la salud del consumidor. Además, dadas las diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, el DAP calculado también puede indicar el posible sistema de producción del que proviene un alimento de origen animal.

A través de cuantificar en diferentes unidades la calidad de la leche de pastoreo por medio del DAP, para cumplir con los requisitos de ser un alimento funcional se puede concluir que la leche proveniente de aquellos animales en pastoreo cuentan con una calidad superior que aquellos en estabulación, además el DAP está relacionado no solo con la ingesta de pasto, depende de la variedad de estos, la capacidad del animal de elegir las plantas que van a formar su dieta y en consecuencia del bienestar del que el animal goza; así mismo los cambios en los forrajes en función de las variaciones ambientales a lo largo del tiempo parecen impactar también en la composición del producto final.

Publicaciones de esta naturaleza representan una herramienta que de manera directa los productores pueden utilizar para modificar las condiciones de su empresa, con base a esta información, un pequeño productor puede poco a poco desprenderse del modelo productivo que lo ata, ofreciendo productos con un valor agregado por lo que un sector creciente de consumidores preocupados por su salud están dispuestos a pagar un precio justo. Sin lugar a dudas esto permitiría integrar al sector ganadero en un proyecto de rentabilidad económica que le permita incrementar el bienestar social y económico del sector, ofertando a la población un producto benéfico para la salud humana que se identifique como

“producto pecuario, calidad pastoreo” con en beneficio agregado de la biodiversidad en las praderas y explotaciones más sustentables.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* (Concepción) ISSN 0718-0462, II(494), 161-172.
- Benítez, D. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, II(25), versión On-line ISSN 1561-3011.
- Borreani, G., & Tabacco, E. (20-22 de Junio de 2017). Mountain forage system management and dairy product quality. (D. o. University of Turin, Ed.) 12th International Meeting on Mountain cheese, 55-58.
- Bustamante, C. (2005). comparacion del perfil de acidos grasos, contenido de grasa y proteina de la carne de bufalo respecto a la carne de vacuno. . Bogota D.C.: UNIVERSIDAD DE LA SALLE FACULTAD DE ZOOTECNIA .
- CANILEC. (2014). Estadísticas de Producción e Importación de Leche en México. . México.: Cámara Nacional de la Industria de Leche.
- Cannas, A., Pulina, G., & Dias, A. (2005). L'alimentazione delle capre da latte. Bologna, Italy: Avenue Media.
- Carpino, S., Marino, V., Rapisarda, T., & Rubino, R. (2017). Preliminary study for a new approach to decide the qualitative level of the cheese controlling the animal diet. Pardo, Italy.
- Carrero, J., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J. J., & López-Huertas, E. (Enero-Febrero de 2005). (S. A. Puleva Biotech, Ed.) *Nutrición Hospitalaria*. versión On-line ISSN 1699-5198 versión impresa ISSN 0212-1611, I(20).
- Cencic, A., & Chingwaru, W. (2010). The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*; US National Library of Medicine, 611–625.
- Céspedes, E., Hernández, I., & Llópez, N. (Jul-Dic de 1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* versión On-line ISSN 1561-3011, 15(2).
- Claps, S., Galina, M., Rubino, R., Pizzillo, M., Monroe G., Di Napoli, M., . . . Pineda, L. (2014). Effect of grazing into the omega 3 and aromatic profile of bovine cheese. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research*(2), 1-6.
- Cruz, A. (2017). Análisis de componentes omega 3 y omega 6 en la leche proveniente de explotaciones tropicales usando el método estadístico multivariado. México: UNAM.
- Cruz, A., & Lizarazo, C. S. (2016). Efectos de la inclusión de dietas ricas en flavonoides en la calidad de la leche bovina. *Rev. Med. Vet.* no.31 Bogotá Jan./June, 137-150 ISSN 0122-9354.
- Cuchillo, H. M., Delgado, C., Navarro, A., & Pérez-Gil, F. (2010). Antioxidant activity, bioactive polyphenols in Mexican goats' milk cheeses on summer grazing. *Journal of dairy research*, 20-26.

Cuchillo, H., Puga, D., Galina, M., & Pérez-Gil, R. (2009). Influence of semiarid summer browsing on chemical composition in Goat's milk cheeses. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11, 25-28.

Da Silva, M. (2007). *Avaliação da atividade antioxidante e antimutagênica do chá-verde [Camellia sinensis (L) var. assamica] (1a ed.)*. Canoas, Brasil: UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL, programa de pós-graduação em genética e toxicologia aplicada.

De Jong, C., & Badings, H. (1990). Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cheese, procedures for extraction, clean up and capillary gas chromatographic analysis. *Journal of High resolution Chromatography*, 94-99.

Delgadillo P., C., & Cuchillo H., M. (2015). Compuestos bioactivos en productos lácteos con capacidad antiinflamatoria y antioxidante. En *El modelo de "Latte Nobile" otra vía de producción de leche* (págs. 109-125). México: PUERTABIERTA EDITORES.

Delgadillo, C., Galina, M. A., Cuchillo, H. M., Bonilla, C. A., Montañó, B. S., Castillo, D. R., . . . Pérez-Gil, R. F. (2009). Effect of feeding management on the nutritional composition of Mexican artisan soft cheese made with raw or pasteurized goats' milk. *Indian Journal of Animal Sciences* 79 (3): march, 321–326.

Dewhurst, J., Shingfield, J., Lee, F., & Scollan, N. (2006). Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*(131), 168-206.

Duane, E., Allen, M., Ausman, L., Conklin-Brittain, N., Edwards, M., Erwin, J., . . . Rudel, L. (2003). *Nutrient Requirements of Nonhuman Primates: Second Revised Edition Chapter: 12 Composition of Foods and Feed Ingredients*. Recuperado el 25 de Septiembre de 2018, de <https://www.nap.edu/read/9826/chapter/14#>

ENSANUT. (2016). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino Informe de resultados*. México: Instituto Nacional de Salud Pública. .

Galina, M., & Pineda, J. (2017). El modelo de "Latte Nobile" en México, alternativa a los sistemas intensivos de producción de leche. En G. M. A. (Ed.), *El modelo de "Latte Nobile", otra vía de producción de leche; Pastoreo, antioxidantes una medida preventiva* (págs. 33-50). Colima, México: PUERTABIERTA editores.

Galina, M. (2014). El modelo de "Latte Nobile" una vía alternativa para la producción de leche de calidad en México. . En I. 978-88-901965-7-7 (Ed.), *En "El modelo latte Nobile. Un'altra via e possibile*. (págs. 71-86.). Casesus.

Galina, M. A., Cuellar, A., Galina, C., Romero, J. J., Rubino, R., Delgadillo, C., . . . Vázquez, P. (2015 a). El modelo de LATTE NOBILE, otra vía de producción de leche, otra vía de producción de leche. Omega 3, leche de pastoreo y manejo integral del sistema. Colima, México: PUERTABIERTA editores.

Galina, M. A., Elías, A., Vázquez, P., Pineda, J., López, B., & Velázquez, M. (2016). Efecto de la utilización de los promotores de la fermentación, con probióticos o sin ellos en el perfil de ácidos

grasos, aminoácidos y colesterol de la leche de vacas en pastoreo. Cuban J of Agric. Sci.(50), 105-120.

Galina, M. A., Ortíz-Rubio, M. A., Guerrero, C., Vazquez, P., & Pineda, L. (2015 c). Effect of feeding management on the nutritional composition of artisan soft cheese made with ewe's milk. Journal of Nutritional Ecology and Food Research(3), 1-7.

Galina, M., Elías, A., Vázquez, P., Pineda, J., & López, B. (2015 b). Efecto del uso de los promotores de la fermentación con o sin el uso de probióticos en el perfil de ácidos grasos, aminoácidos y colesterol de la leche de vaca de pastoreo, revisión y resultados. V Congreso Internacional de Producción Animal Tropical. III Simposio Focal, (págs. PB-25 1120 - 1135 ISBN 978-959-7171-70-6). La Habana Cuba.

Galina, M., Elías, A., Vázquez, P., Pineda, J., & López, B. (2016). Efecto del uso de los promotores de la fermentación con o sin el uso de probióticos en el perfil de ácidos grasos, aminoácidos y colesterol de la leche de vaca de pastoreo, revisión y resultados. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencia Animal Cuba, CICATA Instituto Politecnico Nacional México, FMVZ Universidad de Colima.

Galina, M., Guerrero, M., Pineda, J., Ortíz, M., & Osnaya, F. (2012). En Efecto de la biohidrogenación ruminal de probióticos lácticos en la calidad de la leche. XXXVI (págs. Memorias: 753-761.). Mérida, Yucatán, México.: Congreso Nacional de Buiatría.

Galina, M., Osnaya, F., Cuchillo, H., & Haenlein, G. (2007). Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats Small Rum Res. ;(71:264-272).

Galina, M., Pineda, J., Guerrero, M., & Ortíz, M. (2013). En Efecto del pastoreo sobre la calidad del queso de oveja. La Habana, Cuba: F-038 2682-2690.: Memorias XXIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal.

González, Ó., Moy, N., & Guzmán, J. (2008). El alfa-tocoferol y el ácido alfa-lipoico. Una sinergia antioxidante con potencial en medicina preventiva. Artículo de revisión. Revista de Investigación Clínica, I(60), 58-67.

INEGI. (s.f.). Información por entidad. Recuperado el 14 de Marzo de 2018, de <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/tab/territorio/clima.aspx?tema=me&e=27>

Kalscheur, K., Teter, B., Piperova, L., & Erdman, R. (1997). Effect of Dietary Forage Concentration and Buffer Addition on Duodenal Flow of Trans-C18:1 Fatty Acids and Milk Fat Production in Dairy Cows. Journal of Dairy Science, IX(80), 2104-2114.

La Terra, S., Marino, V., Manenti, M., Licitra, G., & Carpino, S. (2010). Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mix ration. Dairy Sci Technol(90), 687-698.

Latte Nobile. (2018). Associazione Latte Nobile. Recuperado el 23 de Septiembre de 2018, de <http://www.lattenobile.it/>

- Marino, V., Schadt, I., La Terra, S., Mannenti, M., Caccamo, M., Lietra, , & Carpino, S. (2012). Influence of season and pasture feeding on the content of α -tocopherol and β -carotene in milk from Holstein Brown Swiss and Modician cows in Sicily. *Dairy Sci. and Technol.*(92), 501-513.
- Márquez, M., Yépez, C., Sutil-Naranjo, R., & Rincón, M. (2002). Aspectos básicos y determinación de las vitaminas antioxidantes E y A. *Invest Clin*, III(43), 191-204.
- Maxin, G., Le Morvan, A., Laverroux, S., & Graulet, B. (20-22 de Junio de 2017). Nutritive composition, carotenoid, tocopherol and tannin contents of cover crops used as forage plants for ruminants. (U. L.-6. Clermont Université, Ed.) 12th International Meeting on Mountain cheese, 59-60.
- Maya, E., Durán, C., & Ararat, J. (2001). Valor nutritivo del pasto estrella solo y en asociación con leucaena a diferentes edades de corte durante el año. Colombia: Acta agronómica, Universidad Nacional de Colombia .
- Menezes, F., Gennari de Medeiros, M., & Augusto, O. (Marzo-Abril de 2007). Antioxidantes dietéticos: controversias e perspectivas. *Química Nova*, II(30), Print version ISSN 0100-4042 On-line version ISSN 1678-7064.
- Molino, M., Gil, C., Estopañán, G., Álvarez-Rodríguez, J., & Blanco, M. (2011). Influencia de la alimentación y de la lactancia sobre el contenido de vitamina E y ácidos grasos de la carne de corderos ligeros. *Jornadas sobre Producción Animal*(Tomo II), 652-654.
- Moura R., M., Elesbão A., R., Sousa de Brito, E., de Moraes, S., Goes S., C., Pérez J., J., & Saura C., F. (Junio de 2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre HPPD (ISSN 1679-6535 ed.). Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- OMS. (2016). Obesidad y sobrepeso Nota descriptiva N°311 Junio. Organización Mundial de la Salud.
- Orozco, A., Maza, L., Pineda, A., & Hernández, J. (2012). Aspectos fisiológicos y bromatológicos de *Brachiaria humidicola*. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* On-line version ISSN 1900-9607, vol.7 no.1 Medellín Jan./June.
- Pineda, D., Salucci, M., Lázaro, R., Maiani, G., & Ferro-Luzzi, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana sobre Alimentación y Nutrición*, II(13), 104-111.
- Pires, M., & Greggi, L. (Mayo-Agosto de 1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr.*, Campinas,, II(12), 123-130.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* Volume 97, 5 June , 55-74.
- Pizzoferrato, M. P., Marconi, F., Fedele, V., Claps, S., & Rubino, R. (2007). Degree of antioxidant protection: a parameter to trace the origin and quality of goat's milk and cheese. *J Dairy Sci.*, Oct;90(10):4569-74.

Puga, D., Cuchillo, H., & Pérez-Gíl, R. (June 7-10. de 2011). Performances and nutritive value of creole goat kids meat reader under low input system. Proceedings of the Scientific Association of Animal Production (ASPA) 19th Congress. Italian Journal of Animal Science, 10(ISSN: 1594-4077), 31.

Puga, D., Sanchez, M., Nahed. J., Cuchillo, H., Diaz, M., Solis, Z., . . . Castillo, R. (2014). Fatty acid content, health and risk indices, physicochemical composition and somatic cell counts of milk from organic and conventional farming systems in tropical southeastern Mexico. Tropical Animal Health and Production.(ISSN: 0049-4747 DOI 10.1007/s11250-014-0581-x 46:883-888. 46 (5): 883-888.).

Rapisarda, T., Catia., Belvedere, G., Schadt, I., La Terra, F., Licitra, G., & Carpino, S. (2013). Variability of volatile profiles in milk from the PDO Ragusano cheese production zone. J Dairy Sci. and Technol(93), 117-134.

Rodríguez, M., González, A., Silva, L., & Gómez, C. (2010). Composición química de recursos forrajeros para la alimentación de ovinos en Colima. México: INIFAP.

Ronayne, P. (2000). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante. Arch.argent.pediatr, 4(98), 231-238.

Rubino, R. (2014). En El modello Latte Nobile. Un'altra via è possibile (págs. 7-35). Italia: ANFOSC.

Sanhueza, J., Nieto, S., & Valenzuela, A. (2002). Ácido linoleico conjugado: un ácido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. Revista chilena de nutrición versión On-line ISSN 0717-7518, II(29).

Silveira, M., Moreno, S., & Molina, B. (2003). ALIMENTOS FUNCIONALES Y NUTRICIÓN ÓPTIMA. ¿CERCA O LEJOS? Revista Española de Salud Pública versión On-line ISSN 2173-9110versión impresa ISSN 1135-5727, III(77).

Stephens, N., Parsons, A., Brown, M., Schofield, P., Kelly, F., Cheeseman, K., & Mitchinson, M. (1996). Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). THE LANCET, 347, 781-786.

Valenzuela, R., Tapia, G., González, M., & Valenzuela, A. (2011). ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 (EPA Y DHA) Y SU APLICACIÓN EN DIVERSAS SITUACIONES CLÍNICAS. Revista chilena de nutrición. versión On-line ISSN 0717-7518, III(38).

Venereo, J. (abr.-jun. de 2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar, v.31(n.2). doi:versión On-line ISSN 1561-3046

Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, J., Fonseca, M., & Dewhurst, J. (15 de Diciembre de 2006). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. Animal Feed Science and Technology(131), 389-417.

Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Rev Chil Nutr Vol. 34, Nº1 Marzo, ISSN 0717-7518. Chile

