

✓
T. 3040

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN Y TIPO DE
SUPLEMENTO SOBRE LAS FRACCIONES PROTEICAS
Y LIPÍDICAS DE LA LECHE**

por

Ana Laura VARSÍ PANIZZA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACIÓN Y
BIBLIOTECA

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniera Agrónoma
(Orientación Agrícola-Ganadera)

MONTEVIDEO
URUGUAY
2002

Tesis aprobada por:

Director: Ing. Agr. Jorge Bermúdez

Nombre completo y firma

Dra. Stella Reginensi

Nombre completo y firma

Ing. Agr. Andrés Ganzábal

Nombre completo y firma

Fecha:

Autor: Ana Laura Varsi Panizza

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle las gracias a todos aquellos que dieron de sí para que esto se hiciera posible. A quienes aportaron el material de trabajo, al Laboratorio de Tecnología de los Alimentos y su gente, a quienes participaron en el análisis de las muestras, a Jorge y Stella, a amigos/as (y desde ahora colegas...) que colaboraron con este trabajo en muchos aspectos, y a todas aquellas personas que me apoyaron en lo personal... MUCHAS GRACIAS...por todo...

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS.....	IV
LISTA DE FIGURAS.....	V
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE.....	3
2.1.1. COMPONENTES DE LA LECHE Y SU SÍNTESIS.....	3
2.1.1.1. Lactosa en leche	5
2.1.1.1.1. Biosíntesis de la Lactosa	5
2.1.1.2. Lípidos de la leche.....	6
2.1.1.2.1. Biosíntesis de los Ácidos Grasos.....	8
2.1.1.3. Compuestos Nitrogenados de la leche.....	9
2.1.1.3.1. Nitrógeno No Proteico.....	9
2.1.1.3.2. Fracción Proteica.....	9
> <i>Caseínas</i>	10
> <i>β-lactoglobulina</i>	11
> <i>α-lactalbúmina</i>	11
> <i>Albúmina de suero</i>	11
> <i>Inmunoglobulinas</i>	12
> <i>Lactoferrina</i>	12
> <i>Lactoperoxidasa</i>	12
> <i>Lisozima</i>	12
2.1.1.3.3. Biosíntesis de las Proteínas de la leche.....	13
2.1.1.4. Sales y Minerales.....	14
2.1.1.5. Vitaminas.....	15
2.2. FACTORES QUE AFECTAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE.....	15
2.2.1. FACTORES NO NUTRICIONALES.....	16
2.2.1.1. Factores genéticos y efecto de la raza en la composición de la leche.....	16
2.2.1.2. Temperatura ambiental.....	18
2.2.1.3. Enfermedades.....	18
2.2.1.4. Estado de lactancia.....	21

2.2.1.5. Número de partos y edad de la vaca.....	22
2.2.1.6. Estado corporal.....	22
2.2.1.7. Ingestión de nutrientes.....	22
2.2.2. FACTORES NUTRICIONALES.....	24
2.2.2.1. Factores que afectan la síntesis y composición de la lactosa....	25
2.2.2.2. Factores que afectan la síntesis y composición de las fracciones nitrogenadas de la leche.....	25
2.2.2.2.1. Efectos del aporte de Energía Dietaria (no lípidos).....	26
➤ Efectos sobre el NNP	27
2.2.2.2.2. Efectos del aporte de Proteína Dietaria.....	27
➤ Efectos sobre el NNP	27
2.2.2.2.3. Efectos del aporte de proteína de sobrepaso.....	28
2.2.2.2.4. Efectos de incluir en la dieta aminoácidos protegidos ruminalmente.....	30
2.2.2.2.5. Efectos de la inclusión de Grasa en la Dieta.....	31
➤ Efectos de la grasa dietaria sobre las subfracciones nitrogenadas.....	32
➤ Mecanismos propuestos para explicar la depresión de la proteína en leche inducida por la grasa dietaria.....	33
2.2.2.2.6. Aminoácidos limitantes para la producción de proteína.....	35
➤ Efectos del agregado de grasa en la dieta.....	36
2.2.2.3. Factores que afectan la síntesis y composición de la grasa de la leche.....	37
➤ Metabolismo de los lípidos a nivel ruminal.....	40
2.2.2.3.1. Efectos de la grasa dietaria en la composición de la grasa de la leche.....	42
➤ Suplementación con ácidos grasos de cadena larga.....	43
2.2.2.3.2. Efectos de la inclusión de semillas oleaginosas.....	44
2.2.2.3.3. Efectos de la suplementación energética.....	49
2.3. PROPIEDADES DE LA GRASA DE LA LECHE.....	50
2.3.1. ¿POR QUÉ CAMBIAR LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA?.....	51
2.3.2 VALOR NUTRICIONAL DE LA GRASA.....	51
2.3.3. VALOR INDUSTRIAL.....	52
2.3.4. PRODUCTOS LÁCTEOS Y ALTA CONCENTRACIÓN DE C18:2.....	53
2.3.5. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS EN LA MODIFICACIÓN DE LA GRASA DE LA LECHE	53
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	54
3.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS	56

3.2. DETERMINACIONES	56
3.1.1. CASEÍNA POR PRECIPITADO	56
3.1.2. CASEÍNAS POR ELECTROFORESIS	57
3.1.3. PERFILES LIPÍDICOS	57
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	57
 4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	59
4.1. PROTEÍNAS	59
4.2. ÁCIDOS GRASOS	65
5. <u>CONCLUSIONES</u>	71
6. <u>RESUMEN</u>	73
7. <u>SUMMARY</u>	74
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	75

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	3
Composición química de la leche bovina de acuerdo con la información de la literatura	
Cuadro 2.	7
Proporciones de ácidos grasos de la leche provenientes de síntesis <i>de novo</i> que ingresan a la glándula mamaria desde la sangre.	
Cuadro 3.	13
Características bioquímicas de las proteínas de la leche.	
Cuadro 4.	17
Composición de leche promedio de diferentes razas lecheras	
Cuadro 5.	19
Intervalos en los contenidos de diversos componentes de la leche y efectos de la mastitis sobre la composición de la leche normal.	
Cuadro 6.	54
Composición química de los alimentos suministrados	
Cuadro 7.	55
Composición de las dietas experimentales	
Cuadro 8.	56
Producción y composición de leche para las diferentes dietas experimentales	
Cuadro 9.	57
Peso molecular de las diferentes fracciones caseínicas	
Cuadro 10.	61
Concentración de las diferentes fracciones proteicas para tres niveles de concentrado consumido	
Cuadro 11.	64
Porcentaje de caseína en leche según el tratamiento	
Cuadro 12.	65
Porcentaje de caseína en leche según nivel de energía y tipo de suplemento	

Cuadro 13.	65
Porcentaje de Ácidos grasos de cadena corta (C4:0 - C14:0) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento	
Cuadro 14.	66
Porcentaje de Ácidos grasos de cadena larga saturados (C16:0-C18:0) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento	
Cuadro 15.	66
Porcentaje de Ácidos grasos de cadena larga insaturados (C18:1-C18:2) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento	
Cuadro 16.	66
Relación Ácidos grasos Insaturados/Saturados de cadena larga en leche según nivel de energía y tipo de suplemento	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	4
Origen de los componentes de la leche	
Figura 2.	38
Biosíntesis de los ácidos grasos de la leche.	
Figura 3.	59
Proteínas de leche (Soja tratada)	
Figura 4.	60
Cambios en las fracciones proteicas de la leche determinadas por Electroforesis	
Figura 5.	62
Subfracciones caseínicas (Soja tratada)	
Figura 6.	63
Proteínas de leche (Soja sin tratar)	
Figura 7.	64
Porcentaje de caseína determinado por precipitado (marzo-abril)	
Figura 8.	67
Perfiles lipídicos (Soja sin tratar)	
Figura 9.	67
Perfiles lipídicos (Soja tratada)	

1. INTRODUCCIÓN

La población mundial es cada vez más conciente del rol que juegan los alimentos y sus componentes sobre la salud. En lo que respecta a la demanda de productos lácteos, la tendencia general de disminuir el consumo de grasa en la dieta ha manifestado efectos sobre estos productos. La industria alimentaria ha respondido a estos cambios, modificando los productos existentes y desarrollando nuevos productos que se ajusten cada vez más a las preferencias del consumidor.

La industria lechera ha sido muy lenta para responder a la disminución de la demanda de grasa en la leche. Durante muchos años el mejoramiento apuntó a aumentar el contenido de grasa, con incentivos económicos. Los cambios en la demanda de los consumidores se manifiestan en diferentes países: en Canadá el consumo de leche descremada es alrededor del 80%, y en Inglaterra pasó de 2% en 1983 a 45% en 1991. Por otra parte, en los últimos años se tiende a sustituir leche con 2% de grasa por leche con 1% o desgrasada. (Kennelly y Glimm, 1998) En el Uruguay el consumo de leche descremada representa un 25% en el sector de la población con mayor poder adquisitivo y casi no se consume en zonas de menores ingresos (Ibarra, comunicación personal)

En relación a la grasa de la leche, no solo importa la cantidad de grasa contenida en la leche sino la composición de esa grasa. En este sentido la industria lechera no ha hecho mucho esfuerzo por promover cambios, por ejemplo haciendo que se incremente la producción de ácidos grasos insaturados en relación a los saturados, siendo éstos últimos quienes contribuyen a la ocurrencia de enfermedades crónicas como problemas cardiovasculares, colesterol, etc.

Además de la contribución de la leche para una óptima nutrición, se estudia recientemente el efecto benéfico que tienen para la salud humana algunos novedosos componentes de la misma. En particular, se han encontrado varios componentes bioactivos (péptidos, proteínas, grasas y vitaminas), que pueden ejercer efectos fisiológicos positivos para la salud. Estos efectos incluyen aumentar la absorción del calcio (caseino-fosfopéptidos), prevención de la hipertensión (péptidos inhibidores de la ACE, enzima convertidora de la angiotensina) y anticancerígenos como ácido linoleico conjugado (CLA), ácido butírico, vitamina D y β -caroteno (Mc Donagh et al., 1999).

Otro aspecto para el consumidor de productos lácteos es la incorporación de prebióticos y probióticos. Estas formas de productos lácteos forman parte de los denominados alimentos funcionales. Los probióticos son preparaciones de células microbianas que tienen un efecto benéfico en la salud y bienestar del huésped. (Naidu et al, 1999). Los prebióticos provocan una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de un número limitado de bacterias a nivel del tracto digestivo, que tienen efectos positivos sobre la salud del huésped. Por otra

parte, mejoran la digestión de la lactosa y demás nutrientes pre-digeridos, tienen efectos de prevención de cáncer, aumentan la biodisponibilidad de minerales e incrementan la síntesis de vitaminas del complejo B, tienen efectos de prevención y tratamiento de infecciones, reducción del colesterol y estimulación del sistema inmune. La tendencia ascendente en países europeos de la demanda de probióticos refleja la aceptación del consumidor de los beneficios para la salud que le aportan los mismos. Respecto al acelerado desarrollo de probióticos en las últimas décadas, varios los factores lo han posibilitado: 1) normas gubernamentales que limitan el uso de antibióticos como promotores del crecimiento, 2) mayor responsabilidad frente a la contaminación ambiental, 3) los grandes avances de la biotecnología y 4) la tendencia del consumidor de elegir alimentos saludables de origen natural. (Mc Donagh et al., 1999)

Otro punto importante a tener en cuenta dentro de las tendencias mundiales del consumo, es el aumento de las exigencias del consumidor. Las mismas se reflejan en los parámetros de bioseguridad alimentaria, en la compatibilidad con el medio ambiente y en la necesidad de diversificar productos. (Le Jaouen y Kurmann, 1993). La diversificación se manifiesta a través de los diferentes diseños, originalidad y formas de preparación de un mismo producto, variación en los tamaños de las porciones y la presentación, tanto de su envase exterior como en la apariencia de “frescura” (color, sabor, textura). El consumidor quiere que sus productos preferidos sean accesibles todo el año, que estén listos en cinco minutos en el microondas, pero que a la vez mantengan el mismo sabor como si vinieran directamente de la granja, y por supuesto que sean seguros y saludables. La confianza del consumidor ha sido quebrada en los últimos tiempos, no solo por la crisis de la dioxina o por la BSE, sino también por el uso de antibióticos, promotores de crecimiento, pesticidas, herbicidas, hormonas, por enfermedades emergentes producto de la listeria, salmonella, campylobacter, E.Coli O157, etc. Para restaurar dicha confianza, es necesaria una mejor legislación, controles mas fuertes y total transparencia. (Mc Donagh et al., 1999)

El objetivo de la industria lechera debe ser hacer coincidir la producción de los diferentes componentes de la leche con la demanda de los consumidores, maximizando así la eficiencia biológica, e indirectamente y en el largo plazo, aumentando la rentabilidad del sector. Para esto es imprescindible conocer en detalle los mecanismos biológicos involucrados en la síntesis de los componentes de la leche, pudiendo así explotar al máximo el potencial de variación. Esta revisión intenta contemplar los principales factores que permiten alterar la composición de la leche, particularmente los relacionados con la genética del animal y el manejo nutricional.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA GLOBAL DE LA LECHE

La composición química de la leche presenta variaciones importantes de acuerdo a diferentes factores que actúan sobre la misma. En el Cuadro 1 se resume la información obtenida de la bibliografía.

Cuadro 1. Composición química de la leche bovina de acuerdo con la información de la literatura

Componente (%)	(1)	(2)	(3)	Promedio
Proteína	2,9	3,62	3,2	3,24
<i>Caseína</i>	s/d	2,9	2,5	2,7
<i>Prot. Del suero</i>	s/d	0,72	0,5	0,61
<i>Nitr. no prot.</i>	s/d	s/d	0,2	0,2
Grasa	3,2-3,3	3,8	3,6	3,55
Lactosa	4,6	4,9	5,0	4,83
Minerales	0,7	0,53	0,7	0,64
Sólidos Totales	11,5	12,85	12,5	12,26
Agua	88,5	87,15	87,5	87,74

(1) Rearte (1992) (sistema pastoril)

(2) Maynard y Loosli (1969) citados por Schmidt y Van Vleck (1974)

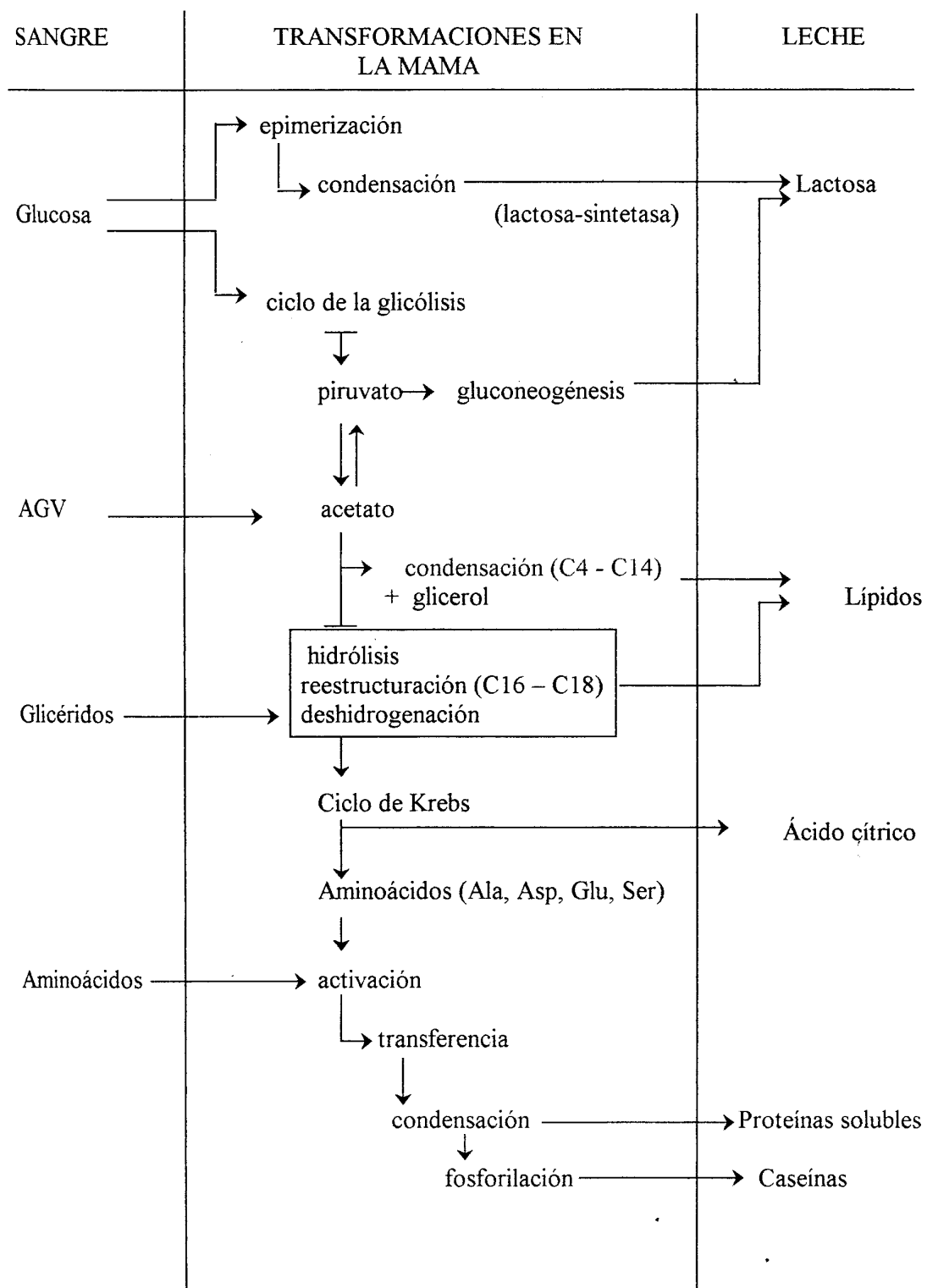
(3) Kenelly y Glimm (1998) (sistema estabulado)

Como se presenta en la información del Cuadro 1, las variaciones en la composición de proteína y grasa son frecuentes y su incidencia en la industrialización en términos de rendimientos de productos puede ser de importancia.

2.1.1. COMPONENTES DE LA LECHE Y SU SÍNTESIS.

En la Figura 1 se presenta un esquema de la lactogénesis:

Figura 1. Origen de los componentes de la leche (Fuente: Alais, 1985)



En forma general, la composición de la leche puede reducirse a sus cuatro componentes principales: lactosa, grasas, proteínas y sales minerales. Sin embargo, no deben dejarse de lado otros componentes menores, que aunque estén en ínfimas proporciones pueden tener importancia preponderante en determinadas funciones. Entre estos componentes pueden citarse los fosfolípidos –lecitina-, carotenoides, esteroides, tocoferoles, flavinas y vitaminas hidrosolubles, así como enzimas y nucleótidos (Schmidt y Van Vleck, 1974)

Una parte de los componentes de la leche son obtenidos por la glándula mamaria directamente del plasma sanguíneo, como ser los minerales, algunas hormonas y ciertas proteínas (albúminas e inmunoglobulinas). Sin embargo, la mayoría de los componentes son sintetizados en la glándula mamaria a partir de sus precursores. La lactosa, α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, y caseínas, no se encuentran como tales en el plasma sanguíneo. (Rearte, 1992)

2.1.1.1. Lactosa

Es el carbohidrato predominante y el componente más abundante de la leche. La lactosa es un disacárido constituido por glucosa y galactosa, estrictamente específico de la leche. Es el componente más lábil frente a la acción microbiana mesófila. Su concentración es relativamente constante dentro de especies, ya que al ser el principal componente osmóticamente activo su síntesis determina el volumen de leche producido. Entre especies encontramos variaciones inversas entre el contenido de lactosa y los minerales, que en forma conjunta aportan al potencial osmótico de la leche.

Dentro de los carbohidratos de la leche también hay pequeñas cantidades de glucosa libre y galactosa, y algunos oligosacáridos.

2.1.1.1.1. Biosíntesis de la Lactosa

Diferentes fuentes pueden contribuir con glucosa para la síntesis de lactosa. El aporte principal proviene de la glucosa sanguínea, la cual es producida esencialmente en el hígado mediante gluconeogénesis, a partir de ácido propiónico producto de la fermentación ruminal. Una segunda fuente importante de glucosa es la desaminación de algunos aminoácidos, aportados por la dieta o provenientes de catabolismo corporal que se incorporan a las vías gluconeogénicas. Una menor proporción se origina de glicerol proveniente de la hidrólisis de triglicéridos de reserva y una parte limitada de la glucosa es producto de la hidrólisis de carbohidratos que sobrepasan el rumen sin ser degradados, siendo absorbida como glucosa en intestino delgado. Se ha estimado que hasta el 80% de la glucosa que entra a la sangre de una vaca lactante se utiliza para la síntesis de lactosa. (Holmes y Wilson, 1989)

La síntesis de la lactosa tiene lugar en las células epiteliales de los alvéolos de la glándula mamaria. Una molécula de glucosa se isomeriza a galactosa y se une a un resto de glucosa formando el disacárido. En la condensación interviene la lactosa-sintetasa, enzima que está constituida por dos unidades, una de las cuales es la α -lactalbúmina que se encuentra en el lumen del aparato de Golgi y la otra es la galactosil-transferasa que es un componente de la membrana de Golgi.

El ritmo de la síntesis de lactosa está regulado por la síntesis de α -lactalbúmina, por lo que una disminución en la disponibilidad de aminoácidos puede reducir la síntesis de lactosa. (Holmes y Wilson, 1989)

Aproximadamente el 50 % de la glucosa que ingresa en la glándula mamaria se utiliza en la formación de lactosa y el resto se destina a fines energéticos. Su síntesis es esencial ya que, como ya fue mencionado, determina el nivel de producción alcanzado (la mama retiene 900g de agua cada 50 g de lactosa sintetizada).

2.1.1.2. Lípidos de la leche

La mayor proporción de lípidos de la leche se encuentran en forma de emulsión de glóbulos grasos. Un 98,5 % de los lípidos está en forma de triglicéridos, 1% de fosfolípidos polares y 0,5 % de sustancias liposolubles como colesterol, pigmentos (betacaroteno), hidrocarburos, metales pesados y vitaminas liposolubles A,D E y K. Los triglicéridos están formados por una molécula de glicerol esterificada con tres ácidos grasos. Los ácidos grasos tienen generalmente de 4 a 18 carbonos, con diferentes grados de saturación: ácido palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), linolénico (C18:3), y otros de cadenas más largas (Rearte, 1992)

En la leche de vaca, los ácidos grasos cortos están ligados principalmente a la posición tres del glicerol. El ácido butírico se encuentra casi en su totalidad en esta posición.

Los ácidos grasos que integran los triglicéridos pueden tener distintos orígenes:

- Movilización de tejidos de reserva del animal
- Productos de la degradación de la dieta
- Síntesis en la glándula mamaria a partir de precursores lipogénicos producto de la fermentación ruminal (acetato y butirato), particularmente limitado a formación de ácidos grasos de cadena corta (C4-C14)

En el Cuadro 2 se presentan los valores estimados de contribución de las diferentes fuentes a los ácidos grasos presentes en la leche de vaca.

Cuadro 2. Proporciones de ácidos grasos de la leche provenientes de síntesis de novo que ingresan a la glándula mamaria desde la sangre.

Acido graso	% del ácido graso procedente de síntesis de novo	% del ácido grasos proveniente de VLDL
C4-C10	100	0
C12	80-90	10-20
C14	30-40	60-70
C16	20-30	70-80
C18	0	100

Aproximadamente la mitad de los ácidos grasos de la leche son cadenas de 4 a 16 átomos de carbono. Como lo indica el Cuadro 2 estos ácidos grasos son sintetizados en la glándula mamaria a partir de acetato (C2:0) y butirato (C 4:0). La ácido graso-sintetasa es la enzima principal en el alargamiento de las cadenas por unión consecutiva de grupos de dos carbonos. Este proceso de síntesis se limita a la formación cadenas de hasta 16 átomos de carbono. El alargamiento de 16 a 18 no es posible porque no existe la enzima apropiada. Los ácidos grasos que contienen entre 12 y 16 carbonos tienen ambos orígenes. (Rearte, 1992). Los ácidos grasos de cadena corta en la leche bovina componen alrededor de un 10% de los ácidos grasos totales (Luquet, 1991).

La otra mitad de los ácidos grasos de la leche son provenientes de la sangre, cuyo origen puede ser alimentario (40-45%), producto de la síntesis hepática (ácidos grasos saturados, esencialmente de 16 a 18 carbonos) o de la movilización de tejido adiposo (Palmquist y Jenkins, 1980). La grasa de la leche bovina contiene una proporción elevada de ácidos grasos saturados (aproximadamente el 60%). La proporción de ácidos grasos poli-insaturados es baja, debido a la hidrogenación en el rumen. (Luquet, 1991). La grasa de la leche difiere de otras grasas de origen animal por las menores concentraciones de ácidos grasos de cadena larga y niveles altos de ácidos grasos de cadena corta. (Kennelly, 1998)

2.1.1.2.1. Biosíntesis De Los Ácidos Grasos

A diferencia de los no rumiantes, el hígado de los rumiantes tiene una capacidad de síntesis de ácidos grasos (AG) muy limitada, dada por la muy baja actividad de la Acetil CoA carboxilasa (ACC), la enzima que cataliza el paso limitante de la síntesis *de novo* de los AG. Los dos sitios principales donde se sintetizan AG en los bovinos son el tejido adiposo y la glándula mamaria. Dicha síntesis está bajo regulación hormonal, siendo controlada la repartición de los nutrientes y la actividad de la ACC y la ácido graso sintetasa (FAS).

Al momento del parto, la síntesis de AG en la glándula mamaria se incrementa, a expensas del tejido adiposo. Este cambio es producto de un aumento en la expresión de los genes de la ACC y FAS en la glándula mamaria, como respuesta a los requerimientos de grasa para síntesis de la leche. Los AG de la leche provienen en parte de los AG de cadena larga de la dieta, de síntesis microbiana y de reservas corporales; y el resto son sintetizados a partir de los AG de cadena corta (principalmente acetato y β -OH-butirato), productos de la digestión microbiana de los carbohidratos en el rumen. (Chilliard, 1993; Jenkins, 1993)

La síntesis microbiana de AG ramificados y de cadenas con número impar de carbonos, sumados a los productos intermedios de la biohidrogenación de los PUFA contribuyen a la diversidad de los ácidos grasos de la grasa de la leche.

La síntesis de AG en la glándula mamaria sigue vías similares a las del tejido adiposo, excepto que en la glándula mamaria la actividad de elongación es limitada, lo que hace que no se produzcan cadenas de mas de 16 carbonos. El primer paso en la síntesis de AG es la conversión de acetil CoA en malonil CoA, lo cual es catalizado por la ACC. La elongación de las cadenas (sobre 16C) implica la adición de dos carbonos, lo que requiere de ATP y FAS. La glándula mamaria también tiene actividad estearil CoA desaturasa, lo que permite la conversión de ácido esteárico en oleico. Aproximadamente el 50% de los AG de la leche son sintetizados en la glándula mamaria, 40-45% provienen de la dieta y el resto de movilización de tejido adiposo (Palmquist y Jenkins, 1980), dependiendo dichas proporciones del momento de lactancia y de las características de la dieta.

Los AG de cadena larga provienen de la dieta principalmente, y son transportados a la glándula mamaria por quilomicrones o VLDL. Dichas lipoproteínas son hidrolizadas en el epitelio de los capilares (a nivel de glándula) por la lipoproteína-lipasa, quedando disponibles para su incorporación en la grasa de la leche.

Los ácidos grasos de cadena media pueden provenir de la dieta o pueden ser sintetizados en la glándula mamaria. Los ácidos grasos de cadena corta (y media) que son sintetizados en la glándula, se originan a partir de acetato y β -OH butirato provenientes de la digestión ruminal de los carbohidratos. (Holmes y Wilson, 1989)

2.1.1.3. Compuestos nitrogenados de la leche.

En la leche se distinguen dos grupos de fracciones nitrogenadas: las proteínas y el nitrógeno no proteico (NNP). La fracción proteica constituye aproximadamente el 95%, y el NNP varía entre 3,1% y 7% del N total. (Luquet, 1991).

Todas las proteínas de la leche, excepto la albúmina del suero y las inmunoglobulinas, son sintetizadas por las células mioepiteliales de la glándula mamaria a partir de aminoácidos extraídos de la sangre. Estos son absorbidos en el intestino delgado, provenientes de la dieta o de las proteínas bacterianas.

2.1.1.3.1. Nitrógeno No Proteico

El nitrógeno no proteico (NNP) no tiene gran importancia tecnológica, pero es importante tenerlo en cuenta si se mide el N de la leche por el método de Kjeldahl. La diferencia entre el N total y el N soluble (NNP) multiplicado por 6,38 nos proporciona la cantidad de proteína de la leche en g/l. (Luquet, 1991)

El NNP es la fracción de la leche menos conocida. DePeters y Cant (1992) establecen que el 35 % de esta fracción no está identificada. Dentro del NNP la urea es el compuesto mayoritario; 48% con variaciones entre 36 y 80%.(DePeters y Cant, 1992) El NNP proviene de la sangre, habiendo un equilibrio en la concentración de urea entre ambos fluidos. Su concentración en la leche está muy afectada por la composición de la dieta.

Los otros componentes de la fracción de NNP incluye aminoácidos libres, principalmente ácido glutámico y glicina, así como residuos de la actividad de la síntesis de la glándula, como nucleótidos, etc. Otros compuestos son el ácido orótico, creatinina, amonio y ácido hipúrico (DePeters y Cant, 1992)

2.1.1.3.2. Fracción Proteica

La fracción proteica está constituida por caseínas, proteínas solubles (albúminas y globulinas) y otras proteínas menores, como las enzimas. La cantidad de proteínas que tiene la leche es una característica esencial de su valor comercial, tecnológico y biológico. Además, cuanto mayor sea esta cantidad en leche cruda, tanto mayor será el rendimiento en la transformación tecnológica, dependiendo del producto a elaborar (Goursaud y Quinque, 1980)

Las proteínas de la leche tienen importancia en la funcionalidad de la glándula mamaria (por ejemplo el rol de la lactoalbúmina en la síntesis de lactosa), en la nutrición del neonato y en el mantenimiento de su salud. Desde el punto de vista industrial, las proteínas de la leche tienen principal importancia en la elaboración de productos lácteos. En EEUU la leche y sus subproductos aportan más del 20% de la proteína consumida/día. (Hurley, 2000)

La calidad nutricional de la proteína consumida depende en gran parte del patrón y la concentración de los aminoácidos esenciales y su relación con las características de la proteína requerida. Los tipos y concentración de aminoácidos de la proteína de la leche de vaca son similares a los requerimientos de aminoácidos de los humanos. Las proteínas de la leche tienen alta concentración de aminoácidos esenciales (cisteína, treonina, metionina, isoleucina).

Las principales proteínas contenidas en la leche son las siguientes:

➤ *Caseínas*

Se encuentra formando micelas, presentando enlaces con grupos fosfato y calcio, y adicionalmente dan lugar a complejos con minerales como Mn, Zn, Fe y Cu. Su función biológica principal es suplir al neonato de aminoácidos, calcio y fósforo. Las micelas tienen aproximadamente 140 nm de diámetro en los bovinos y están compuestas por α -caseína, β -caseína y κ -caseína. (Hurley, 2000)

La caseína constituye entre el 76 al 86 % de la proteína total de la leche, y comprende proteínas de cuatro expresiones genéticas diferentes: α s1, α s2, β y κ -caseína, con sus respectivas variantes. Anteriormente, se reconocía la γ -caseína que proviene de la degradación de la β -caseína por acción de la plasmina. Respecto a la proteosa-peptona, componente de las proteínas de suero (solubles), parece ser el segmento N-terminal de la β -caseína. (DePeters y Cant, 1992). Ante la acción de enzimas proteolíticas, la κ -caseína es la que se degrada más rápidamente, luego la β -caseína, y por último la α -caseína.

La α -caseína está en varias formas, de acuerdo a los diferentes tipos de fosforilación (2,3,4,5,y 6). La β -caseína es la principal en la leche bovina, siendo la menos abundante en humanos. La κ -caseína es una glucoproteína que estabiliza la micela permitiendo su interacción con el agua (Hurley, 2000).

La separación de la caseína puede realizarse por medio de su precipitación, lo cual es posible por diferentes métodos:

- Centrifugado a 100.000 x G

- bajando el pH a 4,6
- Agregando renina, enzima secretada en el estómago del neonato, que corta la κ -caseína y permite desestabilizar la micela

Una vez precipitada y removida la caseína, la fracción restante está compuesta por las denominadas proteínas del suero. Las principales son la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina, habiendo otras secundarias, pero no de menor importancia, como la albúmina de suero y las inmunoglobulinas. (Hurley, 2000). Las proteínas del suero son producto de la expresión de genes de la glándula mamaria (β -lactoglobulina y α -lactalbúmina) y otras son preformadas como las inmunoglobulinas y la albúmina sérica. (DePeters y Cant, 1992)

➤ *Beta-lactoglobulina (β -LG)*

Constituye aproximadamente el 50% de las proteínas del suero. Es la principal proteína sérica en rumiantes y cerdos, aunque no se encuentra en muchas otras especies. No se conoce su función. (Hurley, 2000)

➤ *Alfa-lactalbúmina (α -LG)*

Constituye aproximadamente el 25% de las proteínas del suero. Forma parte del complejo enzimático de la lactosa-sintetasa, teniendo por lo tanto un papel fundamental en la síntesis de lactosa y en el control de la secreción de la leche. Es una metaloproteína, ya que contiene un átomo de calcio por molécula y presenta contenidos de zinc. (Hurley, 2000)

➤ *Albúmina de suero*

La albúmina no es sintetizada en la glándula mamaria y llega a la leche por difusión, aunque quizás hay un mecanismo de transporte más específico involucrado en su ingreso. Su concentración en leche aumenta en vacas con mastitis y en involución de la glándula mamaria. No se conoce su función. (Hurley, 2000)

➤ *Inmunoglobulinas*

La leche contiene varios tipos de inmunoglobulinas: IgG1, IgG2, IgA e IgM. No son proteínas específicas de la secreción láctea. Su concentración es muy elevada en el calostro y menor en leche. Proviene de la sangre por difusión, y en algunas ocasiones son sintetizadas por la glándula mamaria, como ser en caso de infecciones (ej. brucelosis). Parte de la inmunidad pasiva es pasada al neonato por medio del calostro. (Hurley, 2000; Luquet, 1991)

➤ *Lactoferrina*

La lactoferrina es una proteína ligada a hierro, con propiedades antibacterianas. Su concentración en la lactación es relativamente baja, siendo mayor durante la involución de la glándula mamaria y en vacas con mastitis. Tiene una función importante como inmunomodulador, y es el principal factor de resistencia a enfermedades no específico en la glándula mamaria. (Hurley, 2000)

➤ *Lactoperoxidasa*

Enzima (metaloproteína) que produce peróxido de hidrógeno (oxidoreductasa) y es responsable de la fase bacteriostática constatada en las primeras horas que siguen al ordeño. (Luquet, 1991)

➤ *Lysozima*

Enzima que corta los polímeros (CHOs) de las paredes de las células bacterianas, jugando así un importante papel defensivo en la conservación de la calidad de la leche. Tiene alta actividad en humanos, y menor en leche de vaca.

La leche contiene además otras enzimas, como ser proteasas, nucleasas y glicosidasas. Algunas son utilizadas como indicadores de calidad higiénica (catalasas, proteasas termoresistentes), tratamientos térmicos previos (fosfatasa alcalina, peroxidasa y acetilsterasa), y de especies, siendo que no todas contienen las mismas enzimas. (Luquet, 1991). Es importantes considerar el rol que juegan las enzimas en los productos lácteos, incidiendo tanto en el plano tecnológico (pérdida de rendimiento), así como en las cualidades organolépticas de los productos transformados (modificación en la textura, mal

sabor, etc.) siendo el efecto más importante el de las lipasas y proteasas. Otra de las propiedades importantes de las enzimas es su función antibacteriana, protegiendo la leche, caso de la lactoperoxidasa y la lisozima.

Cuadro 3. Características bioquímicas de las proteínas de la leche.

Proteína	% (en leche desgrasada)	Punto isoelectrico	Peso molecular
α -caseína	45-55	4,1	23.614(s1) -25230(s2)
κ -caseína	8-15	4,1	19.023
β -caseína	25-35	4,5	23.983
γ -caseína	3-7	5,8-6,0	30.650
α -lactalbúmina	2-5	5,1	14.437
β -lactoglobulina	7-12	5,3	18.363
Albúmina	0,7-1,3	4,7	66.267
Lactoferrina	0,2-0,8		87.000
IgG1	1-2		160.000
IgG2	0,2-0,5		160.000
IgM	0,1-0,2		~1.000.000
IgA	0,05-0,10		~400.000
Proteosas-peptonas*	2-6	3,3-3,7	4.100 a 20.000

Fuente: Luquet ,(1991)

* Producto de proteólisis de beta-caseína

2.1.1.3.3. Biosíntesis de las proteínas de leche

Las principales proteínas de la leche se sintetizan en la glándula mamaria a partir de un conjunto de aminoácidos libres de origen sanguíneo. Incluye caseína, α -lactalbúmina, β -lactoglobulina, y muchas proteínas en cantidades menores, como por ejemplo enzimas. También algunas inmunoglobulinas pueden sintetizarse a nivel de las células plasmáticas presentes en los líquidos intersticiales que se encuentran entre los alvéolos. (Holmes y Wilson 1989)

El enlace de los aminoácidos para formar las cadenas peptídicas se realiza en igual forma que en los otros tejidos del organismo: activación, traslado por un ARNm y condensación. Una parte de estos aminoácidos se deriva de los aminoácidos libres del plasma sanguíneo, pero por otra parte los aminoácidos no esenciales se sintetizan en la glándula a partir de

glucosa, acetato, otros aminoácidos que se toman en cantidad superior a la segregada y otros intermediarios metabólicos. (Schmidt y Van Vleck, 1974)

La cantidad de aminoácidos retirados de la circulación sanguínea por la glándula mamaria es ligeramente superior a la cantidad segregada en la proteína de la leche. En la glándula mamaria tiene lugar una importante degradación y resíntesis de aminoácidos para lograr el balance adecuado de aminoácidos necesarios para la síntesis proteica. Ello puede hacer que el costo de la síntesis proteica sea en realidad mayor que el costo teórico estimado. (Holmes y Wilson, 1989)

El fósforo de la caseína tiene como precursor el Pi de la sangre y se incorpora a la cadena polipeptídica posteriormente a la biosíntesis de ésta por la intervención de la fosfoproteína-kinasa. Esta modificación “post-transcricional” (como la glicosilación de la k-caseína) tiene lugar en el aparato de Golgi.

La biosíntesis de las caseínas se encuentra inducida y estimulada por la prolactina, que se fija sobre un receptor de membrana de las células secretoras. La progesterona limita fuertemente esta inducción, mientras que los glucocorticoides, que solos son inactivos, amplifican los efectos de la prolactina. Esta hormona interviene también en la biosíntesis de las proteínas de suero. (Schmidt y Van Vleck, 1974)

2.1.1.4. Sales y minerales

Dentro del extracto seco de la leche hay una proporción de sales minerales, en forma de fosfatos, citratos y cloruros de potasio, calcio, sodio y magnesio. Además la leche contiene gases disueltos, esencialmente CO₂, N₂ y O₂. (Luquet, 1991)

La leche contiene sales tanto disueltas como en estado coloidal. La mayoría son de tipo mineral, aunque también hay de origen orgánico. Las principales son: cloruros, fosfatos y citratos de magnesio, sodio, calcio y potasio. Los citratos forman quelatos con el calcio, permitiendo que la leche tenga mucho calcio disuelto. El 75 % del calcio de la leche se encuentra en combinación física o química con la caseína, fosfatos y citratos, y mas de la mitad del fósforo de la leche aparece combinado con la caseína. (Schmidt y Van Vleck, 1974)

Los macrominerales que contiene la leche son en orden de importancia: K, Ca, Cl, P, Na, S y Mg, todos bajo la forma de óxidos básicos. El calcio y fósforo son dos elementos fundamentales en la estructura de las micelas de las caseínas, y además son los más importantes desde el punto de vista biológico. El magnesio también interviene en la estabilización de la micela, pero está disuelto en mayor proporción. Estos elementos de origen alimentario, junto con la lactosa, permiten que exista el equilibrio entre la presión

osmótica de la leche en la glándula mamaria y la sanguínea. La leche contiene también oligoelementos indispensables en nutrición como el Zn, Fe, Cu, I, Mo, F, Se, y otros tóxicos como Cr, Co, Pb y As (Luquet , 1991)

2.1.1.5. Vitaminas

Las vitaminas liposolubles A, D y E se encuentran en leche en cantidades significativas, y provienen de la ingestión. Aunque la vitamina K está presente en el pasto y se sintetiza en rumen, hay baja concentración en leche. Todas las hidrosolubles están en leche en cantidades significativas, y al ser sintetizadas en rumen están en cantidades bastante constantes. (Holmes y Wilson, 1989)

2.2. FACTORES QUE AFECTAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE.

Una serie de factores han sido identificados por sus efectos sobre la composición de la leche. Por una parte, los aspectos genéticos afectan la composición de la leche y sus efectos se manifiestan a nivel de la especie, raza e incluso las diferencias genéticas dentro de una misma raza. Por otra parte los factores ambientales, entre los que se incluye el clima (ambiente), el manejo en todos sus aspectos (sanitario, alimenticio, etc), factores fisiológicos (etapa de lactancia, número de partos, etc). Por último y de particular interés en este trabajo la acción de los factores nutricionales sobre los componentes nitrogenados y lipídicos de la leche.

Casi todos los componentes de la leche pueden ser manejados dentro de ciertos límites. Sin embargo, el potencial de variación tiene una estrecha relación con el componente considerado. En general, el porcentaje de grasa y la composición de ácidos grasos es el constituyente que presenta mayor variación, la lactosa es relativamente constante y la proteína tiene un comportamiento intermedio en relación a los anteriores. Los cambios en la composición no siempre son claros y la importancia relativa de cada factor en el mecanismo general de secreción de leche es difícil de determinar, ya que además se manifiestan interacciones importantes entre los diversos factores.

2.2.1. FACTORES NO NUTRICIONALES

2.2.1.1. Factores genéticos y efecto de la raza en la composición de la leche.

Las diferencias en la producción y composición de leche entre razas se deben a la variación genética. Probablemente son reflejo de la diferencia en los precursores de disponibles para la síntesis de leche. A su vez, las cantidades producidas pueden estar ligadas a los niveles de ingestión, lo cual varía con el tamaño del animal.

Respecto a la secreción de la leche, hay diferencias raciales en el potencial de membrana apical a nivel de alvéolo. Las vacas con bajo potencial de membrana segregan leche con bajos contenidos de lactosa, y por lo tanto producen mas leche por cada kilogramo de lactosa sintetizada. Los contenidos en grasa y proteína serán también mas bajos. Por otra parte, es posible que existan diferencias genéticas en el costo energético de mantener el equilibrio iónico, y por lo tanto, variaciones en la energía necesaria para la secreción de leche en las diferentes razas. (Holmes y Wilson, 1989)

Existen diferencias raciales importantes tanto en grandes componentes de la leche como en aquellos menores. Las vacas de la raza Holando tienen menos proteína total en leche respecto a la Jersey. Por otra parte, existen diferencias entre razas en las frecuencias génicas de las distintas variantes de las proteínas. A modo de ejemplo, la variante B de la κ -caseína es mayor en Jersey que en Holando. Estas modificaciones tienen repercusiones a nivel industrial dado que la variante B de κ -caseínas rinde 9 % mas de queso que la leche de vacas con la variante A. (DePeters y Cant, 1992)

El alto contenido de grasa de la leche de vacas Jersey es otro claro ejemplo de las diferencias raciales. Hay otras diferencias mas sutiles como ser la composición de la grasa: en leche de vacas Jersey hay una mayor proporción de ácidos grasos saturados respecto a Holstein. (Hurley, 2000)

Palmquist y Beaulieu (1993) encontraron que la proporción de ácidos grasos de cadena corta y media -C6 a C14- (respecto a los ácidos grasos totales) fue mas elevada en leche de vacas Jersey respecto a Holando (8 a 42 % mayor), independientemente de la dieta consumida. Ácido esteárico (C18:0) fue 13 % mayor y oleico (C18:1) 15 % menor en Jersey.

Cuadro 4. Composición de leche promedio de diferentes razas lecheras

Raza		Grasa (%)	Proteína (%)	Prot/Gr	Lactosa (%)	Cenizas (%)	SNG (%)	S.Tot (%)
Holando	(1)	3,41	3,32	0,97	4,87	0,68	8,87	12,28
	(2)	4,54	3,47	0,76	-	-	-	-
	(3)	3,70	3,11	0,84	4,61	-	-	-
Jersey	(1)	5,05	3,78	0,75	5,00	0,7	9,48	14,53
	(2)	5,57	3,92	0,70	-	-	-	-
	(3)	5,13	3,80	0,74	4,70	-	-	-
Cruza H/J	(2)	4,78	3,58	0,75	-	-	-	-
Ayrshire	(1)	4,03	3,51	0,87	4,81	0,68	9,00	13,03
	(2)	4,74	3,66	0,77	-	-	-	-
	(3)	3,99	3,34	0,84	4,63	-	-	-
Brown Swiss	(1)	3,85	3,48	0,90	5,08	0,72	9,28	13,13
	(3)	4,16	3,53	0,85	4,80	-	-	-
Shorthorn	(1)	3,63	3,32	0,91	4,89	0,73	8,94	12,57

Fuente: (1) Webb, B.; Johnson, A. y Alford, J.; 1978
 (2) Holmes y Wilson, 1989
 (3) Gibson, 1989 citado por Kennelly y Glimm, 1998

La existencia de correlaciones genéticas altas y positivas entre el contenido graso y producción de leche, indica la dificultad de reducir el nivel de grasa en leche mientras se selecciona para aumentar la producción de leche y el contenido de proteína. Sin embargo, el grado de aumento de la grasa puede ser menor aplicando cierta presión negativa a dicha característica. La selección genética para aumentar el porcentaje de grasa en la leche lleva a un aumento en la proporción de ácidos grasos de cadena corta y una disminución de los ácidos grasos de cadena larga.

El mejoramiento genético tradicional nos permite cambiar la composición de la leche sólo en el largo plazo (5 años o más). Los métodos actuales no son capaces de responder en el corto plazo a los cambios en las preferencias de los consumidores. (Kennelly y Glimm, 1996)

2.2.1.2. Temperatura ambiental

Las temperaturas extremas pueden afectar la producción y composición de leche. Con temperaturas muy elevadas disminuye la producción de leche, bajan los niveles de proteína y lactosa, pudiendo elevarse el contenido de grasa, y disminuye la proporción de ácidos grasos de cadena corta en leche. Las temperaturas consideradas “críticas” son afectadas por varios factores: entre ellos la raza, y la disponibilidad de sombra y agua.

Temperaturas muy elevadas bajan el consumo de alimentos y cambian la fisiología del animal; disminuye la secreción de hormonas tiroideas, ACTH, insulina y hormona del crecimiento. Se alteran las fermentaciones ruminales, disminuyendo la relación acetato: propionato. Temperaturas muy bajas hacen disminuir la producción de leche, también afectado por las diferencias raciales, y según viento y lluvia. (Holmes y Wilson, 1989)

El efecto de la temperatura ambiente es difícil de describir porque a menudo se confunde con el estado de lactancia y con efectos nutricionales. La temperatura ambiente alta disminuye el contenido total de nitrógeno de la leche y podría disminuir la firmeza de la cuajada producida con esa leche. En 30 rodeos de cuatro grupos de mejoramiento los resultados indican que la proteína total es menor en verano y mayor en invierno, con una tendencia similar para la fracción de caseína (DePeters y Cant, 1992).

2.2.1.3. Enfermedades

La principal enfermedad estudiada en vacas lechera es la mastitis, aunque otras enfermedades podrían afectar la composición de la leche. En lo que respecta a la distribución del N, la mastitis resulta en una disminución del contenido de caseína y un aumento de las proteínas de suero. Este cambio en la distribución del nitrógeno podría ser causa de la actividad de la plasmina, que puede hidrolizar las β y α s1-caseínas. Este aumento en la actividad de la plasmina ocurre solo en la leche de cuartos infectados, y no se da en la leche de cuartos sanos de la misma ubre (DePeters y Cant, 1992).

La leche con mayor cantidad de leucocitos tiene menor contenido de caseína y mas proteínas de suero. Proporciones de las β y α s1-caseína disminuyen, pero la proporción de k-caseína y otras proteínas no identificadas aumentan al incrementarse la concentración de leucocitos. El aumento de la k-caseína podría ser consecuencia de las técnicas utilizadas en su determinación y a la interferencia de otros componentes proteicos no diferenciados (DePeters y Cant, 1992).

En los cuartos infectados, Barry y Donelly (1981) reportaron mayor contenido de γ -caseína que deriva de hidrólisis de β -caseína. Estos cambios en la proteína de la leche sumados a alteraciones en el contenido mineral y de lactosa de la leche, y el pH resultan en una menor producción de queso y alteración de las propiedades industriales de la leche proveniente de animales con mastitis. La leche de cuartos anormales (> 500.000 células somáticas/ml) tiene mayor tiempo de coagulación y forma cuajadas mas “débiles” que la leche de cuartos normales. (DePeters y Cant, 1992)

También disminuye el porcentaje de grasa, sólidos no grasos y lactosa, mientras el porcentaje de cloruros y proteínas séricas aumenta. (Arnold y Jhonson, 1978)

Cuadro 5. Intervalos en los contenidos de diversos componentes de la leche y efectos de la mastitis sobre la composición de la leche normal.

Componente	Leche normal (Intervalo)	Leche Mastítica (x de lo normal)
Grasa (g/litro)	30 - 60	x 0,9
AGV	0,5 - 0,9	x 4,9
Carotenos(μ g/g de grasa)	1 - 16	x 9,9
Proteína total (g/litro)	30 - 48	x 0,9
Caseína (g/litro)	26 - 38	x 0,6
β -lactoglobulina (g/litro)	3 - 5	x 0,7
α -lactalbúmina (g/litro)	1 - 3	x 0,5
Seroalbúmina (g/litro)	0,08 - 0,3	x 50
Inmunoglobulinas (g/litro)	0,2 - 1,4	x 20
Lactosa (mM/litro)	130 - 155	x 0,7
Sodio (mM/litro)	12 - 25	x 1,8
Potasio (mM/litro)	30 - 45	x 0,8
Calcio (mM/litro)	28 - 40	x 0,4
Magnesio (mM/litro)	4 - 6	x 0,3
Cloruros (mM/litro)	25 - 35	x 1,6
Fosfato alcalino mU/ml)	119	x 5,7
Lisozima (μ g/litro)	130	x 30
N-acetil- β -D-glucosaminidasa(mU/ml)	0,012	x 5
Células somáticas (número/ml)	20.000-300.000	x 25

Fuente: Holmes y Wilson, 1989

En el cuadro 5 se indican algunos cambios de los producidos por la mastitis. Cada uno de ellos supone una respuesta por parte de la glándula mamaria a la infección. El aumento de células somáticas es una respuesta de los mecanismos de defensa del cuerpo para combatir la infección. Las células son arrastradas hasta la leche por sustancias químicas liberadas por las bacterias o por las células glandulares como respuesta a las bacterias. El aumento en los niveles de seroalbúmina y sodio, y el descenso en potasio y lactosa reflejan el deterioro del epitelio glandular. El cloruro sódico y las proteínas séricas se difunden a la luz del alvéolo, y el potasio la lactosa rebajan sus respectivas concentraciones. El aumento en la concentración de N-acetil- β -D-glucosaminidasa indica el daño producido en las células epiteliales y la liberación de su contenido. (Holmes y Wilson, 1989)

Otra enfermedad que puede sufrir el rodeo lechero es el síndrome del bajo contenido de grasa en la leche. Lo originan alimentos concentrados, forrajes finamente molidos, avena succulenta de primavera y raciones suplementadas con ciertas grasas insaturadas. El contenido de grasa puede ser menor al 2 % y aunque la producción de leche sea elevada, la producción total de grasa se reduce. Es un trastorno de origen metabólico cuyo mecanismo es el siguiente: se da una fermentación rápida, aumentan los AGV producidos en rumen, aumenta la concentración de propiónico en el líquido ruminal, se afecta la saturación aumentando los ácidos grasos *trans*, aumenta la glucosa, insulina y acetato en sangre, la partición de nutrientes se inclina hacia la asimilación; y se inhibe la captación de ácidos grasos de cadena larga y acetato en la glándula mamaria.

Los mayores niveles de insulina y glucosa en sangre aumentan la captación de glucosa en el tejido adiposo para proporcionar poder reductor (NADPH) y glicerol-3-fosfato, estimulando la síntesis de grasa y captación de acetato por el tejido adiposo. Al estimularse la deposición de grasa, hay baja disponibilidad de acetato, β -OH-butirato y ácidos grasos de cadena larga para la síntesis de grasa de la leche.

También es posible que a nivel de glándula mamaria se manifieste la inhibición de los *trans* insaturados de la captación de ácidos grasos de cadena larga o en la esterificación de ácidos grasos con el glicerol. La reducción del β -OH-butirato puede reducir la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria, por su papel como precursor. (Holmes y Wilson, 1989)

La cetosis es otra enfermedad de importancia, que se puede dar generalmente cuando el ganado está en su pico máximo de lactancia. Este síndrome se da por una acumulación excesiva de cuerpos cetónicos (acetona, acetoacetato y β -OH-butirato) en los tejidos debido a un trastorno en el metabolismo de los glúcidos o de los lípidos. Las concentraciones elevadas en sangre se denominan acetonemia, y si los niveles son lo suficientemente altos como para excretarse en la orina se denomina cetonuria. (Church y Pond, 1996)

La enfermedad se caracteriza por una hipoglicemia, escasez de glucógeno hepático, movilización elevada de lípidos del tejido adiposo, y aumento en la producción de cuerpos

cetónicos. Se da también un aumento en la degradación de proteínas tisulares para la obtención de energía, pérdida de peso corporal, disminución en la producción de leche y aborto en animales preñados. Se incrementa el consumo de agua por la pérdida excesiva de líquidos en la orina, acompañada por una pérdida importante de electrolitos. En los periodos donde hay una gran demanda fisiológica esta enfermedad es un problema práctico muy serio. El tratamiento consiste generalmente en la restauración de la concentración normal de glucosa en sangre mediante inyecciones intravenosas. (Church y Pond, 1996)

2.2.1.4. Estado de lactancia

Los contenidos de N total, caseína y NNP disminuyen rápidamente desde el parto hasta un mínimo entre la 5ª y 10ª semana de lactancia, seguido por un gradual incremento hacia el final de la misma. Durante los primeros dos meses de lactancia el porcentaje relativo de α -caseína disminuye, mientras que la β -caseína aumenta y la κ -caseína se mantiene inalterada (DePeters y Cant, 1992)

La composición de la grasa de la leche es también influenciada fuertemente por el estado de lactancia. La proporción de ácidos grasos de cadena corta es baja en la fase inicial y posteriormente aumenta hasta las 8 a 10 semanas de lactancia. Al inicio de la lactancia, las vacas presentan un balance energético negativo, causando movilización de tejido adiposo que aporta ácidos grasos de cadena larga a la leche (Palmquist y Beaulieu, 1993).

Por otra parte, los mayores niveles de ácidos grasos de cadena larga presentes en la glándula mamaria inhiben la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena corta en dicho tejido. En lactancia temprana los ácidos grasos de cadena corta están en menor proporción, con excepción del ácido butírico (C4). Posteriormente aumentan, llegando en la 8ª semana a más del 90 % de su proporción máxima. Este aumento es consistente con la ausencia de inhibición provocada por la movilización de tejido adiposo, la cual se da normalmente hasta la 4ª a 6ª semana. (Palmquist y Beaulieu, 1993).

La síntesis del C4 no es inhibida, lo que es consistente con que es el único que puede provenir de dos vías independientes de la inevitable vía de la acetil CoA-carboxilasa. Aproximadamente la mitad del butírico proviene directamente del β OH-butirato, y también es formado mediante una vía independiente de la malonil CoA carboxilasa (β -reducción), la condensación de unidades acetilo. (Palmquist y Beaulieu, 1993).

Otro punto importante a tener en cuenta es que la síntesis de ácidos grasos de cadena corta es inhibida en distinto grado, viéndose que aumenta la inhibición desde el C6 al C12. La mayor inhibición a medida que aumenta el largo de la cadena carbonada (de 6 a 12) es consistente con la condensación de unidades acetilo con un C4 preformado inicial. La

formación de C6 requiere la adición de acetilo vía malonil-CoA, lo que podría ser menos afectado que cadenas mas largas, que requieren más unidades de acetilo para formarse. Por otra parte, en lo que respecta al C14, los efectos de inhibición son menores porque en parte se origina de aportes provenientes de la dieta. (Palmquist y Beaulieu, 1993).

2.2.1.5. Número de partos y edad de la vaca

A medida que aumenta la edad del animal el porcentaje de grasa promedio tiende a disminuir levemente. También se nota una gradual disminución de los sólidos no grasos; el doble de la magnitud de la disminución en el porcentaje de grasa. Lactosa y caseína son los sólidos que más son afectados por el envejecimiento del animal.

A medida que aumenta el número de partos, disminuye el contenido de caseína de la leche. La disminución en proteína total no es tan grande porque hay un aumento en la fracción de nitrógeno no proteico de la leche. El contenido de proteína tiene un pico a los 3 años de edad de la vaca y luego disminuye al avanzar la edad; con reducción en la concentración de caseína y aumento de las proteínas de suero. Al avanzar la edad de la vaca se incrementa α s-caseína, disminuye β - caseína y k-caseína se mantiene constante. (DePeters y Cant, 1992)

2.2.1.6. Estado corporal de la vaca

El contenido de grasa de la leche aumenta con el estado del animal, estando afectada la respuesta por el nivel de alimentación al inicio de la lactancia. Las vacas con bajos niveles de alimentación movilizan mas reservas, lo cual tiene mas efectos sobre el contenido de grasa de la leche que con niveles superiores de alimentación. Los mejores estados al parto también originan pequeños aumentos en los contenidos de proteína y sólidos totales de la leche. (Holmes y Wilson, 1989)

2.2.1.7. Ingestión de nutrientes

Las vacas genéticamente superiores para producir leche presentan mayores niveles de consumo de alimento, lo mismo ocurre con las vacas con ubres mas grandes y/o mas productivas. Esto es una buena evidencia de que el mayor potencial de producción de leche determina un aumento del consumo. (Holmes, 1988 citado por Stephen , 1997)

Cuando el consumo y la producción de leche aumentan mediante selección genética o tratamientos con bST, se da un aumento en la eficiencia de conversión del alimento. Este efecto refleja principalmente el efecto de dilución de los costos de mantenimiento, mas que cualquier cambio en la eficiencia parcial de la utilización de la EM para mantenimiento y producción. (Bauman et al, 1985 citado por Stephen, 1997)

La ingestión de nutrientes aumenta las primeras 8-12 semanas de lactación, mientras que la producción de leche y grasa alcanzan un máximo entre las 3 y 6 semanas. Al principio, la movilización de reservas grasas permite que la producción de grasa láctea logre el máximo antes que la máxima ingesta de nutrientes. La movilización además proporciona energía que permite evitar la oxidación de la glucosa, por lo que la producción de lactosa y de leche aumentan más rápido que el aumento del consumo. Luego, parte de los nutrientes se destinan a la reposición de reservas; no está claro si el descenso en producción de leche se da por la reducción de la capacidad de la glándula para utilizar los nutrientes, o si el equilibrio hormonal del organismo cambia y hace que los nutrientes se destinen a otros tejidos. (Holmes y Wilson, 1989)

La restricción en la ingestión produce una reducción en la producción de leche, acompañada generalmente por un descenso en los contenidos de proteína y un aumento en el contenido de grasa. La disminución en la producción de leche se da por la menor disponibilidad de precursores necesarios para la síntesis de lactosa. La disminución en la proteína se produce en razón de que los aminoácidos son precursores de glucosa y de proteínas. Si se limita la ingestión, hay más desaminación, la cantidad de glucosa disponible para la síntesis de lactosa no se reduce tanto como los aminoácidos disponibles para la síntesis proteica. Como la síntesis de proteína disminuye más que la producción de leche, la producción de proteína desciende.

En relación a la grasa, al comienzo de la lactación parte de la grasa de la leche proviene de movilización de reservas corporales. Durante subalimentación esta movilización continúa o incluso se ve estimulada; por lo tanto respecto a la producción de leche el porcentaje de grasa puede verse incrementado. La restricción en la ingestión reduce la síntesis de grasa en el tejido adiposo mas intensamente que en la glándula mamaria. Si es muy fuerte, la movilización neta de ácidos grasos del tejido adiposo se estimula. En el momento del parto, la actividad de la lipasa lipoproteica del tejido adiposo está inhibida y la de la glándula mamaria se estimula; como consecuencia la glándula mamaria compite mas eficazmente que el tejido adiposo por los triglicéridos (Holmes y Wilson, 1989)

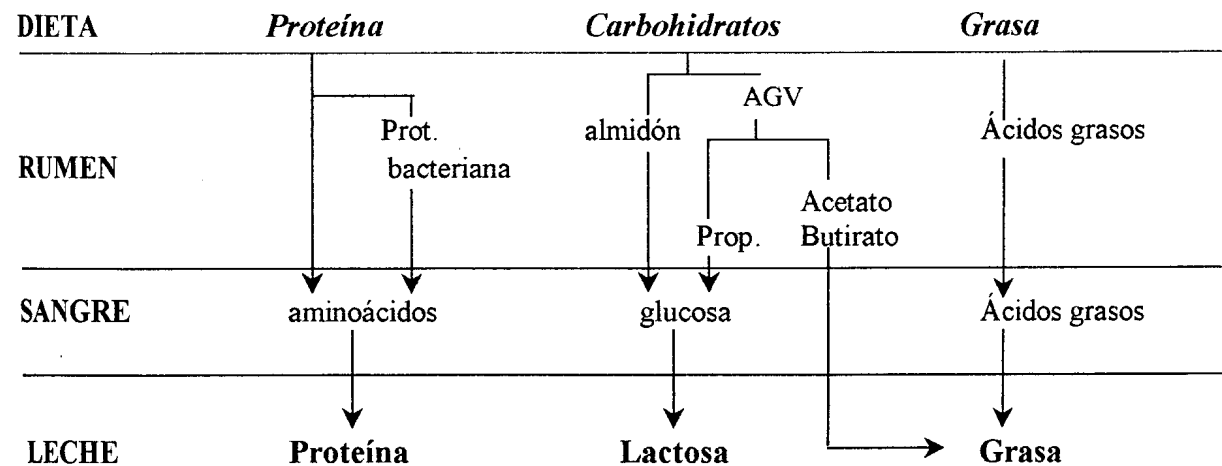
Desde el punto de vista hormonal, una restricción brusca en la ingestión da lugar a un descenso en los niveles de insulina en sangre y un aumento en los niveles de la hormona del crecimiento. A su vez esto genera un incremento en los contenidos de seroalbúmina y de inmunoglobulinas en leche, lo que sugiere que el mecanismo de transferencia del suero a la leche es independiente de otros mecanismos secretores. Dicho aumento tiene muy poco efecto en la proteína total.

La composición de la grasa de la leche es modificada en mayor medida por la cantidad y composición de la grasa de la dieta más que por cualquier otro componente de la misma. A la vez se vio que entre distintas estaciones y regiones hay diferencias en la composición de la leche, pero la causa más probable de esas diferencias son los distintos alimentos utilizados. (Palmquist y Bealieu, 1993)

2.2.2 FACTORES NUTRICIONALES

La nutrición es una de las formas más efectivas para alterar rápidamente la composición de la leche. El porcentaje de grasa, por ejemplo, puede reducirse en un 20% mediante manipulaciones de la dieta; reducciones mayores, si bien son posibles, comienzan a tener impacto en el largo plazo en la salud del animal. (Kennelly y Glimm, 1996)

En el siguiente diagrama se representa la transferencia de los principales componentes desde la dieta hasta la leche.



En lo que respecta a la proteína de la leche, la magnitud de los cambios en respuesta a variaciones en la dieta son mucho menores que los observados para los contenidos de grasa en leche (Sutton, 1989; McCrae, 1987; Kesler, 1964; citados por DePeters y Cant, 1992)

2.2.2.1. Factores nutricionales que afectan la síntesis y composición de la lactosa

De los tres componentes principales de la leche, la lactosa es el más difícil de manipular mediante la dieta, oscilando siempre alrededor de 5%. Es el constituyente osmótico más importante. Por este motivo, un aumento en la síntesis de lactosa en la glándula mamaria lleva a una mayor absorción de agua, aumentando así el volumen de leche producido. De la misma forma, una disminución en la síntesis de lactosa lleva a una disminución en el volumen de leche.

Como ya fue mencionado anteriormente, la lactosa deriva de la glucosa, la que a su vez se origina principalmente de gluconeogénesis (ej de propiónico), y en menor medida de glucosa absorbida como tal en el intestino delgado. Una parte importante del almidón consumido (aproximadamente 20%), principalmente el proveniente de granos, no es digerido en el rumen cuando su aporte es importante en el total de la dieta. Esto hace que cantidades importantes de glucosa proveniente del almidón de la dieta sea liberada en el intestino, lo que nos obliga a reevaluar la teoría de que la producción de leche está limitada por el aporte de precursores de lactosa. (Okine y Kennelly, 1994; citados por Kennelly y Glimm, 1998)

El intento de aumentar la producción de leche mediante la infusión de propionato y/o glucosa a generado resultados inesperados (Hurtaud et al, 1993). Se vio que la infusión de butirato disminuyó el % de lactosa sin afectar la producción de leche (Huhtanen, 1993) (citados por Kennelly y Glimm, 1998)

2.2.2.2. Factores nutricionales que afectan la síntesis y composición de las fracciones nitrogenadas de la leche

Cuando se analiza las variaciones en la proteína en leche, es importante distinguir entre respuestas que afectan el porcentaje de proteína y aquellas que afectan la producción de proteína. Las dietas inducen cambios en la producción y porcentaje de proteína en leche en distinta dirección, dependiendo por ejemplo del estado de lactancia. La distinción entre producción en cantidad y contenido en porcentaje es fundamental. (DePeters y Cant, 1992)

La leche normal tiene 76 - 86 % de caseína respecto al N total. (En la raza Holstein aproximadamente 80 %). Como la caseína es la principal proteína en la formación de la cuajada del queso, ese rango es demasiado amplio como para basar el precio de la leche en el N total. Por lo tanto, se necesita mas información respecto a la distribución de las diferentes fracciones nitrogenadas contenidas en la leche. (De Peters et al., 1989)

Es difícil categorizar las respuestas en el contenido de proteína según la composición de la dieta. Por ejemplo, el efecto de la relación forraje:concentrado no es independiente de la concentración de energía; los efectos son confusos. Aumentando el concentrado en la dieta resulta en un incremento en la concentración de energía. Al alterar la relación forraje:concentrado, tipo de cereal o método de procesamiento del alimento afecta la fermentación de los carbohidratos, lo que modifica los patrones de producción de AGV y el crecimiento microbiano.

De la misma forma, la concentración y degradabilidad de la proteína de la dieta podría afectar el crecimiento microbiano, la proporción de proteína microbiana respecto a la del alimento que llega al duodeno y el consumo de energía.

Finalmente, la grasa en la dieta podría afectar la fermentación ruminal de los carbohidratos estructurales y producción de proteína microbiana, dependiendo de la cantidad de grasa consumida y de su actividad a nivel de rumen. A continuación se presenta un breve desarrollo de los efectos antes mencionados.

2.2.2.2.1. Efectos del aporte de Energía Dietaria (no lípidos)

Cuando se incrementa el nivel de energía aportado en la ración para satisfacer las demandas de la vaca, la producción de leche y el porcentaje de proteína aumentan.

Los resultados obtenidos por DePeters et al (1989), coinciden con lo encontrado por otros autores. El contenido de proteína aumenta con el aumento de energía neta aportada cuando este incremento proviene de la inclusión de granos, mientras que con la inclusión de grasa para aumentar la energía neta, la respuesta es una disminución en el porcentaje de proteína en leche.

Al aumentar el aporte de concentrados almidonosos a la dieta, cuando la energía es limitante, provoca un aumento en la proteína de la leche. Esto está asociado al aumento de la producción de propionato, y quizás también al ahorro de aminoácidos, ya que al no necesitarlos como fuente de energía pueden destinarse a la síntesis de proteínas de la leche. Sin embargo la respuesta que se da no es muy consistente y cuando es positiva es de pequeña magnitud.

Sutton et al (1980) citados por DePeters y Cant (1992) observaron un incremento de 0,4% en la proteína de leche cuando la relación forraje:concentrado disminuyó de 40:60 a 10:90 con maíz como cereal, pero no ocurrió lo mismo cuando se aportó cebada. La fermentación del almidón de la cebada es mayor que la del maíz, lo que podría alterar la síntesis de proteína microbiana y producción de AGV. Sin embargo, no hay datos adecuados para evaluar el efecto del tipo de cereal en la composición de las proteínas de la leche.

➤ *Efectos sobre el NNP*

Las concentraciones de urea en leche y en sangre están correlacionadas positivamente, y la concentración de urea en leche incrementa cuando la relación proteína: energía de la dieta incrementa. Esta relación entre carbohidratos (energía), proteína y amonio en rumen se da porque la síntesis de proteína microbiana depende de la cantidad de carbohidratos fermentables disponibles. La disponibilidad de carbohidratos afecta la utilización del amonio por la población microbiana, así como la cantidad de N consumido que ingresa al pool de amonio vía degradación de aminoácidos. (DePeters y Cant, 1992)

2.2.2.2. Efectos del aporte de Proteína Dietaria

Se pensaba que la proteína de la dieta tenía una pequeña influencia sobre la proteína de la leche y solo cuando había restricción severa. (Thomas, 1980). Rook (1961) reportó que aumentando la concentración de proteína sobre los requerimientos no tiene efecto en la composición o producción de leche, excepto en el aumento de NNP. Investigaciones mas recientes sugieren que tanto el tipo como la cantidad de proteína en la dieta puede afectar el contenido de proteína de la leche (Thomas et al, 1987) (citados por DePeters y Cant, 1992)

En su revisión, Emery (1978) reportó que el contenido de proteína de la leche aumenta 0,2% por cada 1% de aumento en la PC de la dieta ($r = 0,59$). En contraste, Sporondly (1989) citado por DePeters y Cant (1992), observó una correlación no significativa entre contenido de proteína en leche y concentración de PC en la dieta ($r = 0,06$) pero la producción de proteína en leche y el porcentaje de PC en la dieta estaban correlacionados ($r = 0,37$). El consumo de PC estaba correlacionado positivamente con el contenido de proteína en leche ($r = 0,25$) y producción de proteína.

Sin embargo, cuando se quita el efecto de la energía se da una correlación negativa entre el consumo de proteína y el contenido de proteína en leche ($r = - 0,17$). Es difícil separar efectos cuando se superpone la proteína de la dieta con el aporte de energía.

➤ *Efectos sobre el NNP*

El NNP puede ser muy afectado por la dieta. En dietas altas en proteína degradable, el amonio que se acumula en el rumen es absorbido a través de la pared ruminal y es convertido en urea en el hígado. Esta urea pasa a la sangre, y a través de la glándula mamaria llega a la leche. Así, un exceso de urea en el rumen pasa a la leche, por lo que en los análisis debe identificarse claramente la concentración de las distintas fracciones

nitrogenadas. Es fundamental tener esto en cuenta en caso de que el precio de la leche esté influido por su composición de proteína, o al momento de seleccionar animales. (Kennelly, 1993)

El aumento de urea en sangre (BUN) dado por una disminución de la utilización microbiana del N no amoniacal (NAN) podría contribuir a los incrementos en el contenido de NNP en leche. BUN está relacionada ($r = 0,96$) al consumo de proteína y los cambios en BUN reflejan alteraciones en la concentración de amonio en rumen (DePeters y Cant, 1992).

2.2.2.2.3. Efectos del aporte de Proteína de sobrepaso

Las proteínas consumidas podrían ser utilizadas mas eficientemente para la producción de leche si una alta proporción es menos soluble en rumen. Esto podría permitir que se degraden mas lentamente o que pasen al tracto bajo sin ser digeridas.

Si los aminoácidos que llegan al intestino son limitantes, el aporte de proteína sobrepasante aumenta la producción de proteína y/o el porcentaje de proteína de la leche. Se ha visto que disminuir la tasa de degradación de la proteína a nivel ruminal lleva a un aumento en el porcentaje de proteína en leche, aunque el efecto es más notorio en producción total de leche y proteína (Robinson et al, 1992). Sin embargo, hay autores que manifiestan que no siempre alterar la degradabilidad de la proteína de la dieta a nivel ruminal lleva a aumentos en el porcentaje de proteína en leche, aunque a veces aumenta el NNP a costa de una menor producción de caseína y/o proteínas del suero. (Casper y Schingoethe, 1989)

El tratamiento con calor de granos y forrajes en general disminuye sustancialmente la solubilidad de la proteína y su degradabilidad en rumen. La degradabilidad de la proteína de semillas oleaginosas a nivel ruminal puede disminuirse mediante calor. Es muy importante la temperatura y el tiempo que se aplica, ya que con temperaturas mayores al óptimo puede sobreprotegerse la proteína al punto en que no es ni fermentada en rumen ni digerida en intestino. (Stern et al., 1985)

Vamos a prestar especial atención a los efectos obtenidos con el tratamiento térmico de las semillas de soja (SB).

La semilla de soja entera contiene 40 % PC y 17-20 % de grasa (National Research Council, 1989). La proteína es de alta calidad, y el alto contenido de grasa es atractivo por dar la posibilidad de aumentar la concentración de energía en la dieta de vacas de altos requerimientos, especialmente en lactancia temprana. (Chouinard et al., 1997)

Varios estudios han mostrado que el tratamiento térmico de la soja puede resultar en un significativo aumento de la producción de leche, cuando es consumida por vacas de alto potencial (Stern et al., 1985; Mielke y Schingoethe, 1981) Esto es consecuencia en parte del aumento de proteína que escapa a la degradación microbiana en rumen.

Según Dhiman et al (1997), el tratamiento térmico óptimo de la soja, resulta en un aumento de 1,5 kg/d de leche en promedio. Chouinard et al (1997) citan que en la literatura se registran aumentos de 1,4 kg/d de leche (promedio de 10 comparaciones) y 1 kg/d más de leche corregida por grasa (promedio de 11 comparaciones), cuando se evalúa la producción de vacas consumiendo soja tratada con calor vs. soja sin tratar.

En lo que respecta a la composición química de la soja, el tratamiento térmico disminuye la proporción de N soluble aproximadamente un 78 %, con variaciones menores entre los diferentes procesos. (Chouinard et al., 1997)

Estudios de Satter et al (1994) citados por Dhiman et al (2000) mostraron que el tratamiento con calor de la soja generalmente incrementa el contenido de proteína no degradable en rumen (RUP), por lo tanto el porcentaje de proteína sobrepasante en soja (como porcentaje de la proteína total) es mayor en soja tratada que en soja no tratada.

En un experimento realizado por Stern et al (1985) las vacas que consumían soja entera sin tratar tuvieron menor nivel de absorción de N no amoniacal en el intestino delgado, y menor digestión de N en el intestino grueso. Esa menor digestión posiblemente se atribuye a la mayor actividad de un inhibidor de la tripsina presente en la soja entera sin tratar, respecto a la soja tratada con calor. El tratamiento térmico no disminuye la digestión de la proteína en el intestino sino que la aumenta, posiblemente dado por la importante desnaturalización del factor antitripsina, efecto que es mencionado por varios autores.

Recientemente la calidad de la soja tratada en el mercado ha mejorado gracias a la disponibilidad de métodos de medición del grado de tratamiento aplicado, y su uso se ha incrementado rápidamente (Hsu y Satter (1995) citados por Dhiman et al., 1997)

Otra cuestión que queda por resolver es el tamaño de partícula óptimo; cuando es pequeño la proteína puede ser degradada mas rápidamente por la mayor superficie específica. Tice et al (1993) citados por Dhiman et al (1997) observaron en vacas fistuladas que cuanto menor es el tamaño de partícula de soja tratada térmicamente es mayor la degradación proteica en rumen, y menor la producción de leche.

2.2.2.2.4. Efectos de incluir en la dieta aminoácidos protegidos ruminalmente

A diferencia de lo que ocurre en la glándula mamaria, si el aporte de aminoácidos al intestino para su posterior absorción es inadecuado, esto sí es identificado como un factor limitante para la producción de leche y de proteína. (Karunanandaa et al., 1994)

El encapsulado de aminoácidos con polímeros hace que efectivamente traspasen el rumen. Se ha visto que el consumo de aminoácidos protegidos de la degradación ruminal (RPAA) aumenta la síntesis de proteína en leche de vacas Holando alimentadas en base a ensilaje de maíz y pasturas (Karunanandaa et al., 1994).

Las respuestas al consumo de aminoácidos individuales no son consistentes. En algunos estudios el consumo de metionina protegida incrementó la producción de leche, contenido y producción de proteína en leche, y se dio la misma respuesta con la infusión de metionina. En otros estudios la metionina protegida no afectó ni producción de leche ni contenido de proteína; sin embargo la concentración de metionina en plasma estaba elevada, lo que indicaría que estaba en exceso sobre los requerimientos y por eso no limitaba la síntesis de leche. (DePeters y Cant, 1992)

La suplementación con RPAA en un estudio de Karunanandaa et al (1994) no alteró la composición de la leche, pero elevó levemente la urea en sangre. Dicho aumento sugiere que los cambios en el metabolismo del N después de la absorción post-ruminal de los aminoácidos (con RPAA) fue dado por un aumento de la utilización de los mismos para gluconeogénesis, o los RPAA pueden haber causado un desbalance en el pool de aminoácidos, llevando a una mayor desaminación.

En otros estudios el consumo de RPAA incrementó α y β -caseínas, las que son proteínas fundamentales para la producción de queso, pero se dio una disminución de las κ -caseínas. Otros autores reportaron que RPAA agregados a dietas con suplementación grasa contrarresta la disminución de proteína en la leche asociada al aporte de grasa en la dieta (Karunanandaa et al, 1994). Una respuesta similar fue encontrada por Chow et al (1990). La mayoría de los estudios mencionados son en Holando.

En un estudio de Karunanandaa et al (1994), en vacas de raza Jersey, la composición de las fracciones de la caseína no se vieron alteradas por tratamientos con agregado de grasa en la dieta, RPAA o grasa + RPAA. La composición de la grasa de la leche sí fue alterada por el agregado de grasa en la dieta, pero no se modificó la respuesta al agregar RPAA.

Las respuestas son mas importantes cuando se aportan mezclas de aminoácidos o proteínas, mas que con el aporte post-ruminal de aminoácidos individuales (Clark, 1975; Schwab et al., 1976; citados por DePeters y Cant, 1992). Combinaciones de metionina y lisina

protegidas incrementan la producción y concentración de proteína en leche (Rogers et al., 1987 citados por DePeters y Cant, 1992). Sin embargo, esta respuesta es inconsistente. Por ejemplo, cuando se suministra metionina y lisina protegidas en dietas conteniendo soja, no afecta la producción ni contenido de proteína en leche. (Guillaume et al., 1989 citados por DePeters y Cant, 1992). Sin embargo cuando se suministran dichos aminoácidos protegidos en dietas conteniendo gluten de maíz y urea resulta en un incremento de producción de leche y de proteína (Rogers et al., 1989 citados por DePeters y Cant, 1992). Las diferencias en la respuesta al suministro de aminoácidos protegidos están dadas por la cantidad y proporción de dichos aminoácidos en la proteína digerida (microbiana y dietaria), que es absorbida en el intestino delgado.

En un experimento con dos niveles de PC suplementadas con metionina y lisina protegidas ruminalmente, el contenido de proteína total en leche y de caseína se vio incrementado; mientras que la urea en leche no se modificó. Esto sugiere que el aumento en la producción de proteína con aminoácidos protegidos se debe a un incremento en la síntesis de caseína. (Sloan et al., 1989 citados por DePeters y Cant, 1992).

Donkin et al (1989) reportaron un incremento similar en N total en leche y caseína acompañados por niveles constantes de NNP, con suplementación de metionina y lisina protegidas. La cantidad de caseína en este estudio era aproximadamente el 88 % del N total, lo que es elevado. Lo mas significativo es la observación de que α -caseína y β -caseína aumentaron, mientras que k-caseína disminuyó con aporte de metionina y lisina protegidas. Esta observación sugiere que la expresión genética de las variantes de la caseína están bajo diferente control. Si esto es así, tiene implicancias importantes en la alteración de dichas variantes en leche, y por consiguiente, en las propiedades para el procesamiento de esa leche. (DePeters y Cant, 1992).

2.2.2.2.5. Efectos de la Inclusión de Grasa en la Dieta

Suele agregarse grasa en la dieta de vacas lecheras de alto potencial de producción. Se agrega en distintas formas: semillas oleaginosas, grasa animal o vegetal; grasas especiales que aportan ácidos grasos saturados, insaturados o protegidos ruminalmente (grasas saponificadas con calcio).

La suplementación con grasa aumenta la concentración calórica de la ración, y potencialmente puede aumentar el consumo calórico de esas vacas. Se puede agregar hasta un 5% de grasa en la dieta sin afectar su digestibilidad, o la fermentación ruminal (Kincaid y Conrath, 1993).

La utilización de diversas fuentes de grasa en la dieta generalmente tiene implicancias en la concentración de proteína láctea. En la mayoría de los estudios que involucran la suplementación con grasa, se registró una pequeña pero consistente depresión en los porcentajes de proteína de la leche; varios investigadores plantean que disminuye el contenido de proteína de 0,1 a 0,2 %. (Canale et al., 1990; De Peters et al., 1992; Grummer et al., 1992,1993; Karunanandaa et al.,1994; Kennelly, 1993)

La disminución en el contenido de proteína tiene importancia económica, ya que el precio de la grasa de la leche continúa bajando mientras que el de los sólidos no grasos aumenta. (Karunanandaa et al., 1994)

En los casos en que la suplementación con lípidos aumentan la producción de leche, la producción de proteína puede mantenerse constante o incluso aumentar.

➤ *Efectos de la grasa dietaria sobre las sub-fracciones nitrogenadas*

Algunos autores coinciden en que la suplementación con grasa tiene un efecto negativo sobre la proteína total, el N total y el contenido de caseína en la leche, pero no siempre los cambios observados son estadísticamente significativos. (Kincaid y Conrath, 1993; De Peters et al, 1987) Respecto al NNP y las proteínas de suero, algunos autores sostienen que se incrementan sus proporciones al aportar en la dieta grasas protegidas. (Dunkley et al, 1977 citados por De Peters et al, 1989) Por otra parte, al aumentar el consumo de energía aumenta la producción de leche y la producción de caseína. En realidad, existen relativamente pocos estudios sobre la respuesta de la caseína en función de la dieta, pero principalmente de los mismos no surgen elementos que clarifiquen los mecanismos (De Peters et al, 1989)

En un experimento de De Peters et al (1989) las dietas con agregado de grasa disminuyen el porcentaje de caseína. Comparando las dietas sin grasa, aumentar la energía mediante concentrados (no lípidos) elevó la caseína de 0,386 % a 0,403 %. El contenido de proteína del suero también se redujo con el agregado de grasa, lo que podría reflejar una inhibición de la síntesis de proteínas como β -lactoglobulina y α -lactalbúmina en la glándula mamaria. El NNP fue mayor en la dieta con grasa. Cuando se agrega grasa en la dieta, el N aportado no es utilizado eficientemente por los microorganismos, ya que se reduce la energía disponible para el crecimiento microbiano, alterándose así la utilización del N. (DePeters et al., 1989)

La grasa dietaria incrementa el contenido de NNP en leche y también la proporción del N total que es representada por NNP. (Chow et al., 1990; DePeters et al., 1987, 1989). El efecto de la grasa en la concentración de amonio en rumen no está claro. La grasa a menudo

reemplaza una porción de los concentrados de la dieta. Como los ácidos grasos no constituyen energía disponible para la microflora ruminal, la relación proteína: energía de las dietas con grasas se incrementa. Sin embargo, el flujo de amonio al abomaso disminuye (Ikwegbu y Sutton, 1982) o no es afectado (Murphy et al., 1987; Sutton et al., 1983) por la suplementación con grasa. (citados por DePeters y Cant, 1992)

Veen y Bakker (1988) sugieren que la concentración de BUN es mas dependiente del catabolismo de las proteínas que de la producción de amonio en el rumen. El efecto de la grasa en la síntesis de urea en hígado de rumiantes no ha sido muy estudiado, pero podría estar implicado el catabolismo de los aminoácidos. (citados por DePeters y Cant, 1992)

Como se aprecia en los resultados anteriores existe inconsistencia en la información y no están claros los mecanismos. En realidad, hay pocos datos disponibles de dietas isoenergéticas.

➤ *Mecanismos propuestos para explicar la depresión de la proteína en leche inducida por la grasa dietaria*

Hay varias teorías que explican el efecto negativo de la suplementación con grasa sobre la proteína de la leche. Esto incluye la inhibición de la digestión de la fibra en el rumen, el costo asociado al transporte de la grasa a través de la pared intestinal, y la inhibición directa sobre la síntesis proteica en la glándula mamaria asociada con concentraciones mayores de ácidos grasos de cadena larga de la dieta. (Kennelly, 1993)

Casper y Schingoethe (1989) proponen que el aumento de concentración de ácidos grasos no esenciales en plasma de vacas consumiendo grasa suplementada podría resultar en una menor liberación de somatotropina por la pituitaria anterior. Ellos sugieren que la somatotropina y la insulina actúan sinérgicamente para controlar el ingreso de aminoácidos a la glándula mamaria. A su vez, que una reducción en la somatotropina sérica podría reducir la extracción de aminoácidos desde la sangre a la glándula, y por lo tanto la síntesis de proteínas de leche. (citados por DePeters y Cant, 1992)

Hart (1983), Brockman y Laarveld (1986), observaron un efecto de resistencia a insulina provocado por el suministro de bST a cabras en lactancia, indicando que una disminución en somatotropina sérica podría desviar los nutrientes hacia su utilización por los tejidos periféricos. Sin embargo, según DePeters y Cant (1992), dietas con grasa han mostrado un incremento de la resistencia a insulina y no una disminución, y no hay datos que prueben la hipótesis del sinergismo entre la insulina y la somatotropina en la regulación del ingreso de aminoácidos a la glándula mamaria. (citados por DePeters y Cant, 1992)

De Peters y Cant (1992) sugieren dos mecanismos para la disminución de proteína al agregar grasa. Uno es que dicho agregado hace que aumente la producción de leche en mayor proporción respecto a la producción de proteína. De esta forma hay un efecto de dilución que podría ser la causa de esa disminución. El aporte de grasa aumenta la síntesis de compuestos no nitrogenados en la glándula mamaria, pero no tiene efectos en la síntesis de proteínas.

El otro mecanismo que fue estudiado, sugiere que en vacas en lactancia el agregado de grasa reduce el flujo sanguíneo en la glándula mamaria y disminuye la concentración de aminoácidos en la sangre arterial. Para contrarrestar ese menor flujo, la glándula mamaria incrementa la extracción de componentes no nitrogenados, pero no aumenta la extracción de precursores de proteínas de la leche. Se da un aumento de la eficiencia energética de la síntesis de leche sin aumentar la extracción de aminoácidos por la glándula mamaria, resultando en la disminución del porcentaje de proteína en leche observado frecuentemente.

La glucosa es destinada a un incremento en la síntesis de lactosa, la cual, por su osmolaridad resulta en un incremento de la producción de leche. Una combinación de efectos de inhibición y estimulación sobre la utilización de aminoácidos en la glándula mamaria, resulta en un leve incremento de la producción de proteína. Por lo tanto, el efecto de la grasa dietaria es mucho mayor sobre los componentes no nitrogenados de la leche (lactosa y grasa) que sobre la proteína, dándose una disminución en el contenido proteico de la leche. Sin embargo, el efecto no debería ser atribuido a un "efecto de dilución", postura que es sustentada por estudios en los que no es afectada la producción de leche pero se da una disminución en el contenido de proteína de la leche (Bernard et al., 1988; DePeters y Palmquist, 1990; citados por De Peters y Cant, 1992)

En un experimento de Karunanandaa et al (1994), no hubo diferencias significativas en el flujo de aminoácidos a la glándula mamaria. Estos autores plantean que la disminución de proteína en leche como respuesta al agregado de grasa está explicada por otros factores y no por la supuesta limitante de aminoácidos en la glándula mamaria. Uno de esos factores podría ser una interacción de la grasa de la dieta con la extracción de aminoácidos a nivel de la glándula.

Luego de una serie de estudios, De Peters y Cant (1992), concluyen que no está claro si la grasa dietaria tiene efectos inhibitorios sobre la utilización de aminoácidos en la glándula mamaria. Se han visto resultados en donde el efecto es de estimulación (aumento de la eficiencia de transporte mamario de aminoácidos) y otros de inhibición (reducción de la concentración arterial de aminoácidos esenciales y MBF). El metabolismo intramamario del N no parece ser afectado por la grasa dietaria.

2.2.2.2.6. Aminoácidos limitantes en la producción de leche

El pasaje de aminoácidos de la sangre a la glándula mamaria es función del flujo de sangre por la glándula (MBF); también depende de la eficiencia de transporte y de la regulación de las vías metabólicas a nivel celular. Las estrategias nutricionales para aumentar la producción de proteína de leche deben apuntar a modificar esos parámetros. (DePeters y Cant, 1992)

Se han hecho varios experimentos con los perfiles de aminoácidos en plasma, para determinar cuales son limitantes para la producción de leche. Algunos autores sugieren que son metionina, lisina y valina. Otros determinaron como limitantes la treonina y metionina.

El aminoácido limitante para la producción de leche podría definirse como el que es suministrado en menor medida en relación a los requerimientos para síntesis de proteína. (DePeters y Cant, 1992). Aunque tedioso, un método para decifrar que aminoácido es mas limitante, es aumentar el aporte de cada uno por separado. Schwab et al (1976), realizaron experimentos aportando varias combinaciones de aminoácidos esenciales -vía infusión ruminal- en vacas consumiendo de 65 % a 84 % de sus requerimientos de PC. La secreción de N aumentó con lisina pero no con metionina; mientras que lisina más metionina indujeron una mayor respuesta. Algo importante que aportó el experimento fue que cuando se levanta una limitante, otro aminoácido se convierte en limitante para la glándula.

Clark, (1975) citado por DePeters y Cant (1992) propuso que la respuesta a la infusión de caseína post-ruminal podría ser causada por el aporte de aminoácidos limitantes, el aporte de sustrato gluconeogénico o cambios en el perfil hormonal en sangre. Hay datos que sugieren que no es mediante el aporte de energía que la caseína provoca esos cambios. Se observó también un incremento en la movilización de grasas, inducido por la caseína suministrada ruminalmente. Esta respuesta podría estar ligada a una mayor concentración de glucagón en sangre, la única hormona en que se reportaron cambios. Como la producción de leche no cambió en respuesta a la infusión de glucosa, y por el aumento del volumen de leche y la producción de proteína con la infusión de caseína, se concluye que dicha proteína actúa corrigiendo déficit de aminoácidos limitantes. (DePeters y Cant, 1992)

Con el mayor aporte de aminoácidos se incrementa la síntesis de α -lactalbúmina, proteína del suero. Esto afecta la producción de lactosa, ya que la α -lactalbúmina es parte del complejo lactosa-sintetasa en el tejido mamario. Como ya fue mencionado, la lactosa es el principal agente osmótico en la leche de vaca, y por lo tanto al aumentar la síntesis de lactosa se da un aumento en el volumen de leche producida y la concentración de lactosa permanece constante (DePeters y Cant, 1992)

Para la producción de proteína, sin duda el aporte de aminoácidos puede ser limitante bajo ciertas circunstancias (Orskov, 1977 citado por Stephen, 1997). Sin embargo, sin

restricciones de sustrato, el paso limitante en la producción de proteína no está definido. Podría ser la tasa de transcripción, o la tasa de traducción, o algún factor que afecte la estabilidad del ARNm.

Sumado a los pasos en la síntesis de leche, hay evidencias de que una fracción importante de la proteína sintetizada en la glándula mamaria (20 - 60 %) es degradada antes de la secreción (Bequette et al., 1996 citado por Stephen, 1997). La regulación de la degradación mamaria de la proteína es un área importante para posteriores estudios en relación a descubrir mecanismos para aumentar la producción de proteína en leche.

➤ *Efectos del agregado de grasa en la dieta*

Las conclusiones de Casper y Schingoethe (1989) citados por DePeters y Cant (1992) están basadas en mediciones de las concentraciones A-V en varios tratamientos con vacas consumiendo grasas. Los datos muestran una disminución de la concentración arterial de varios aminoácidos esenciales, incluyendo metionina y lisina. Las diferencias A-V de histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, treonina y valina también se reducen significativamente con el consumo de grasa; sin embargo, las diferencias A-V de metionina y lisina no fueron afectadas.

Según DePeters y Cant (1992) en vacas consumiendo grasas observaron un incremento en el porcentaje de extracción de aminoácidos esenciales del plasma por parte de la ubre. Esto podría mostrar que el mecanismo por el cual se reduce la extracción de aminoácidos por parte de la ubre no sería consecuencia de la inclusión de grasa en la dieta.

El aumento de la eficiencia del transporte de aminoácidos en la glándula mamaria con dietas altas en grasa aparece como contradictorio con la depresión en la concentración de proteína en leche observada. Sin embargo, el aumento en la diferencia A-V de aminoácidos esenciales es contrarrestado con una disminución del 7 % en el MBF, usando metionina como marcador.

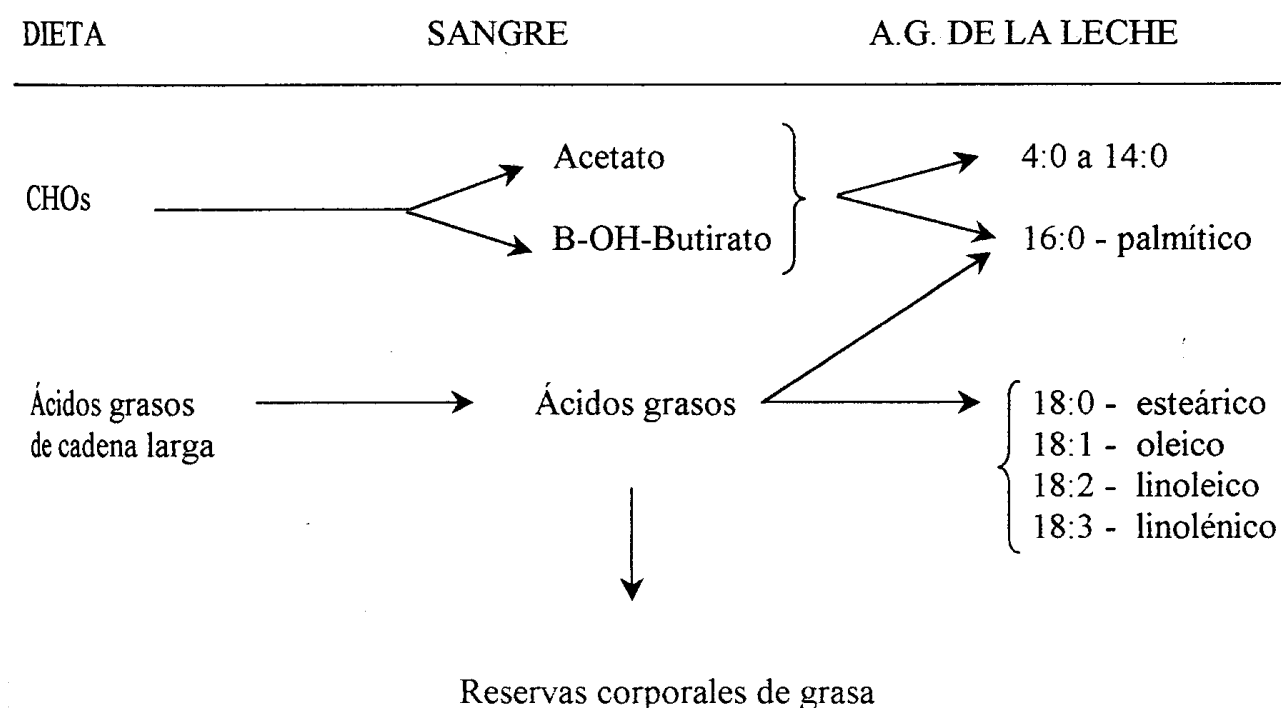
La tasa de MBF es el principal determinante del aporte de aminoácidos a la glándula mamaria, es importante considerar la relación entre la actividad metabólica de un órgano y el flujo de sangre. Aparentemente, con el consumo de grasa se requieren menores niveles de MBF para cubrir los requerimientos de energía para la síntesis de un determinado volumen de leche. Este concepto puede ser expresado numéricamente como litros de MBF por kg de leche, el cual se reduce de 538 a 472 l/kg leche, con dietas 0% de grasa vs. 4%. (DePeters y Cant, 1992)

2.2.2.3. Factores nutricionales que afectan la síntesis y composición de la grasa de la leche

De todos los componentes de la leche, la grasa es el más susceptible a ser manejado a través de la dieta, tanto en su concentración como en las proporciones relativas de los distintos ácidos grasos que la constituyen.

La imagen nutricional “no saludable” que tiene la grasa de la leche se debe a un balance de ácidos grasos menos deseable que lípidos de otro origen como el vegetal o de pescado. En particular, la grasa de la leche tiene mucho ácido palmítico (C16:0) y una menor concentración de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) 18:1, y poliinsaturados (PUFA) 18:2 y 18:3. La forma predominante en que se encuentran estos ácidos grasos es como triglicéridos (95-98%). El resto está constituido por fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos libres y monoglicéridos (Palmquist y Beaulieu, 1993). La composición de la grasa de la leche es influida tanto por los productos finales de fermentación, como por el suministro de ácidos grasos de la dieta que llegan a la glándula mamaria. En la Figura 2 se presenta en forma esquemática los pasos de síntesis de los diferentes ácidos grasos que componen la leche.

Figura 2. Biosíntesis de los ácidos grasos de la leche.



Los microorganismos del rumen convierten la mayoría de los carbohidratos de la dieta en ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales pasan a la sangre y se convierten en la principal fuente de energía para los rumiantes. Los AGV, principalmente el acético y el butírico, son importantes precursores de la grasa de la leche. Desde el punto de vista práctico, es claro que el porcentaje de grasa en la leche puede ser disminuido mediante la dieta, pero hay un gran número de factores que están en juego, y pueden moderar el impacto de los cambios en las dietas.

Algunos de los factores nutricionales que afectan la concentración de grasa de la leche son:

- Relación forraje:concentrado
- Tamaño de partícula ingerido
- Método de procesamiento
- Frecuencia de alimentación
- Manejo alimenticio
- Concentrados almidonosos vs. fibrosos
- Consumo de grasa en la dieta

El suministro de dietas con alta proporción de fibra provocan mayor producción de acetato, mientras que baja fibra promueve una fermentación que genera mayor proporción de propionato. El acetato es el principal precursor para la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria, y para mantener la composición de la grasa de la leche se requiere una fuente de fibra de alta digestibilidad.

El contenido mínimo de fibra en la dieta debe estar entre 19–21% de FDN y es importante considerar la relación fibra:concentrado. Cuando la relación FDN : almidón degradable en rumen es menor que 1 se da una fermentación ácida, y se forma mas propionato, que tiene el potencial de disminuir el contenido de grasa en leche (Ashes et al., 1997). Generalmente se da una depresión en el contenido de grasa en leche cuando la proporción de grano (almidón fermentescible) es mayor al 50% del consumo de MS.

El propionato es fundamental para muchas funciones metabólicas, como ser la síntesis de lactosa vía gluconeogénesis, y como fuente de energía para el metabolismo en su conjunto. Dietas con alta proporción de concentrado provocan una disminución en el pH ruminal, lo que afecta a las bacterias celulolíticas y favorece a las amilolíticas. Esto hace que se produzca mayor volumen de propionato, lo que lleva a un aumento de ácidos grasos de cadena con número impar de carbonos y ácidos grasos de cadena ramificada. (Kennelly, 1993)

Por otra parte, al aumentar la producción de propionato aumenta la concentración de glucosa en sangre. Como consecuencia, aumenta la concentración de insulina en sangre y el animal recibe señales metabólicas de exceso de energía, por lo que se promueve la asimilación de grasa para formar tejidos de reserva, aumentando la lipogénesis y disminuyendo la lipólisis. Esto produce una desviación de los AGV lipogénicos (acético y butírico) hacia la síntesis de tejidos, bajando su disponibilidad para la síntesis de grasa de la leche.

Existen evidencias claras de que el tamaño de partícula del concentrado afecta el porcentaje de grasa en la leche, por la alteración del nivel de fibra efectiva en la dieta. El efecto de la fibra efectiva es importante para asegurar condiciones ruminales óptimas para la flora celulolítica y para promover una adecuada motilidad ruminal. Al disminuir la fibra efectiva por debajo del nivel óptimo, se da una disminución del porcentaje de grasa en la leche. La clave para quienes usen esta herramienta para bajar el porcentaje de grasa es no llegar al punto en que la vaca sufra alteraciones metabólicas importantes. (Kennelly, 1993)

El método de procesamiento del grano influye en la tasa de digestión y la digestibilidad total del almidón, lo que afecta el porcentaje de grasa mediante cambios en las concentraciones de los AGV producidos a nivel ruminal.

Los métodos utilizados incluyen procesos secos (molienda, quebrado, extrusión, tostado, reventado, micronización -por infrarrojo-) y húmedos (remojado, prensado al vapor, cocido, ensilaje) (Church y Pond, 1996). Se producen cambios que pueden manifestarse en un incremento de las concentraciones de carbohidratos no degradables en rumen, que llegan al intestino delgado para ser absorbidos en forma de glucosa, incrementando la eficiencia energética entre un 11 y 30 %. Cuando se degradan en rumen cambian las relaciones molares de AGV a favor del propiónico, mejorando la utilización de la energía por parte del animal (ahorro de pérdidas por calor a nivel de fermentación ruminal y menores pérdidas como metano). (Ustarroz y De León, 1999)

Deben tenerse en cuenta las necesidades de energía fermentescible a nivel ruminal para la utilización del N dietario por parte de las bacterias, lo cual es un aporte de proteína fundamental para cubrir los requerimientos del animal. (Ustarroz y De León, 1999)

En cuanto a la frecuencia de alimentación, cuando disminuye la frecuencia y particularmente cuando se aportan por separado el concentrado y el forraje, resultan en una menor relación acético:propiónico, lo que tiende a disminuir el porcentaje de grasa. El impacto de la frecuencia de alimentación a su vez es afectado por el nivel de concentrado, consumo, etapa de lactancia, y por el porcentaje de grasa promedio del rodeo.

Respecto al tipo de concentrado consumido, los de tipo almidonoso provocan mayor producción de propionato que los fibrosos (ej. pulpa de remolacha). Como consecuencia de una relación acetato : propionato mayor cuando se consumen concentrados fibrosos, se produce un aumento en el porcentaje de grasa de la leche.

El aporte directo de grasa de la dieta tiene efectos sobre el porcentaje de grasa de la leche. Generalmente hay una tendencia a que aumente el porcentaje de grasa en la leche al aportar grasa en la dieta. Sin embargo, en ocasiones no hay cambios, o incluso se da una disminución del porcentaje de grasa en la leche. El factor en juego es la naturaleza de la grasa; lípidos protegidos tienden a aumentar el porcentaje de grasa, mientras que grasas susceptibles a la digestión en el rumen provocan una disminución de la grasa en la leche, como consecuencia de verse afectada la digestión de la fibra.

➤ *Metabolismo de los lípidos a nivel ruminal*

El aporte de grasa en la dieta afecta la digestión de otros componentes, reduciendo la producción de metano, hidrógeno, AGV y la relación acético/propiónico. Fundamentalmente sus efectos son sobre la digestibilidad de la fibra y medianamente sobre la digestión de proteínas.; (Boggs et al., 1987, Chalupa et al., 1987, Clapperton, 1984 y Sutton, 1982 citados por Jenkins, 1993; Palmquist 1984, 1993 y Tasket 1996 citados por Ashes et al., 1997)

Se han planteado diferentes hipótesis sobre el mecanismo de inhibición. Por un lado un efecto físico de recubrimiento, que impide el acceso al sustrato. Por otra parte efectos antimicrobianos directos, que pueden ser por reducción de la flora celulolítica, causada por disminución de la disponibilidad de calcio o por efectos citotóxicos directos de los ácidos grasos. (Jenkins, 1993, Reddy et al., 1994)

Los factores que intervienen en los efectos antimicrobianos radican en el grupo funcional, el grado de insaturación, la formación de sales de calcio, la asociación del ácido graso con la superficie de microorganismos o las partículas a digerir, y la acción directa en las membranas celulares (desacoplar la fosforilación oxidativa). (Jenkins, 1993)

Los lípidos en el rumen son hidrolizados rápidamente, y luego los ácidos grasos liberados sufren un proceso de hidrogenación. Factores como la dieta basal, solubilidad del calcio, saturación y largo de la cadena de ácidos grasos inciden en la lipólisis y biohidrogenación. (Palmquist et al., 1991; Jenkins y Palmquist, 1982)

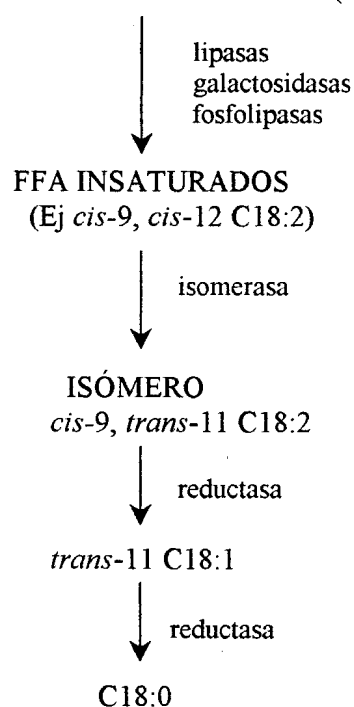
Según la forma en que son aportados los ácidos grasos, la velocidad de liberación de los mismos es diferente. Por ejemplo la liberación de los ácidos grasos es menor en soja entera (SB) que en aceite de soja, porque en SB los ácidos grasos están localizados intracelularmente, y los microorganismos del rumen deben digerir la pared celular antes de que el aceite sea liberado. El tratamiento con calor de las semillas de soja podría aliviar los efectos inhibitorios de la grasa en la digestión de la fibra, reduciendo la disponibilidad de

grupos carboxilo libres, los que están asociados a una disminución en la digestibilidad de la fibra (Reddy et al., 1994)

El proceso de biohidrogenación comienza con una isomerización. La isomerasa no es funcional a menos que el ácido graso tenga un grupo carboxilo libre, lo que hace que la lipólisis sea un pre-requisito. El glicerol es rápidamente fermentado, produciendo principalmente propiónico como producto final. (Jenkins, 1993)

En el siguiente esquema se presenta el proceso:

LÍPIDOS ESTERIFICADOS (de origen vegetal)



El grado en que los ácidos grasos insaturados de la dieta escapan a la biohidrogenación depende de las condiciones de crecimiento microbiano. Consumiendo grano, por ejemplo, disminuye la biohidrogenación ruminal y promueve el aumento de insaturación en la grasa de la carcasa y en la leche. Este efecto es atribuido a la menor lipólisis, resultante de los bajos niveles de pH en rumen. Algunos autores reportaron una disminución en la lipólisis e hidrogenación causado por bajos niveles de N en la dieta, pequeño tamaño de partícula y mayor estado de madurez del forraje. (Jenkins, 1993)

La forma mas usada para lograr un mayor pasaje de ácidos grasos insaturados al duodeno es la adición de lípidos protegidos en la dieta; la forma mas notable es a través de la

encapsulación con proteínas tratadas con aldehído. Esta tecnología ha demostrado un importante aumento de la absorción de ácidos grasos insaturados en rumiantes, con el correspondiente aumento de instauración en leche y carne.

Aunque se continúan probando los beneficios y efectividad de las grasas tratadas con formaldehído (Ashes et al., 1992 citado por Jenkins, 1993) hay otras estrategias frecuentemente analizadas. Una de ellas es por ejemplo la adición de semillas oleaginosas, pero los resultados son variables.

La magnitud de los cambios en la composición como consecuencia de la nutrición es afectada por el grado de protección de las grasas aportadas por la dieta. Cuando la protección aumenta, disminuyen los efectos deletéreos de los ácidos grasos en la actividad microbiana y se reduce la biohidrogenación de los C18 insaturados. Cuando las vacas consumen semillas oleaginosas con más del 75% de protección, cambia la proporción saturados/insaturados, y aumenta el contenido de grasa en la leche. (Ashes et al., 1997)

2.2.2.3.1. Efectos de la Grasa Dietaria en la composición de la grasa de la leche

El agregado de grasa en la dieta disminuye el porcentaje de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y aumenta el porcentaje de ácidos grasos de cadena larga (LCFA) en leche, como se ha visto en varios estudios con vacas de la raza Holando. (Canale et al, 1990; Chow et al, 1990; citados por Karunanandaa et al, 1994)

Los resultados de estos estudios coinciden en cuanto a que el porcentaje de LCFA aumenta a expensas de la disminución de SCFA, ya que las proporciones son muy similares. A modo de ejemplo, en dicho estudio los LCFA aumentan 4,81% y los SCFA disminuyen 4,76% (Karunanandaa et al., 1994). Esto a la vez coincide con los resultados de Cant et al. (1993), quienes encontraron que la grasa en la dieta hace que se vea disminuida la síntesis *de novo* en la glándula mamaria a partir de acetato.

Capperton y Banks (1985), citados por Palmquist et al. (1993), concluyeron que más del 80% de la inhibición de la síntesis *de novo* que ocurre cuando se consume grasa, está dada por efectos específicos en la glándula mamaria, y es mediado por el aumento de la concentración de ácidos grasos de cadena larga. Ellos atribuyen el 20 % de la disminución a una reducción de formación de AGV en rumen.

De acuerdo a Banks et al (1990), citado por Karunanandaa et al (1994), el *trans*-C18:1 proveniente de la grasa de la dieta es un potente inhibidor de la síntesis *de novo* de los ácidos grasos en la glándula mamaria bovina y explica el 25 % de la variación en el porcentaje de grasa en la leche de vaca.

La síntesis de ácidos grasos a partir de acetato es reducida por la inhibición que ejercen los ácidos grasos de cadena larga presentes en sangre. Esto determina una mayor disponibilidad de acetato para la oxidación, sustrato fundamental para el metabolismo de los rumiantes (Baldwin et al., 1985 citados por DePeters y Cant, 1992) y de glucosa para la síntesis de lactosa.

➤ *Suplementación con ácidos grasos de cadena larga*

El balance entre la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena corta y media, los ácidos grasos de cadena larga provenientes de la dieta y de la microflora ruminal, puede ser alterado manejando la dieta del animal.

De acuerdo a lo planteado por Kennelly y Glimm (1998), el grado en que la grasa de la dieta altera la composición de la grasa de la leche es influido por diferentes factores:

- la composición de ácidos grasos presentes en la dieta
- el grado de hidrólisis e hidrogenación de los ácidos grasos insaturados por los microorganismos del rumen
- el impacto de los ácidos grasos de la dieta en la síntesis *de novo* de los ácidos grasos de cadena corta en la glándula mamaria
- el grado de conversión de los ácidos grasos saturados a MUFA (principalmente C18:0 a C18:1) como resultado de las desaturasas presentes en el intestino y la glándula mamaria

Los ácidos grasos *trans* pueden tener efectos en la depresión de la síntesis de grasa en leche, mientras que los C16:0 estimulan la síntesis de ácidos grasos de cadena corta. (Selner y Schultz, 1980; Hansen y Knudsen, 1987; citados por Palmquist et al, 1993)

El ácido esteárico (C 18:0) es el principal ácido graso que llega al intestino, pero también sobrepasan el rumen algunos ácidos grasos insaturados. Sumado a la presencia de desaturasas en tejido adiposo y glándula mamaria, les permite a los rumiantes preservar la fluidez de la grasa de la leche. Las modificaciones en la fuentes de grasas aportadas en la dieta, deben ser en base a lograr mayores niveles de insaturación en duodeno (Jenkins, 1993). Los lípidos suplementados además deben contener un perfil de ácidos grasos que conceda a la grasa de la leche una composición determinada, que satisfaga las demandas nutricionales de los consumidores, y que aporte las propiedades físico-químicas que se requieren para la industria (Ashes et al., 1997).

En el proceso de biohidrogenación que se da en el rumen se presenta la producción de Ácido Linoleico Conjugado (CLA), que es buscado como producto por sus acciones benéficas sobre la salud. Diferentes autores (Dhiman et al, 1999, 2000; Chouinard et al, 2001; Morales et al, 2000) han establecido mecanismos por los cuales puede incrementarse el contenido de CLA. Los contenidos de CLA promedio en leche varían entre 0,3 y 0,6 % del total de los ácidos grasos (De 3 a 5,5 mg de CLA / g de grasa).

Se ha demostrado que en rumiantes consumiendo pasturas los contenidos de CLA en leche son mayores que en los que consumen dietas suplementadas con cereales. Estos investigadores manifiestan que vacas consumiendo solamente pasturas (alfalfa en pastoreo directo) produjeron 500 % más CLA en la grasa de la leche que vacas consumiendo dietas típicas (TMR con forraje : concentrado en relación 50:50). (Dhiman et al., 1999)

En un estudio de Kelly citado por Dhiman et al (2000), consumiendo 5,3 % de aceite se dio un aumento de CLA en leche del 500 %, pero a la vez el contenido de grasa de la leche pasó de 3,38 a 2,25 %. Consumiendo soja quebrada tratada con calor se duplica el contenido de CLA (aumenta 97 %) sin alterar la normal composición de la leche.

El CLA en la grasa de rumiantes se origina también de otra fuente, la síntesis endógena de CLA en los tejidos del cuerpo. La enzima que cataliza dicha síntesis es la estearil CoA desaturasa y el sustrato es *trans-11*-C18:1, otro intermediario que escapa a la biohidrogenación. (Griinari et al.1999, 2000, citados por Chouinard et al, 2001). Esta enzima está activa en la mucosa intestinal, el tejido adiposo y la glándula mamaria de vacas en lactancia. Su actividad es una importante compensación a la biohidrogenación en rumen.

El mayor contenido de CLA y menor *trans*-C18:1 en leche de vacas Holando consumiendo soja tratada es consistente con la aparente mayor actividad de la estearil CoA desaturasa en Holando que en Jersey. Esta enzima hace que el *trans-11*-C18:1 pueda ser desaturado, transformándose en CLA.(Corl et al, 1998 citado por Morales et al., 2000)

2.2.2.3.2. Efectos de la inclusión de semillas oleaginosas

Varios estudios realizados en la Universidad de Alberta que analizan la inclusión de semillas oleaginosas en la dieta para alterar la composición de la grasa de la leche, han obtenido resultados interesantes. Suministrando canola y lino se ha logrado producir leche con menor concentración de C16:0 y mayor concentración de C18:0, C18:1, C18:2 y C18:3, lo que se considera mas deseable en lo que respecta a la salud humana.

Los primeros estudios incluían la semilla de canola entera. Debido a su pequeño tamaño y su cáscara fibrosa, una importante proporción de la grasa de la canola escapa a la digestión

tanto en rumen como en intestino; sin embargo se observaron efectos significativos en la composición de la grasa de la leche. A niveles altos de esta dieta surgieron efectos negativos importantes en la digestión ruminal. Para superar estos efectos negativos se buscó una mayor protección contra la saturación en rumen, tratando la canola con un sistema que utiliza calor seco. Esto dio resultado, superando los efectos negativos de la canola sin tratar. (Kennelly y Glimm, 1998).

Un experimento realizado por Korasani et al (1991), sometió a la canola a un tratamiento con calor, mediante un proceso controlado que permite alcanzar la temperatura deseada en el interior de la semilla. Utilizando este suplemento, se logró una importante disminución de los C16 y un aumento de los C18, pasando la relación C16:C18 de 1,15 a 0,32. Los ácidos grasos C18 (totales) aumentan de 30,8 a 51,7 %. Con esta fuente no hay mucho efecto en la concentración de C18:2 y C18:3, indicando que se da una importante hidrogenación en el rumen. Sin embargo, la reducción de C16:0 y el aumento de C18:1 hace que sea un suplemento lipídico muy importante, en cuanto a que mejora la calidad nutricional de la leche para los humanos.

Por otra parte se han realizado estudios con semillas de lino, las que contienen más de 40% de grasa y 20% de proteína. Se le presta bastante atención, por su concentración de omega-3 (C18:3), un ácido graso esencial que no puede ser sintetizado por los humanos. Podemos considerar a éstas semillas como una fuente ideal para incluir en la dieta de vacas lecheras, apuntando a producir leche con una composición de ácidos grasos mas saludable desde la perspectiva del consumidor.

También ha sido muy estudiada la semilla de soja entera (SB) como fuente de proteína, y los efectos de tratamientos térmicos como forma de aumentar la proporción de proteína no degradable en rumen. (Block, 1981; Leonard, 1988; Mielke, 1981; Stern, 1985; Van Dijk, 1983 citados por Chouinard et al., 1997). Sin embargo se ha prestado poca atención al efecto del tratamiento con calor de la SB en la composición de los ácidos grasos presentes en la grasa de la leche.

Se conoce desde hace tiempo el efecto del procesamiento con calor en el enlentecimiento de la liberación de los ácidos grasos, y los subsecuentes efectos en la digestión de la fibra. El tratamiento térmico (roasting) de la soja, seguido de un humedecimiento a altas temperaturas, afectaría la liberación de los ácidos grasos, mediante la formación de peróxidos de ácidos grasos insaturados con grupos amino de proteínas. (Reddy et al., 1994)

La relativamente alta concentración de *trans*-11 C18:1 en vacas consumiendo soja tratada podría ser responsable de la disminución de la proporción de ácidos grasos saturados de cadena corta y media (8C a 16C) en leche. Esto indicaría que hay una menor síntesis *de novo* en la glándula mamaria. La concentración de *trans*-11 C18:1 efectivamente inhibe dicha síntesis. (Chouinard et al., 1997) La concentración de C18:2 es mayor en leche de vacas que consumen semillas tratadas con calor respecto a las mismas semillas pero

enteras. A su vez es menor la lipólisis ruminal de los triglicéridos de la dieta; como resultado hay mas ácidos grasos esterificados, y por lo tanto menor biohidrogenación completa de los PUFA.

Consumiendo grasa adicional en forma de soja tratada con calor (a 146° C) no se afecta la producción de leche, el problema es cuando se agregan grasas poliinsaturadas en forma libre, lo que tiende a disminuir el porcentaje de grasa en la leche (Selner et al, 1980), mientras que la suplementación con semillas oleaginosas mantiene o aumenta el contenido de grasa (DePeters et al., 1985; Mohamed et al., 1988) (citados por Dhiman et al, 2000)

El aporte de grasas mediante semillas oleaginosas reduce las proporciones de ácidos grasos de cadena media (C12:0, C14:0, C16:0), siendo esta disminución proporcional a la cantidad de grasa aportada por la dieta. A su vez, la disminución es mayor si se consume la soja tratada. La disminución es mayor en C16:0 respecto a C12:0 y C14:0. En un experimento de Dhiman la proporción de C16:0 disminuyó un 29 %, en otros estudios (con soja tratada) la disminución fue del 27 %. Un aumento en el aporte de ácidos grasos de cadena larga en la dieta aumentan su secreción en leche, e inhiben la síntesis *de novo* de los ácidos grasos de cadena media en la glándula mamaria; como resultado la leche producida tiene menos ácidos grasos de cadena media. (Dhiman et al, 2000)

Las proporciones de C18:0, C18:1 y C18:2 aumentaron cuando la grasa suplementada fue mediante semillas oleaginosas. Los valores medios fueron 41%, 43% y 65% respectivamente. Incrementos en el contenido de C18:1 en la grasa de la leche se obtienen dando lípidos ricos en ácidos grasos de 18 C insaturados.

Aportando la grasa en forma de semillas oleaginosas, se libera lentamente en el rumen, teniendo menos posibilidades de biohidrogenarse. Esto hace que haya mas ácidos grasos insaturados disponibles a nivel de intestino para su posterior absorción. Se da de esta forma una mayor eficiencia de transferencia de la dieta a la grasa de la leche, aumentando el C18:2 en la leche.

Dhiman et al (2000) mostraron que se da una reducción en el contenido de grasa en la leche cuando se consumen dietas ricas en ácidos grasos libres, lo que es mencionado también por otros investigadores.

En un experimento de Reddy et al, (1994) se compara la velocidad de liberación de los ácidos grasos desde aceite de soja soja “extrusada” (ESB), soja entera y soja tratada con calor, incubando el sustrato con contenido ruminal extraído de vacas Holando fistuladas consumiendo maíz quebrado y RSB (roasted SB). Obviamente la mayor velocidad es de aceite de soja y luego de ESB, ya que el proceso de extrusión rompe las membranas celulares y aumenta la disponibilidad del aceite para la fermentación microbiana.

La relativamente menor liberación del aceite desde la soja entera y la soja tratada térmicamente puede ser atribuida a diversos factores:

- Localización intracelular del aceite
- Cambios químicos que tienen lugar durante el tratamiento con calor
- Reducción de la digestibilidad de la MS después del tratamiento con calor

La relativamente menor liberación de los ácidos grasos en la soja tratada y los cambios químicos que sufren dichos ácidos grasos insaturados durante el tratamiento, podrían prevenir los altos niveles de biohidrogenación, porque las bacterias del rumen requieren de un grupo carboxilo libre para biohidrogenar un ácido graso insaturado. En el experimento de Reddy et al (1994) la biohidrogenación del C18:1 fue menor para la soja tratada con calor, media para ESB y mayor para soja entera sin tratar y dietas control (SB meal y aceite de soja)

En un experimento de Morales, Palmquist y Weiss (2000), se comparan los efectos de distintas fuentes de grasa; soja tratada con calor o sebo en los ácidos grasos en sangre y en leche de vacas Holando y Jersey. Cuando se consume soja se observó con considerable interés una mayor concentración de ácidos grasos de cadena corta en leche. La mayor proporción de ácidos grasos sintetizados *de novo* podría ser explicado parcialmente por la menor cantidad de *trans*-C18:1 en leche de vacas consumiendo soja respecto a las que consumían sebo; sin embargo las diferencias no parecerían ser suficientes como para explicar este efecto en la síntesis *de novo*.

Cuando se consume soja, hay una menor relación *cis* C18:1 / C18:0, y menor proporción de *trans*-C18:1 en plasma, lo que sugiere que la biohidrogenación ruminal es mayor, en relación al sebo. Esto podría darse si el aceite es liberado lentamente desde la semilla oleaginosa. El tratamiento con calor de la soja presumiblemente podría causar una menor degradación de las proteínas de la membrana que recubren la grasa, asegurando una mas lenta liberación de la misma. Esto permitiría que tenga lugar una mas completa biohidrogenación.

Sin embargo, hay aumentos significativos en C18:2 y C18:3 en leche cuando se consume soja tratada respecto al consumo de grasa de origen animal (Mielke, 1981; Tice et al., 1994; citados por Morales et al., 2000) lo que sugiere que una parte de los ácidos grasos estén protegidos contra la biohidrogenación. Lo que probablemente se da es que esa menor liberación permite que parte de los ácidos grasos de la soja pasen por el rumen sin ser liberados de la semilla.

En dietas con soja, el ácido graso predominante es el C18:2, seguido por el *cis*-C18:1 y C16:0. El C18:2 y el CLA, ambos intermedios en la biohidrogenación, son mayores en

TAG (triacylglicéridos) del plasma cuando la dieta incluye soja. Usualmente, las concentraciones de CLA en leche tiene alta correlación con la concentración de *trans*- C18:1 (Precht et al., 1997, citado por Morales et al., 2000)

La menor cantidad de C16:0 aportado por la soja se refleja en la menor cantidad de dicho ácido graso en leche, aunque respecto a la grasa de origen animal, las diferencias parecen ser mayores que las dadas por la dieta. Posiblemente las diferencias en el C16:0 aportado por la dieta también afecten la síntesis *de novo*. Mayores cantidades de ácidos grasos insaturados en la glándula mamaria podrían inhibir la síntesis del C16:0 (LaCount et al., 1994, citado por Morales et al., 2000)

El aumento de C18:2 en vacas consumiendo soja fue de 136 % respecto a las que consumieron sebo. Estos autores estiman una biohidrogenación del C18:2 en SB mayor al 80 %, similar a la reportada para otras fuentes de grasas insaturadas (Murphy et al., 1987, Wu et al., 1991) La mayor cantidad de C18:2 reportada en leche cuando se consume soja entera podría estar explicada por la mas lenta liberación de las grandes cantidades de C18:2 aportadas (Mielke et al., 1981; Murphy et al., 1990; Tice et al., 1994) (citados por Morales et al., 2000)

Aunque la biohidrogenación de la soja tratada es muy eficiente, con una pequeña acumulación de intermediarios parcialmente hidrogenados, el consumo de soja aumenta C18:2 y C18:3 en leche, lo que aumenta el potencial de desarrollo de sabores oxidados. (Timmons, 1999, citado por Morales et al., 2000).

La relación inversa entre la proporción de ácidos grasos de cadena corta y media (C4-C14) y la relación C18:1/C18:0 observada en el estudio de Morales et al.(2000), indica que la desaturación del C18:0 se da en mayor o menor medida según la cantidad de ácidos grasos de cadena corta presentes en los tejidos de la glándula mamaria.

Comparando la composición de TAG en plasma con la grasa de la leche, tenemos un indicador útil de la biohidrogenación ruminal y la desaturación en la glándula mamaria.

La influencia de las semillas oleaginosas en la calidad de los productos y su procesamiento, depende de cuánto se haya alterado la composición de la grasa, especialmente en lo que respecta al linoleico (C 18:2) y linolénico (C18:3).

Cuando se da un aumento de ácidos grasos poliinsaturados, particularmente el C18:3, la leche se vuelve muy susceptible a la oxidación. Para controlar dicha oxidación pueden tomarse diferentes medidas:

- Incluir en la dieta de las vacas suplementación con alfa-tocoferol (vitamina E).
- Agregar antioxidantes directamente a la leche.

- Modificar los sistemas de procesamiento para la producción de manteca, quesos y otros productos lácteos.

Recientemente se ha propuesto y experimentado con buenos resultados el incremento de los niveles de alfa-tocoferol en la leche mediante suplementación o a través de inyecciones intramusculares. Este incremento condujo a una reducción en la presencia de sabores rancios en la leche. Sin embargo, la eficiencia de transferencia del alfa-tocoferol a la leche es solamente de alrededor del 5%. (Charmley et al, 1993 citados por Kennelly y Glimm, 1998).

Stegeman et al (1992), evaluaron la influencia de la suplementación con semillas de girasol (10% MS) en la composición de la leche y la manteca. Los ácidos grasos insaturados en leche aumentaron de 25 % (control) a 39,6 % para vacas suplementadas con girasol. Principalmente aumentó el ácido oleico (C18:1), acompañado de una disminución del palmítico (C16:0). (Kennelly y Glimm, 1998)

Según un panel de control, la calidad de la leche de vacas suplementadas con semillas oleaginosas es igual o superior que la de las vacas control. (Stegeman et al, 1992) El sabor y procesamiento de la manteca con altos niveles de C18:1 fue considerado aceptable. Según la bibliografía puede obtenerse leche y productos lácteos con altos niveles de C18:2 y C18:3 de calidad aceptable. Sin embargo, hay datos que muestran que con altos contenidos de ácidos grasos insaturados los productos pueden tener menor tiempo de conservación, y requieren modificaciones en la elaboración de queso y manteca. (Kennelly y Glimm, 1998)

2.2.2.3.3. Efectos de la suplementación energética

El consumo de energía modifica la composición de la grasa en varias formas. En un balance energético positivo, el efecto en los ácidos grasos de la leche dependerá de si en la dieta predominan los carbohidratos o la grasa. Cuando el balance es negativo, disminuye el aporte de glucosa y acetato proveniente de la dieta, causando una menor síntesis de ácidos grasos de cadena corta en la glándula mamaria, y aumentando la movilización de tejido adiposo.

El aporte de niveles elevados, 40% - 60% de la dieta, de carbohidratos rápidamente fermentescibles (trigo o cebada), aumenta la concentración de propionato y el ambiente ruminal se vuelve más ácido, disminuyendo el porcentaje de grasa en la leche. (Kennelly, 1996; Rearte, 1992) Cuando se presenta esta disminución, también se producen variaciones en la composición de esa grasa. En la mayoría de los casos se da una disminución de la concentración de ácidos grasos de cadena corta, y aumento de C18, dependiendo de cual sea la fuente del cereal y su contenido de grasa. Por otra parte, al aumentar el consumo de concentrado se produce un aumento de ácidos grasos de cadena impar y de cadenas

ramificadas (de origen microbiano), y un aumento de la gluconeogénesis. (Palmquist y Beaulieu, 1993)

Si comparamos el efecto de la suplementación de grano de maíz con la de grano de cebada, vemos que la cebada provoca mayor disminución del porcentaje de grasa de la leche que el consumo de maíz. La explicación es que la cebada hace aumentar la concentración de propionato en rumen, disminuyendo la concentración de AGV lipogénicos, mientras que el maíz y el sorgo hacen que aumente la glucosa en el intestino. Sin embargo, ambos suplementos provocan un aumento de la lipogénesis, resultado del aumento de insulina, disminuyendo la disponibilidad de los precursores la grasa de la leche (acético y butírico), y ácidos grasos libres en sangre. (Rearte, 1992)

Baldwin et al (1992), citados por Palmquist et al (1993), reportaron que con una ración basada en cebada, que disminuyó el porcentaje de grasa, causó mínimos cambios en los ácidos grasos de cadena corta en leche. A la inversa, Palmquist et al (1993) reportaron que consumiendo maíz dichos ácidos grasos se reducen en forma importante, inclusive el C4 que generalmente se resiste a los cambios; y los C18:1 y C18:2 aumentan en forma considerable.

La importante depresión de la síntesis *de novo* podría explicarse por un insuficiente aporte de acetato a la glándula mamaria. Esto puede ser causado, como ya fue mencionado anteriormente, por una mayor asimilación del mismo en el tejido adiposo, producto de la estimulación a producir reservas dada por el aumento de insulina en sangre. Otra alternativa para dar explicación a este fenómeno, es la inhibición específica de la síntesis *de novo* por las altas concentraciones de ácidos grasos *trans* insaturados presentes.

La magnitud de la disminución de la grasa asociado con los niveles de concentrado, también es afectada por el sistema de alimentación y la frecuencia. Generalmente el impacto es menor cuando se consume una RTM, o si la frecuencia de alimentación es de tres o más veces por día.

2.3. PROPIEDADES DE LA GRASA DE LA LECHE

El aumento de riesgo de problemas cardiovasculares debidos al consumo de leche entera y manteca está asociado a los efectos de las grasas saturadas, particularmente el mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0), que elevan la concentración en sangre de LDL (lipoproteínas de baja densidad), reconocido como factor de riesgo de enfermedades coronarias. En cambio, el consumo de productos lácteos con alta proporción de C18 mono y poliinsaturados reducen los contenidos de colesterol en plasma. (Ashes et al., 1997)

En forma adicional al impacto de los productos lácteos en la salud y nutrición humana, deben considerarse los aspectos relacionados con las propiedades físicas y sensoriales de la grasa de la leche. Estos productos lácteos “modificados” son mas susceptibles a oxidación, lo que puede ser controlado mediante el agregado de vitamina E a la dieta de las vacas.

Los triacilglicéridos constituyen el 97% de la grasa, y la composición de los mismos es quien determina sus propiedades físicas. La grasa de la leche contiene aproximadamente 10 a 12% de C14:0 ; 25 a 30% de C16:0 y 8 a 11% de ácido esteárico (C18:0), clasificadas como grasas “duras”. La alimentación del rodeo no solo debe aportar la proteína y energía necesaria, sino que debe apuntar además a mejorar la calidad y composición de la grasa de la leche (Ashes et al., 1997).

2.3.1. ¿POR QUÉ CAMBIAR LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA DE LA LECHE?

La grasa de la leche de vaca ha sido criticada por contener un balance lipídico menos deseable que el aceite de pescado o de origen vegetal. Sin embargo, hay un grupo de científicos que opinan que un perfil aceptable de ácidos grasos no requiere cambios importantes en la composición de la leche (Kennelly y Glimm, 1996)

En particular, la grasa de la leche tiene una concentración bastante elevada de C14:0 y C16:0, y relativamente bajas concentraciones de ácidos grasos mono y poliinsaturados. Los ácidos grasos como el C18:1 y C18:0, que antes eran considerados malos para la salud, ahora son considerados neutrales o incluso benéficos. El C 18:0 es tan efectivo como el C18:1 en reducir el colesterol en sangre. (Jensen et al, 1991). La alta concentración de C14:0 y C16:0 en leche continúa siendo una preocupación para la medicina, por lo que lograr un aumento en la concentración de C 18:1 y C 18:0, a la vez de una disminución del C14:0 y C16:0 es algo deseable en la que respecta a la salud humana.

2.3.2. VALOR NUTRICIONAL DE LA GRASA

El porcentaje de grasa en la leche puede ser disminuido en cierto grado por el manejo alimenticio, sin comprometer la salud y performance de los animales. La proporción de almidones fermentescibles en la dieta debe aumentarse cuidadosamente, lo cual hace que el contenido de proteína tienda a su máximo.

Para satisfacer los requerimientos de la población en cuanto al valor nutricional de la grasa de la leche, lo mas adecuado sería aumentar la proporción de C18 y disminuir la de los demás. Los C18 totales pueden aumentarse hasta mas del 50% de los ácidos grasos totales. Desde mediados de los 70' la búsqueda de modificar la grasa de la leche tuvo énfasis en

producir leche con C18:2 > al 20%. Estas leches son generalmente mas susceptibles a oxidación, a menos que se agreguen antioxidantes inmediatamente. La adición directa a la leche de tocoferol es mas efectiva que aumentar su contenido en la dieta.

Estudios recientes con canola protegida produjeron grasa con 4,9 % de C18:2. El total de C18:2 aumentó de 34,7 a 45,9 %, mientras que el C16:0 disminuyó de 31,2 a 23,2 % del total. Los ácidos grasos menores a 16 C cambiaron muy poco. Según Ashes et al (1992), esta reducción en los ácidos grasos de cadena corta se da por la menor formación en rumen de ácidos grasos *trans*, lo cual es consistente con la observación de Palmquist et al (1993); la síntesis de ácidos grasos de cadena corta no se redujo cuando se dan ácidos grasos insaturados en forma intravenosa.

2.3.3. VALOR INDUSTRIAL

La consideración mas importante para la industria, más que la concentración total de grasa, es su punto de fusión. La grasa de la leche no se funde a una temperatura definida y constante, pero sí en un rango, por la diversidad de ácidos grasos con puntos de fusión bajos, medios y altos.

La etapa de lactancia tiene un fuerte efecto en los cambios de las proporciones relativas de los puntos de fusión de la grasa de la leche. Generalmente, la fracción con punto de fusión medio (1,8 - 24,8 °C) abarca el 55 - 60 % del área de fusión. Al principio de la lactancia la fracción con menor punto de fusión (<1,8 °C) representa una mayor proporción que los de mayor punto de fusión (> 24,8 °C). Después de 13 semanas post-parto esta relación es inversa.

El punto de fusión de la grasa de la leche es menor al aumentar la proporción de ácidos grasos de cadena corta y media, y también disminuye cuando es mayor la relación C18:1/C18:0. Los principales ácidos grasos que contribuyen a su variación que pueden ser manipulados son el C16:0 y el C18:1. Por la acción de la estearil-CoA desaturasa, al aumentar el contenido de C18:0 aumenta la concentración de C18:1, y la síntesis *de novo* del C16:0 tiende a disminuir.

2.3.4. PRODUCTOS LÁCTEOS Y ALTA CONCENTRACIÓN DE C18:2

La presencia de altos contenidos de PUFA en leche tiene importantes efectos en las propiedades físicas y en la elaboración de los productos lácteos. Palmquist et al (1993) plantean un estudio de las propiedades físicas y del procesamiento de manteca elaborada con leches conteniendo de 1,8 a 28% de C18:2, por medio de mezcla de leches convencionales con PUFA.

A mayor C18:2, la manteca es mas suave y tiene mayor untabilidad. Cuando compararon mantecas con similar C18:2, producidas directamente como PUFA o mezclando altos C18:2 con leches convencionales; las mezclas fueron mas duras, tenían un mayor rango de temperatura a las cuales eran plásticas, y eran menos susceptibles a derretirse a 20°C. La estabilidad de la manteca es afectada tanto por la composición total de ácidos grasos como por la distribución estereoespecífica de los ácidos grasos en las 3 posiciones de la molécula de triglicéridos (Palmquist et al., 1993)

2.3.5. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS EN LA MODIFICACIÓN DE LA GRASA DE LA LECHE

Existe la posibilidad de manipular la composición de la grasa de la leche mediante la alimentación pero dicho manejo limitado por causa de la biohidrogenación ruminal. Sin embargo, para plantearse la difusión de la manipulación mediante la dieta es necesario tener en cuenta varias consideraciones, incluyendo el “aislamiento” de esa leche y el transporte de las leches “especiales” desde el tambo a la industria. Por otro lado el desarrollo de un sistema equitativo de pago, y el marketing y el desarrollo de la demanda.

La estrategia de los productores es producir leche con los menores costos posibles, pero en ese intento es importante entender cómo cada nueva tecnología de producción puede cambiar la composición de los ácidos grasos de la leche, y a su vez, qué impacto pueden tener esos cambios en el sabor, las características nutricionales y/o funcionales de los productos lácteos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue realizado en la Estación Experimental Mario Cassinoni (EEMAC) de Facultad de Agronomía en el departamento de Paysandú, en forma complementaria al trabajo de tesis de Long y Teiza (datos no publicados). Las muestras de leche se tomaron desde el 15 de febrero de 2000 hasta el 30 de abril de 2000.

Se analizó la leche producida por 36 vacas de raza Holstein, las cuales se distribuyeron en bloques según número de lactancia, estado corporal, peso vivo y producción de leche en lactancia anterior. Durante el ensayo se quitaron 6 vacas, por diferentes motivos (acidosis, hipocalcemia, problemas podales)

La dieta base de todos los tratamientos es forraje, dado en forma de heno de alfalfa. Los tratamientos se diferencian por la suplementación, dándose tres niveles de concentrado (ración comercial con 17% de PC) y dos tipos de soja (con y sin tratamiento térmico).

Cuadro 6. Composición química de los alimentos suministrados

Alimento	%MS	% MO	% FDA	%PC
Heno de Alfalfa	90	89,7	40,51	12,14
Soja cruda	94,5	93,7	6,87	41,02
Soja tostada	95	93,4	5,25	42,73

El año en que se realizó el ensayo fue muy particular, ya que hubo una gran sequía afectando nuestro país, lo que afectó fuertemente la posibilidad de que los animales pastorearan. Por ese motivo el experimento se llevó a cabo bajo condiciones de estabulación.

Se realizaron seis tratamientos con seis repeticiones cada uno, siendo asignadas las vacas de acuerdo a los criterios señalados anteriormente. En el cuadro 7 se detalla la composición de las dietas correspondientes a cada tratamiento.

Cuadro 7. Composición de las dietas experimentales

	6 A	6 I	9 A	9 I	12 A	12 I
5.30 hs	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 50 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 50 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 33 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 33 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 25 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 25 g bicarbonato
10 hs	1 kg soja s/tratar	1 kg soja tratada	1 kg soja s/tratar 3 kg concentrado 33 g bicarbonato	1 kg soja tratada 3 kg concentrado 33 g bicarbonato	1 kg soja s/tratar 3 kg concentrado 25 g bicarbonato	1 kg soja tratada 3 kg concentrado 25 g bicarbonato
16 hs	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 50 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 50 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 33 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 33 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 25 g bicarbonato	6 kgMS heno 3 kg concentrado 50 g sales min. 25 g bicarbonato
18 hs					3 kg concentrado 25 g bicarbonato	3 kg concentrado 25 g bicarbonato

3.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

La producción de leche fue medida en forma individual cuatro veces por semana mediante medidores de flujo instalados en cada órgano. Una vez obtenida la leche se extrajo una alícuota de un 0,5% de la producción de cada ordeño, calentando las muestras a baño María a 40° C para homogenizar. De esta forma se obtuvo una muestra compuesta de la semana de cada vaca. De esa muestra compuesta (calentando nuevamente a baño María) se tomaron 40 ml a los que se agregó Bronopol (conservante bacteriostático) y se enviaron refrigeradas a Facultad de Agronomía en Montevideo. De cada muestra se determinó el porcentaje de proteína, grasa, lactosa, sólidos no grasos y sólidos totales, datos que corresponden al trabajo original de Long y Teiza. En estas muestras se analizó en forma adicional la proporción de caseína por medio de precipitación a pH 4.6.

Por otra parte, se tomó una muestra compuesta para cada tratamiento (200 ml), las cuales fueron posteriormente utilizadas para la determinación de subfracciones grasas (composición de ácidos grasos) y subfracciones proteicas.

Cuadro 8. Producción y composición de leche en las diferentes dietas experimentales

	6 A	6 I	9 A	9 I	12 A	12 I
Leche (kg/d)	18,1	20,4	24,2	22	24,5	23,7
Proteína (g/kg)	0,305	0,300	0,309	0,309	0,317	0,326
Grasa (g/kg)	0,384	0,360	0,349	0,358	0,354	0,362

Long y Teiza (datos no publicados)

3.2. DETERMINACIONES

3.2.1. CASEÍNA POR PRECIPITADO

El análisis se realizó en el laboratorio de Tecnología de los Alimentos en Facultad de Agronomía. La técnica utilizada ha sido descrita por Pancreac (1992), que consiste en provocar el precipitado de la caseína bajando el pH de la leche a 4,6. La determinación se realiza mediante diferencia del nitrógeno en leche cruda y el nitrógeno en suero obtenido del precipitado.

3.2.2. CASEÍNA POR ELECTROFORESIS

Las muestras compuestas por tratamiento fueron calentadas a 40° C y una submuestra fue centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos a 20° C para la extracción de la grasa. La muestra desgrasada fue sometida a electroforesis en geles de SDS-PAGE al 12 % por una hora a 150 volts utilizando un equipo Miniprotean 11 (Biorad). Los geles se sumergieron en una solución de azul de Coomassie R -250 (sigma) y después de 4 hs se destiñeron con una solución de ácido acético y alcohol etílico. (Robyt y White, 1990)

Cuadro 9. Peso molecular de las diferentes fracciones caseínicas

CASEÍNAS	PM
$\alpha s2$	25230
β	23983
$\alpha s1$	23614
K	19023

3.2.3. PERFILES LIPÍDICOS

El análisis se realizó en la Facultad de Química sobre las muestras compuestas por tratamiento con el propósito de determinar la composición porcentual de ácidos grasos contenidos en la grasa de la leche. La extracción de la grasa se realizó mediante el uso de una solución ácida de éter, seguido de un análisis cuantitativo por cromatografía de gases de acuerdo a la técnica descrita por IDF (1991)

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizaron los resultados obtenidos según el procedimiento GLM (General Linear Model), mediante el paquete estadístico SAS. En el estudio de los ácidos grasos se ajustó un arreglo factorial con un diseño de parcelas al azar, donde las muestras de cada animal integraron un "pool" representativo de niveles de energía (NE: 6, 9 y 12 kg de concentrado) y dos tipos de soja suplementada (TS: tratada y sin tratar).

El modelo planteado es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu_i + NE + TS + NE*TS + \varepsilon_{ij}$$

Se analizaron como variables dependientes (Y_{ij}) los ácidos grasos de cadena corta (CC), cadena larga (CL), los ácidos grasos insaturados (INSAT) y la relación INSAT/CL.

En lo que respecta a las caseínas, se ajustó un modelo mixto con arreglo factorial, con un diseño de parcelas al azar donde los tratamientos son de 3 niveles de energía (NE: 6, 9 y 12 kg de concentrado) y dos tipos de soja suplementada (TS: tratada y sin tratar). Se incorpora para el análisis la variable aleatoria mes (M: marzo, abril). Como variable dependiente solo se analizó el porcentaje de caseína (Y).

Variables	Niveles	Valores
MES	2	Marzo – Abril
NE	3	6 – 9 – 12
TS	2	A – I

El modelo planteado para el análisis de la caseína es:

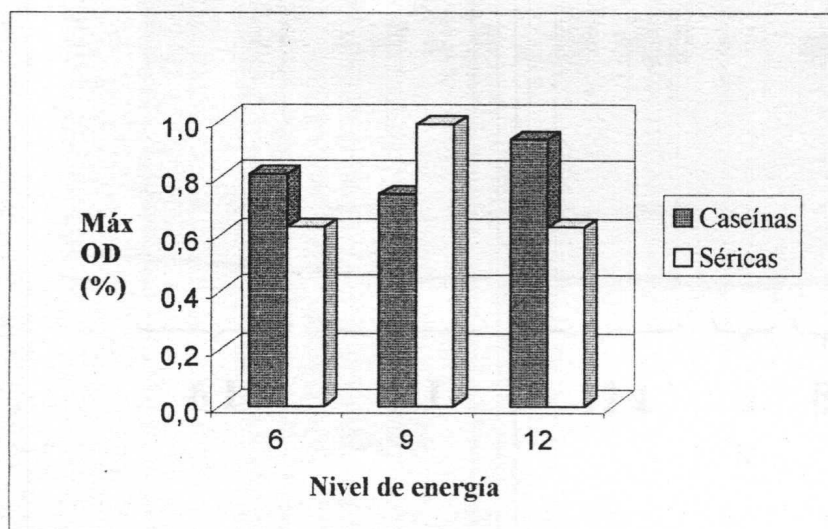
$$Y_{ij} = \mu_i + NE + TS + M + NE*TS + MES*NE + MES*TS + \varepsilon_{ij}$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PROTEÍNAS

Los resultados obtenidos por medio de electroforesis muestran una tendencia a aumentar los niveles de caseína en leche al incrementarse los niveles de concentrado consumidos, cuando se suplementa la dieta con soja tratada térmicamente. En cambio, no se observaron cambios en la leche proveniente de animales suplementados con soja sin tratar. En lo que respecta a las fracciones séricas, tienden a mantenerse constantes. En la figura 3 se aprecia un incremento en las proteínas séricas en el tratamiento 9 I, que por los niveles podrían indicar la presencia de animales con mastitis en ese grupo. En un resumen de los efectos de la mastitis en la composición de la leche realizado por Holmes y Wilson (1989) se indica que las proteínas séricas (inmunoglobulinas y seroalbúmina) registran un incremento de 20 a 50 veces su concentración respecto a la leche normal. Las caseínas disminuyen a un 60% de los valores normales, en forma similar que β -lactoglobulina y α -lactalbúmina (a 70 y 50 % respectivamente).

Figura 3. Proteínas de leche (Soja tratada)

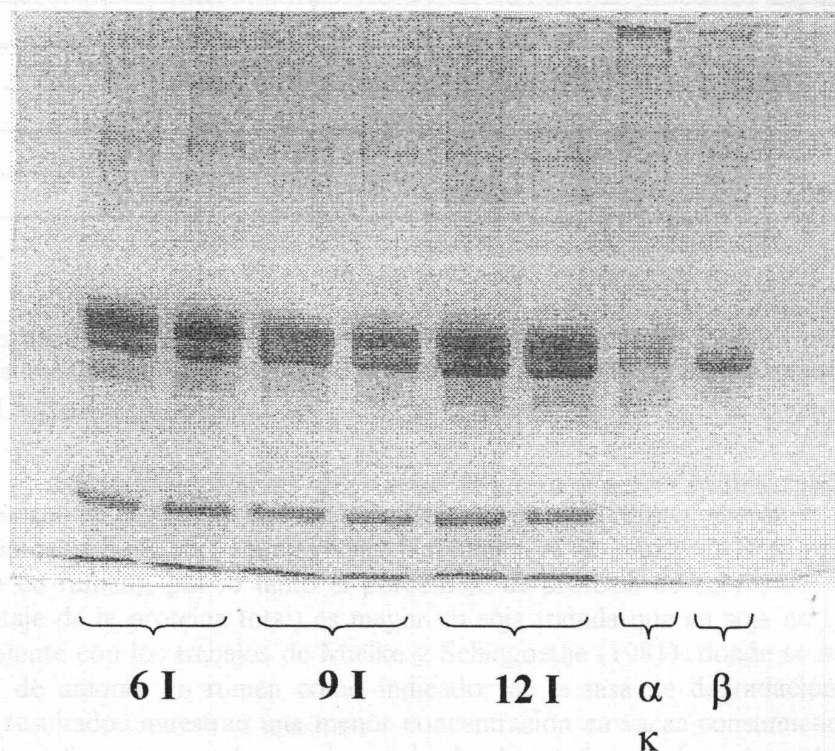


Según datos provenientes del trabajo de Long y Teiza, la producción de proteína (g/animal/día) aumentó un 26% (tratamiento 12 I vs. 6I). Si comparamos el porcentaje de proteína en leche, la leche del tratamiento 12 I tiene un 9 % más de proteína que la

del tratamiento 6 I. El aumento del porcentaje de caseína según los resultados de la electroforesis fue de un 15%; como las proteínas séricas se mantienen relativamente constantes, podríamos concluir que el aumento en la producción de proteína está explicado por la mayor producción de caseínas al aumentar los niveles de suplementación, consumiendo soja tratada.

En la figura 4 se presentan los cambios observados en el tratamiento con soja tratada con los diferentes niveles de suplementación.

Figura 4. Cambios en las fracciones proteicas de la leche determinadas por Electroforesis



Cuadro 10. Concentración de las subfracciones proteicas (max OD %) para tres niveles de concentrado consumido.

TRATAMIENTO I						
	6		9		12	
LF	0,187	0,171	0,148	0,167	0,172	0,166
BSA	0,125	0,113	0,110	0,120	0,125	0,121
S/identificar	0,093	0,079	0,084	0,0872	0,080	0,084
α	0,348	0,346	0,293	0,312	0,397	0,401
β	0,302	0,305	0,289	0,294	0,344	0,340
K	0,169	0,150	0,111	0,115	0,192	0,194
Subfrac. K			0,034	0,036		
LG y LA	0,231	0,249	0,231	0,235	0,252	0,250
Caseínas	0,819	0,801	0,727	0,756	0,932	0,935
	0,810		0,742		0,933	
Séricas	0,637	0,612	0,573	1,393	0,629	0,622
	0,624		0,983		0,625	

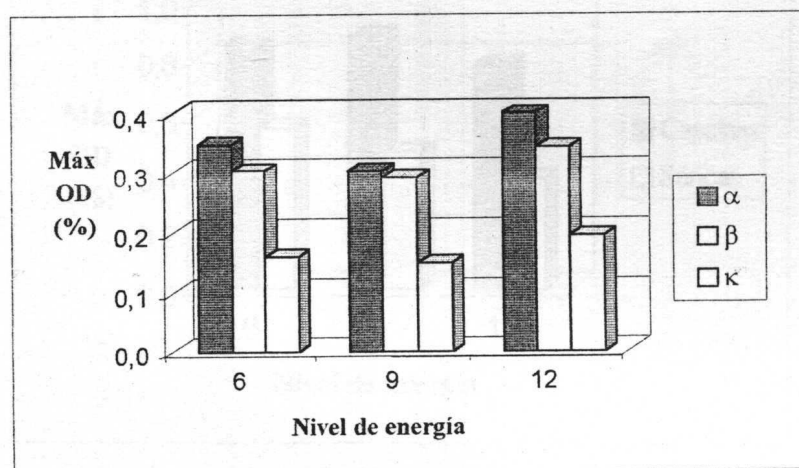
Los resultados encontrados en este tratamiento indican que las subfracciones proteicas de la caseína aumentan con los niveles de concentrado consumidos, suplementando con soja tratada. La β -caseína aumenta un 13 %, la α -caseína un 15 % y la k-caseína un 21%.

Estudios de Satter et al (1994) citados por Dhiman et al (2000), mostraron que el tratamiento con calor de la soja generalmente incrementa el contenido de RUP (proteína no degradable en rumen), por lo tanto el porcentaje de proteína de sobrepaso en soja (como porcentaje de la proteína total) es mayor en soja tratada que en soja no tratada. Esto es consistente con los trabajos de Mielke y Schingoethe (1981) donde se midió la concentración de amonio en rumen como indicador de la tasa de degradación de la proteína. Los resultados muestran una menor concentración en vacas consumiendo soja tratada, lo que confirmaría que el tratamiento térmico hace a la proteína mas resistente a la degradación. El tratamiento térmico aplicado a la soja provee beneficios adicionales, ya que entre otras cosas resulta en una mayor eficiencia de la alimentación. (Chouinard et al, 1997). La revisión ha documentado que el tratamiento con calor de la soja consumida aumenta la performance animal. Los beneficios del tratamiento con calor son atribuidos a minimizar la actividad de factores antinutricionales (factores antitripsina) y maximizar el aporte de proteína al intestino. (Reddy et al, 1994)

De Peters y Cant (1992) citan experimentos donde se aportan dietas con aminoácidos protegidos, y se obtienen incrementos diferenciales de los diferentes tipos de caseína. Esta observación sugiere que la expresión genética de las variantes de la caseína están bajo diferente control. Si esto es así, tiene implicancias importantes en la alteración de dichas variantes en leche. Estos incrementos diferenciales tienen importancia en la industria lechera, principalmente la variación en la k-caseína, la cual tiene un efecto significativo en el rendimiento quesero.

En la figura 5 se expresan gráficamente los cambios en las subfracciones caseínicas; probablemente el incremento en los niveles de proteínas séricas del tratamiento 9 I atribuido a mastitis pueda haber afectado a las fracciones de la caseína.

Figura 5. Subfracciones caseínicas (Soja tratada)



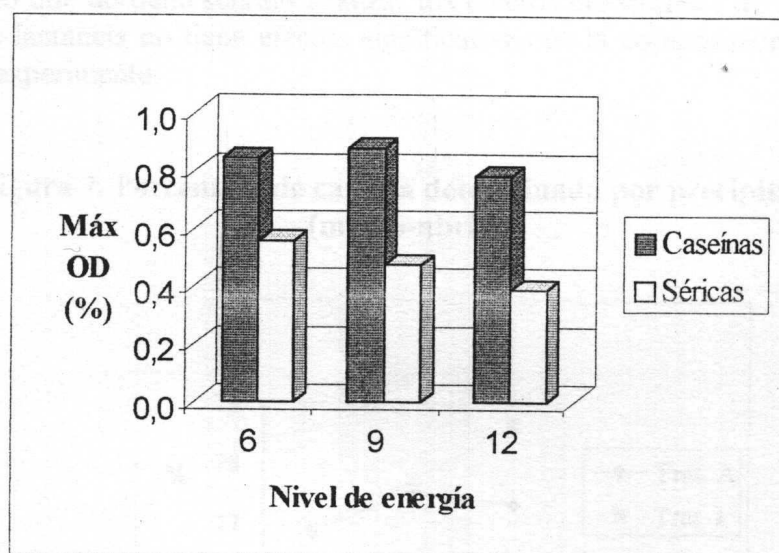
La información del efecto de la energía de la dieta sobre las proteínas sintetizadas en la glándula mamaria comparada con las derivadas del suero es limitada. Grant y Patel (1980) no observaron diferencias en las proporciones de caseínas respecto a las proteínas de suero al cambiar la relación forraje: concentrado. En contraste, Jousef et al (1970) reportaron que con altos niveles de concentrado en la dieta las proporciones de α y β -caseína aumentan mientras que γ disminuye, comparado con dietas con niveles de forraje normal. Esto podría indicar una reducción de la proteólisis, ya que la γ -caseína es un producto de ruptura de la β -caseína (DePeters y Cant, 1992).

Según bibliografía consultada, la distribución de las proteínas de la fracción suero varía con los tratamientos (distintas dietas). Notablemente, el aumento de concentrado eleva la

proporción de β -lactoglobulina y disminuye la de albúmina sérica; la disminución de α -lactoalbúmina no fue consistente. (DePeters y Cant, 1992)

En lo que respecta a los resultados de la electroforesis obtenidos del tratamiento con soja sin tratar, fueron detectadas varias subfracciones producto de la degradación enzimática que presentaron las muestras. Otra de las razones para pensar en que hubo una importante degradación es que el porcentaje de proteínas séricas promedio fue 0,474%, valor significativamente inferior a los niveles obtenidos frecuentemente (0,7 % según Holmes y Wilson 1989)

Figura 6. Proteínas de leche (soja sin tratar)



Por las razones antes mencionadas, no es posible obtener conclusiones significativas de los datos obtenidos por electroforesis de la leche del tratamiento A

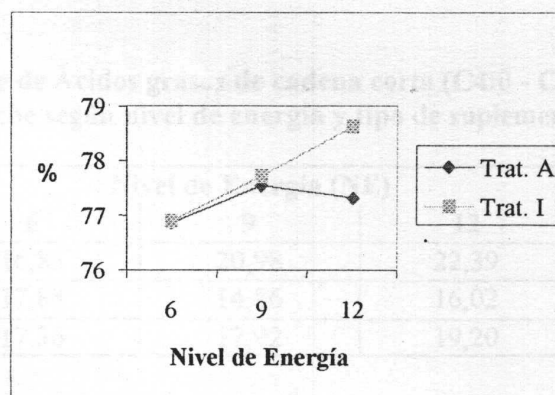
Respecto a los resultados obtenidos a partir del precipitado de la caseína de leche, se puede apreciar la tendencia a incrementar el contenido de caseína al aumentar los niveles de energía, cuando se suplementa con soja tratada térmicamente. Esto coincide con los resultados obtenidos por electroforesis, analizados anteriormente.

Los datos obtenidos se presentan en el cuadro 11.

Cuadro 11. Porcentaje de caseína en leche según la dieta y el período de lactancia

PORCENTAJE DE CASEÍNA		6		9		12	
		A	I	A	I	A	I
MARZO	PROMEDIO	76,9	77,0	77,8	77,6	77,6	78,6
	DESVÍO	0,73	0,82	1,03	0,38	0,58	1,45
ABRIL	PROMEDIO	76,8	76,8	77,3	77,8	77,0	78,6
	DESVÍO	1,47	0,77	0,53	0,88	0,86	2,37
MEDIA CORREGIDA		76,87	76,86	77,53	77,71	77,30	78,63

A partir del análisis estadístico vemos que es significativo el efecto de la interacción NE*TS, por lo que no tiene sentido analizar los efectos individuales de dichas variables. El período de lactancia no tiene efectos significativos en la composición caseínica de la leche en este experimento.

Figura 7. Porcentaje de caseína determinado por precipitado (marzo-abril)

Según De Peters y Cant (1992) la caseína constituye del 76 al 86 % de la proteína total de la leche bovina. En el caso de la raza Holstein, en general se manejan valores que no superan el 80%. Comparando con estos rangos, los niveles de caseína en leche logrados en este experimento podrían considerarse bajos a medios. Respecto a los diferentes tratamientos, no hay diferencias de gran magnitud en el contenido de proteína en leche.

Cuadro 12. Porcentaje de caseína en leche según nivel de energía y tipo de suplemento

TS	Nivel de Energía (NE)			$\bar{x}$
	6	9	12	
Trat. A	76,87 c	77,53 b	77,30 b	77,23
Trat. I	76,86 c	77,71 b	78,63 a	77,73
$\bar{x}$	76,865	77,62	77,965	

p NE = 0,0001

p TS = 0,0226

p NE*TS = 0,0168

4.2. ÁCIDOS GRASOS EN LECHE

En los cuadros 13 a 16 se presenta un resumen de los resultados correspondientes al análisis de los ácidos grasos.

Cuadro 13. Porcentaje de Ácidos grasos de cadena corta (C4:0 - C14:0) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento

TS	Nivel de Energía (NE)			$\bar{x}$
	6	9	12	
Trat. A	16,83	20,98	22,39	20,06
Trat. I	17,88	14,86	16,02	16,25
$\bar{x}$	17,36	17,92	19,20	

p NE = 0,763

p TS = 0,1132

p NE*TS = 0,3167

Cuadro 14. Porcentaje de Ácidos grasos de cadena larga saturados (C16:0-C18:0) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento

TS	Nivel de Energía (NE)			$\bar{x}$
	6	9	12	
Trat. A	39,83	37,99	38,06	38,63
Trat. I	40,90	39,95	39,97	40,27
$\bar{x}$	40,36	38,97	39,02	

p NE = 0,5989

p TS = 0,2269

p NE*TS = 0,9456

Cuadro 15. Porcentaje de Ácidos grasos de cadena larga insaturados (C18:1-C18:2) en leche según nivel de energía y tipo de suplemento

TS	Nivel de Energía (NE)			$\bar{x}$
	6	9	12	
Trat. A	33,50	31,48	31,10	32,03
Trat. I	29,93	33,98	34,88	32,93
$\bar{x}$	31,75	32,74	33,00	

p NE = 0,7472

p TS = 0,5460

p NE*TS = 0,1557

Cuadro 16. Relación Ácidos grasos Insaturados/Saturados de cadena larga en leche según nivel de energía y tipo de suplemento

TS	Nivel de Energía (NE)			$\bar{x}$
	6	9	12	
Trat. A	0,84	0,83	0,82	0,83
Trat. I	0,73	0,85	0,87	0,82
$\bar{x}$	0,79	0,84	0,84	

p NE = 0,3828

p TS = 0,7763

p NE*TS = 0,2130

En las Figuras 8 y 9 se presentan los datos correspondientes a los niveles de ácidos grasos de cadena corta (C4:0-C14:0), cadenas largas saturadas (C16:0 y C18:0) e insaturadas (C18:1 y C18:2) al variar el aporte de suplemento. Los datos del gráfico de la figura 8 se obtienen cuando además se agrega a la dieta 1 kg de soja sin tratar, y los de la figura 9 cuando se aporta la soja tratada térmicamente.

Figura 8. Perfiles Lipídicos (Soja sin tratar)

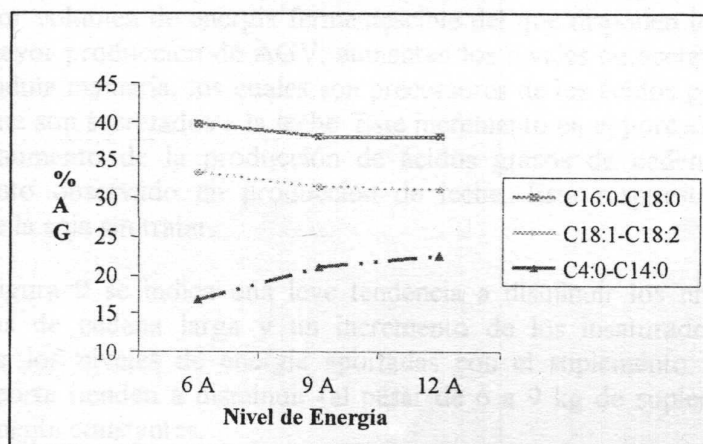
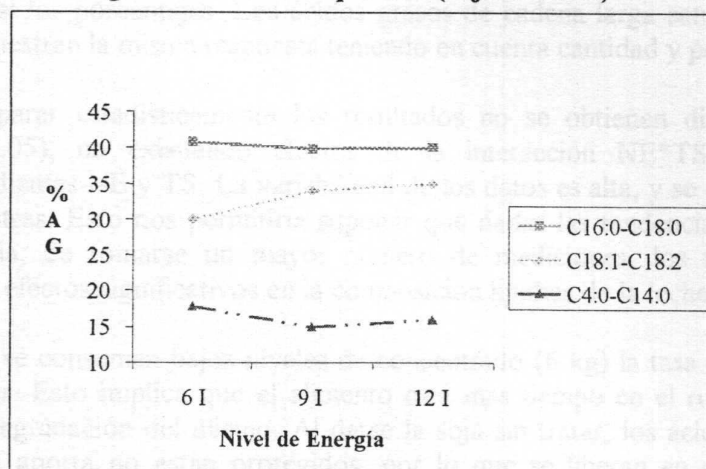


Figura 9. Perfiles Lipídicos (soja tratada)



La Figura 8 indica una tendencia a reducirse los niveles (%) de ácidos grasos saturados e insaturados de cadena larga al aumentar los niveles de energía aportadas con el suplemento. Al tener en cuenta la información obtenida por Long y Teiza (datos no publicados) vemos que en realidad tiende a incrementarse la cantidad de ácidos grasos de cadena larga en leche, pero en menor proporción que el aumento en producción de leche. Esto hace que se tienda a una disminución en los porcentajes, por el efecto de dilución.

En cambio, los ácidos grasos de cadena corta y media muestran una clara tendencia a aumentar al incrementarse los niveles energéticos aportados por la dieta. Este incremento es posible por el aumento en la producción de AGV en rumen, consecuencia del mayor volumen de energía fermentescible del que disponen los microorganismos. Al haber mayor producción de AGV, aumentan los niveles de acetato y butirato que llegan a la glándula mamaria, los cuales son precursores de los ácidos grasos de cadena corta y media que son secretados a la leche. Este incremento en el porcentaje es consecuencia de que el aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta es superior al incremento observado en producción de leche. Esta respuesta se da en cuando se consume la soja sin tratar.

En la Figura 9 se indica una leve tendencia a disminuir los niveles de ácidos grasos saturados de cadena larga y un incremento de los insaturados de cadena larga, al aumentar los niveles de energía aportadas con el suplemento. Los ácidos grasos de cadena corta tienden a disminuir (al pasar de 6 a 9 kg de suplemento) o a mantenerse relativamente constantes.

Al analizar los datos aportados por Long y Teiza (datos no publicados) vemos que los ácidos grasos de cadena larga saturados aumentan levemente, pero en menor proporción que el aumento en producción de leche al aumentar los niveles de concentrado, disminuyendo así los porcentajes. Los ácidos grasos de cadena larga saturados y los de cadena corta muestran la misma respuesta teniendo en cuenta cantidad y porcentaje.

Al comparar estadísticamente los resultados no se obtienen diferencias significativas ($P > 0.05$), no existiendo efectos de la interacción NE*TS, ni de las variables independientes NE y TS. La variabilidad de los datos es alta, y se evaluó un bajo número de muestras. Esto nos permitiría suponer que dadas las tendencias, coincidentes con la bibliografía, de tomarse un mayor número de mediciones, los tratamientos aplicados tendrían efectos significativos en la composición lipídica de la leche.

Cuando se consumen bajos niveles de concentrado (6 kg) la tasa de pasaje por el tracto es menor. Esto implica que el alimento está mas tiempo en el rumen, permitiendo una mayor degradación del mismo. Al darse la soja sin tratar, los ácidos grasos insaturados que ésta aporta no están protegidos, por lo que se liberan en mayor cantidad y más rápidamente. Esto podría explicar los mayores niveles de ácidos grasos de cadena larga

presentes en leche de vacas consumiendo bajos niveles de concentrado energético y soja sin tratar.

Como fue mencionado anteriormente, los ácidos grasos insaturados (principalmente el C18:1) se ha demostrado que son un potente inhibidor de la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena corta y media en la glándula mamaria (Palmquist, 1993). Como los niveles de C18:1 disminuyen (consumiendo soja sin tratar), la inhibición ejercida es menor, y esto favorece la biosíntesis de ácidos grasos a nivel de glándula.

Según la mayoría de los investigadores el tratamiento térmico de las soja produce un efecto de protección, tanto de la proteína como de los ácidos grasos de las semillas, provocando un aumento de los niveles de sobrepaso. Como consecuencia del tratamiento con calor se produce una menor liberación de los ácidos grasos aportados por la soja a nivel ruminal. Hay menos lipólisis, reduciéndose la disponibilidad de grupos carboxilo libres. Como las bacterias del rumen requieren de un grupo carboxilo libre para biohidrogenar un ácido graso insaturado, hay menos biohidrogenación. (Palmquist y Jenkins, 1980; Reddy et al., 1994; Stern, Santos y Satter, 1985) Algunos autores sin embargo, como ser Dhiman et al.(2000), opinan que el tratamiento térmico hace a la soja mas frágil, acelerando la liberación de los ácidos grasos, lo que permitiría una mayor biohidrogenación.

En lo que respecta a los ácidos grasos de cadena larga saturados (C16:0 y C 18:0) no se observan variaciones importantes entre los tratamientos, si bien siempre se manifestó una leve tendencia a la baja al incrementar los niveles de energía aportados por la dieta. Si bien se da un incremento en las cantidades producidas (en ambos tratamientos), es mucho menor que el incremento en producción de leche, por lo que disminuyen los porcentajes. Como ya fue mencionado anteriormente, una parte de los ácidos grasos saturados de cadena larga provienen de la dieta y el resto de la movilización de tejido de reserva del animal, siendo variable la proporción que representa cada origen.

El porcentaje de ácidos grasos de cadena corta es bastante similar entre soja tratada y sin tratar cuando se consumen 6 kg de suplemento; al aumentar el consumo se manifiestan respuestas muy diferentes, con una clara tendencia a aumentar en los tratamientos con soja cruda y una tendencia a disminuir (en porcentaje) con la soja tratada.

Hay que tener en cuenta que los animales en estudio se encontraban en lactancia temprana y por lo tanto la movilización de tejido adiposo debería ser elevada. Cuando se aportan bajos niveles de energía en la dieta se incrementa aún mas el balance negativo que naturalmente se da en esta etapa de la lactancia. Al presentarse una movilización de tejidos importante, se incrementan los ácidos grasos de cadena larga en sangre (saturados principalmente) y en glándula mamaria, siendo menor la síntesis *de novo* de ácidos grasos por el efecto inhibitorio provocado.

Al aumentar los niveles de concentrado aportados por la dieta aumenta la fermentación propiónica a nivel de rumen, llevando a un posterior incremento en los niveles de insulina en sangre. Puede verse alterada la relación lipogénesis / lipólisis, ya que los mayores niveles de insulina estimulan la síntesis de reservas corporales. Si se manifiesta dicho aumento en la relación mencionada, se da una depresión en los aportes de acetato a la glándula mamaria por una mayor asimilación del mismo a nivel de tejido adiposo, lo que estaría afectando a su vez la síntesis *de novo* a nivel de glándula.

En el ensayo realizado en la EEMAC, los animales estaban en una situación particular, produciendo bastante por debajo de su potencial, por lo que puede suponerse que aunque se haya dado cierta variación en los niveles de insulina por el incremento en la producción de propionato, los niveles de movilización de tejido adiposo igualmente deben haber sido importantes.

Hay un estudio de Kennelly y Glimm (1996) donde puede verse la gran influencia que tiene el estado de lactancia en la respuesta a la relación concentrado / forraje. En lactancia temprana, por ejemplo, el contenido de grasa de la leche bajó de 2,84 a 2,37 % cuando el concentrado aumentó de 50 a 75%. La reducción de grasa en la leche se atribuye a una menor producción a nivel ruminal de los precursores lipogénicos (acetato y β -OH butirato) y a un efecto inhibitor de la metil malonil CoA en la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria, dado por el propiónico.

La magnitud de la disminución de la grasa asociado con los niveles de concentrado, también es afectada por el sistema de alimentación y la frecuencia. Generalmente el impacto es menor cuando se consume una RTM, o si se come 3 o + veces por día.

5. CONCLUSIONES

Al aumentar los niveles de concentrado consumido cuando se suplementa con soja tratada el porcentaje de caseína estimado a partir de la electroforesis se incrementa un 15%. Las proteínas séricas se mantienen relativamente constantes, lo que nos permitiría concluir que el aumento de la producción de proteína probablemente se explica por el aumento en la producción de caseína.

Respecto a las diferentes subfracciones proteicas, en el tratamiento I la β -caseína tuvo un incremento del 13%, la α -caseína del 15% y la κ -caseína del 21%. (tratamiento 12 I vs. 6I). Esta respuesta tiene gran importancia en lo que respecta a la industria lechera, por su efecto en el rendimiento quesero. De Peters y Cant (1992) citan experimentos con aminoácidos protegidos donde se manifiestan respuestas diferenciales en los distintos tipos de caseína; esto sugiere que la expresión genética de las variantes de dicha proteína está bajo diferente control, lo que de ser así tendría implicancias importantes.

En cuanto a los resultados de la electroforesis del tratamiento A, no sería acertado extraer conclusiones ya que aparentemente se produjo una importante degradación enzimática de las muestras, lo que se manifiesta en que hay varias subfracciones proteicas que no fue posible identificar, además de un muy bajo porcentaje de proteínas séricas.

Los resultados obtenidos por precipitado de la caseína coinciden con los de la electroforesis; tiende a incrementarse el contenido de caseína al aumentar los niveles de energía aportada en la dieta, suplementando con soja tratada.

Respecto al análisis de los ácidos grasos, al darse soja sin tratar disminuye el porcentaje de ácidos grasos de cadena larga (LCFA) saturados e insaturados. La producción de ácidos grasos aumenta, pero en menor proporción que el incremento en la producción de leche, por lo que se manifiesta un efecto de dilución. Los ácidos grasos de cadena corta y media (SCFA) aumentan en mayor proporción que el aumento de la producción de leche, por lo que el porcentaje se incrementa al aumentar los niveles de energía aportados con la dieta

Cuando se consume soja tratada, aumentan los LCFA saturados en menor proporción que el aumento de la producción de leche, por lo que disminuye el porcentaje. Se incrementan los LCFA insaturados al aumentar los niveles de energía consumidos, y los SCFA tienden a disminuir, manifestándose la inhibición que ejercen los LCFA insaturados sobre la síntesis de ácidos grasos a nivel de glándula mamaria. En cuanto al efecto del tratamiento térmico de la soja, según la bibliografía consultada se produce mayor protección de los ácidos grasos de la semilla oleaginosa, los que se liberan mas

lentamente, hay menor lipólisis a nivel ruminal y por consiguiente es menor la biohidrogenación. Esto coincide con un mayor nivel de LCFA insaturados en leche de los tratamientos con soja Inactiva.

El análisis estadístico de los resultados no dio diferencias significativas, pero hay que tener en cuenta que los datos presentan una gran variabilidad y se analizó un muy bajo número de muestras. Podríamos suponer que de tomar más muestras los tratamientos tendrían diferencias significativas.

6. RESUMEN

Se realizó un experimento con 36 vacas Holstein, las cuales fueron distribuidas en 6 tratamientos. Los mismos consistían en dietas con tres niveles de energía (6, 9 y 12 kg de ración comercial con 17 % de PC), combinándose con dos tipos de soja, tratada térmicamente (soja Inactiva) y sin tratar (soja Activa), asignándose 1 kg de soja / día a cada animal.

Se obtuvieron muestras semanales de la leche producida por cada vaca y muestras compuestas por tratamiento. De las primeras se determinó el porcentaje de proteína, lactosa, sólidos no grasos y sólidos totales, resultados que corresponden al trabajo original de Long y Teiza (datos no publicados). De esas muestras se analizó en forma adicional la proporción de caseína por medio de precipitación a pH 4.6, aplicando la Técnica descrita por Pancreac (1992). Las muestras compuestas fueron utilizadas para determinar la composición porcentual de ácidos grasos de la leche y las subfracciones proteicas. Los perfiles lipídicos se obtuvieron a partir de un análisis cuantitativo por cromatografía de gases de acuerdo a la técnica descrita por IDF (1991). Las subfracciones proteicas se obtuvieron sometiendo las muestras compuestas (luego de ser desgrasadas por centrifugación) a electroforesis en geles de SDS-PAGE al 12 %.

El análisis de los datos se realizó según el procedimiento GLM (General Linear Model), ajustándose modelos mixtos con arreglo factorial para el análisis de los ácidos grasos y para el análisis de la caseína por precipitado.

En lo que respecta a los perfiles lipídicos, cuando se suplementa con soja tratada térmicamente hay una tendencia a incrementarse los niveles de ácidos grasos insaturados de cadena larga al aumentar los niveles de energía en la dieta, mientras que los ácidos grasos de cadena corta tienden a disminuir. En cambio, cuando se suplementa con soja sin tratar, se da una respuesta inversa. Los efectos no fueron significativos.

En el caso del tratamiento I (soja tratada), los contenidos de caseína en leche se incrementan al aumentar los niveles de energía dietarios, existiendo diferencias significativas. Esto coincide con los resultados obtenidos por electroforesis, donde se manifiesta un incremento de las subfracciones caseínicas de entre 13 y 21 %.

Se obtuvieron resultados acordes a lo esperado, y en los casos en que no se encontraron diferencias significativas, igualmente se manifestaron las tendencias descritas en la bibliografía consultada.

7. SUMMARY

A trial was conducted with thirty six Holstein cows which were allocated at six feeding treatments: three levels of energy supplementation (6, 9 and 12 kg of a commercial supplement with 17% CP) and two types of whole soybean (activated and inactivated by heating). Each animal received one kg of soybean per day.

Samples were taken for milk production and composition. Milk samples were analyzed at the laboratory for crude protein, lactose, non fat dry matter, and total dry matter in a previous work. Milk casein was determined by pH = 4,6 precipitation, fat composition was analyzed by gas chromatography and protein fractions by SDS Page electrophoresis.

Statistical analysis for casein and fatty acids was done by GLM for a mixed model with factorial arrangement.

The results suggest a trend for increasing levels of long chain fatty acids in animals with increasing energy with inactivated soybean. Animals fed on activated soybean meal are trends to increase the levels of short chain fatty acids ($P > 0,05$).

Milk casein increases with levels of energy in animals fed with inactivated soybean.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALAIS, CH. 1985 Ciencia de La Leche: principios de técnica lechera. Editorial Reverté S.A
2. ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. 1997 Symposium: New Approaches To Changing Milk Composition . Potential To Alter The Content And Composition Of Milk Through Nutrition. Journal of Dairy Science 80:9 pp 2204-2212
3. CÉSPEDES IBARRA, I. In MEMORIAS: 5º Congreso Panamericano de la Leche. Medellín, Colombia. 2 al 7 de noviembre de 1994. FEPALE pp 249
4. CHILLIARD, Y.; DRACKLEY, J.K.; BAUMAN, D.E. 2001 Effect Of Dietary Lipid Source On CLA Concentrations In Milk Fat. Journal of Dairy Science 84:3 pp 680-690
5. CHOUINARD, P.Y. LEVESQUE, J; GIRARD, V.; BRISSON, G.J 1997 Performance And Profiles Of Milk FA Of Cows Fed Full Fat, Heat-Trated SB Using Various Processing Methods. Journal of Dairy Science 80:2 pp 334-342
6. (_____.);(_____.);(_____.);(_____.); 1997 Dietary Soybean Extruded At Differents Temperatures: Milk Composition And In Situ Fatty Acids Reactions Journal of Dairy Science 80:11 pp 2913
7. CHOW, J.M.; DE PETERS E.J.; BALDWIN, R.L. 1990 Effect of Rumen-Protected Methionine and Lysine on Casein in Milk When Diets high or Concentrate are Fed. Journal Of Dairy Science 73:4 pp 1051-1061
8. CHURCH, D.C; POND, W.G. 1996 Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Rumiantes. 5ª Reimp. México. Limusa 438 p
9. DAVIS, S.R; 1997 Limits to Productivity in Dairy Cows. In WELCH R., BURNS D., DAVIS S., POPAY A.; PROSSER C. Milk Composition, Production and Biotechnology. Agric.Research. New Zeland Pastoral Agriculture Research Institute Limited. CAB International. Biotechnology in Agriculture Series. OECD, París
10. DE PETERS, E.J. TAYLOR, S.J.; BALDWIN, R.L. 1989 Effect Of Dietary Fat In Isocaloric Rations On The N Content Of Milk From Holstein Cows. Journal of Dairy Science 72:11 pp 2949-2957
11. (_____.); CANT J.P. 1992 Nutricional Factors Influencing the N Composition of Milk: a Review. Journal of Dairy Science 75:8 pp 2043-2070
12. DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. 1997 Particle Size Of Roasted SB And The Effect On Milk Production Of Dairy Cows. Journal Of Dairy Science 80:8 pp 1722

13. (_____.); ANAND, G.R.; SATTER, L.D; PARIZA, M.W 1999 Conjugated Linolenic Acid (Cla) Content Of Milk From Cows Fed Diferents Diets. Journal of Dairy Science 82:10 pp 2146-2156
14. (_____.); SATTER, L.D; PARIZA, M.W; GALLI, M.P.; ALBRIGHT, K; TOLOSA, M.X. 2000 Conjugated Linolenic Acid (Cla) Content Of Milk From Cows Offered Diets Rich In Linoleic And Linolenic Acid. Journal of Dairy Science 83:5 pp 1016-1027
15. DONNELLY L.; CROSSE, S. A perspective for the dairy industry 2010. Dairy Products Research Centre, Teagasc, Moorepark, Fermoy, Co. Cork.
16. DOREAU M., DEMEYER D.; VAN NEVEL CH. 1997 In WELCH R., BURNS D., DAVIS S., POPAY A.; PROSSER C. Milk Composition, Production and Biotechnology. p13. Agric.Research. New Zeland Pastoral Agriculture Research Institute Limited . CAB International. Biotechnology in Agriculture Series. OECD, Paris
17. GERMAN, J.B; MORAND, L.; DILLARD C.J.; XU, R. 1997 Milk Fat Composition: Targets For Alteration of Function and Nutrition. pp35-72 In WELCH R., BURNS D., DAVIS S., POPAY A.; PROSSER C. Milk Composition, Production and Biotechnology. Agric.Research. New Zeland Pastoral Agriculture Research Institute Limited . CAB International. Biotechnology in Agriculture Series. OECD, París
18. HAENLEIN, G, F.W. 1996 Goat Management.: Nutritional Value Of Dairy products Of Ewe and Goat Milk. Delaware Cooperative Extension. University Of Delaware 11p
19. HARRIS, B.; BACHMAN K.C. 1988 Nutritional And Management Factors Affecting Solids-Not-Fat, Acidity And Freezing Point Of Milk. Dairy Science Department, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
20. HAVEL, R.J. , 1997 Milk Fat Consumption and Human Health. p13-22 In WELCH R., BURNS D., DAVIS S., POPAY A.; PROSSER C. Milk Composition, Production and Biotechnology. Agric.Research. New Zeland Pastoral Agriculture Research Institute Limited. . CAB International. Biotechnology in Agriculture Series. OECD, Paris
21. HOLMES, C.W.; WILSON, G.F.; 1989 Producción de Leche en Praderas. Editorial Acribia, S.A. España.
22. HURLEY, W.L. 2000 Lactation Biology. Milk proteins and Protein Synthesis. University of Illinois. Urbana-Champaign www.afns.ualberta.ca
23. International Dairy Federation. 1991 Determination of individual FFA- reference method. Monograph on Determination of FFA in Milk and Milk Products. Int. Dairy Fed. Bull.,265: 41-44

24. JENKINS, T.C. 1993 Symposium: Advances In Ruminant Lipid Metabolism. Lipid Metabolism In The Rumen. Journal of Dairy Science 76:12 pp 3851-3863
25. KARUNANANDAA, K.; GOODLING, L.E.; VARGA, G.A.; MULLER, L.W.; MC NEILL, W.W.; CASSIDY, T.W.; LYKOS, T. 1994 Supplemental Dietary Fat And Ruminally Protected Amino Acid For Lactating Jersey Cows. Journal Of Dairy Science 77:11 pp 3417-3425
26. KENKEL, P.; RAY, F. Trends in Food Consumption and the Food Product Industry. Oklahoma Cooperative Extension Service. Division of Agricultural Science and Natural Resources. Oklahoma State University.
27. KENNELLY, J.; GLIMM, D. 1998 The biological potential to alter the composition of milk. Canadian Journal of Animal Science 78 (supl) pp 23-56
28. (_____.);1993 Nutritional Factors Influencing Yield and Composition of Milk. Discussion modified from the paper "The Untapped Potencial to Alter the Composition of Milk by Dietary Means" in "Advances in Dairy Technology" www.afns.ualberta.ca 15 p
29. KINCAID, R.L.; CRONRATH, J.D. 1993 Effects Of Added Dietary Fat And Amino Acids On Performance Of Lactating Cows. Journal Of Dairy Science 76:6 pp 1601-1606
30. LE JAOUEN, J.C. Y KURMANN, J.A., 1993 Report on food in the year 2000 current trends and current aspects of goat and ewe dairy products. Bulletin of the IDF 304.
31. LUQUET, F. 1991. La leche. De la mama a la lechería. Ed. Acribia. 379 p.
32. MC DONAGH, D., LAWLESS F., GARDINER G.E., ROSS R.P., STANTON C. ; DONNELLY W.J. 1999 Milk And Dairy Products For Better Human Health. Teagasc Publications. Quality Dept., DPRC, Teagasc, Moorepark, Fermoy, Co Cork.
33. MIELKE, C.D.; SCHINGOETHE, D.J. 1981. Heat-Trated SB For Lactating Cows. Journal of Dairy Science 64:7 pp 1579-1585
34. OLDHAM, J.D. 1984 Protein-Energy Interrelationships in Dairy Cows. Journal Of Dairy Science 67:5 pp 1090-1114
35. PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, D. 1993 ADSA Symposium: Milk Fat And Modification. Feed And Animal Factor Influencing Milk Fat Composition. Journal Of Dairy Science 76:6 pp 1753-1771
36. PANCREAC. 1992 Métodos analíticos en Alimentaria. Leche y Productos Lácteos. Pancreac quinnco S.A. Madrid. España. 134 p

37. REARTE, D.H. 1992 Alimentación Y Composición De La Leche En Los Sistemas Pastoriles. Balcarce, Argentina. INTA Centro Regional Bs. As. Sur 94 p
38. REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. 1994 Release Of Free Fatty Acids From Raw Or Processed Soybeans And Subsequent Effects On Fiber Digestibilities. Journal of Dairy Science 77:11 pp 3410-3416
39. ROBYT, J.F. Y WHITE, B.J. (1990) Electrophoretic Technique In: Biochemical Techniques and Practices. Ed Waveland Press Inc. Cap 5 pp 129-157
40. SANZ SAMPELAYO, M.R 1998. The use of diets with different protein sources in lactating goats: Composition of milk and its suitability for cheese production. Small Ruminant Research 31 pp 37-43
41. SAVELLO, P. 1999 Milk Quality and its Relation to Dairy Product Quality. University of Utah, United States of America. Jornada Técnica: Evolución, Presente y Futuro de "Calidad"- Conaprole - Facultad de Agronomía. pp 1-15
42. SCHMIDT G.H.; VAN VLECK L.D.; 1975 Bases Científicas Para La Producción Lechera. Editorial Acribia. España. pp 583
43. SOL MORALES, M.; PALMQUIST, D.L.; WEISS, W.P. 2000a. Effects Of Fat Source And Cooper On Unsaturation Of Blood And Milk Triacilglycerol Fatty Acids In Holstein And Jersey Cows. Journal of Dairy Science 83:9 pp 2105-2111
44. (_____.);(_____.);(_____.); 2000b. Milk Fat Composition Of Holstein And Jersey Cows With Control Or Depleted Copper Status And Fed Whole Soybeans Or Tallow. Journal of Dairy Science 83:9 pp 2112-2119
45. SPAIN J.N.; ALVARADO, M.D; POLAN, C.E.; MILLER, C.N.; McGILIARD, M.L. 1990 Effect of Protein Source and Energy on Milk Composition in Midlactation Dairy Cows. Journal of Dairy Science 73:2 pp 445-452
46. STEPHEN D., 1997 Limits To Productivity in Dairy Cows IN WELCH R., BURNS D., DAVIS S., POPAY A. ; PROSSER C. Milk Composition, Production and Biotechnology. Agric.Research. New Zeland Pastoral Agriculture Research Institute Limited. CAB International. Biotechnology in Agriculture Series. OECD, París
47. STERN, M.D.; SANTOS, K.A.; SATTER, L.D. 1985 Protein Degradation In Rumen And Aminoacid Absortion In Small Intestine Of Lactating Dairy Cattle Fed Heat-Trated Whole SB. Journal of Dairy Science 68:1 pp 45-56
48. TICE, E.M.; EASTRIDGE, M.; FIRKINS, J.L. 1994 Raw SB And Roasted SB Of Different Particle Sizes. 2.Fatty Acids Utilization By Lactating Cows. 1994 Journal of Dairy Science 77: 1 pp 166-180
49. TOMLINSON, A.P.; VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J.; HARRIS, B. 1994 Effects Of Undegradable Proteins And Supplemental Fat On Milk Yeld And Composition And Physiological Responses Of Cows. Journal of Dairy Science 77:1 pp 145-156

50. USTARROZ, E.; DE LEÓN, M.; 1999 II Congreso Nacional Sobre Producción Intensiva De Carne. Forrajes y Granos. Palermo. Argentina.
51. WEBB, B.; JOHNSON, A.; ALFORD, J.; 1978 Fundamentals Of Dairy Chemistry. The AVI Publishing Company, INC. USA