

T.3/03

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**EFFECTO DE LA DISTRIBUCION Y HORA DE SUMINISTRO DEL ENSILAJE
DE MAIZ EN LOS COMPONENTES MAYORES Y SUS SUBFRACCIONES DE
LA LECHE DE VACAS LECHERAS PASTOREANDO PRADERAS EN
OTOÑO-INVIERNO**

por

María Cecilia SANTOS TENAGLIA

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Agrícola-lechero)**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2003**

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. Jorge Bermudez

Ing. Agr. Andrés Ganzabal

DMV. Stella Reginensi

Fecha:

Autor:

M. Cecilia Santos Tenaglia

AGRADECIMIENTOS

A todas aquellas personas que han colaborado de alguna manera para que la realización de este trabajo sea posible

A los funcionarios y docentes del laboratorio de Tecnología de Alimentos por su colaboración y por el espacio brindado.

A los Ing. Agrs. Pablo Chilibroste y Francisco Elizondo por su colaboración en el trabajo de recolección de muestras y datos provenientes de la Estación Experimental M.A.Cassinoni de Paysandú.

Al personal de biblioteca de la facultad de Agronomía en Montevideo, Paysandú y biblioteca de la facultad de Veterinaria por el acceso al material bibliográfico.

A Juan Pablo Damián, del área de bioquímica de facultad de Veterinaria, por su colaboración en la determinación de las subfracciones de caseína.

A mi director de tesis Ing. Agr. Jorge Bermudez por su constante apoyo y guía.

A mis compañeras de facultad por estar siempre a mi lado.

Agradezco a mi familia y amigos por acompañarme y apoyarme durante toda la carrera, haciendo posible este lindo camino recorrido.

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro n°	Página
1. Contenidos de CLA en leche para distintos regímenes alimenticios	18
2. Proporción de ácidos grasos en leche de vaca	30
3. Principales sustancias nitrogenadas en leche de vaca	31
4. Fracciones de caseína en porcentaje de caseína total	31
5. Días de lactancia, n° de lactancias y peso vivo de las vacas fistuladas	34
6. Producción de leche para los 3 tratamientos y por momento de ordeño, en 2 períodos	41
7. Producción de leche y proteína por ordeño y contenido proteico para los tratamientos	42
8. Producción y contenido proteico por ordeño para los 3 tratamientos	44
9. Subfracciones caseínicas para los 2 momentos de ordeño	48
10. Subfracciones caseínicas en 2 períodos	49
11. Subfracciones caseínicas para los 3 tratamientos	50
12. Relación α/β para los 3 tratamientos en 2 períodos	52
13. Producción por ordeño y contenido graso en leche para los 3 tratamientos	53
14. Composición de la grasa de la leche para los 3 tratamientos	56
15. Proporción de ácidos grasos por momento de ordeño en cada período	59

Figura n°	Página
1. Contenido proteico para los 3 tratamientos en 2 períodos	45
2. Contenido promedio de NNP para los 3 tratamientos	47
3. Subfracciones caseínicas para los 2 momentos de ordeño	49
4. Porcentaje de grasa en leche para los 3 tratamientos en 2 períodos	55
5. Proporción de ácidos grasos de la leche para los 3 tratamientos	56
6. Proporción general de ácidos grasos por momento de ordeño	59
7. Proporción de ácido linoleico conjugado para los 3 tratamientos	60

ABREVIATURAS

AG: ácido graso

AGV: ácidos grasos volátiles

BF: base fresca

MUFA: ácido graso monoinsaturado

N: nitrógeno

N-NH₃: nitrógeno como nitrógeno amoniacal

NH₃: amoníaco

NNP: nitrógeno no proteico

PC: proteína cruda

PUFA: ácido graso poliinsaturado

SNG: sólidos no grasos

TCA: ácido tricloroacético

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES	IV
1 INTRODUCCION	3
2 REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
2.1 ALIMENTACION.....	5
2.1.1 <u>Base de la dieta. Pasturas</u>	6
2.1.2 <u>Suplementación energética. Ensilaje de maíz.</u>	7
2.2 AMBIENTE RUMINAL.....	8
2.2.1 <u>Momento y frecuencia de suplementación</u>	10
2.3 COMPOSICION DE LA LECHE.....	15
2.3.1 <u>Factores de variación, nutricionales</u>	15
2.3.1.1 Variaciones en grasa de la leche.....	15
2.3.1.2 Variaciones en la proteína de la leche	21
2.3.2 <u>Factores de variación, no nutricionales</u>	25
2.3.2.1 Variaciones diarias.....	25
2.3.2.2 Etapa de lactancia	26
2.3.2.3 Número de lactancias.....	27
2.3.2.4 Estado sanitario.....	27
2.3.2.5 Factores ambientales.....	28
2.3.2.6 Factores genéticos.....	29
2.3.3 <u>Composición química de la leche</u>	30
3 MATERIALES Y METODOS	33
3.1 UBICACIÓN Y PERIODO EXPERIMENTAL	33
3.2 ANIMALES.....	33
3.3 ALIMENTACION Y TRATAMIENTOS.....	34
3.4 DETERMINACIONES REALIZADAS	35
3.4.1 <u>Producción de leche</u>	35
3.4.2 <u>Determinaciones en la leche</u>	35

3.4.2.1 Contenido de materia grasa.....	35
3.4.2.2 Composición de la materia grasa.....	36
3.4.2.3 CLA.....	36
3.4.2.4 Contenido de Nitrógeno total y Nitrógeno no proteico en leche.....	36
3.4.2.5 Composición proteica. Fracciones de caseína.....	38
3.4.2.6 Sólidos totales en leche y cenizas.....	38
3.4.2.7 Peso seco de la cuajada.....	39
3.5 ANALISIS ESTADISTICO.....	40
4 RESULTADOS Y DISCUSION.....	41
4.1 PRODUCCION DE LECHE.....	41
4.2 PRODUCCION Y CONTENIDO DE PROTEINA.....	42
4.3 CONTENIDO DE NNP.....	46
4.4 SUBFRACCIONES DE CASEINAS.....	48
4.5 RETENCION DE SOLIDOS (RENDIMIENTO QUESERO).....	51
4.6 PRODUCCION Y CONTENIDO DE GRASA.....	53
4.7 COMPOSICION DE LA GRASA DE LA LECHE.....	56
5 CONCLUSIONES.....	62
6 RESUMEN.....	66
7 BIBLIOGRAFIA.....	68
8 ANEXOS.....	74

1 INTRODUCCION

Los sistemas lecheros del Uruguay se caracterizan por ser pastoriles, sin embargo en el período otoño- invernal el ensilado de maíz y el concentrado pasan a ser componentes de peso de la alimentación y el forraje verde se vuelve un recurso limitado (Mattiauda, 2001, sin publicar).

A su vez, las exigencias actuales de la producción lechera y las necesidades de hacer más eficiente el sistema hacen más complejo el manejo operativo y nutricional. En los sistemas pastoriles el "mixer" es el animal a diferencia de los sistemas estabulados donde primero se carga y mezclan los alimentos en el mixer y luego se suministra la ración completa a los animales, en los sistemas pastoriles el llenado del mixer se realiza a lo largo del día. La estrategia de pastoreo y suplementación es relevante dado que en esta área el orden de los factores sí altera el producto. Tanto el consumo de materia seca como la eficiencia de utilización de la materia seca consumida van a variar según sea la "estrategia de carga" que el animal desarrolle (Chilibroste, 1999).

Trabajos realizados en el país muestran las posibilidades de alterar la producción y composición de la leche a través del manejo del pastoreo sin alterar la dotación de recursos, sin embargo este manejo no siempre resulta en el mismo sentido por lo que hay muchos factores que inciden en forma conjunta (Mattiauda 2001, sin publicar).

La información obtenida hasta el momento, explica los mecanismos de compensación del pastoreo pero poco se conoce del estado interno del animal en estas condiciones. Trabajos realizados muestran una situación particular en los parámetros ruminales medidos en vacas bajo pastoreo directo. En estos trabajos se encontraron altas concentraciones de amoníaco y bajos niveles de pH que pueden afectar la digestión de la pared celular del alimento así como el consumo del animal (Rodríguez et al, 1990; Rearte et al, 1989).

Por otro lado, hace bastante tiempo, nuestro país ha alcanzado la autosuficiencia en lácteos. Un fuerte perfil industrial fue moviendo las prioridades de toda la cadena agroindustrial de la leche como tal hacia un nuevo esquema donde lo central ha pasado a ser los sólidos contenidos en esa leche. Por lo tanto, se tornan cada vez más relevantes las medidas de manejo y alimentación que promuevan las mejores y mayores respuestas del ganado en términos de sólidos de leche (Acosta, 2001).

De lo antedicho se desprende el objetivo de este trabajo el cual sería:

- evaluar los efectos de la distribución y hora de suministro del ensilaje de maíz en los componentes mayores y sus subfracciones de la leche de vacas Holando en pastoreo de praderas, con lactancia temprana, en el período otoño-invernal.

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 ALIMENTACION

Entre otros factores que afectan a la composición de la leche, se encuentra la alimentación como un componente muy importante (Acosta, 2001). En términos muy generales los puntos críticos a considerar para maximizar la producción de sólidos en leche son los siguientes:

- a) un apropiado balance de nutrientes,
- b) maximizar el consumo de alimentos y
- c) realizar un monitoreo periódico de la dieta además de correcciones por cambios cuali y/o cuantitativos en los recursos alimenticios utilizados.

Uno de los puntos centrales en la maximización del consumo efectivo de alimentos de una vaca considerando la lactancia completa, es la relativa a minimizar en la medida posible el clásico balance negativo de energía que se produce en lactancia temprana. Al entrar en balance positivo, se revierte la pérdida de peso, de condición corporal y la producción de grasa y proteína suele entrar en rangos normales (Acosta, 2001).

El criterio tradicional para la alimentación de las vacas lecheras ha estado basado en un sistema de requerimientos, dirigido a lograr un balance continuo entre el consumo de nutrientes y los requerimientos para mantenimiento, producción de leche, crecimiento y gestación. Los requerimientos para mantenimiento y producción de leche son los dos factores principales considerados en la determinación del suministro diario de energía (Wiktorsson, 1983). La productividad de un animal dada cierta dieta, depende en más de un 70% de la cantidad de alimento que pueda consumir y en menor proporción de la eficiencia con que digiera y metabolice los nutrientes consumidos (Chilibroste, 1998).

2.1.1 Base de la dieta. Pasturas

Cuando se compararon diferentes especies forrajeras, se observó que algunas leguminosas, como por ejemplo trébol blanco (*Trifolium repens*), superaban a las gramíneas en términos de producción de leche. Los resultados del trabajo de Thomson et al., (1985) muestran que el aumento de producción de leche trajo aparejado aumentos significativos también en producción de proteína. Losada, (1983) concluye que a pesar de haber grandes diferencias en la estructura celular de gramíneas y leguminosas, ello no necesariamente se traduce en diferencias en las proporciones de AGV en rumen.

La calidad de la pastura afectará la composición de la leche en la medida que altere el plano nutricional de las vacas. Esto se confirma al analizar la composición de la leche a través de los diferentes meses del año (Rearte et al., 1986). Al avanzar el estado de crecimiento de las pasturas, disminuye la calidad del forraje ofrecido, afectándose la producción y composición de la leche. Se encontraron importantes disminuciones en la síntesis de proteína de la leche cuando se utilizaron pasturas maduras. En lo referente al contenido graso, si bien existió una tendencia a aumentar la concentración en leche, con las pasturas maduras, debido a la menor producción de leche, la producción total de grasa butirosa no se vio aumentada (Rearte et al., 1986b). Las pasturas en primavera poseen un mayor contenido de carbohidratos solubles que en otros meses del año; y una mayor proporción de la proteína del forraje está como proteína verdadera, mientras que en otoño, por ejemplo, parte de dicha proteína está como nitrógeno no proteico (Beever et al., 1978)

Una mayor disponibilidad de forraje posibilita un aumento en el consumo de energía por parte del animal, lo que provoca incrementos en la producción de leche y proteína (Rearte et al., 1986).

2.1.2 Suplementación energética. Ensilaje de maíz.

La suplementación energética de las pasturas es necesaria para mejorar el balance ruminal entre la energía y proteína disponible y permitir un crecimiento microbiano óptimo (Beever *et al*, 1986). La alta degradabilidad de la proteína de las pasturas generará excesos de nitrógeno no utilizados por el animal y la adición de un suplemento como el ensilaje de maíz de bajo contenido proteico pero rico en energía, contribuirá a atenuar el desbalance N- energía que se da en los animales con pastura solamente (Rearte *et al*, 1990b).

Los efectos positivos del ensilaje de maíz sobre la producción se originan en mejoras en la eficiencia de conversión de la energía digestible en leche, más que en aumentos en la energía consumida. Existen evidencias de que la retención de energía por las vacas lecheras está correlacionada negativamente con la cantidad de nitrógeno consumido por encima de los requerimientos del animal (Tyrrel *et al*, 1970).

La fibra efectiva se encuentra en muy baja concentración en el estrato superior de la pastura (la parte que por lo general selecciona el animal durante el pastoreo), por lo que la fibra proveniente de henos y ensilajes representa el factor de estimulación de la masticación, la rumia y la insalivación y por lo tanto definirá las características del ambiente ruminal (Gallardo, 2002).

Los ensilajes de planta entera de maíz son recursos de escaso nivel de proteína y por lo tanto deben ser suplementados adecuadamente cuando participan en una proporción importante de la materia seca total ofrecida (más del 50%) (Gallardo, 2002). La respuesta a la suplementación con ensilajes de maíz a vacas en pastoreo dependerá además de la forma de suministro y de la cantidad suplementada. A su vez la respuesta a la suplementación con ensilajes de maíz depende de su contenido energético, lo que estará directamente relacionado a la cantidad de grano del cultivo ensilado.

El ensilaje de maíz, incluido como 25% de la dieta, permitía mayores producciones de leche, grasa, proteína y lactosa que los ensilajes de pasturas, aún cuando ambos suplementos lograsen iguales consumos de energía digestible (Bryant *et al*, 1974). Otros serán los resultados que pueden obtenerse cuando las pasturas no posean un alto contenido proteico, o donde el ensilaje de maíz represente más del 50% de la dieta total consumida (Rearte *et al*, 1990b).

2.2 AMBIENTE RUMINAL

En animales alimentados en base a forraje, entre el 70 a 90% de la digestión de la materia orgánica ocurre en el rumen (Cammell *et al*, 1983). Es en este compartimento donde se dan drásticas transformaciones de la materia orgánica ingerida que incluyen la colonización de la materia orgánica por parte de la microflora, la fermentación anaeróbica, la síntesis de masa microbiana y la producción y absorción de AGV.

En condiciones de pastoreo, la disponibilidad de sustrato para los microorganismos y el medio ambiente ruminal están fuertemente influenciados tanto por las características nutricionales de la pastura como por el patrón de ingestión de los animales (Chilibroste, 1998).

El ambiente ruminal generado por forraje frescos de buena calidad consumidos bajo pastoreo difiere de los generados por el suministro de forrajes conservados a animales estabulados. Investigaciones llevadas a cabo en la región (INTA Balcarse, Argentina y EEMAC, Uruguay) han mostrado que el ambiente ruminal de vacas lecheras en sistemas pastoriles se puede caracterizar por bajos valores de pH a lo largo del día (5.9-6.2); alta concentración de AGV (90-120 mmol/l); baja relación acético: propiónico (2-2.5) y altas concentraciones de N- amoniacal (90-400 mg/l) (Santini, 1985; Mattiauda *et al*, 1993).

Van Vuuren (1986) estudiando las variaciones diurnas en la composición química de las pasturas, encontró que los descensos de pH del líquido ruminal se originan en las altas concentraciones de carbohidratos solubles de los pastos en determinados momentos del día. Cuando estos carbohidratos ingeridos son fermentados por las bacterias del rumen a una tasa superior a la tasa de absorción de los AGV producidos, la concentración de éstos en el líquido ruminal aumentará provocando las disminuciones de pH ruminal. Es generalmente aceptado que depresiones en el pH del líquido ruminal por debajo de 6.2 deprimen la actividad celulolítica de la población microbiana (Ørskov, 1994).

El amoníaco producido en la hidrólisis de proteínas podrá ser utilizado por las bacterias del rumen para sintetizar su propia proteína siempre que exista simultáneamente suficiente energía. Cuando en la fermentación ruminal se producen picos excesivos de NH_3 , éste no es aprovechado en su totalidad por la microflora ruminal y los excedentes son excretados a través de la orina y de la leche originando concentraciones de NNP en ésta superiores a lo normal. La pérdida de NH_3 a través de la orina en forma de urea ocasionará además un gasto extra para el animal por la energía utilizada en la detoxificación de NH_3 (Rearte, 1990).

Dadas las características fermentativas de las pasturas templadas en estado vegetativo el “concentrado ideal” debiera aportar energía rápidamente disponible en el rumen y baja concentración de nitrógeno (Van Vuuren, 1993). La suplementación con fibras de alta digestibilidad previene depresiones en el contenido graso de la leche tal como ha sido observado en la suplementación en base a almidón (Valk *et al.*, 1990). El grado de fermentación ruminal está determinado principalmente por la composición de la dieta, el nivel de alimentación y ocasionalmente por el contenido de nitrógeno del fluido ruminal. El proceso de fermentación proporciona a la microflora la energía en forma de ATP requerida para su mantenimiento y crecimiento (Van Es *et al.*, 1983).

Un ambiente ruminal óptimo en su actividad celulolítica para la digestión de la fibra y síntesis de grasa butirosa, es aquel que presenta un pH de 6.7-6.8; una concentración de NH_3 de 5-8 mg% y de AGV de 79-90 mmol/l y una relación acético: propiónico de 3-3.5:1 (Rearte *et al.*, 1989).

El ambiente ruminal descrito es característicos de los animales consumiendo forraje fresco en pastoreo directo. Otra es la situación observada cuando el forraje es cortado y ofrecido a los animales estabulados. En este caso, no se registraron los bajos pH y las altas concentraciones de NH_3 obtenidas con el pastoreo directo (Pasinato, 1990).

En trabajos donde se midió tiempo de pastoreo con tacógrafos, se observó que el pH ruminal registraba sus valores más bajos cuando el animal se encontraba pastoreando. Un consumo discontinuo por parte del animal que está en pasturas permanentemente, provocará descensos del pH ruminal a valores inferiores a lo esperado. Este cuadro de ambiente ruminal en condiciones pastoriles y al cual podría definirse como de pseudo- acidosis, explicaría en parte el bajo contenido graso de la leche (Rearte *et al.*, 1990b).

2.2.1 Momento y frecuencia de suplementación.

El efecto de la frecuencia y nivel de suplementación ha recibido atención en los sistemas estabulados de producción de leche. Incrementos en la frecuencia de suplementación reducen en general las variaciones diarias de pH, aumentan la actividad celulolítica y la concentración de acetato en rumen asociado a mayores contenidos grasos en la leche. Sin embargo cuando el nivel de forraje en dieta es alto (más de 50%), no se han observado beneficios claros de cambios en la frecuencia o momento de suplementación (Nocek, 1987).

Con vacas lecheras en pastoreo la disponibilidad de información experimental es mucho más escasa. La vaca lechera en pastoreo presenta un patrón de consumo muy marcado, con dos sesiones principales de pastoreo a la salida de los ordeños (Rook et al, 1994). Los pastoreos de la tarde son más largos que los de la mañana y tasas de consumo de materia seca instantáneas mayores (Gibb et al, 1997). El contenido ruminal no es estable a lo largo del día reflejando con cierto retraso el patrón de consumo. Los valores máximos y mínimos de contenido ruminal se dan a la noche y a la mañana respectivamente (Chilibroste et al, 1987-1988).

Van Vuuren et al, (1986) observaron a las 12 de la noche los máximos valores de concentraciones de AGV y amonio y los menores valores de pH en el líquido ruminal de vacas pastoreando raigrás durante todo el día. En contraste, las mínimas concentraciones de amonio y AGV se registraron a las 8 de la mañana, reflejando que el consumo durante la noche de los animales en pastoreo es muy reducido. El manejo integrado de la información referente al patrón de consumo de los animales, los cambios asociados en la cantidad y características fisico-químicas del contenido ruminal y las variaciones a lo largo del día en la concentración de carbohidratos solubles en las plantas, ofrecen una variación no debidamente explotada en nuestros sistemas pastoriles (Chilibroste, 1998).

Rearte et al., (1990) observaron efectos positivos sobre la producción y composición de la leche cuando ofrecieron el silo de maíz en dos veces (a la salida de los ordeños) en vez de una sola durante la noche. Asociados a los cambios en producción, determinaron mayores promedios de pH y menores valores de amonio en rumen y de urea en plasma en los animales suplementados en dos tiempos. El ambiente ruminal generado con la suplementación con silo tuvo además una mayor proporción de ácidos lipogénicos (acético y butírico) y una disminución en la capacidad buffer del líquido ruminal (Elizalde, 1990). El consumo de silo de maíz luego del ordeño de la mañana proveería a las bacterias del rumen, de la energía necesaria para mejorar el aprovechamiento del amoníaco generado en la hidrólisis de la proteína de los pastos (Rearte et al., 1990b). El suministro del silo de maíz en dos comidas provocó un aumento en producción y contenido graso, así como también en producción de proteínas comparado con el suministro en una sola comida (Rearte et al., 1990b).

Rodriguez et al. (1990) realizaron un experimento con moha (*Setaria itálica*) como base forrajera. Las vacas se suplementaron con sorgo molido y con agregado de urea (40g/vaca/día) en la mañana o en la tarde. Como era de esperar, los tratamientos suplementados produjeron más leche que el testigo. Es remarcable el efecto del momento de suministro de la urea sobre la producción y composición de la leche. Observaciones ruminales mostraron elevados picos de amonio en el tratamiento en el que la urea se agregó en la mañana, lo que indicaría una baja utilización del nitrógeno suministrado por los microorganismos ruminales. En cambio, cuando la urea se suministró en la tarde no se observaron los mismos picos. Es probable que el mayor contenido ruminal de los animales en la tarde, la mayor concentración de carbohidratos solubles en la moha al fin del día y probablemente una mayor tasa de consumo, permitieran una mejor utilización del NNP suministrado por parte de los microorganismos ruminales. Los mayores contenidos de grasa en leche en los animales suplementados con urea en la tarde pueden estar reflejando una mayor degradabilidad de la fibra en rumen (Chilibroste, 1998).

En estudios realizados en otras regiones (hemisferio norte) se han encontrado repuestas también a la frecuencia de alimentación. El aumento en la frecuencia provocó descensos en la concentración amoniacal del líquido ruminal en vacas lecheras, así como también una disminución en las variaciones de dicha concentración durante el día (Yang y Varga, 1989). Al mismo momento en que la concentración de AGV generó un pico, el valor de pH se hacía menor, tanto para cuando las vacas se alimentaban en una o dos comidas. Aumentar la frecuencia de alimentación estabilizaría el medio ambiente ruminal al mismo tiempo que el suministro de dos comidas disminuiría la concentración de AGV y aumentaría la relación acetato: propionato (Soto- Navarro et al, 2002).

Aumentos en consumo, producción de leche y eficiencias de conversión se encontraron al aumentar la frecuencia de alimentación. Estos cambios deben relacionarse a las reducciones en las fluctuaciones diurnas del ambiente ruminal y a las concentraciones de metabolitos en sangre, así como también al mejoramiento en la digestibilidad post-ruminal de la materia orgánica, carbohidratos solubles y proteína cruda (Shabi et al, 1999).

Estudios realizados con vacas Holstein alimentadas con una dieta basada en 60% de concentrado y 40% de heno de alfalfa, mostraron los efectos de aumentar la frecuencia de suministro de concentrado. De los mismos se desprende que el aumento de la frecuencia resultó en una mayor y más estable relación acetato: propionato, lo que provocó un aumento en la concentración de grasa en la leche.

La frecuencia de alimentación puede también influir en el porcentaje de grasa en leche a través de la secreción de insulina. La secreción de insulina en rumiantes parece ser controlada por la concentración de AGV en sangre, siendo el propionato más potente que el acetato en estimular la secreción de insulina. El aumento en la frecuencia de alimentación moderó los patrones de propionato en rumen e insulina en plasma, reduciendo de esa forma la depresión en porcentaje de grasa en leche. También se encontraron incrementos en producción de leche, sin verse alteradas las concentraciones de lactosa y proteína (French *et al.*, 1989).

Incrementando el número de comidas por día ayuda a mantener una distribución más adecuada de la energía entre la síntesis de leche y la deposición de tejido corporal (Bines, 1983). Un análisis de resultados publicados demostraron que el aumento de la frecuencia de alimentación puede inducir a incrementar la producción de grasa, porcentaje de grasa, producción de proteína y de leche, pero aparentemente tiene poco efecto o ninguno sobre porcentaje de proteína y lactosa. Un 8.3% de incremento en producción de grasa al aumentar la frecuencia fue el mayor registrado.

La evidencia de un aumento en producción de leche con mínimos cambios en consumo sugiere que la eficiencia de conversión de alimento a leche, puede incrementarse al aumentar la frecuencia. Pero esta conclusión debe manejarse con cuidado porque hacen falta observaciones de cambios en la utilización de reservas corporales (Gibson, 1984).

2.3 COMPOSICION DE LA LECHE

2.3.1 Factores de variación, nutricionales

Tradicionalmente la bibliografía reconoce un gran corte, asignando un 55 a un 60% de la variación observada a factores genéticos y un 40 a 45% a factores ambientales, donde la alimentación y el manejo son los dominantes (Acosta, 2001). Por lo tanto, veremos a continuación cómo la forma y tipo de alimentación, y sus consecuencias en el ambiente ruminal, afectarán la composición química de la leche.

2.3.1.1 Variaciones en grasa de la leche

Las proporciones relativas de los ácidos grasos volátiles sintetizados en el rumen dependen directamente de la naturaleza de la alimentación. La naturaleza y las variaciones de la alimentación tienen poca influencia a nivel cualitativo sobre los glúcidos, las materias proteicas y los ácidos grasos de hasta 16 átomos de carbono. Por el contrario, intervienen en la composición de la leche en ácidos de más de 16 carbonos. Se ha demostrado en nuestros trabajos que la riqueza de los alimentos en grasa condiciona directamente las concentraciones de grasa en la leche, que aumenta con la cantidad de materias grasas ingeridas.

Los lípidos de forrajes verdes contienen principalmente ácido linoleico (C18:2) con una cantidad variable de ácido linolénico (C18:3) y de ácido palmítico (C16:0). Existe muy poca cantidad de ácido esteárico y oleico y prácticamente nada de ácidos de cadena corta, ramificados o de número impar de carbonos (Mahieu, 1991). Los animales no pueden sintetizar los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico (Church *et al*, 1998).

Los lípidos alimentarios sufren múltiples procesos de transformación en el rumen como ser hidrólisis (dando lugar a ácidos grasos libres y glicerol); hidrogenación (AG poliinsaturados son hidrogenados bajo la acción de los microorganismos y se saturan); isomerización (el doble enlace puede cambiar de sitio o se obtiene un isómero *trans*); ó generación de AGV en la fermentación de la celulosa (Mahieu, 1991). La cantidad de lípidos alimentarios transferidos directamente a la grasa de la leche está influenciada por tres factores: hidrogenación, absorción (digestibilidad) y deposición en tejido adiposo (Palmquist et al., 1993).

Los ácidos grasos de la fracción de lípidos de la leche se derivan fundamentalmente de dos fuentes distintas:

- ácidos grasos que contienen de 4 a 10 carbonos son sintetizados dentro de la glándula mamaria a partir de acetato y β - hidroxibutirato
- ácidos grasos de cadena larga que contienen 18 o más carbonos son transferidos desde los triglicéridos del plasma sanguíneo
- ácidos de cadena intermedia pueden ser derivados de ambas fuentes (Oldham et al., 1983).

Los ácidos grasos que contribuyen a la grasa de la leche son derivados del ácido acético y butírico producidos en el rumen y el ciego; los ácidos grasos de cadena larga absorbidos desde el intestino delgado (Annison, 1976).

La producción de grasa en la leche no depende sólo del suministro de los principales precursores desde el tracto digestivo, sino de si hay una síntesis neta o movilización de ácidos grasos almacenados en el organismo, factor que está bajo control hormonal fundamentalmente. El balance entre los nutrientes lipogénicos y glucogénicos es un factor fundamental que influye sobre el estado hormonal de la vaca (Oldham et al., 1983).

Una depresión severa en la síntesis de novo puede deberse a un suministro deficiente de acetato a la glándula mamaria causado por una alta concentración de insulina en plasma o por una inhibición específica debida a la presencia de una alta cantidad de ácidos grasos insaturados *trans* (Palmquist *et al.*, 1993). Se teoriza que una disminución en la grasa de la leche es causada directamente por la inhibición de síntesis de ácidos grasos en la leche por productos ruminales que tuvieron una inusual o incompleta biohidrogenación de los AG poliinsaturados. Se encontró que las dietas que provocan disminución en grasa de la leche formaban *trans*-10 en C_{18:1} y *trans*-10, *cis*-12 en ácido linoleico conjugado (CLA); cuando la típica biohidrogenación del ácido linoleico a ácido esteárico produce *cis*-9, *trans*-11 en CLA y *trans*-11 C_{18:1} como intermediario (Bauman, 1999).

Pérdidas a través del rumen son generalmente por biohidrogenación. Estas pérdidas dependen del número de dobles enlaces. Se registraron pérdidas de 78,83 y 94% en el consumo de C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:3} respectivamente en vacas lecheras suplementadas con grasa (Beam *et al.*, 2000).

Ácido linoleico conjugado ó CLA se refiere a isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico *cis*-9, *cis*-12, en donde los dos dobles enlaces tienen un arreglo conjugado en la cadena de carbonos (Parodi, 1999). Se han identificado más de veinte isómeros de CLA, pero más del 80% de CLA en leche es un simple isómero *cis*-9, *trans*-11 (C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11). Este mismo es formado en el rumen como un intermediario de la biohidrogenación del ácido linoleico a ácido esteárico (ver anexo n°6) pero la conversión de C_{18:2} a CLA por los microorganismos del rumen (bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens*), no parece ser la mayor fuente de CLA en leche. Las pasturas son ricas en C_{18:3}, la biohidrogenación de éste no incluye a CLA como intermediario. C_{18:1} *trans*-11 sí es formado en la biohidrogenación de C_{18:2} y C_{18:3}. Por lo tanto, se teoriza que este intermediario, *trans*-11 C_{18:1}, llega al tejido de la glándula mamaria y es convertido a CLA (Beaulieu, 2000).

Existen tres categorías de factores alimenticios que influyen en la composición de la leche en contenido de CLA como ser:

- dietas que aportan precursores lipogénicos para la formación de CLA en rumen,
- dietas que modifican la actividad microbiana asociada a la biohidrogenación ruminal de ácidos grasos poliinsaturados y
- suplementos alimenticios ricos en CLA y C_{18:1} *trans*-11. La combinación entre los diferentes factores de estas categorías dan los distintos tenores de CLA en leche (Chilliard, 2001).

En el siguiente Cuadro 1 se resume la variación en contenido de CLA en leche, según régimen alimenticio.

Cuadro 1: Contenidos de CLA en leche para distintos regímenes alimenticios

Tratamiento	g/100g	Referencia
50:50 forraje: concentrado	0.5	Jiang et al, 1996
3.24 kg MS/d forraje verde	0.57	Stanton et al, 1997
Feedlot 100%	0.34	Jahreis et al, 1997
Pastura	1.20	Precht et al, 1997
Ensilaje de pastura	1.14	Chouinard et al, 1998
80:20 forraje: concentrado	0.45	Chouinard et al, 1998
Pastura	1.09	Kelly et al, 1998a
Aceite girasol (alto C18:2)	2.44	Kelly et al, 1998b
Aceite maní (alto C18:1)	1.33	Kelly et al, 1998b

Fuente: Beaulieu, 2000

Los productos lácteos son la fuente natural más rica en CLA, pero su contenido depende ampliamente de las condiciones de las pasturas (Parodi, 1994). Aumentar la proporción de pastura en la dieta significa un aumento lineal en el contenido de CLA en leche (Dhiman et al, 1999). La madurez del forraje también es un factor que afecta el contenido de CLA en grasa de la leche. Dietas de forraje tierno resultan en un aumento de CLA en leche comparado con dietas de forraje maduro (Bauman, 1999). El contenido de CLA en leche de vacas pastoreando forraje verde puede ser hasta cinco veces mayor que en la leche proveniente de dietas con mayor proporción de concentrados (Greenberg et al, 2002).

Fuentes de CLA han mostrado tener respuestas biológicas favorables, ya sea como poseer cualidades anticancerígenas, propiedades antioxidantes y ser un factor de manejo en enfermedades como la diabetes mellitus (O'Quinn et al, 2000). Además de inhibición del crecimiento de tumores cancerígenos, también producen un aumento de la inmunidad e impedimento del acúmulo de colesterol en sangre (Greenberg et al, 2002). Aumentar el contenido de CLA en la leche tiene como potencial aumentar el valor nutritivo y terapéutico de la misma (Dhiman et al, 1999). Tratándose de nutrición humana, se conoce que los ácidos grasos influyen en el desarrollo del colesterol sérico. Los ácidos grasos saturados tienden a aumentarlo, sin embargo, al parecer el efecto se limita a ácidos grasos de cadena entre 10 y 18 carbonos. El ácido esteárico (C18) es una excepción porque se desatura hacia ácido oleico tan rápido que no aumenta el colesterol. Se ha fomentado el uso de los ácidos grasos poliinsaturados ω -6, así mismo como de los monoinsaturados, por su capacidad para disminuir los valores séricos del colesterol cuando sustituyen a los ácidos grasos saturados (Mahan et al, 1995).

Irónicamente, la biohidrogenación ruminal de los lípidos de la dieta es la responsable de los altos niveles de ácidos saturados en grasa de rumiantes, lo cual se considera indeseable para algunos aspectos de nutrición humana (Bauman, 1999).

Cuando la dieta es rica en heno, forraje verde y ensilado, la concentración de grasa generalmente es alta y la grasa es más rica en ácidos grasos saturados y relativamente pobre en insaturados. Por otro lado, una elevada proporción de heno en la dieta hace que aumente la proporción de ácidos grasos de cadena media y de C16 en detrimento de ácidos grasos de cadena larga (Luquet, 1991.) El contenido de lípidos en las dietas es normalmente bajo (menos de 50g/kg); por encima de 100g/kg se reduce la actividad de los microorganismos, viéndose retardada la fermentación de los carbohidratos y disminuye la ingesta de alimento (Mc Donald, 1986).

Al suplementar con ensilado de maíz se observa que existe una tendencia a aumentar la proporción de ácidos grasos de cadena corta en detrimento de los de cadena larga insaturados. Una fermentación más acética mejoraría el aporte de acetato a la glándula mamaria para la síntesis de novo de los ácidos grasos de cadena corta (Rearte et al, 1990b).

La disminución en la relación AGV lipogénicos/ glucogénicos es probablemente causada por cambios en la dieta que conducen a un aumento en la tasa de fermentación máxima, tales como el incremento en la proporción de concentraciones, incrementos en el nivel de consumo o disminución en la frecuencia de alimentación, o por la adición de aceites que contengan ácidos grasos insaturados o de cadena intermedia que inhiben ciertas bacterias del rumen (Oldham et al, 1983).

2.3.1.2 Variaciones en la proteína de la leche

Las proteínas de la leche tienen dos orígenes:

- a partir de la extracción de proteínas del plasma sanguíneo, en el caso de albúmina sérica e inmunoglobulinas
- a partir de los aminoácidos libres de la sangre, cuya cantidad (100µg/l) es baja en comparación con la de las proteínas plasmáticas (70g/l). Los aminoácidos de la sangre provienen de los absorbidos en el intestino delgado y/o de las proteínas microbianas (Mahieu, 1991).

Los microorganismos hidrolizan las proteínas a péptidos y aminoácidos, algunos de los cuales son posteriormente degradados a ácidos orgánicos, NH₃ y CO₂. Los microorganismos sintetizan sus propias proteínas; las bacterias pueden sintetizar tanto aminoácidos esenciales como no esenciales. La mayor parte que llega al intestino delgado es proteína microbiana y en menor cantidad proteína del alimento que no ha sido degradada (Mc Donald, 1986).

La proteína que llega al duodeno es de un 40-60% de origen bacteriano (Rearte, 1989). Según Oldham *et al.*, (1983) la cantidad de aminoácidos que llegan a la glándula mamaria depende de la degradabilidad de la proteína en el rumen. Cuanto menos degradable es la proteína, mayor será la proteína en leche. Cuando las necesidades microbianas en el rumen han sido alcanzadas, posteriores incrementos de la proteína en el alimento pueden aumentar el suministro de aminoácidos a la glándula mamaria, solamente en proporción a la cantidad de proteína en la dieta que escapa de la degradación ruminal. La porción degradable de la ración puede aún aumentar la formación de amoníaco en rumen y por lo tanto la concentración de urea en sangre, la cual a su vez afecta la concentración de urea en leche, ya que ésta difunde libremente desde la sangre a la leche.

Según Roy *et al.*, (1977) se requiere alimento con proteína de lenta degradabilidad en el rumen para mantener el contenido de proteína en leche a medida que aumenta la producción de leche; pero a medida que aumenta la producción a los niveles más altos, la disminución del contenido proteico, con determinadas características de degradabilidad, es relativamente pequeña por lo que la proteína de la leche no disminuye. El nivel de degradabilidad de proteína puede estar influenciado por factores como la velocidad de pasaje, por lo tanto el nivel de alimento consumido, la proporción de forraje: concentrado y probablemente por el contenido de grasa en la ración (Kaufmann, 1979).

La cantidad de proteína microbiana sintetizada en el rumen depende del suministro de nitrógeno. Los requerimientos de nitrógeno para la síntesis se satisfacen en gran parte con NH_3 (Borches, 1967). Entre el 50 y el 90% de la proteína que alcanza el intestino proviene de fuente bacteriana, producto de la multiplicación de bacterias que ocurre en el rumen. En ausencia de limitaciones de disponibilidad de nitrógeno, el crecimiento bacteriano de rumen depende directamente de la cantidad de energía consumida. En general el nivel de proteína cruda de la dieta afecta más a la producción (volumen), que el tenor proteico de la leche, excepto con niveles muy limitantes (bajos) de proteína en dieta que terminan deprimiendo el tenor proteico de la leche por reducción de la digestibilidad y del consumo total de alimentos por el animal (Acosta, 2001).

Un incremento en el suministro de aminoácidos disponibles a la glándula mamaria dará por resultado una síntesis más elevada de proteína de la leche. Por lo tanto, el suministro adecuado de energía juega un papel decisivo en la provisión de los aminoácidos necesarios a la glándula mamaria, dado que conduce a una síntesis microbiana óptima en el rumen (Gordon, 1977). O' Brin et al, (2000) encontraron que vacas pastando ad libitum presentaban mayores concentraciones de proteína en leche y caseínas que vacas con pastoreo restringido. Se presume que el mayor consumo de materia seca y energía ahorró para gluconeogénesis y aumentó el suministro a la glándula mamaria para síntesis proteica. Esto es consistente con mayores niveles encontrados de glucosa en sangre (Auldist et al, 2000).

La utilización de aminoácidos por la glándula mamaria es dependiente del flujo sanguíneo a la glándula, de la concentración arterial de aminoácidos y de la eficiencia de transporte de los mismos (DePeters et al, 1992). Si faltan aminoácidos, la síntesis de proteínas se detiene y con ella la de la lactosa, con lo que la producción de leche disminuye. Inversamente si existe mucha energía disponible la síntesis estará estimulada, mucho más que la de la lactosa; por ejemplo, con el ensilado de maíz, se puede ganar de un 1 a un 1.5% de proteína (Mahieu, 1991).

Cuando se reduce el consumo de energía, la oxidación de la proteína puede aumentar, de tal manera que la proteína se utiliza más como nutriente productor de energía para compensar el déficit o para ahorrar glucosa de la oxidación, lo cual permitiría el mantenimiento de la lactosa, por lo tanto de la producción de leche. En cualquier caso, menos aminoácidos estarían disponibles para la síntesis de proteína de la leche (Kaufmann, 1979). A un consumo fijo de energía, el porcentaje de proteína en leche aumenta con la ingestión de proteína en el alimento, pero es importante discriminar entre las respuestas al nitrógeno y al NNP (Rook *et al*, 1962).

Se ha encontrado que aumentos en aportes de energía incrementan el contenido proteico en leche, no modificando la proporción de caseínas, aún variando los alimentos energéticos. Lo mismo ocurre con aportes externos de aminoácidos esenciales (lisina + metionina), los cuales no mostraron aumentos en la relación caseína/ proteína (Coulon *et al*, 1998). La síntesis de las proteínas de la leche está regulada sobretodo por mecanismos hormonales y genéticos en especial la de las caseínas, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina (Mahieu, 1991).

2.3.2 Factores de variación, no nutricionales

Entre los factores que afectan la composición de la leche se encuentran los factores genéticos, la etapa de lactancia, la edad del animal, el estado sanitario y el ambiente (Acosta, 2001).

2.3.2.1 Variaciones diarias

Existen fluctuaciones diarias que se manifiestan aún cuando todas las condiciones aparecen constantes. Esta fluctuación se refiere, sobre todo, al contenido en materia grasa; las diferencias entre días sucesivos son del 7 al 8%, pero también pueden variar del 5 al 20%. Las diferencias diarias en cantidad de leche producida son muy pequeñas, de materia grasa del 5 al 6% como promedio; para las materias nitrogenadas y la lactosa son mucho más reducidas, alrededor de 2.5%, es decir, una variación tres veces menor que la de la materia grasa, según Jarridge (1959). En general las variaciones diarias están relacionadas a evacuaciones incompletas de la ubre. Un ordeño incompleto pierde la última sacada de leche la cual tiene la mayor concentración de grasa. El segundo ordeño tendrá mayor concentración de grasa si fue bien realizado el primero. Existe una variación entre ordeños en cuanto a contenido de grasa. Parte de esta variación es causada por la relación de la presión de ordeño y la secreción de grasa, en la cual la leche producida durante un largo intervalo y bajo una alta presión en la ubre tiene un porcentaje de grasa menor. Consecuentemente la leche del ordeño de la tarde ordeñadas a intervalos iguales tiene un leve incremento en contenido de grasa que la leche de la mañana (Schmidt et al, 1974).

2.3.2.2 Etapa de lactancia

La producción diaria de leche y de sus principales componentes no evoluciona de la misma manera en el curso de la lactancia. En el calostro el contenido de sólidos totales puede exceder el 25% debido, fundamentalmente a un alto contenido de proteínas. En los primeros días después del parto, el contenido de proteínas disminuye rápidamente. La tendencia general de ahí en adelante, es la disminución a un mínimo en el contenido de proteína, sólidos totales y grasa y el aumento a un máximo en la cantidad de lactosa entre la sexta y duodécima semana de lactancia. El contenido de proteína se incrementa lentamente durante todo el resto de la lactancia y puede elevarse muy abruptamente en las últimas semanas, si las vacas están preñadas (Rook *et al.*, 1965).

En lactancia media la proporción de caseína se incrementa al máximo y las proteínas del suero se hacen menores en proporción. El NNP como porcentaje del nitrógeno total en leche va disminuir durante la lactancia. A través de la lactancia las proporciones de α y κ -caseína disminuyen a la vez que aumenta la β -caseína (Ostersen *et al.*, 1997). La α -lactalbúmina decrece durante la lactancia, en concentración absoluta y proporcional (Kroeker *et al.*, 1985). El contenido de lactosa cambia poco después del ascenso inicial pero tiende a disminuir en las últimas semanas de la lactancia. También se reporta que el contenido de grasa aumenta lentamente después del mínimo (Rook, 1961; Balch, 1972).

Al inicio de lactación, las vacas se encuentran en un balance energético negativo, provocando una movilización de ácidos grasos del tejido adiposo y una incorporación de esos ácidos de cadena larga a la grasa de la leche. La proporción de ácidos grasos de cadena corta, excepto el C₄ es baja en lactancia temprana, y aumenta alcanzando más del 90% de la proporción máxima hacia la octava semana de lactación. Este aumento coincide con el hecho de que la movilización de tejido adiposo es completada hacia la cuarta- sexta semana de lactancia (Palmquist et al, 1993).

2.3.2.3 Número de lactancias

El ciclo de lactación no se reproduce de manera invariable durante toda la vida del animal. La producción de leche aumenta hasta la quinta lactación y a continuación se mantiene o decrece lentamente según los individuos (Alais, 1985). La materia grasa y los SNG de la leche disminuyen cerca de 0.2 y 0.4% respectivamente entre la primera y la quinta lactancia. La lactosa representa la mayor parte de la disminución de los SNG.

2.3.2.4 Estado sanitario

Muchas enfermedades, sobre todo la mastitis, cetosis y trastornos digestivos, afectan adversamente la producción de leche y pueden modificar la composición (Bath et al, 1982).

2.3.2.5 Factores ambientales

Se han reportado influencias del clima sobre la composición química de la leche; por ejemplo, la estación del año ejerce un efecto que se traduce en una modificación de las curvas de lactación. La riqueza de la leche en materia grasa y extracto seco desengrasado es mínima a la mitad del verano y máxima al final del otoño, la cantidad de leche varía en forma inversa. Esta evolución se comprueba en todos los países, independientemente de la alimentación (Alais, 1985).

A temperaturas muy altas (por encima de 29°C), la producción de leche se reduce con frecuencia más que la de materia grasa, lo que puede dar como resultado un aumento pequeño del porcentaje de materia grasa en la leche. A esas temperaturas, aumentan los cloruros y disminuye el contenido de lactosa y proteína de la leche (Bath *et al.*, 1982). Estudios realizados en Italia demostraron el efecto de las altas temperaturas sobre las fracciones caseínicas de la leche de vacas Holstein; concluyeron que durante los meses de verano el contenido proteico en leche se vio disminuido y sería atribuible específicamente a una reducción en los contenidos de α y β -caseína (Bernabucci *et al.*, 2001).

Se estudiaron efectos de distintos regímenes de fotoperíodos en la producción de leche encontrándose variaciones en producción y reducciones o aumentos en el porcentaje de grasa (Schmidt *et al.*, 1974).

2.3.2.6 Factores genéticos

También tienen su influencia en la composición de la leche, a modo de ejemplo, entre las vacas de una misma raza sometidas a las mismas condiciones de medio y alimentación, pueden existir notables diferencias y reproducibles en cuanto a la composición de la leche. La materia grasa es la que presenta las variaciones más considerables, mientras que las menores corresponden a la lactosa y las sales (Alais, 1985). Los promedios de cada raza ocultan la amplia variación dentro de las mismas, ya sea entre rodeos como entre individuos dentro de un rodeo (Rook, 1961).

Diferencias en la composición media de la leche de animales individuales son todavía más importantes que las observadas entre rebaños. Se observa no solamente entre animales de diferentes rebaños, sino también y de igual entidad, entre animales de un mismo rebaño. Las diferencias pueden llegar a ser del 100% en el contenido de grasa y del 50% en el nitrógeno total (Luquet, 1991).

Se han encontrado correlaciones negativas, altamente significativas, entre el rendimiento de leche y el contenido de grasa y proteínas para vacas dentro de un rodeo de una raza determinada (Touchberry, 1974).

A su vez, varios estudios reportaron la existencia de fuertes correlaciones fenotípicas y genotípicas entre proporciones de varios ácidos grasos de cadena corta al igual que entre ácidos grasos insaturados. Las correlaciones entre ácidos grasos de cadena corta e insaturados siempre fueron negativas (Palmquist *et al.*, 1993).

Karijord et al, (1992) concluyeron que la composición de ácidos grasos en la leche puede ser cambiada mediante selección y más aun, seleccionar para aumentar el porcentaje de grasa conduciendo un aumento en ácidos grasos de cadena corta y disminuyendo los de cadena larga.

2.3.3 Composición química de la leche

Valores normales en cuanto a composición de leche para la raza Holando se ubican en: 3.6% de materia grasa, 3.1% de proteínas, 4.6-4.8% de lactosa, minerales totales en el rango de 0.72-0.74% y de sólidos totales de 12.8% (Acosta, 2001);(ver anexo n° 5).

Los triglicéridos representan en promedio, el 98% del total de los lípidos y el resto de los componentes lipídicos en menores proporciones: mono y diglicéridos, colesterol, glicolípidos, ácidos grasos libres y fosfolípidos (Luquet, 1991) (ver anexo n°3).

Cuadro 2: Proporción de ácidos grasos en leche de vaca

Acidos grasos	(g/100g leche)
Saturados C4-C18:0	2.08
MUFA	0.96
PUFA	0.12
Lípidos totales	3.34

Fuente:USDA,1990

Cuadro 3: Principales sustancias nitrogenadas en leche de vaca

	Proporciones medias	
	g/l	Relativas
Prótidos totales	32	100
I. Proteínas:		
Caseínas	25	78
Proteínas del suero	5.4	17
II. NNP	1.6	5

Fuente: Alais, 1985

Cuadro 4: Fracciones de caseína en porcentaje de caseína total

Subfracción	%
Caseína α S-1	35
Caseína α S-2	10
Caseína β	40
Caseína κ	15

Fuente: O'Connor, 1973

Las caseínas están presentes a un rango de α S1: α S2: β : κ de 3:1:3:1 (Murray). Las proteínas de la leche tienen variantes genéticas las cuales son identificadas por letras del alfabeto. Las diferentes subfracciones de caseínas tienen alrededor de 27 variantes genéticas, desde A hasta E cada una (Ehrmann *et al*, 1993).

La relación entre el contenido de caseínas y el de proteínas totales es senciblemente constante. Se trata de un factor analítico de referencia particularmente representativo del valor como materia prima de la industria quesera (Brochet, 1991). La proporción de caseínas en el total de proteínas, depende de factores genéticos, además de factores fisiológicos y alimentarios. Coulon *et al.*, (1998) encontraron que con una mayor presencia de la variante B de la β -lactoglobulina y de la κ -caseína, la proporción de caseínas/ proteína aumenta. Por otro lado, Ng-Kwai-Hang *et al.*, (1987) aseveran que la concentración de β -caseína en la leche no es afectada por los fenotipos de κ -caseína o β -lactoglobulina, ni por la producción de leche; siendo éste último coincidente con los autores anteriores.

La cuajada desuerada retiene aproximadamente la mitad, en peso, del conjunto de componentes de la leche que forman el extracto seco total; para cada uno de ellos, las proporciones son, aproximadamente,: materia grasa 92%, materias nitrogenadas totales 76%, caseína 94%, lactosa 5%, cenizas 20%, extracto seco total 50%. Estas proporciones dependen del proceso de fabricación. La caseína y la materia grasa son retenidos por las cuajadas casi completamente; los otros componentes lo son en cantidad proporcional al contenido en agua de la cuajada. La aptitud de la leche a la coagulación y la reología de las cuajadas están ligados directamente con la estructura y composición de la micela de la caseína (Le Mens, 1991). La evaluación del rendimiento quesero en función de la composición de la leche ha dado lugar a numerosos trabajos que han llevado a fórmulas diversas. El rendimiento en queso varía según el contenido de la leche en proteínas y en materia grasa; pero la influencia de las proteínas es preponderante (Alais,1985).

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACIÓN Y PERIODO EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni (Paysandú), durante el otoño-invierno del 2002 en el periodo comprendido entre el 20/5/02 y el 9/7/02, incluyendo la etapa de acostumbramiento de los animales a las condiciones experimentales. Las actividades de laboratorio fueron desarrolladas en el laboratorio de lácteos de la Facultad de Agronomía (Montevideo) y en el laboratorio de grasa y aceites de la Facultad de Química.

3.2 ANIMALES

Para este trabajo se utilizaron únicamente las 6 vacas fistuladas de rumen, pertenecientes al experimento de un trabajo más amplio (con 36 vacas) de evaluación del manejo de la alimentación sobre la producción, composición de leche y dinámica ruminal.

Los días de lactancia, número de lactancias y peso vivo de las mismas se detallan en el Cuadro 5.

Cuadro 5: Días de lactancia, n° de lactancias y peso vivo de las vacas fistuladas al inicio del experimento

N° tratamiento	N° vaca	DDL(23/5/02)	NL	PV (Kg)
1	826	15	3	544
1	809	49	3	518
2	838	30	2	480
2	729	59	2	495
3	827	25	2	560
3	804	57	2	536

DDL: días de lactancia
 NL: n° de lactancias
 PV: peso vivo

3.3 ALIMENTACION Y TRATAMIENTOS

Las pasturas ofrecidas, a una asignación de 15 kg por vaca por día, fueron praderas permanentes de segundo año, compuestas por Festuca, Trébol blanco, Dactylis y Lotus. El horario de pastoreo era de 9:00 hs a 15:00 hs. Además se suplementó con ensilaje de maíz planta entera grano lechoso (16 kg BF/v/d) y 3 kg/vaca de un concentrado comercial 16%PC sin urea en cada ordeño.

Existieron tres tratamientos según la distribución del suministro del ensilaje de maíz

- 1- suministro del 100% del ensilaje de maíz luego del ordeño matutino(8:00hs)
- 2- suministro del 100% del ensilaje de maíz luego del ordeño vespertino(17:00hs)
- 3- suministro del ensilaje de maíz 50% luego del ordeño matutino y 50% luego del ordeño vespertino.

3.4 DETERMINACIONES REALIZADAS

3.4.1 Producción de leche

Durante los ordeños de los días 24, 25 de junio y 8, 9 de julio del 2002 se tomaron registros de producción de leche individuales de las seis vacas fistuladas.

3.4.2 Determinaciones en la leche

Se tomaron muestras de leche individuales de las seis vacas fistuladas en los ordeños de las fechas anteriormente mencionadas y las mismas se utilizaron para realizar determinaciones varias respecto a su composición química.

3.4.2.1 Contenido de materia grasa

La determinación de la materia grasa se realizó por el método de Gerber, el cual permite obtener un valor expresado en gramos de grasa por 100ml.

3.4.2.2 Composición de la materia grasa

El análisis se realizó en facultad de química. 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).

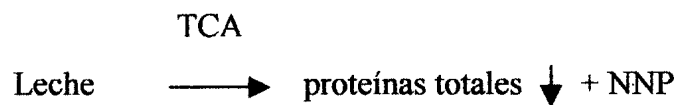
3.4.2.3 CLA

El análisis se realizó en facultad de química utilizando la técnica de cromatografía de gas-líquido, de acuerdo a Chin et al, (1992), citado por Lawless et al, (1995).

3.4.2.4 Contenido de Nitrógeno total y Nitrógeno no proteico en leche

Para cuantificar el contenido proteico en leche se utilizó el método Kjeldahl. La determinación de proteína se realiza determinando el N total mediante este método y multiplicando el resultado obtenido por el factor 6.38, que corresponde a un contenido de N en las proteínas de la leche de 15.65%.

Para cuantificar el nitrógeno no proteico se trata la leche con ácido tricloroacético, precipitándose todas las proteínas y quedando sólo en el filtrado el nitrógeno no proteico, que se determina por el método Kjeldahl.



Se colocan 10ml de leche en matraz aforado de 50ml. Se diluye hasta el enrase con solución de ácido tricloroacético al 15% y se mezcla inmediatamente por 10 minutos. Cuando el precipitado se ha posado, dejando un líquido claro sobrenadante, se filtra con un papel Whatman n° 40 dentro de un matraz seco. Se pipetea el filtrado en un matraz Kjeldahl y se realiza la determinación de nitrógeno.

3.4.2.5 Composición proteica. Fracciones de caseína

Se tomaron muestras de leche de 1ml y se colocaron en tubos Eppendorf. Se sometieron a centrifugación, para separar la materia grasa, durante 15 minutos a 10.000rpm , 18 °C en centrifugadora modelo HERMLE Z 383 K. 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 Coomasie R –250 (sigma) y después de 4 hs se destiñeron con una solución de ácido acético y alcohol etílico. (Robyt y White, 1990).

3.4.2.6 Sólidos totales en leche y cenizas

La determinación de sólidos totales se realiza por desecación a 105°C y pesado del residuo. Se utiliza arena purificada por ácido clorhídrico y ácido nítrico, lavada con agua y calcinada a 500°C. Se entiende por contenido de cenizas de la leche el producto resultante de la incineración del extracto seco, expresado en porcentaje en masa. Se pesa el crisol utilizado para la determinación de sólidos totales, se incinera el extracto seco en mufla por calentamiento a 550°C. Se pone a enfriar en el desecador y se pesa.

3.4.2.7 Peso seco de la cuajada

Para lograr las cuajadas de las diferentes muestras de leche, se colocaron 30ml de las mismas en probetas aforadas. Se agregó 200 μ l de cuajo líquido comercial super concentrado, con un poder coagulante 1:8000 marca “el quesero” Nortedur. Previo al agregado se diluye en agua para lograr una coagulación uniforme. Se dejó reposar 12 horas a 25°C. Al lograr las cuajadas se filtraron en papel Whatman n° 40 y se llevó a estufa a 105°C por 12 horas. Se dejó enfriar en desecador y se pesó (Pf). El peso inicial es del papel Whatman previamente secado en estufa y enfriado en desecador. La diferencia entre peso final y el inicial corresponde al peso seco de la cuajada.

3.5 ANALISIS ESTADISTICO

La distribución de las vacas fistuladas fue al azar entre los tratamientos. Hubo dos fistuladas por tratamiento, una de ellas pertenecía a la primera tanda de fistuladas (operadas en el año 2001) y la otra pertenecía a las operadas en el año 2002. No hubieron otros criterios para la distribución entre tratamientos.

El análisis estadístico fue realizado utilizando el procedimiento MIXED, mediante el sistema SAS. En todos los casos las medias ajustadas fueron comparadas utilizando el test de Tukey. Se ajustó un modelo mixto para el análisis de las siguientes variables dependientes: AGc.c-m, AGc.l, MUFA, PUFA, AG insaturados, CLA, % de grasa subfracciones caseínicas(α s-1 y s-2, β y κ), relación α/β , retención de sólidos,% de proteína, % sólidos totales y producción de leche. Se utilizó el efecto anidado animal(tratamiento) para estimar el error para la determinación de los efectos del modelo. El modelo es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu_i + \tau_i + p_k + \epsilon_a(\tau_i) + (\tau^* p)_{ik} + M_o(p_k) + \epsilon_{ij}$$

dónde:

μ_i : es la media general

τ_i : es el efecto del i-ésimo tratamiento

$\epsilon_a(\tau_i)$: es el efecto animal anidado a tratamiento

p_k : es el efecto de la k-ésima semana

$(\tau^* p)_{ik}$: es la interacción entre tratamiento y período

$M_o(p_k)$: es el efecto del momento anidado a período

ϵ_{ij} : es el error experimental

Los tratamientos: 3 formas distintas de suministro del ensilaje de maíz a los animales

Los momentos: 2 ordeñes diarios, de mañana(4:30hs) y de tarde(15:30)

Los períodos: quinta y séptima semana del experimento, en las cuales fueron medidas las variables analizadas.

4 RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 PRODUCCION DE LECHE

Para los valores de producción de leche no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, ni entre los dos momentos de ordeño ($P>0.05$). Las diferencias diarias en cantidad de leche producida fueron ínfimas, dato coincidente con lo encontrado en la bibliografía (Jarridge, 1959). Los litros producidos se mantuvieron estables, en todos los casos, en los dos períodos considerados y se detallan en el Cuadro 6.

Cuadro 6: Producción de leche para los tres tratamientos y por momento de ordeño, en dos períodos

	Período I	Período II
Tratamiento 1	13,39	12,13
Tratamiento 2	12,03	11,60
Tratamiento 3	13,59	14,12
Ordeño a.m	12,86	12,67
Ordeño p.m	13,15	12,55

La evidencia de un aumento en producción de leche con mínimos cambios en consumo sugiere que la eficiencia de conversión de alimento a leche, puede incrementarse al aumentar la frecuencia del aporte del ensilaje (Gibson, 1994). En este experimento el aumento de frecuencia de suplementación no se expresó en mayor producción de leche, aunque existe sí una tendencia consistente del tratamiento 3 a producir más litros de leche por ordeño y por día.

4.2 PRODUCCION Y CONTENIDO DE PROTEINA

El contenido de proteína en leche, expresado en porcentaje promedio y como la producción en kg/ordeño, para los tres tratamientos se detallan en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Producción de leche y proteína por ordeño y contenido proteico para los tratamientos experimentales

	%	Kg/ordeño	l
Tratamiento 1	3,12	0,398	12,76
Tratamiento 2	3,43	0,405	11,82
Tratamiento 3	3,07	0,425	13,86

Este componente expresado en kg producidos por ordeño no presenta diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$). Esto es interesante desde el punto de vista de la industria la cual paga por cantidad de proteína remitida; por lo tanto en este experimento se constata que la forma de suministro del ensilaje no estaría influyendo en este aspecto.

Al comparar estadísticamente los porcentajes de proteína no se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). Igualmente, el tratamiento 2 presentó una tendencia consistente a superar en valores de contenido proteico a los otros dos tratamientos, posiblemente explicado por un efecto de concentración de proteína ante una menor producción de leche. De acuerdo a Touchberry, (1974), existen correlaciones negativas altamente significativas, entre el rendimiento de leche y el contenido de grasa y proteína para vacas dentro de un rodeo. En este trabajo se constataron estas correlaciones negativas significativas ($P < 0.05$), con valores de -0.59 y -0.56 entre la producción de leche y el contenido proteico y graso respectivamente.

Adicionalmente al efecto de dilución mencionado anteriormente existen otros factores que estarían explicando las tendencias observadas. Una mayor tasa de pasaje y de consumo de forraje se presume en el tratamiento 2, por entrar los animales a pastoreo en ayuno (datos aportados por Bacchetta et al, s/publicar). Este mayor consumo de pasturas de alta calidad con altos contenidos de proteína cruda, rápidamente fermentecible, derivan en mayores niveles de amoníaco ruminal, lo cual se relaciona con mayores niveles de NNP en leche. Por otro lado, hay que tener en cuenta que una mayor tasa de pasaje implicaría una mayor síntesis de proteína microbiana y proteína de sobrepaso, elevándose de esta forma el flujo de aminoácidos a glándula mamaria.

Con respecto a la tendencia observada en el tratamiento 3 hacia una mayor producción de proteína podría explicarse por una mejor sincronización de carbohidratos rápidamente fermentecibles, provenientes del ensilaje de maíz, con el amoníaco ruminal, permitiendo una mayor captura del nitrógeno por los microorganismos y por lo tanto, una mayor eficiencia microbiana de proteosíntesis, sin olvidar que los animales del tratamiento 3 entraron a pastoreo con menor apetito, por lo tanto las concentraciones de amoníaco serían menores.

Si se analiza el contenido proteico en forma separada por ordeñes a.m y p.m no se encuentran diferencias significativas en estos dos momentos ($P>0.05$).

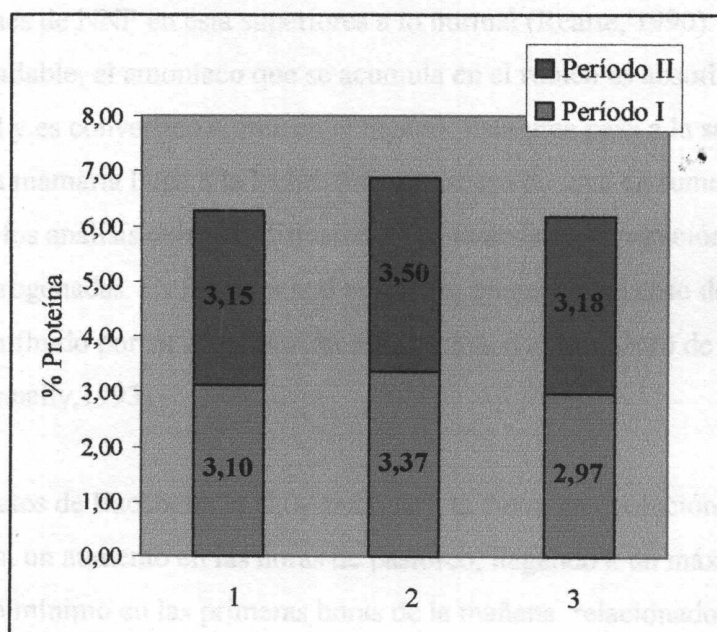
Cuadro 8: Producción y contenido proteico por ordeño para los tres tratamientos

	T 1		T 2		T 3	
	a.m	p.m	a.m	p.m	a.m	p.m
l/ordeño	13,92	11,62	11,37	12,45	13,92	11,95
Proteína(%)	3,29	3,51	3,62	3,64	3,35	3,48
Proteína (kg)	0,45	0,41	0,41	0,45	0,46	0,47

Niveles de concentración de $N-NH_3$ en rumen menores a 50mg/l pueden resultar negativos para la proteosíntesis microbiana. Al analizar los datos aportados por Bacchetta et al(s/publicar), donde se registraron niveles de 51.4 y 31.5 mg/l (a las 23:00h) para los tratamientos 1 y 3 respectivamente y 65.8 mg/l para el tratamiento 2; cabe la posibilidad de inferir que la tendencia a un menor contenido de proteína en leche en el ordeño de la mañana para los primeros tratamientos se deban a una actividad microbiana afectada. Entonces luego del pastoreo, al incrementarse las concentraciones ruminales de $N-NH_3$ y contar con una fuente energética (ensilaje de maíz), la actividad microbiana en proteosíntesis mejoraría, por lo tanto el aumento de contenido en proteína en leche del ordeño de la tarde en los tratamientos 1 y 3.

En forma general, para los tres tratamientos, existió una tendencia consistente a aumentar el contenido proteico en leche de un período al otro, aunque las diferencias no fueron significativas ($P>0.05$)

Figura 1: Contenido proteico para los tres tratamientos en dos períodos



Los valores de contenido de NNP en leche para los tres tratamientos, no se consideran elevados con relación a los encontrados en la bibliografía, 1,6 g/l (Alain, 1985); 2,0 g/l (Kenelly, 1998).

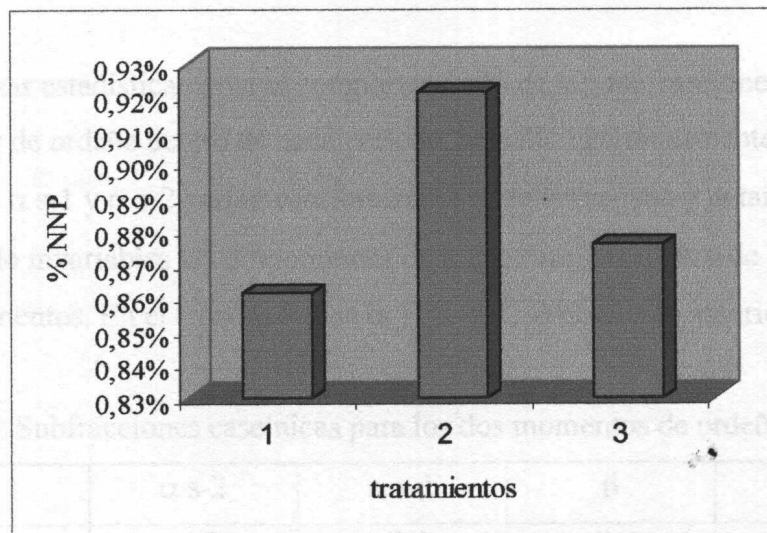
4.3 CONTENIDO DE NNP

El amoníaco producido en la hidrólisis de proteínas podrá ser utilizado por las bacterias del rumen para sintetizar su propia proteína siempre que exista simultáneamente suficiente energía. Cuando en la fermentación ruminal se producen picos excesivos de NH_3 , éste no es aprovechado en su totalidad por la microflora ruminal y los excedentes son excretados a través de la orina y de la leche originando concentraciones de NNP en ésta superiores a lo normal (Rearte, 1990). En dietas altas en proteína degradable, el amoníaco que se acumula en el rumen es absorbido a través de la pared ruminal y es convertido a 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 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).

Según datos de Bacchetta et al. (s/ publicar), la curva de evolución de amoníaco en rumen muestra un aumento en las horas de pastoreo, llegando a un máximo luego del mediodía y un mínimo en las primeras horas de la mañana; relacionado a esto está la mayor concentración de NNP en leche perteneciente al ordeño de la tarde con respecto al de la mañana (0.86 vs. 0.92 g/l). Teniendo en cuenta que el NNP proviene de la sangre y considerando el equilibrio en la concentración de urea entre ambos fluidos (sangre-leche), es explicable la superioridad de concentración de amoníaco en rumen en los animales del tratamiento 2 con un mayor contenido de NNP en leche de estos animales.

Los valores de contenido de NNP en leche para los tres tratamientos, no se consideran elevados con relación a los encontrados en la bibliografía, 1.6 g/l, (Alais, 1985); 2.0 g/l, (Kenelly, 1998).

Figura 2: Contenidos promedio de NNP para los tres tratamientos



Las diferencias entre los tratamientos en contenido de NNP reflejan el comportamiento en rumen con respecto a los momentos en que se llega a la sincronización entre la energía, proveniente del ensilaje de maíz, y nitrógeno en rumen. Los animales que ingresaron a pastoreo con previo consumo de ensilaje alcanzarían niveles máximos menores de N-NH₃ en menor tiempo, comparado con los animales que no consumieron ensilaje previamente, según datos aportados por Bacchetta et al, (s/publicar).

4.4 SUBFRACCIONES DE CASEINAS

Al analizar estadísticamente el comportamiento de las subfracciones caseínicas en los momentos de ordeño dentro de cada período, se halló que únicamente las subfracciones α s-1 y α s-2 varían sensiblemente entre la mañana y la tarde; permaneciendo invariables las proporciones de β y κ -caseínas dentro de las proteínas en estos dos momentos. En el Cuadro 9 y en la Figura 3, se detalla lo anterior.

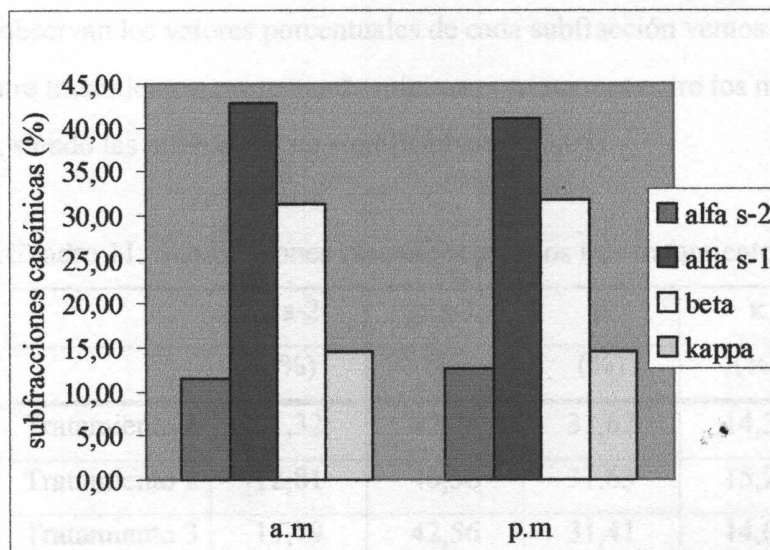
Cuadro 9: Subfracciones caseínicas para los dos momentos de ordeño

	α s-2	α s-1	β	κ
	(%)	(%)	(%)	(%)
a.m	11,38 ¹	42,72 ²	31,25	14,63
p.m	12,56 ¹	41,06 ²	31,86	14,46

(1)Diferencia significativa. Nivel de significancia $P < 0.1$

(2)Diferencia significativa. Nivel de significancia $P < 0.05$

Figura 3: Subfracciones caseínicas para los dos momentos de ordeño



El período de lactancia evaluado tuvo un efecto significativo en la composición caseínica de la leche. Durante los primeros meses de lactancia el porcentaje relativo de α -caseína disminuye, mientras que la β -caseína aumenta y la κ -caseína se mantiene inalterada (DePeters et al, 1992). Los mismos efectos fueron observados en este experimento en los dos períodos considerados, donde existieron diferencias significativas ($P < 0.05$). A continuación en el Cuadro 10 se puede ver más detalladamente.

Cuadro 10: Subfracciones caseínicas en dos períodos

	α s-2 (%)	α s-1 (%)	α total (%)	β (%)	K (%)
Período I	11,32	43,97 *	55,29	29,87 *	14,44
Período II	12,62	39,81 *	52,43	33,24 *	14,65

(*) Diferencia significativa. Nivel de significancia $P < 0.05$

Si se observan los valores porcentuales de cada subfracción vemos que β -caseína no varía entre tratamientos, presentando mínimas variaciones entre los mismos las α y κ -caseínas, siendo las diferencias no significativas ($P > 0.05$).

Cuadro 11: Subfracciones caseínicas para los tres tratamientos

	α s-2	α s-1	β	κ
	(%)	(%)	(%)	(%)
Tratamiento 1	11,32	42,76	31,62	14,39
Tratamiento 2	12,81	40,36	31,63	15,21
Tratamiento 3	11,79	42,56	31,41	14,05

Las correlaciones entre las subfracciones caseínicas y el contenido proteico resultaron muy bajas y no significativas ($P > 0.05$), lo mismo ocurrió entre las mismas y la producción de leche tal como lo mencionan Ng-Kwai-Hang et al, (1987). Por lo tanto, a la hora de pensar en mejoramiento genético por composición de leche hay que tener en cuenta estas relaciones o los cambios en el manejo de la alimentación.

La relación entre el contenido de caseínas y el de proteínas totales es sensiblemente constante, dependiente de factores genéticos, además de los fisiológicos y alimentarios. Se trata de un factor analítico de referencia particularmente representativo del valor como materia prima de la industria quesera (Brochet, 1991). Esta relación constante se mantuvo en todos los tratamientos en ambos períodos considerados, por lo tanto, variar la forma de suministro del ensilaje de maíz, no parece ser un factor que modifique esta relación (ver anexo n°2).

De todas formas, no se conocen en profundidad los cambios ocasionados en las proporciones de caseínas según el manejo alimenticio, siendo los resultados de la bibliografía inconsistentes, de manera que se hace necesario seguir profundizando en la investigación analítica en diferentes sistemas de suplementación.

4.5 RETENCION DE SOLIDOS (RENDIMIENTO QUESERO)

Los requerimientos de la población en cuanto a composición de la grasa de la leche por valor nutricional y la retención de sólidos son factores a considerar en términos de aptitudes de la leche para el subsiguiente procesamiento industrial. La cuajada desuerada retiene aproximadamente la mitad, en peso, del conjunto de componentes de la leche que forman el extracto seco total, pero esta proporción depende del proceso de fabricación. En este trabajo, la retención de sólidos promedio para todos los tratamientos fue mayor (alrededor de 65%), lo cual es explicado por las limitaciones de la técnica utilizada y la alta variabilidad entre las muestras que se ocasiona por el uso de la misma

La caseína y la materia grasa son retenidas por la cuajada casi completamente. La aptitud de la leche a la coagulación y la reología de la cuajada está ligada directamente con la estructura y composición de la micela de la caseína (Le Mens, 1991). La retención de grasa es dependiente de su porcentaje y de la red de caseína formada. En el experimento se constató una correlación positiva ($r=0.34$) entre el porcentaje de grasa y la retención de sólidos ($P<0.05$). Esto no implica su traslado a los procesos industriales dado que el corte, desuerado y agitación de la cuajada pueden conducir a pérdidas de este mayor porcentaje de retención de grasa. La retención de sólidos en este trabajo no se diferenció entre los tratamientos, ni entre períodos o momentos de ordeño ($P>0.05$).

La κ -caseína es una glucoproteína que estabiliza la micela permitiendo su interacción con el agua, por lo tanto influye en la firmeza de las cuajadas, en la trama de la red formada, por ende en el rendimiento quesero. A su vez, las frecuencias génicas con que aparecen las diferentes variantes tendrán repercusión a nivel industrial, dado que la variante B de κ -caseína rinde 9% más de queso que leches con variante A (De Peters, 1992). Esta subfracción no se diferenció significativamente ($P > 0.05$), en términos cuantitativos entre los tratamientos, entre ordeños, ni entre períodos.

Otro parámetro considerado de importancia desde el punto de vista del rendimiento quesero es la relación α/β -caseína que presenta la leche. Esta no se diferenció significativamente entre los tratamientos, pero sí lo hizo entre períodos, disminuyendo del primero al siguiente, acompañando el comportamiento de α -s1 y β -caseína.

Cuadro 12: Relación α/β para los tres tratamientos y en dos períodos

	Relación α/β
Tratamiento 1	1,73
Tratamiento 2	1,71
Tratamiento 3	1,77
Período I	1,86 *
Período II	1,61

(*) Diferencia significativa. Nivel de significancia $P < 0.05$

Esta relación está correlacionada positivamente ($r = 0.42$; $P < 0.05$) con la proporción de κ -caseína pero no presentó una correlación significativa con el porcentaje de sólidos retenidos, por lo tanto se hace difícil inferir que a mayor relación α/β , mayor retención de sólidos.

4.6 PRODUCCION Y CONTENIDO DE GRASA

El contenido de materia grasa, así como la producción en kg por ordeño se detallan en el Cuadro 13.

Cuadro 13: Producción por ordeño y contenido graso en leche para los tres tratamientos

	%	Kg/ordeño	l
Tratamiento 1	3,05	0,389	12,76
Tratamiento 2	3,26	0,385	11,82
Tratamiento 3	2,95	0,408	13,86

Los ácidos grasos que contribuyen a la grasa de la leche son derivados del ácido acético y butírico producidos en el rumen (AG de 4 a 10 carbonos), los ácidos grasos de cadena larga que contienen 18 o más carbonos son transferidos desde los triglicéridos del plasma sanguíneo; mientras que los ácidos grasos de cadena media pueden ser derivados de ambas fuentes. Pero la producción de grasa en la leche no depende sólo del suministro de los principales precursores desde el tracto digestivo, sino de si hay síntesis neta o movilización de grasa almacenada en el organismo, factor que está bajo control hormonal fundamentalmente (Oldham,1983).

Según datos aportados por Bacchetta et al.(s/publicar), se encontró que la frecuencia de suplementación no afectó la concentración de AGV ni la relación acético/ propiónico en el fluido ruminal. De todas formas, el tratamiento 2 muestra un comportamiento de concentración de ácido acético y butírico por encima de los otros dos tratamientos, para la mayoría de los momentos de muestreo; consecuencia de que estos animales durante el pastoreo presentan un mayor consumo de forraje, siendo la fibra de la dieta el principal precursor de este ácido. Otro factor a considerar, es la menor tasa de recuperación de condición corporal de los animales del tratamiento 2 en comparación con los otros dos tratamientos.

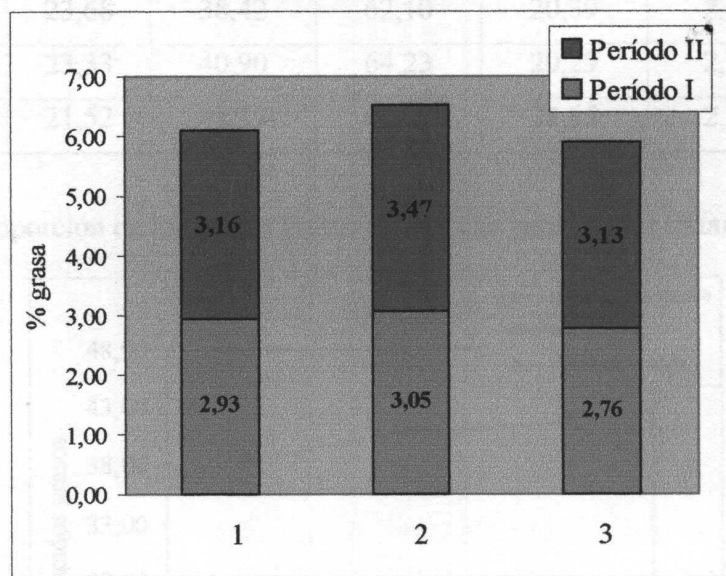
Por lo tanto, tomando en cuenta lo anteriormente mencionado, es posible inferir que por más que los animales del tratamiento 2 presentaron una superioridad de precursores lipogénicos (acético + butírico) en rumen y además tuvieron una menor tasa de recuperación de condición corporal que implicaría una mayor remoción de ácidos grasos del tejido adiposo, derivando los ácidos grasos a grasa en leche y no a reservas corporales; no se tradujo en una mayor producción de grasa respecto a los otros tratamientos.

Analizando en forma separada los ordeños de la mañana y tarde, se observa que las diferencias en contenido de grasa y producción en kg de la misma son mínimas. De acuerdo con Schmidt et al, (1974) existen fluctuaciones diarias entre ordeños sobretodo en el contenido graso en leche. Parte de esta variación es causada por la relación de presión de ordeño y la secreción de grasa, en la cual la leche producida durante un largo intervalo y bajo una alta presión en la ubre tiene un porcentaje de grasa menor. Consecuentemente la leche del ordeño de la tarde tiene un leve incremento en contenido de grasa que la leche de la mañana, la cual estuvo más tiempo bajo presión en la ubre.

Estas diferencias en porcentaje de grasa entre mañana y tarde no se observan en los animales analizados; posiblemente el bajo número de muestras y la alta variabilidad no permitan distinguir grandes diferencias.

En forma general, existió una tendencia a aumentar el porcentaje de grasa en leche del primer período al siguiente, de la misma forma que sucedió con el porcentaje proteico y el total de los sólidos en leche, (sin ser significativas las diferencias, $P > 0.05$).

Figura 4: Porcentaje de grasa en leche para los tres tratamientos en dos períodos



Debido a que la dieta es rica en forraje verde y ensilado, la grasa es más rica en ácidos grasos saturados y relativamente pobre en ácidos grasos insaturados (Luquet, 1991).

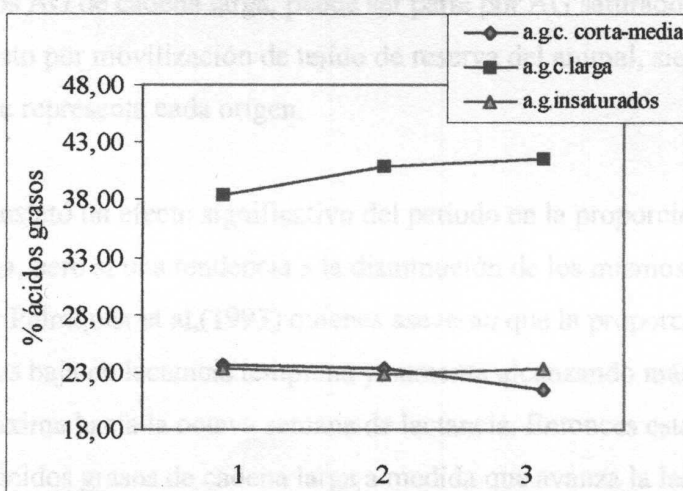
4.7 COMPOSICION DE LA GRASA DE LA LECHE

En el Cuadro 14 y la Figura 5 se presentan los valores proporcionales de ácidos grasos de cadena corta y media (C4-C14), cadena larga (C16-C18) y ácidos grasos insaturados (MUFA y PUFA) correspondientes a los tres tratamientos.

Cuadro 14: Composición de la grasa de la leche para los tres tratamientos

	AGc.c-m	AGc.l	Saturados	MUFA	PUFA	Insaturados
Tratamiento 1	23,68	38,42	62,10	20,39	2,88	23,24
Tratamiento 2	23,33	40,90	64,23	20,29	2,54	22,86
Tratamiento 3	21,52	41,57	63,09	21,65	2,72	23,31

Figura 5: Proporción de los ácidos grasos de la leche para los tres tratamientos



Debido a que la dieta es rica en forraje verde y ensilado, la grasa es más rica en ácidos grasos saturados y relativamente pobre en ácidos grasos insaturados (Luquet, 1991).

Al comparar los datos estadísticamente no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos para la proporción de ácidos grasos saturados de cadena corta ni en los ácidos grasos saturados de cadena larga. Con relación a los ácidos grasos insaturados, tampoco existieron diferencias entre tratamientos para los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) ni para los poliinsaturados (PUFA)

Las correlaciones entre ácidos grasos de cadena corta y ácidos grasos insaturados, tal como lo menciona Palmquist et al, (1993) siempre fueron negativas ($r = -0.67$; $P < 0.05$). Los ácidos grasos insaturados son un potente inhibidor de la síntesis de ácidos grasos de cadena corta y media en la glándula mamaria. Esta tendencia puede observarse en el Cuadro 14 en donde se cumple que a mayor proporción de AG insaturados, menores niveles de AG de cadena corta y media. El tratamiento 1 tendió a presentar menor proporción de AG saturados, pero debido fundamentalmente a una menor proporción de AG cadena larga y no a una baja síntesis de novo de AG de cadena corta. El origen de los AG de cadena larga, puede ser parte por AG saturados provenientes de la dieta y el resto por movilización de tejido de reserva del animal, siendo variable la proporción que representa cada origen.

No se constató un efecto significativo del período en la proporción de ácidos grasos de cadena larga, pero sí una tendencia a la disminución de los mismos. Esto se relaciona a lo citado por Palmquist et al, (1993) quienes aseveran que la proporción de AG de cadena corta, es baja en lactancia temprana y aumenta alcanzando más del 90% de la proporción máxima hacia la octava semana de lactancia. Entonces esta tendencia a disminuir los ácidos grasos de cadena larga a medida que avanza la lactancia podría estar relacionada al aumento de ácidos grasos de cadena corta.

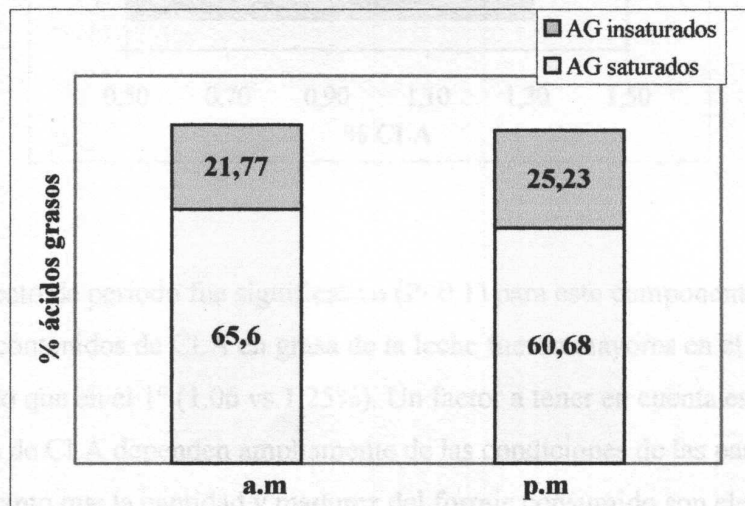
En referencia a la composición grasa en los dos momentos de ordeño, dentro de cada período, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$), ya que la proporción de ácidos grasos saturados en leche del ordeño matutino fue superior y menor la proporción de ácidos grasos insaturados; ocurriendo lo contrario en el ordeño de la tarde en forma general para los tres tratamientos (ver figura 6). La mayor proporción de AG insaturados en la tarde se explica por los mayores valores proporcionales de los MUFA y no de los PUFA, (ver cuadro 15). Una posible explicación a la mayor proporción de AG insaturados en la leche del ordeño de la tarde, sería que los AG provenientes del forraje consumido en el día sufran menor degradación ruminal debido a la menor permanencia de los mismos en rumen por una mayor tasa de pasaje, en contraste con un mayor nivel de hidrogenación ruminal de AG insaturados bajo la acción de los microorganismos que se daría durante la noche derivando en una mayor proporción de AG saturados en la leche del ordeño de la mañana.

Cuadro 15: Proporción de ácidos grasos, por momento de ordeño en cada período

	Período I					
	AGc.c-m	AGc.l	Saturados	MUFA	PUFA	Insaturados
Ordeño a.m	23,89	43,29 *	67,18	19,41 *	2,68	22,11 *
Ordeño p.m	20,83	39,23	60,06	21,86	2,65	24,52
	Período II					
	AGc.c-m	AGc.l	Saturados	MUFA	PUFA	Insaturados
Ordeño a.m	23,76	40,26 *	64,02	18,69 *	2,74	21,44 *
Ordeño p.m	22,88	38,42	61,3	23,13	2,79	25,94

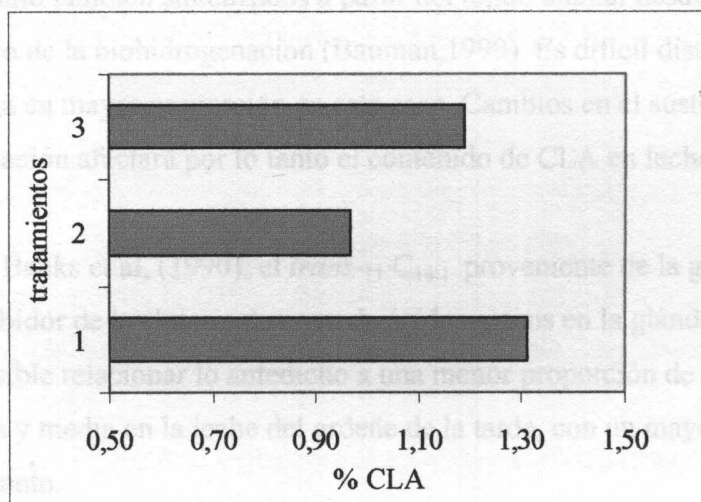
(*) Diferencia significativa. Nivel de significancia $P < 0.05$

Figura 6: Proporción general de ácidos grasos por momento de ordeño



Al considerar el contenido de CLA en la grasa de la leche, vemos que los valores para los tres tratamientos son altos (1.31, 0.97 y 1.19% para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente, presentados en la figura 8), con relación a los mencionados en la bibliografía, en donde los rangos de CLA varían desde 0.34 a 2.44g/l para las diferentes referencias. El tratamiento 2 es significativamente diferente ($P < 0.1$) a los otros dos, presentando una proporción menor de CLA en su composición lipídica.

Figura 7: Proporción de ácido linoleico conjugado (CLA) para los tres tratamientos



El efecto de período fue significativo ($P < 0.1$) para este componente lipídico, en donde los contenidos de CLA en grasa de la leche fueron mayores en el 2° período considerado que en el 1° (1.06 vs. 1.25%). Un factor a tener en cuenta es que los contenidos de CLA dependen ampliamente de las condiciones de las pasturas (Parodi, 1994), en tanto que la cantidad y madurez del forraje consumido son elementos que varían dichos contenidos. Por lo tanto es posible relacionar este aumento en contenido de CLA, de un período a otro, con el estado de las pasturas; es decir, probables cambios en disponibilidad y/o madurez del forraje pueden asociarse a la variación en la proporción de CLA en leche.

Por otro lado, si se analiza los contenidos de CLA en los dos ordeñes diarios, dentro de cada período, se encontró que los mismos fueron superiores en la leche del ordeño de la tarde (1.24%) en comparación con el ordeño de la mañana (1.07%). Los mayores contenidos de CLA en leche del ordeño de la tarde acompañan la mayor proporción de AG insaturados en este momento (correlación 0.58; $P < 0.05$) y la menor proporción de AG saturados de cadena corta (correlación -0.37 ; $P < 0.05$). Los CLA encontrados en leche provienen de dos fuentes, mediante la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico, como también sintetizados a partir del tejido animal desde *trans*- 11 C $_{18:1}$, otro intermediario de la biohidrogenación (Bauman, 1999). Es difícil distinguir cual de las dos fuentes juega en mayor proporción en este caso. Cambios en el sustrato y en el grado de biohidrogenación afectará por lo tanto el contenido de CLA en leche.

Según Banks et al, (1990); el *trans*- 11 C $_{18:1}$ proveniente de la grasa de la dieta es un potente inhibidor de la síntesis de novo de ácidos grasos en la glándula mamaria; por lo tanto, es posible relacionar lo antedicho a una menor proporción de ácidos grasos de cadena corta y media en la leche del ordeño de la tarde, con un mayor contenido de CLA en ese momento.

5 CONCLUSIONES

Incrementos en la frecuencia de suplementación (ensilaje en 1 o 2 comidas), no se asociaron con aumentos en producción de leche ni en la producción de sus componentes mayores (grasa y proteína).

Las concentraciones de proteína y grasa tendieron a ser mayores en aquellos animales que consumían el ensilaje de maíz en la tarde, explicado por un efecto de concentración de estos componentes por litro de leche, ya que ambos componentes presentaron correlaciones negativas entre sus porcentajes y el rendimiento en leche.

En lo referente a contenido proteico en los dos momentos de ordeño, se tendió a un aumento de este componente de la mañana a la tarde en aquellos animales que lograron superar niveles bajos de $N-NH_3$ en rumen de un momento a otro, los cuales estarían ejerciendo un efecto negativo en la actividad microbiana de proteosíntesis.

Los niveles de NNP en leche encontrados fueron relativamente bajos para los tres tratamientos, siendo un elemento fundamental en la composición nitrogenada de la leche en cuanto a su valor industrial y nutricional. Se constató además que mayores niveles de amoníaco en rumen derivan en mayores contenidos de NNP en leche.

Respecto a las diferentes subfracciones caseínicas, no se vieron afectadas de acuerdo al momento de suministro del ensilaje, ya que las mismas se mantuvieron invariables en sus proporciones para los tres tratamientos, pero sí existieron cambios en los períodos evaluados, en donde el porcentaje relativo de α -caseína disminuyó, mientras que β -caseína aumentó y κ -caseína se mantuvo inalterada; éstos cambios en lactancia temprana también fueron reportados en la bibliografía consultada.

La relación entre el contenido de caseína y proteínas totales se mantuvo constante, por lo tanto el manejo alimenticio, considerando que lo único que se varió fue la forma de suministrar el suplemento y no el suplemento en sí, no parece ser un factor determinante que modifique esta relación. De todas formas, no se conocen en profundidad los cambios ocasionados en las proporciones de caseínas según el manejo alimenticio, siendo los resultados de la bibliografía inconsistentes, de manera que se hace necesario seguir investigando en este aspecto. Las correlaciones entre las subfracciones caseínicas y el contenido proteico resultaron muy bajas y sin significancia; lo mismo ocurrió entre las mismas y la producción de leche, por lo tanto a la hora de pensar en mejoramiento genético por composición de leche hay que tener en cuenta estas relaciones o los cambios en el manejo de la alimentación.

Con respecto a la retención de sólidos, proporción de κ -caseína y relación α/β , todos parámetros de referencia en rendimiento quesero, no se vieron afectados por el momento de suministro del ensilaje. No se encontraron correlaciones significativas entre los parámetros anteriormente mencionados, por lo tanto se hace difícil inferir que a mayor relación α/β o proporción de κ -caseína, mayor retención de sólidos.

Una leve superioridad de precursores lipogénicos en rumen y una menor tasa de recuperación de condición corporal de los animales del tratamiento 2 no se tradujo en incrementos en la producción neta de grasa en leche.

En cuanto a la composición de la grasa, no se diferenciaron las proporciones de ácidos grasos saturados ni las de ácidos grasos insaturados entre tratamientos, por lo tanto desde el punto de vista de nutrición humana, no se lograron mejoras en composición grasa según manejo alimenticio. Existió una tendencia a disminuir los ácidos grasos de cadena larga a medida que avanzó la lactancia, relacionado al aumento de ácidos grasos de cadena corta. Los ácidos grasos insaturados son un potente inhibidor de la síntesis de ácidos grasos de cadena corta y media en la glándula mamaria, tendencia que se observó en este experimento. A su vez las correlaciones negativas entre ambos grupos de ácidos grasos fueron significativas ($r = -0.67$; $P < 0.05$).

En forma general, la proporción de ácidos grasos saturados se hizo mayor en la leche del ordeño matutino frente a la de la tarde, comportándose de manera inversa los ácidos grasos insaturados; estos cambios podrían explicarse por variaciones en la biohidrogenación ruminal relacionado al tiempo de permanencia del alimento en este compartimento.

Respecto a los contenidos de CLA en leche, se observó un aumento del primer período considerado al siguiente relacionado a las condiciones de las pasturas en tanto que la cantidad y madurez del forraje consumido son elementos que varían dichos contenidos.

Por otro lado, los mayores contenidos de CLA en leche del ordeño vespertino acompañan la mayor proporción de ácidos grasos insaturados en ese momento ($r = 0.58$; $P < 0.05$) y la menor proporción de ácidos grasos saturados de cadena corta ($r = -0.37$; $P < 0.05$). La menor proporción de ácidos grasos de cadena corta y media en la leche del ordeño de la tarde y un mayor contenido de CLA puede estar explicado por el efecto inhibitor del precursor *trans*- 11 C $_{18:1}$ sobre la síntesis de novo de ácidos grasos en la glándula mamaria.

6 RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar los efectos de la distribución y hora de suministro del ensilaje de maíz en los componentes mayores y sus subfracciones de la leche de vacas Holando en pastoreo, con lactancia temprana en el período otoño-invernal. El experimento se desarrolló en la Estación Experimental M.A. Cassinoni (Paysandú), durante el otoño-invierno del 2002 en el período comprendido entre el 20 de mayo y el 9 de julio. El trabajo de laboratorio se desarrolló en la facultad de Agronomía de Montevideo. Para este trabajo se utilizaron únicamente las 6 vacas fistuladas de rumen, pertenecientes al experimento de un trabajo más amplio (36 vacas) de evaluación del manejo de la alimentación sobre la producción, composición de leche y dinámica ruminal. Las 6 vacas fueron distribuidas en tres tratamientos según distribución y hora de suministro del ensilaje de maíz: (T1) 100% luego del ordeño de la mañana; (T2) 100% luego del ordeño de la tarde y (T3) 50% luego de cada ordeño. Se obtuvieron muestras de leche pertenecientes a las semanas 5 y 7 del experimento. Se determinó el porcentaje de proteína y NNP, el porcentaje de grasa, sólidos totales, cenizas y retención de sólidos. Además se determinaron la composición de ácidos grasos de la leche a partir de análisis cuantitativo por cromatografía de gases y las subfracciones caseínicas por electroforesis en gel de poliacrilamida. El análisis de los datos se realizó según el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS, ajustándose un modelo mixto para el análisis de subfracciones caseínicas, contenido proteico y grasa, componentes lipídicos, sólidos totales, retención de sólidos y producción de leche. La distribución y momento de suministro del ensilaje no afectó de forma significativa la producción de leche, grasa y proteína ni el contenido porcentual de estos componentes. Existiendo si tendencias las cuales no fueron estadísticamente significativas, pero tomando en cuenta que se analizó un bajo número de muestras se puede suponer que de haber tomado un mayor número de muestras, estas tendencias podrían llegar a ser significativas.

En cuanto a las subfracciones caseínicas, no se encontraron diferencias entre tratamientos, existiendo sí un efecto período, en donde las α -caseínas disminuyeron su proporción relativa, mientras que aumentó β -caseína y κ se mantuvo invariable a medida que avanzó la lactancia. Con respecto a los factores que modifican las proporciones de caseínas en proteína total, el manejo alimenticio no mostró ser determinante en este aspecto ya que la relación caseína/proteína se mantuvo constante para los tres tratamientos en los dos períodos y momentos de ordeño analizados. Desde el punto de vista de rendimiento quesero, tanto la retención de sólidos como la proporción de κ -caseína y la relación α/β , no se vieron afectados por el momento de suministro del ensilaje. El manejo alimenticio tampoco modificó en forma significativa la composición de la grasa en leche considerándose este aspecto de importancia en referencia a la nutrición humana. A medida que avanzó la lactancia, los AG de cadena larga tendieron a disminuir, de manera inversa a los AG de cadena corta y media. Los AG insaturados provocaron un efecto inhibitorio a la síntesis de novo en glándula mamaria. Con respecto a los contenidos de CLA en leche, aumentaron de un período al siguiente lo cual se puede atribuir al estado de las pasturas consumidas. Por otro lado, las variaciones diarias se explican relacionando los valores de CLA con los AG insaturados y AG saturados de cadena corta y media.

7 BIBLIOGRAFIA

- 1) ACOSTA, Y. 2001. Alimentación y sólidos en leche.
<http://www.infoleche.com/produccion-primaria/alimentacion>.
- 2) ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche. Editorial Reverté S.A. Barcelona.
- 3) AULDIST, M.J. 2000. Effects of pasture allowance on the yield and composition of milk from cows of different beta- lactoglobulin phenotypes. *Journal of Dairy Science* 83: 2069-2074.
- 4) BATH, D.L. 1982. Ganado lechero: principios, prácticas, problemas y beneficios, 2^a edición. Nueva Editorial Interamericana S.A. México.
- 5) BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRINARI, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*.
- 6) BAUMAN, D.E. 2000. *Ruminant Physiology*. Edit by P.B Cronyê. CAB International, 2000.
- 7) BEAM, T.M. 2000. Effect of amount of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *Journal of Dairy Science* 83: 2564-2573.
- 8) BEAULIEU, D. 2000. Grazing and CLA in milk and meat. What is CLA and why do we care. [http:// www.msue.msu.edu/jackson/GLGC.htm](http://www.msue.msu.edu/jackson/GLGC.htm).

- 9) BERNABUCCI, U. 2002. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Journal of Animal Research* 51: 25-33.
- 10) BINES, J.A. 1983. Consumo voluntario de alimentos. *In* Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster, W.H.; Swan, H.
- 11) BROCHET. 1991. Composición y propiedades de la leche de oveja. *In* Leche y productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- 12) CHILIBROSTE, P. 1998a. Fuentes comunes de error en la alimentación de ganado lechero en pastoreo: I. Predicción del consumo. *In* XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. 18-20 de Junio de 1998. 1-12,36.
- 13) (—————). 1998b. Fuentes comunes de error en la alimentación de ganado lechero en pastoreo: II. Balance de nutrientes. *In* XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. 18-20 de Junio de 1998. 1-12,36.
- 14) CHILIBROSTE, P. 1999. Estudio integrado de las estrategias de pastoreo y suplementación en vacunos. *CANGÜE*. 15: 9-14.
- 15) CHILLIARD, Y; FERLAY, A; DOREAU, M. 2001. Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières. *INRA Productions Animales* 14: 323-335.
- 16) CHURCH, D.C.; POND, W.G. 1998. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales.

- 17) COULON, J.B.; HURTAUD, C; RÉMOND, B; VÉRITÉ, R. 1998. Facteurs de variation de la proportion de caséines dans les protéines du lait de vache. INRA Productions Animales 11 (4): 299-310.
- 18) DePETERS E.J.; CANT, J.P. 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. Journal of Dairy Science 75: 2043-2070.
- 19) DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. 1999. Conjugated linoleic acid of milk from cows fed different diets. Journal of Dairy Science 82: 2146-2156.
- 20) GALLARDO, M. 2002. El silaje en el tambo: un recurso insustituible. [http:// www.e-campo.com.inta.rafaela](http://www.e-campo.com.inta.rafaela).
- 21) GREENBERG, L.S.; KLASNA, D. 2002. The marketing potential of conjugated linolenic acid in cheese. SARE- IFAFS Programs.
- 22) GIBSON, J.P. 1984. Efecto de la frecuencia de alimentación en composición de la leche de ganado lechero. Un análisis de resultados publicados. Journal of Animal Production 38: 181-189.
- 23) FRENCH, N.; KENNELLY, J.J. 1990. Effects of feeding frequency on ruminal parameters, plasma insulin, milk yield and milk composition in Holstein cows. Journal of Dairy Science 73: 1857-1863.
- 24) HAENLEIN, G.F.W. 1993. Goat management. Cooperative extension, University of Delaware, EEUU.

- 25) KAUFMANN, W. 1983. Utilización de la proteína. In Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster, W.H.; Swan, H.
- 26) LE MENS. 1991. Composición físico-químicas y nutricionales. In . Leche y productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- 27) LUQUET, F.M. 1991. Leche y productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- 28) MAHAN, L.K; ARLIN, M.T. 1995. Nutrición en enfermedades cardiovasculares y ateroscleróticas. In: Krause, Nutrición y dietoterapia. Editorial Interamericana. Mc Graw- Hill.
- 29) MAHIEU, H. 1991 Síntesis de la leche. In Leche y productos lácteos. Luquet, F.M. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- 30) Mc.DONALD, P. 1986. Nutrición animal. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 518pp.
- 31) MURRAY, J.D; MAGA, E.A. 1999. Transgenic animal in agriculture. CAB International, 1999.
- 32) NG-KWAI-HANG, K.F; MOXLE, J.E; HAYES, J.F. 1987. Variation in milk protein concentrations associated with genetic polymorphism and environmental factors. *Journal of Dairy Science* 70:563-570.
- 33) NG-KWAI-HANG, K.F; KROEKER, E.M. 1984. Rapid separation and quantification of major caseins and whey proteins of bovine milk by polyacrilamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science* 67: 3052-3056.

- 34) O'QUINN, P.R. 2000. Conjugated linoleic acid. *Animal Health R.Reviews* 1: 35-46.
- 35) OLDHAM, J.D.; SUTTON, J.D. 1983. Composición de la leche y la vaca de alta producción. *In Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción*. Broster, W.H.; Swan, H. 1ed. México AGT. 84-108pp.
- 36) OSTERSEN, S. 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research* 64: 207-219
- 37) PALMQUIST, D.L. 1993. ASDA Foundation Symposium: milk fat synthesis and modification. *Journal of Dairy Science* 76: 1753-1771.
- 38) PARODI, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *Journal of Dairy Science* 82: 1339-1349.
- 39) REARTE, D.H. 1990. Alimentación y composición de la leche. E.E.A Balcarce CERBAS INTA. 94pp.
- 40) RUGGIA, A.P.; URRICARIET, V.E. 2002. Efecto del momento de la sesión de pastoreo sobre la digestión ruminal de vacas lecheras pastoreando praderas plurianuales en otoño-invierno. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 84p.
- 41) SCHMIDT, G.H; VAN VLECK, L.D; HUTJENS, M.F. 1974. Principles of dairy science, 2nd edition. Prentice Hall.
- 42) SOTO-NAVARRO, S.A. 2000. Influence of feed fluctuation and frequency of feeding on nutrient digestion. *Journal of Animal Science* 78: 2215-2222.

43) SHABI, Z. 1999. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility and milk yield and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82: 1252-1260.

44) WIKTORSSON, H. 1983. Plano general de nutrición para vacas lecheras In Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster, W.H.; Swan, H.

8 ANEXOS

Anexo n° 1: Producción de leche en los dos períodos considerados, por ordeño, para los tres tratamientos

	Período I							Período 2					
	24/06/02				25/06/02			08/07/02			09/07/02		
	N°an	a.m	p.m	total	a.m	p.m	total	a.m	p.m	total	a.m	p.m	total
T 1	826	16,2	12,8	29	17,4	12,6	30	16	12,8	28,8	15	12,6	27,6
	809	11,8	11,2	23	12	9,4	21,4	11	9,6	20,6	12	12	24
T 2	838	12,4	14	26,4	11,8	14	25,8	12	13,8	25,8	11	12,4	23,4
	729	11,8	10,4	22,2	11,8	12,2	24	10	10,2	20,2	10,2	12,6	22,8
T 3	827	17,6	15,4	33	15,2	14	29,2	13	17,2	30,2	16,4	14	30,4
	804	11,8	12,6	24,4	13	10,4	23,4	11	13	24	13,4	12	25,4

Anexo n° 2: Relación entre proteína total y subfracciones caseínicas en los dos períodos considerados para los tres tratamientos

							Relación prot. total/subfracción			
		α s-2	α s-1	β	κ	prot	α s-2	α s-1	β	κ
Período 1	T 1	10,85	44,34	30,62	14,24	3,11	0,29	0,07	0,10	0,22
	T 2	12,15	42,68	30,06	15,09	3,37	0,28	0,08	0,11	0,22
	T 3	11,54	44,94	29,43	14,08	2,97	0,26	0,07	0,10	0,21
Período 2	T 1	12,13	40,78	32,53	14,54	3,15	0,26	0,08	0,10	0,22
	T 2	13,98	37,57	33,14	15,34	3,5	0,25	0,09	0,11	0,23
	T 3	12,72	39,77	33,49	14,04	3,2	0,25	0,08	0,10	0,23

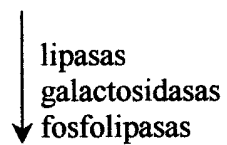
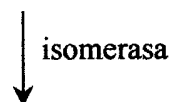
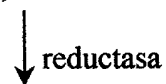
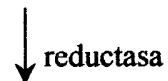
Anexo n° 3: Proporción de los principales ácidos grasos de la leche de vaca

Acidos grasos	N° carbonos	Promedio (%)
Butírico	C4	3.6
Caproico	C6	2.3
Caprílico	C8	1.3
Cáprico	C10	2.7
Láurico	C12	3.3
Mirístico	C14	10.7
Palmítico	C16	27.6
Estearico	C18:0	10.1
Oleico	C18:1	26.0
Linoleico	C18:2	2.5
Linolénico	C18:3	1.4

Fuente: Renner, 1982.

Anexo n°4: Proceso de biohidrogenación ruminal

LÍPIDOS ESTERIFICADOS (de origen vegetal)

FFA INSATURADOS
(Ej *cis*-9, *cis*-12 C18:2)ISÓMERO
cis-9, *trans*-11 C18:2 (CLA)*trans*-11 C18:1

C18:0

Fuente: Jenkis, 1993

Anexo n° 5: Porcentaje de cenizas, sólidos totales y NNP para los tres tratamientos

% Cenizas			% Sólidos totales			% NNP		
T 1	T 2	T 3	T 1	T 2	T 3	T 1	T 2	T 3
0,52	0,62	0,60	10,59	11,26	10,90	9,45E-03	9,67E-03	9,99E-03
0,61	0,49	0,58	12,69	10,73	10,04	1,06E-02	1,17E-02	9,51E-03
0,63	0,58	0,66	10,00	11,44	10,37	6,93E-03		7,90E-03
0,61	0,61	0,37	11,35	10,84	10,63	7,90E-03	7,33E-03	6,29E-03
0,47	0,50	0,60	9,73	10,43	10,20	7,42E-03	1,01E-02	9,03E-03
0,64	0,57	0,54	11,40	10,18	11,72	7,90E-03	9,67E-03	1,02E-02
0,60	0,60	0,61	11,48	11,52	10,93	9,27E-03	8,54E-03	1,14E-02
0,54	0,59	0,52	11,15	11,12	10,87	8,70E-03	1,03E-02	1,21E-02
0,55	0,41	0,50	11,46	11,95	10,81	8,79E-03	1,06E-02	9,19E-03
0,64	0,36	0,48	12,25	12,48	11,91	9,67E-03	9,43E-03	8,22E-03
0,32	0,48	0,56	10,86	13,14	11,82	8,38E-03	9,11E-03	8,38E-03
0,55	0,25	0,46	12,38	11,47	11,69	9,35E-03	8,06E-03	6,53E-03
0,62	0,53	0,58	10,07	11,50	11,17	8,79E-03	9,18E-03	7,98E-03
0,53	0,54	0,56	11,33	11,05	11,59	9,67E-03	9,42E-03	8,46E-03
0,53	0,60	0,58	9,37	11,22	10,23	8,62E-03	9,10E-03	7,82E-03
	0,61	0,58	12,36	11,07	10,98	7,98E-03	8,86E-03	7,18E-03
0,56	0,52	0,55	11,15	11,34	10,99	8,71E-03	9,21E-03	8,76E-03