



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS – FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ACIDOS GRASOS PARES, IMPARES Y RAMIFICADOS, Y ESTATUS  
OXIDATIVO DE LA LECHE DE VACAS HOLSTEIN FRIESIAN Y  
NORMANDO PRODUCIDA EN SISTEMA PASTORIL EN DIFERENTES  
ESTACIONES DEL AÑO**

**por**

**Ing. Agr. Cristina Gervasini**

TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
Magister en Ciencias Nutricionales

**MONTEVIDEO**

**URUGUAY**

**2021**

## **PAGINA DE APROBACION**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por: Dra. Laura Astigarraga, Dra. Maria Salhi Romero y Dr. Federico Harte, el 30 de setiembre del 2021.

Autor: Cristina Jeanette Gervasini Pérez.

Tutor: Dr. Ali Saadoun

Co-tutoras: Dra. Maria Cristina Cabrera y Dra. Alejandra Terevinto

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer especialmente a las personas que confiaron y me apoyaron en la elaboración de esta Tesis y durante todo el transcurso de esta Maestría: a mi tutor el Dr. Ali Saadoun, y co-tutoras la Dra. María Cristina Cabrera y Dra. Alejandra Terevinto.

A todos quienes de una forma u otra brindaron apoyo para la realización de este trabajo.

A todos los docentes que tuve en el transcurso de esta Maestría.

Y un agradecimiento especial a mi hija Magaluna por su apoyo incondicional de siempre.

## RESUMEN

Esta investigación buscó evaluar en la leche de vaca, ya que es considerado un alimento que proporciona nutrientes esenciales en la dieta de los seres humanos, el perfil de ácidos grasos pares, impares y ramificados, y su estatus oxidativo. Dada la importancia que para los consumidores tiene el contenido y composición de ácidos grasos de la leche y sus implicancias en la salud, se determinó el contenido total de lípidos y la composición de ácidos grasos de las muestras, la oxidación lipídica, la oxidación proteica y los índices de salud. Además, se determinaron dos índices de salud cardiovascular: índice aterogénico (IA) e índice trombogénico (IT). Se partió de muestras de leche que habían sido obtenidas en la lactancia de vacas Holstein Friesian (n=14) y Normando (n=13), producida en sistema pastoril y en diferentes estaciones del año. Se encontró que la leche de vacas Normando tiene mayor contenido de lípidos que la leche de vacas Holstein Friesian, pero con menor contenido de dos ácidos grasos con potencial aterogénico como son el ácido mirístico (C14:0) y el ácido palmítico (C16:0), lo cual es favorable si se considera que un consumo excesivo de estos dos ácidos grasos podría favorecer enfermedades cardiovasculares. Pero también se encontró en la leche de vacas Normando, que el contenido del ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3n3) estaba presente en menor cantidad cuando se lo comparó con la leche de vacas Holstein Friesian. Este resultado no es favorable ya que este ácido graso de la familia de los Omega 3 es esencial para los humanos, como también lo fue la menor presencia de los ácidos grasos poliinsaturados. Sin embargo, ni el CLA, ni la relación ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados presentaron diferencias entre las dos leches, lo cual favorecería la leche de vacas Normando, ya que además presentó un menor índice aterogénico (IA) respecto a la leche de vacas Holstein Friesian. En relación con los ácidos grasos impares y ramificados, no hubo diferencias entre las dos razas, pero se debería seguir investigando para determinar los posibles efectos sobre la salud humana de este tipo de ácidos grasos presentes en la leche. En lo concerniente al estatus oxidativo, la leche de vacas Normando presentó una mayor oxidación lipídica, a pesar de tener un menor contenido de ácidos grasos poliinsaturados, principal blanco de la oxidación, respecto a leche de vacas

Holstein Friesian. No hubo diferencia en la oxidación proteica entre las leches de ambas razas. Debería seguirse investigando para comprender las diferencias en la oxidación lipídica en las dos leches.

*Palabras clave:* ácidos grasos, oxidación, leche de vaca, Holstein Friesian, Normando

## SUMMARY

This research sought to evaluate the profile of even, odd and branched fatty acids and their oxidative status in cow's milk, since it is considered a food that provides essential nutrients in the human diet. Due to the importance for consumers of the fatty acid content and composition of milk and its implications for health, two indices of cardiovascular health were determined: atherogenic index and thrombogenic index. Milk samples were obtained from lactating Holstein Friesian (n=14) and Normande (n=13) cows, produced in a pastoral system and in different seasons of the year. Total lipid content and fatty acid composition of the samples, lipid oxidation, protein oxidation and health indices were determined. It was found that milk from Normande cows has a higher lipid content than milk from Holstein Friesian cows, but with a lower content of two fatty acids with atherogenic potential such as myristic acid (C14:0) and palmitic acid (C16:0), which is favorable considering that an excessive consumption of these two fatty acids could favor cardiovascular diseases. But it was also found in milk from Normande cows that the  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n3) content was lower when compared to milk from Holstein Friesian cows, which is not favorable since this fatty acid of the Omega 3 family is essential for humans, as was the lower content of the polyunsaturated fatty acids. However, neither CLA nor the ratio of polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids showed differences between the two milks, which would favor milk from Normande cows, as it had a lower atherogenic index than milk from Holstein Friesian cows. In relation to odd and branched fatty acids, there were no differences between the two breeds, but further research should be carried out to determine the possible contributions to human health, of this kind of fatty acids, present in milk. Concerning oxidative status, milk from Normande cows showed higher lipid oxidation despite a lower presence of polyunsaturated fatty acid, main target of oxidation, compared to milk from Holstein Friesian. No difference was detected in protein oxidation between the two milks. Further research should be done to understand the differences in lipid oxidation.

Key words: fatty acids, oxidation, cow's milk, Holstein Friesian, Normande.

## TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
RESUMEN .....	III
SUMMARY.....	V
1 <u>INTRODUCCION</u> .....	1
1.1    ANTECEDENTES .....	4
1.1.1 <u>Razas</u> .....	4
1.1.2 <u>Composición de la leche</u> .....	6
1.1.3 <u>Ácidos Grasos</u> .....	9
1.1.4 <u>Estatus Oxidativo</u> .....	14
1.2    OBJETIVOS .....	18
1.3    HIPOTESIS .....	18
2 <u>MATERIALES Y METODOS</u> .....	19
2.1    EXTRACCIÓN DE LIPIDOS Y CROMATOGRFÍA DE GASES .....	19
2.2    DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA .....	20
2.3    DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN PROTEICA .....	21
2.4    DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PROTEICA .....	22
2.5    INDICES DE SALUD .....	22
2.6    ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	23
3 <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	24
3.1    CONTENIDO TOTAL DE LÍPIDOS Y COMPOSICIÓN DE ACIDOS GRASOS .....	24
3.2    OXIDACIÓN LIPIDICA .....	35
3.3    OXIDACIÓN PROTEICA .....	36
3.4    INDICES DE SALUD CARDIOVASCULAR DE LAS LECHES .....	38
4 <u>CONCLUSIONES</u> .....	40
5 <u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	42
6 <u>ANEXOS</u> .....	49
6.1    ANEXO 1: LISTA DE CUADROS Y FIGURAS .....	49
6.2    ANEXO 2: ABREVIATURAS .....	50

## 1 INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es un alimento que proporciona nutrientes esenciales en la dieta de los seres humanos, en todas las etapas de la vida, desde la infancia a la tercera edad.

Desde hace 8000-10000 a.c. se la ha incluido en la dieta de los seres humanos, cuando se domesticaron los Aurochs, en la región de Eurasia, que fueron los ancestros salvajes de las vacas, que evolucionaron luego en dos tipos de ganado doméstico: *Bos indicus* y *Bos Taurus* (ProCon.org, 2012).

La leche es esencialmente un sistema coloidal complejo que contiene: proteínas de fácil digestión y alto valor biológico porque aportan aminoácidos para cubrir requerimientos incluidos los esenciales; vitaminas A y del complejo B; minerales como el calcio, fósforo, magnesio, selenio y zinc; es fuente de energía alimentaria, y de glóbulos de grasa láctea suspendidos en un medio acuoso que también contiene lactosa. La grasa que contiene es una de las principales fuentes de ácidos grasos para el consumo humano (Givens et al., 2009; Martínez et al., 2010; Fernández et al., 2015; FAO, 2019).

A nivel mundial, el consumo de leche y productos lácteos es mayor en los países desarrollados, pero en los países en desarrollo, está creciendo la demanda por aumento en los ingresos de la población, el crecimiento demográfico, la urbanización y los cambios en los regímenes alimentarios. Esta tendencia se acentúa más en el continente asiático (FAO, 2019).

Según la FAO, el consumo de leche per cápita mundial es: alto con valores que superan los 150 kg/año, en países de América del Norte, Argentina, Australia, Costa Rica, países de Europa e Israel entre otros; medio con valores que oscilan entre 30 y 150 kg/año en países como India, Japón, México, Nueva Zelandia, países de África del norte y sur, Oriente próximo, y la mayor parte de América Latina y Caribe; bajo con un consumo menor a 30 kg/año en países en países de África central, la mayor parte de Asia oriental y sudoriental entre otros.

En Uruguay se producen 2.130 millones de litros de leche por año, con un consumo anual de 230 litros de leche *per cápita*, más del doble del consumo mundial promedio, por lo tanto, el crecimiento del mercado interno está muy limitado. En el 5% del territorio nacional se produce anualmente leche para alimentar a 20.000.000 de personas.

Esto hace que en nuestro país la lechería sea el sector agropecuario de mayor ingreso de exportaciones por hectárea, ocupando el séptimo lugar como exportador a nivel mundial. El 90% de la producción de leche es procesada en la industria, donde el 30 % se destina al mercado interno, y el 70 % a la exportación con destino a más de 60 mercados a nivel mundial (INALE). Cuenta con un rodeo lechero de 440.000 vacas compuesto por las siguientes razas: Holstein Friesian (HF) un 89 %, Normando (N) un 1%, Jersey un 1 %, y cruza un 9 %. La alimentación de los animales consiste principalmente en una dieta de base pastoril a cielo abierto, lo que hace que la producción esté fuertemente afectada por la variabilidad climática, de ahí la importancia de la capacidad de adaptación de las distintas razas a estas variaciones.

La composición de la leche, sabor y color está influenciada por la raza de las vacas, edad, estado de lactancia, número de pariciones, dieta suministrada y estación del año (FAO, 2019). También puede verse afectada por procesos oxidativos donde se inducen modificaciones en los lípidos y proteínas de la leche que repercuten en todos los productos que se obtienen a partir de ésta.

En el contenido total de lípidos que posee, hay aproximadamente 400 ácidos grasos que se agrupan de la siguiente manera: ácidos grasos de cadena corta y media (C4:0 a C15:0) que derivan de la síntesis *de novo* en la glándula mamaria; ácidos grasos de cadena larga (C17:0 a C26:0) que derivan de la dieta; y ácidos grasos de cadena media (C16:0) que derivan tanto de la síntesis *de novo* como de la dieta (Nantapo et al., 2014; Roca et al. 2012). Sin embargo, desde el punto de vista nutricional solo algunos ácidos grasos tienen relevancia por razones cuantitativas y cualitativas.

Es por esto por lo que consumidores e investigadores han centrado la atención en el contenido de algunos ácidos grasos de la leche y sus implicancias en la salud. Han

encontrado que la grasa de la leche contiene: 70% de ácidos grasos saturados (SFA), 25% de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y 5% de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Si bien se debe señalar que los SFA láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) tendrían incidencia en el aumento del colesterol sanguíneo favoreciendo el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, hay otros SFA presentes en la leche como los ácidos butíricos (C4:0), caproicos (C6:0), caprílicos (C8:0), cápricos (C10:0) y esteáricos (C18:0) que no suponen riesgo de enfermedad cardiovascular (Roca et al. 2012). Y en lo que refiere a la concentración de ácidos grasos insaturados (UFA) beneficiosos para la salud ésta es baja, donde se incluyen el ácido linoleico conjugado (CLA C18:2 c9t11), ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3 n-3) y ácido oleico (C18:1 c9). Pero también su contenido se puede mejorar a través de la alimentación con pasturas, de las vacas lecheras (Nantapo et al., 2014).

Este beneficio potencial de los ácidos grasos insaturados hará que los consumidores seleccionen alimentos que los contengan, por las propiedades benéficas para la salud humana que tienen: propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiaterogénicas, antiobesidad, antidiabéticas y favorables al sistema inmunitario (Kelsey et al. 2003; Nantapo et al., 2014); de ahí la importancia de la leche como un alimento fuente de ácidos grasos para los seres humanos.

## 1.1 ANTECEDENTES

### 1.1.1 Razas

Teóricamente las curvas de lactancia de las vacas lecheras son de 305 días seguidos de un período seco de 60 días. En ésta se da un incremento diario de la producción de leche luego del parto hasta alcanzar su pico de lactancia, para luego comenzar una gradual declinación hasta el final del período. Esta curva puede tener variaciones ya que se ve afectada por la genética animal, época de parición, alimentación y sistema de producción. Es por esto que en países de clima templado, con sistema de producción en base a pasturas, las pariciones de otoño presentan una curva de producción que difiere de la típica, la cual se asocia a las pariciones de primavera. En las lactancias de pariciones de otoño generalmente se dan dos picos de producción, el primero por la dinámica fisiológica de los animales y el segundo por el período de mayor disponibilidad de pasturas de la primavera. También la época de pariciones afecta la composición de los sólidos de la leche y la duración de la lactancia (García y Holmes, 2001; Chilibróste, 2012).

La selección de animales con alto potencial genético para producción lechera como es la raza Holstein Friesian, se destacan por tener altas producciones individuales y mayor cantidad de sólidos acumulados durante la lactancia; mientras que los animales raza Normando que son doble propósito se caracterizan por un menor potencial lechero, pero con la selección dentro de la raza se busca el equilibrio entre la producción de carne y leche. En general, se ha observado que las razas doble propósito tienen mayor capacidad de adaptación a ambientes exigentes (French et al., 1968; Delaby et al., 2009). En este sentido Delaby et al. (2009) investigaron variaciones en la dieta para evaluar el desempeño de vacas Holstein y Normando, determinando que las razas doble propósito (Normando) tienen mayor flexibilidad que las Holstein para cambiar de condiciones ambientales. Las Holstein presentan mayores requerimientos de alimentación durante la lactancia respecto a las Normando. Éstas últimas pueden tener mayor capacidad de adaptación a diferentes sistemas de producción con manejo variable de la alimentación, lo cual es muy ventajoso en pariciones estacionales con dieta basado en pasturas y bajo consumo de

suplementación. También encontraron que en el promedio de la lactancia las vacas Normando tienen mayor peso vivo y condición corporal que las Holstein lo que permite una recuperación post-parto más rápida y una fácil preparación para la siguiente gestación.

Cuadro 1: Efecto de estrategias contrastantes de alimentación con partos agrupados en invierno, de raza Holstein y Normando y su incidencia en la producción de leche, grasa, proteína y condición corporal, a lo largo de la lactancia.

	LECHE ( kg ) 305 días		GRASA ( g/kg )		PROTEINA ( g/kg )		CC ( mínimo )	
	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja
Holstein	8.655	6.000	37,4	38,8	32,0	30,9	1,85	1,50
Normando	6.230	4.665	41,1	42,2	34,9	33,4	2,85	2,25

LECHE kg: producción total acumulada en 305 días de lactancia; GRASA g/kg: contenido de grasa a lo largo de la lactancia; PROTEINA g/kg: contenido de proteína a lo largo de la lactancia; CC mínimo: mínima condición corporal en la lactancia; ALTA: suministro de alimentos cubre la demanda animal; BAJA: el animal se adapta a los recursos disponibles en los alimentos

Fuente: modificado de Astigarraga (2019).

Astigarraga (2019) indica que estas características de la raza Normando son de interés para regiones del país alejadas de la cuenca lechera tradicional, con producción lechera menos especializada, de base pastoril y con bajo uso de concentrados, donde una raza doble propósito puede presentar buen desempeño en estas condiciones.

Además, la leche de vacas Normando se destaca por un contenido de proteínas con las formas más aptas para la elaboración de quesos ya que las micelas de caseínas son pequeñas, y tiene una frecuencia del 79 % de la variante B de la kappa caseína (otras razas francesas solo tienen un 11% como son la Holstein, Simmental y MontBeliarde), lo cual permite rendimientos superiores de un 15 a 20 % en la producción quesera, respecto a la leche proveniente de otras razas (Portalechero, 2019).

### 1.1.2 Composición de la leche

La leche es el líquido secretado por la glándula mamaria de las hembras de los mamíferos luego del nacimiento de su cría, una emulsión de materia grasa, en forma globular, en un líquido que muestra semejanzas con el plasma sanguíneo, el cual es una suspensión de materias proteicas, en un suero constituido por una solución neutra que contiene principalmente lactosa y sales minerales. Por lo tanto, en la leche identificamos cuatro componentes importantes: lípidos (triacilgliceroles), proteínas (caseínas, albúminas y globulinas), glúcidos principalmente lactosa, sales, y en cantidades mínimas lecitinas, vitaminas, enzimas, nucleótidos y gases disueltos (Alais, 1985).

Cuadro 2: Composición de la leche entera, su contribución consumiendo 500 ml al RDA (ingesta diaria recomendada), para algunos nutrientes y sus efectos sobre la salud.

Componente de la leche	Concentración en 1 lt de leche entera <sup>a</sup>	Contribución porcentual de 0,5 lt de leche entera a la ingesta de referencia <sup>b</sup>	Efectos en la salud
Grasa	33 g / l		Rica en energía
Ácidos grasos saturados	19 g / l		Aumenta el HDL, baja densidad LDL, y colesterol total. Inhibición de bacterias, virus.
Ácido láurico	0,8 g / l		Antivirales y antibacterianos
Ácido mirístico	3,0 g / l		Aumenta LDL y HDL
Ácido palmítico	8 g / l		Aumenta LDL y HDL
Ácido oleico	8 g / l		Previene CHD, da estabilidad a las membranas
Ácido linoleico	1,2 g / l		Ácido graso Omega-6
Acido $\alpha$ -linolénico	0,75 g / l		Ácido graso Omega-3
Proteína	32 g / l	30-40%	Aminoácidos esenciales, proteínas bioactivas, péptidos. Mejora la biodisponibilidad
Lactosa	53 g / l		Productos de lactosilación
Calcio	1,1 g / l	40-50%	Huesos, dientes, presión arterial, control de peso.

Componente de la leche	Concentración en 1 lt de leche entera (a)	Contribución porcentual de 0,5 lt de leche entera a la ingesta de referencia (b)	Efectos en la salud
Magnesio	100 mg / l	12-16%	Para ancianos, tratamiento de asma
Zinc	4 mg / l	18-25%	Función inmune. La expresión génica
Selenio	37 ug / l	30%	Cáncer, alergia, CHD
Vitamina E	0,6 mg / l	2%	Antioxidante
Vitamina A	280 ug / l	15-20%	Visión, diferenciación celular.
Folato	50 ug / l	6%	Síntesis de ADN, división celular, metabolismo de aminoácidos.
Riboflavina	1,83 mg / l	60–80%	Prevenir la ariboflavinosis
Vitamina B <sub>12</sub>	4,4 ug / l	90%	Papel clave en el metabolismo del folato

(a) Datos de composición de alimentos de Alimentos del USDA

(b) Ingesta dietética de referencia (DRI) para hombres y mujeres

Fuente: Haug et al. (2007)

La glándula mamaria efectúa la síntesis (a partir de materiales que se absorben selectivamente de la sangre) de la mayor parte de los componentes orgánicos de la leche: lactosa, materia grasa (triacilglicérols), caseínas, beta-lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, y sales. Estas sustancias secretadas representan el 92% del extracto seco de la leche de vaca. También en la glándula mamaria se ejerce un filtrado selectivo de proteínas, minerales y vitaminas que no son elaboradas en este lugar, sino que pasan directamente de la sangre a la leche.

### 1.1.3 Ácidos Grasos

La composición química de los lípidos de la leche y la organización estructural de los glóbulos de la grasa, pueden verse afectados por factores como: procesamiento, medio ambiente y los animales. Entre los factores de origen animal tenemos la genética, la dieta y el período de lactación (López et al., 2014).

Los ácidos grasos y glicerol, que constituyen los triacilgliceroles de la materia grasa de la leche, vienen en parte de la sangre y también se sintetizan en la glándula mamaria. Esta mezcla de triacilgliceroles contiene una gran variedad de ácidos grasos saturados e insaturados.

La síntesis que se da en la glándula depende de la presencia en sangre de ácidos grasos volátiles (AGV) que provienen de la fermentación de los glúcidos en el rumen, donde normalmente se forma ácido acético y propiónico en relación 3 a 1. Y la fermentación en el rumen depende también del estado físico de los glúcidos ya que se necesita determinada cantidad de celulosa. Es por esto por lo que la insuficiencia o carencia de fibra en las dietas, provoca un descenso en el contenido de la grasa, y cuando las dietas son ricas en fibras las proporciones de AGV en el rumen son de 70% acético, 18% propiónico y 12% butírico.

Los ácidos grasos se diferencian por la longitud de la cadena de átomos de carbono y por el número de dobles enlaces que contienen: ácidos grasos saturados (SFA) no contienen dobles enlaces y los ácidos grasos insaturados (UFA) contienen uno o más dobles enlaces. La mayor parte de los SFA tienen número par de átomos de carbono, siendo los mayoritarios desde el butírico (C4:0) al esteárico (C18:0). Aunque los SFA más abundantes sean los que tienen una longitud de cadena de 10 a 18 átomos de carbono, la grasa de leche de rumiantes se caracteriza por tener cantidades importantes de AG de cadena corta (butírico C4:0 y caproico C6:0), los cuales contribuyen a disminuir el punto de fusión de la grasa láctea, facilitando su secreción a través de la glándula mamaria. Dentro del grupo de AG insaturados el más abundante es el ácido oleico (C18:1) que, cuantitativamente, es el segundo más importante de la leche. En la leche bovina la cantidad de ácidos grasos saturados e insaturados es de una relación 70 % para los primeros, contra 30 % para los

segundos, y de ese total aproximadamente el 2% son poliinsaturados (PUFA). Pero de ese 70 % de ácidos grasos saturados, menos del 40 % se encuentran en categorías consideradas menos saludables, valores que pueden modificarse cambiando las dietas de los animales (Elgersma et al., 2006).

Y dentro de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) tenemos dos grandes grupos: los ácidos grasos omega-6 (n-6) que tienen como precursor esencial el ácido linoleico y los ácidos grasos omega-3 (n-3), donde el precursor esencial es el ácido  $\alpha$ -linolenico. En ambos casos, los precursores se consideran ácidos grasos esenciales porque el cuerpo humano no los puede sintetizar y por lo tanto deben ser obtenidos a través de la dieta. Pero estos ácidos grasos omega-6 y omega-3 deben consumirse en la dieta manteniendo un equilibrio (Simopoulos, 2002).

Simopoulos (2002) informa que si hay un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados omega-6, y muy alta proporción omega-6/omega-3, se promueve la aparición de muchas enfermedades, incluidas las cardiovasculares, cáncer, inflamatorias y autoinmunes, mientras que el aumento en los niveles de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y una baja relación omega-6/omega-3 tendrá efectos supresores. Una proporción de 5-4/1 en la relación omega-6/omega-3 se asocia a la prevención secundaria (prevención de complicaciones y secuelas) de la enfermedad cardiovascular con disminuciones del 70% en la mortalidad total. En el caso de cáncer colon-rectal la proporción que reduce la proliferación de células sería de 2.5/1, mientras que una menor proporción de omega-6/omega-3 en mujeres con cáncer de seno se asocia con una disminución del riesgo (Simopoulos, 2002).

Para casos de artritis reumatoidea, una proporción de 2-3/1 suprimió la inflamación, y un efecto beneficioso estuvo presente con relaciones de 5/1 en pacientes con asma. Por lo tanto, estos estudios indican que la proporción óptima varía con la enfermedad, pero una proporción más baja de ácidos grasos omega-6/omega-3 es lo deseable para reducir el riesgo de enfermedades crónicas (Simopoulos, 2002; Calder, 2013).



El contenido de PUFA en la leche de vacas en pastoreo, puede verse influenciado por factores que incluyen las especies y cultivares pastoreados, así como la cantidad y calidad del forraje disponible, ya que la cantidad de PUFA en el forraje fresco es variable (Palladino et al., 2009). Hay estudios que sugieren que la grasa de la leche donde las vacas se alimentan con pasto o con forraje fresco puede contener niveles más altos de ácidos grasos poliinsaturados, en comparación con la grasa de la leche de animales alimentados con dietas a base de forraje conservado (Kelly et al., 1998).

En el forraje la variación en la concentración de lípidos dependerá de la especie, la etapa de crecimiento en que se encuentre, la temperatura y la intensidad de la luz. Pero existen cinco ácidos grasos principales en las pasturas donde el 95 % está formado por ácidos  $\alpha$ -linolénico, linoleico y palmítico. Las concentraciones de ácido  $\alpha$ -linolénico varían con la planta y factores ambientales como la etapa de madurez, las diferencias genéticas, así como la intensidad de la luz y la estación. La ingesta de ácido linolénico en vacas, alimentadas con dos cultivares de *Lolium perenne* con diferentes concentraciones de ácido linolénico, causó aumentos lineales en la producción de CLA en la leche (Elgersma et al., 2006). La raza de las vacas y la etapa de lactancia en la que se encuentran también podría influir en los perfiles de ácidos grasos de la leche.

Junto a los anteriores ácidos grasos descritos, también hay otros que, aunque sean minoritarios poseen gran relevancia, dentro de los que se destacan los ácidos grasos de número impar de átomos de carbonos (OCFA), cuyo origen mayoritario se da en los procesos fermentativos de los alimentos en el rumen, por la acción de las enzimas de los microorganismos (bacterias y protozoos) allí presentes (Figura 2). Los SFA con número impar de átomos OCFA representan un 2% del total de AG, siendo C15:0 y C17:0 los más abundantes. También hay SFA de cadena ramificada (BCFA) que se encuentran en una proporción similar, pero engloban a un mayor número de moléculas con concentraciones variables. Los BCFA son un grupo emergente de ácidos grasos bioactivos que despiertan un creciente interés en la investigación, debido a sus beneficios potenciales a favor de la salud humana. Dado que los BCFA se originan en las membranas celulares de las bacterias del

rumen, los productos lácteos y cárnicos de los rumiantes son una fuente relevante de estos ácidos grasos (Taormina et al., 2020; Bainbridge et al., 2016).

En ese grupo, la ramificación con un metilo puede ser en posición del penúltimo carbono de la cadena respecto al carboxilo, conocidos como iso, o también en una posición en el carbono anterior al penúltimo que, en este caso dicho ácido graso de cadena casi siempre con un número impar de carbono, recibe la denominación de anteiso (Figura 2). Tanto los ácidos grasos ramificados iso como anteiso son ácidos grasos saturados correspondientes principalmente a cadenas con 13, 15, 17 y 18 átomos de carbono (Taormina et al., 2020).

Tales ácidos grasos (Figura 2), están presentes en cantidades significativas en todos los productos provenientes de los animales rumiantes. Como se ha dicho antes, eso se debe a la presencia en animales de un rumen que contiene microbios y protozoarios específicos, que a su vez elaboran una multitud de ácidos grasos particulares que darán lugar a los BCFA y a los OCFA (Taormina et al., 2020).

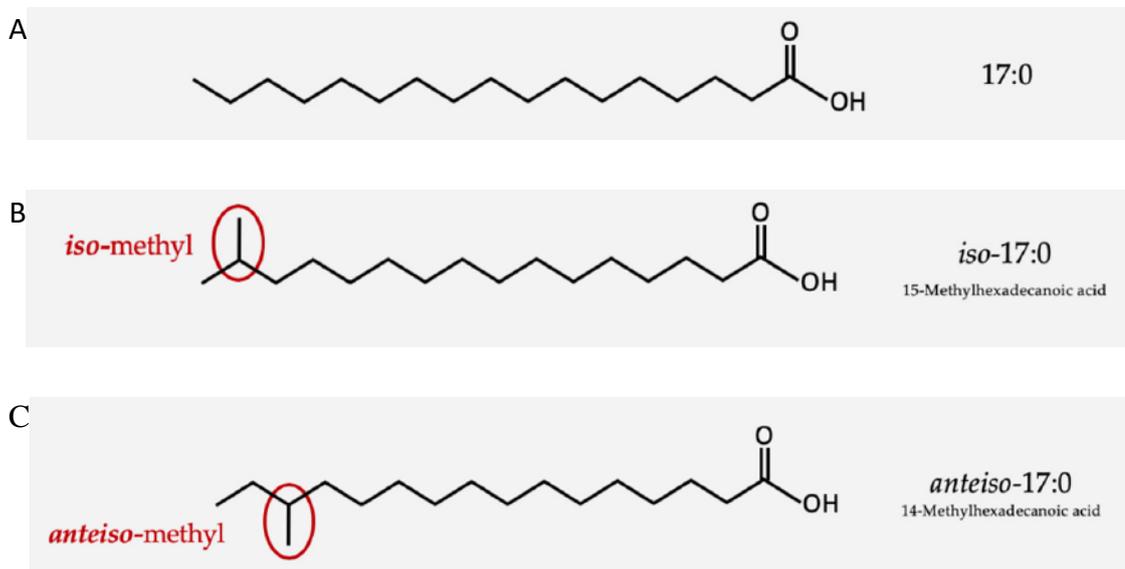


Figura 2: Estructura molecular de los ácidos grasos iso y anteiso. Ejemplo del ácido margárico (C17:0) (A), C17:0i (B) y C17:0ai (C). Modificado desde Taormina et al., (2020).

En estudios recientes, los BCFA y los OCFA han sido asociados con potenciales beneficios sobre la salud de los consumidores, y existe cierto interés de profundizar el conocimiento

científico sobre el consumo de estos ácidos grasos por parte de los humanos (Bainbridge et al., 2016; Taormina et al., 2020).

#### 1.1.4 **Estatus Oxidativo**

Las vacas lecheras sufren un período de transición, comprendido entre los 30 días antes del parto y los primeros 30 días de lactancia, que es crítico, porque es la etapa en que se determina el potencial reproductivo y productivo de la vaca para toda la lactancia. Cercano al parto sufren un cambio drástico en su metabolismo, disminuyen la ingesta diaria de alimentos y al mismo tiempo aumentan la demanda de energía como consecuencia del inicio de la lactancia, pudiendo entrar en un estado de balance energético negativo, si las ingestas de energía no cubren las demandas, dando lugar a procesos catabólicos, movilizándose tejidos del cuerpo para satisfacer el aumento de energía (Pedernera et al., 2010; Nakov et al., 2016).

Según Nakov et al. (2016) estos intensos procesos metabólicos van acompañados de una modificación del metabolismo energético y a nivel celular hay un incremento del consumo de oxígeno, lo que da lugar a un aumento de la producción de especies reactivas al oxígeno (ROS). Si las ROS se producen en cantidades excesivas o a una velocidad mayor de lo que pueden eliminarse por los mecanismos antioxidantes, puede llevar al desarrollo de estrés oxidativo (Pedernera et al., 2010).

Castillo et al. (2001) señalan que normalmente las células metabolizan el 95 % del oxígeno hasta agua (reducción tetraivalente), pero alrededor del 5 % tiene una reducción univalente, donde una molécula de oxígeno más cuatro electrones y cuatro protones forman dos moléculas de agua y tres intermediarios altamente tóxicos, donde dos de ellos son radicales libres: el anión superóxido e hidroxilo, y el peróxido de hidrógeno. También indicaron que hay otra fuente de ROS de origen endógeno y es la constituida por el metabolismo de las células defensivas, y de origen exógeno ya sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias: contaminación ambiental, la luz solar, las radiaciones ionizantes, una concentración de oxígeno demasiado elevada, entre otros.

La presencia de estos radicales puede oxidar las macromoléculas biológicas entre ellas lípidos, proteínas y ADN.

Los lípidos son los más lábiles, sufren el proceso de peroxidación lipídica donde las ROS atacan los ácidos grasos, le quitan un átomo de hidrógeno al grupo metileno adyacente al doble enlace, se le adiciona oxígeno y se transforma en un radical libre que será el transportador de la reacción en cadena, porque ataca otros ácidos grasos. Cuanto mayor sea el número de dobles enlaces, más fácil será remover un átomo de hidrógeno y es por eso por lo que los PUFAs son más susceptibles a la oxidación que los SFA y los MUFA. En el caso de las proteínas, péptidos y aminoácidos también son atacadas por las ROS, pero tienen un progreso más lento de las reacciones. Las ROS en las proteínas desencadenan efectos sobre el gradiente del calcio intra-extracelular, lo que hará que cualquier perturbación que afecte su transporte altera la función celular. Como producto del daño oxidativo de las proteínas se formarán peróxidos y carbonilos (Chihuailaf et al., 2001).

Pero dado que las ROS y otras formas de radicales libres se producen constantemente durante los procesos metabólicos, las células también han desarrollado mecanismos que las protegen de los efectos de los oxidantes y son los sistemas antioxidantes que pueden definirse como moléculas que previenen la formación descontrolada de radicales libres o inhiben sus reacciones con estructuras biológicas. Los sistemas antioxidantes pueden ser internos o externos. Los internos se dividen en enzimáticos donde encontramos la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y el sistema glutatión peroxidasa (GSH-Px), y los no enzimáticos como pueden ser la albúmina, ciertos ácidos grasos, nicotinamida, ADP, ceruloplasmina, metabolitos estrogénicos, tocoferoles, ácido ascórbico, carotenos o el ácido úrico. También la producción de antioxidantes está condicionada por la influencia genética, y la influencia ambiental, que podría alterar la síntesis de alguno de ellos en particular (Castillo et al., 2001; Chihuailaf et al., 2001).

Castillo et al. (2001) indican que el estado nutricional condiciona la capacidad defensiva antioxidante y por tanto la susceptibilidad ante un estado de estrés oxidativo. La dieta que reciben los animales puede aportar inadecuados niveles de antioxidantes, o la composición

de esta puede generar más cantidad de ROS de los que el propio sistema antioxidante pueda neutralizar. También Pedernera et al. (2010) señalan que el estrés oxidativo se ve afectado por la condición corporal en el parto, la producción de leche y la dietas que reciben las vacas. En este sentido vacas que lleguen al parto con una condición corporal mayor, movilizan más reservas corporales luego del parto y presentan más estrés oxidativo que las vacas de menor condición corporal. Lo mismo sucede con vacas que tengan altos rendimientos de leche y aquellas que reciben en la lactancia temprana alimentos con altos niveles de almidón (Castillo et al., 2001).

Estos procesos oxidativos que sufren las vacas pueden afectar la leche, y si esta es destinada al consumo o a la elaboración de productos, repercute acortando su vida útil, se desarrollan sabores desagradables, y deterioro de la calidad nutricional.

En el caso de los lípidos de la leche, la presencia de PUFA, hacen que sean susceptibles a la oxidación y pueden dar lugar al desarrollo de hidroperóxidos, mal sabor (Havemose et al., 2006), y conducir a la formación de productos volátiles responsables de un olor rancio (Cottica et al., 2018). Si bien una alta proporción de pastura en la dieta de los animales favorece la incorporación de antioxidantes naturales a la leche cruda como son los tocoferoles y carotenoides, también modifica la concentración de algunos ácidos grasos poliinsaturados y por ello la susceptibilidad a la oxidación lipídica.

En esta tesis, se determinará la composición en ácidos grasos de la leche de vacas Holstein Friesian y Normando alimentadas con pasturas en diferentes momentos del año. Además, y teniendo en cuenta la composición en los diferentes ácidos grasos, se determinarán dos índices de salud cardiovascular como el índice aterogénico y el índice trombogénico. El índice aterogénico (IA) y el índice trombogénico (IT) se utilizan para clasificar alimentos en función de un posible efecto en la promoción de las enfermedades cardiovasculares. El IA refiere a la relación entre la suma de los principales ácidos grasos saturados que se consideran proaterogénicos (ayudan a la adhesión de los lípidos en las células del sistema inmunológico y circulatorio), y la suma de los principales ácidos grasos insaturados que se consideran antiaterogénicos (evitan la adherencia de la placa de ateroma y bajan los niveles

de ácidos grasos esterificados, colesterol y fosfolípidos, previniendo la aparición de enfermedades coronarias). El IT es la relación entre los ácidos grasos protrombogénicos (SFA) y antitrombogénicos (MUFAs, PUFAs), que nos estima el potencial de formación de coágulos a nivel de los vasos sanguíneos (Ulbricht y Southgate, 1991). Por otra parte, se determinarán los ácidos grasos ramificados que representan un grupo particular de lípidos presentes en la leche bovina.

Finalmente, se buscará conocer el estatus oxidativo, tanto relacionado con los lípidos como con las proteínas, de las mismas leches producidas en las condiciones descritas para la determinación de los ácidos grasos.

## 1.2 OBJETIVO

Determinar el perfil de ácidos grasos pares, impares y ramificados, y el estatus oxidativo de la leche de vacas Holstein Friesian y Normando, alimentadas con pasturas en diferentes estaciones del año.

## 1.3 HIPÓTESIS

Se parte de dos hipótesis de trabajo:

- Existirían diferencias entre leche de vaca Holstein Friesian y Normando en el contenido de ácidos grasos, para un mismo período de lactancia, recibiendo igual régimen alimenticio basado en pasturas
- Existirían diferencias entre leche de vaca Holstein Friesian y Normando en el estatus oxidativo, para un mismo período de lactancia, recibiendo igual régimen alimenticio basado en pasturas.

## **2 MATERIALES Y MÉTODOS**

Las muestras de leche fueron obtenidas en un ensayo realizado en la Estación Experimental Bernardo Rosengurtt de la Facultad Agronomía (Udelar), ruta 26, km. 408 (32°21' S, 54°26' O), departamento de Cerro Largo, Uruguay, donde se utilizaron 27 vacas lecheras multíparas de raza Holstein (H, n= 14) y Normando (N, n= 13), seleccionándolos por fecha probable de parto (abril 2016) y similar peso vivo preparto.

Las vacas recibieron igual tratamiento durante el período seco previo al inicio del ensayo, y se manejaron posteriormente como un solo lote a partir del segundo día postparto. Se ordeñaron hasta 60 días antes del próximo parto, o hasta que la producción individual de leche fuera igual o menor a 4 lts/día.

La alimentación de las vacas durante la lactancia consistió en pasturas cosechadas en pie, heno de moha o pradera, ensilaje de sorgo y afrechillo de arroz cuyas ofertas fueron variables debido a la disponibilidad de las pasturas, estado fisiológico de la vacas o condiciones climáticas que permitieran el pastoreo (Jorge, 2017). Durante todo el ensayo, las vacas permanecieron a cielo abierto y se realizaron dos ordeños diarios (7:30 y 16:30 hs). A partir de la segunda semana de lactancia y hasta el mes de secado, cada 15 días, desde abril hasta febrero, se tomaron muestras de leche de 60 ml a cada una de las vacas, las cuales fueron almacenadas a una temperatura de - 80°C hasta el momento de los análisis.

### **2.1 EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES**

Se determinó el contenido total de lípidos y la composición de ácidos grasos de las muestras de leche. Para la extracción de los lípidos se utilizó el método de Folch et al. (1957) con modificaciones. Las modificaciones consistieron en: 1) descongelar las muestras de leche en baño maría a la temperatura de 25 grados durante 15 minutos, con agitación de 60 oscilaciones por minuto; 2) colocar la leche en un tubo de tipo Falcon con la mezcla de Folch y agitar por inversión durante 2 minutos; 3) filtrar en embudo fritado número 2 (médium), a través de hyflosupercel (diatomea obtenidas en empresa Will Smith-Uruguay)

con vacío leve; 4) secar cada filtrado con 1.5 g de sulfato de sodio anhidro con agitación orbital de 30 oscilaciones por minutos durante 10 minutos; 5) centrifugar a 2000 g y eliminar el sobrenadante (fase acuosa metanólica); 6) agregar de nuevo 1.5 g de sulfato de sodio anhidro, en el mismo tubo, para eliminar las trazas de agua residual en el cloroformo y centrifugar de nuevo a 2000 g durante 10 minutos; 7) recuperar la fase clorofórmica inferior con pipeta Pasteur de vidrio en un balón de evaporación previamente pesado y evaporar con un Rotavapor (Marca IKA basic). Este procedimiento de extracción puesto a punto en nuestro laboratorio (Sueiro et al., 2010; Sueiro, 2011) elimina los problemas de extracción de los lípidos en leche descritos por algunos autores, cuando se usa la técnica de Folch (Maxwell et al., 1986). Probablemente, el calentamiento muy leve de la leche, por una parte, y el secado por sulfato de sodio anhidro, por otra parte, elimina el agua en la mezcla de Folch produciendo cambios en la hidrofobicidad de la proteína de la leche lo que reduce la interacción proteína/solventes que provocaría la compactación de la proteína de leche cuando se usa la mezcla de cloroformo y metanol para la extracción de lípidos de la leche (Trejo y Harte, 2010).

Se determinó el perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gases (Eder, 1995). El cromatógrafo de gases que se utilizó es un Clarus 500 (Perkin Elmer Instruments), con una relación Split de 50%, con inyector Split/Splitless a la temperatura de 250°C y un detector FID a la temperatura de 250° C. Se utilizó una columna capilar CPSIL-88 de 100 m. La rampa de temperatura fue de 90°C durante 1 minuto y hasta 220°C, con progresión de 30°C por minuto. La determinación de los diferentes ácidos grasos (como porcentaje relativo del total de ácidos grasos detectados en la muestra) se realizó en base a estándares comerciales (Supelco 37 Component FAME Mix) y en base a procedimientos y resultados previos del laboratorio (Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, UdelaR).

## **2.2 DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA**

Para la determinación de la oxidación lipídica se siguió el procedimiento de TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) descrito por Lynch & Frei (1993) y Gatellier et al. (2004)

adaptado para muestras de leche (Sueiro et al., 2010; Sueiro, 2011). Como primer paso se descongelaron las muestras de leche, utilizando un baño maría (G76D New Brunswick Scientific Co. Inc. USA), y se agitaron durante 10 minutos. Luego se extrajo 1 ml de la muestra y se le añadió 3 ml de KCl + EDTA (buffer de extracción) y 40 µl de BHT que se colocaron en tubos Falcon de 50 ml. De esta dilución se extrajo 1 ml que se colocó en un tubo de vidrio y se le agregó 1 ml de la mezcla TBA-TCA (TBA 35 mM, TCA 10% en HCl 125 mM). También se preparó un blanco con el buffer de extracción y fue sometido al mismo procedimiento que las muestras. Posteriormente las muestras y el blanco se colocaron en ebullición durante 30 minutos, luego 5 minutos en hielo para frenar la reacción y 45 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo a cada una de ellas se le agregó 3 ml de n-butanol, se pasaron por el vortex y se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos (Centrifuga refrigerada Sorvall ST16-R, USA). Luego se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys-6, Thermo Scientific Inc., USA) a 535 nm de longitud de onda. Se calculó la concentración del MDA (malondialdehído) de las muestras utilizando su coeficiente de extinción molar ( $156.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) y los resultados se expresaron en mg de MDA/ kg leche.

### 2.3 DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN PROTEICA

Para determinar los niveles de oxidación proteica en las muestras de leche, se siguió el método de carbonilos proteicos descrito por Mercier et al. (2004). Como primer paso se descongelaron las muestras de leche que estaban congeladas, utilizando un baño maría (G76D New Brunswick Scientific Co. Inc. USA) y se agitaron durante 10 minutos. Se colocaron 300 µl de leche, 5,7 ml de KCl + EDTA y 40 µl de BHT en un tubo Falcon. De esta mezcla se extrajeron 2 ml para el blanco y 2 ml para cada muestra colocándolos en tubos de vidrio. Al blanco se le agregó 2 ml de HCl 2M y a las muestras 2 ml de DNPH (dinitrofenilhidrazina) 20 mM disuelto en HCl 2 M. Se incubó 1 hora a temperatura ambiente, vortexeando cada 10 minutos. Luego se agregó 2 ml de TCA 20%, vortexeando cada 5 minutos, durante 15min, para posteriormente centrifugar a 2000 g durante 10 minutos (Centrifuga refrigerada Sorvall ST16-R, USA). Se eliminó el sobrenadante y se lavó

3 veces con 4 ml de una mezcla etanol:acetato de etilo (1:1) centrifugando luego de cada lavado para eliminar trazas de DNPH. Luego se disolvió el pellet con 6 ml de guanidina en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20 mM, se realizó vortexeado cada 5 minutos durante 30 minutos y se centrifugó a 3000 g durante 10 minutos (Sorvall ST16-R, USA). Posteriormente, se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro (Genesys-6, Thermo Scientific Inc., USA) a 370 nm de longitud de onda. Se calculó la concentración de DNPH de las muestras utilizando su coeficiente de extinción molar ( $22.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) y los resultados se expresaron en nmoles de DNPH/mg proteína.

#### **2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PROTEICA**

Para poder expresar los resultados de carbonilos por mg de proteína, se determinó la concentración de proteínas de cada una de las muestras por UV, utilizando la técnica de Stoscheck (1990). Se realizó una curva estándar a partir de una solución madre de 10 mg/ml de BSA (Sigma-Aldrich). Cada punto se realizó por triplicado midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm en un espectrofotómetro. Se midió la absorbancia de las muestras por duplicado y se extrapolaron sus concentraciones utilizando la curva estándar.

#### **2.5 INDICES DE SALUD**

El índice aterogénico (IA) y el índice trombogénico (IT) están relacionados con la salud del consumidor, y se utilizan para clasificar alimentos en función de un posible efecto en la promoción de las enfermedades cardiovasculares. El IA refiere a la relación entre la suma de los principales ácidos grasos saturados que se consideran proaterogénicos (ayudan a la adhesión de los lípidos en las células del sistema inmunológico y circulatorio), y la suma de los principales ácidos grasos insaturados que se consideran antiaterogénicos (evitan la adherencia de la placa de ateroma y bajan los niveles de ácidos grasos esterificados, colesterol y fosfolípidos, previniendo la aparición de enfermedades coronarias). Y el IT es la relación entre los ácidos grasos protrombogénicos (SFA) y antitrombogénicos (MUFAs,

PUFAs), que nos estima el potencial de formación de coágulos a nivel de los vasos sanguíneos (Ulbricht y Southgate, 1991).

Las ecuaciones que permiten determinar los dos índices se presentan a continuación:

$$IA = \frac{(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)}{\{\sum MUFA + \sum (n-6) + \sum (n-3)\}}$$

$$IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{\{0,5 \times \sum MUFA + 0,5 \times \sum (n-6) + 3 \times \sum (n-3) + \sum (n-3) / \sum (n-6)\}}$$

## 2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos para los ácidos grasos se realizó con el programa NCSS, 2007, usando un ANOVA medidas repetidas en el tiempo y considerando el efecto raza, mes de lactancia y su interacción.

Tanto para la oxidación lipídica como proteica se evaluó el efecto raza, el efecto mes y el efecto interacción raza-mes con un ANOVA medidas repetidas en el tiempo. En todos los casos se realizó *post hoc* test de Tukey-Kramer para diferenciar entre las medias y el nivel de significancia se estableció en  $p < 0.05$ . Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  error estándar de la media.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1 CONTENIDO TOTAL DE LÍPIDOS Y COMPOSICIÓN DE ACIDOS GRASOS

Los resultados del contenido total de lípidos (expresados como %) para la leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en los diferentes momentos de la lactancia (Cuadro 3), muestran un efecto raza ( $p < 0.0001$ ), donde la leche de vaca Holstein presenta un menor contenido total de lípidos comparado con la leche de vaca Normando, en los diferentes momentos de la lactancia (meses); y un efecto mes ( $p < 0.05$ ) donde el mes de junio muestra un menor contenido de lípidos comparado con noviembre. No hubo un efecto de interacción raza por mes.

Cuadro 3: Contenido total de lípidos (%) de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia

LÍPIDOS TOTALES %	NORMANDO						HOLANDO						EFECTOS PRINCIPALES SIGNIFICACION P≤		
	MESES DE LACTACION						MESES DE LACTACION						RAZA	MES	RAZA X MES
	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV			
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±			
	3.63	4.07	3.93	3.96	4.25	4.37	3.47	3.62	3.51	3.25	3.42	3.75	0.0001	0.05	NS
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	N > H	JUN < NOV	
	0.26	0.12	0.18	0.08	0.20	0.07	0.17	0.25	0.20	0.17	0.18	0.12			

H: Holstein Friesian; N: Normando; NS: no significativo. n= 13-14. Los datos representan la media ± error estándar de la media

Este mayor contenido de lípidos en la raza Normando a lo largo de la lactancia respecto a la raza Holstein, está alineado con lo publicado por Astigarraga (2019), donde frente a diferentes estrategias de alimentación aplicadas de igual manera en ambas razas, las vacas Normando producen leche más rica en contenido graso. En investigaciones realizadas por Nantapo et al. (2014) con razas contrastantes Holstein y Jersey, también manejadas como un solo lote, se encontró a las vacas Holstein que tenían menor contenido de lípidos, recibiendo dietas en base a pasturas y suplementadas con ensilaje y concentrados.

El efecto mes con menor contenido de lípidos en junio respecto a noviembre, puede estar motivado por las estrategias de alimentación que recibieron las vacas durante todo el período, y sus diferencias en la flexibilidad de adaptación que presentan ambas razas frente a los cambios de las condiciones ambientales, como fue destacado por Delaby et al. (2009), siendo la raza Normando quien tiene mejor desempeño productivo.

Con respecto a la composición de ácidos grasos (Cuadro 4), hubo un efecto de la raza en el contenido de: C14:0 ( $p < 0.009$ ), C15:0i ( $p < 0.04$ ), C14:1 ( $p < 0.0001$ ), C15:0 ( $p < 0.01$ ), C16:0 ( $p < 0.01$ ), C16:1 ( $p < 0.0001$ ), C18:0 ( $p < 0.0001$ ), C20:0 ( $p < 0.0001$ ), y C18:3 n3 ( $p < 0.009$ ); donde Normando es menor que Holstein para el período de lactancia de junio a noviembre en C14:0, C14:1; C15:0; C16:0; C16:1 y C18:3 n3; y Normando mayor que Holstein para el mismo período en C15:0i, C18:0 y C20:0. También hubo un efecto mes en el contenido de: C10:1 ( $p < 0.006$ ), C13:0ai ( $p < 0.03$ ), C13:0 ( $p < 0.001$ ), C14:i ( $p < 0.001$ ), C14:0 ( $p < 0.003$ ), C15:0i ( $p < 0.0001$ ), C15:0ai ( $p < 0.001$ ), C14:1 ( $p < 0.0001$ ), C15:0 ( $p < 0.0001$ ), C16:0i ( $p < 0.001$ ), C16:0 ( $p < 0.0001$ ), C16:1 ( $p < 0.002$ ), C17:0 ( $p < 0.001$ ), C18:0 ( $p < 0.0001$ ), C18:1 ( $p < 0.0001$ ), C18:2n6 ( $p < 0.0001$ ), C20:1 ( $p < 0.005$ ), C18:3n3 ( $p < 0.0001$ ), CLA ( $p < 0.0001$ ) y DHA ( $p < 0.0001$ ); donde Normando es menor que Holstein en julio, octubre y noviembre para C10:1; junio, julio, setiembre y octubre para C13:0ai; julio, agosto y octubre para C13:0; julio, agosto y octubre para C13:0; de junio a noviembre para C14:0; julio, agosto y noviembre para C15:0ai; de junio a noviembre para C14:1 y C15:0; junio y octubre para C16:0i; junio a noviembre para C16:0 y C16:1; junio, setiembre y octubre para C17:0; agosto para C18:1; de junio a noviembre para C18:2 n6; julio, agosto y setiembre para C20:1; julio, agosto y setiembre para C18:3 n3; junio, agosto y setiembre para CLA; y de junio a octubre para DHA; y Normando es mayor que Holstein en C14:i, C15:0i y C18:0. Y además hubo efecto en la interacción raza mes para C14:1, donde Normando es menor que Holstein.

Cuadro 4: Composición en ácidos grasos de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia

ACIDOS GRASOS %	NORMANDO						HOLSTEIN						EFECTOS PRINCIPALES SIGNIFICACION P ≤		
	MESES DE LACTACION						MESES DE LACTACION						RAZA	MES	RAZA X MES
	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV			
<b>C10:0</b>	2.20 ± 0.40	1.63 ± 0.19	1.80 ± 0.32	1.72 ± 0.21	1.80 ± 0.2	1.55 ± 0.33	2.04 ± 0.3	1.89 ± 0.35	1.49 ± 0.23	1.65 ± 0.22	2.01 ± 0.28	1.73 ± 0.42	NS	NS	NS
<b>C10:1</b>	0.19 ± 0.05	0.08 ± 0.01	0.15 ± 0.04	0.21 ± 0.05	0.17 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.17 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.11 ± 0.03	NS	0.006	NS
<b>C12:0</b>	2.27 ± 0.29	1.60 ± 0.15	1.75 ± 0.25	1.80 ± 0.13	2.07 ± 0.19	1.61 ± 0.27	2.21 ± 0.21	2.08 ± 0.27	1.60 ± 0.19	1.91 ± 0.19	2.35 ± 0.27	1.88 ± 0.34	NS	NS	NS
<b>C13:0i</b>	0.02 ± 0.003	0.04 ± 0.001	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.003	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	NS	NS	NS
<b>C13:0ai</b>	0.02 ± 0.004	0.03 ± 0.004	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.003	0.03 ± 0.007	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.004	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.005	0.03 ± 0.005	0.05 ± 0.006	0.02 ± 0.008	NS	0.03	NS
<b>C13:0</b>	0.09 ± 0.009	0.07 ± 0.007	0.06 ± 0.006	0.08 ± 0.005	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.009	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.003	0.08 ± 0.007	0.13 ± 0.01	0.07 ± 0.008	NS	0.001	NS
<b>C14:0i</b>	0.15 ± 0.009	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.11 ± 0.007	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.009	0.16 ± 0.02	0.09 ± 0.009	0.09 ± 0.008	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02	NS	0.001	NS
<b>C14:0</b>	8.98 ± 0.68	6.48 ± 0.56	7.23 ± 0.64	7.56 ± 0.29	8.54 ± 0.60	7.08 ± 0.89	9.54 ± 0.53	8.21 ± 0.70	7.40 ± 0.43	7.93 ± 0.22	10.0 ± 0.80	8.55 ± 1.07	0.009	0.003	NS
<b>C15:0i</b>	0.30 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.008	0.28 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.04	0.0001	NS
<b>C15:0ai</b>	0.45 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.52 ± 0.02	0.54 ± 0.04	0.39 ± 0.06	0.45 ± 0.01	0.39 ± 0.03	0.43 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.57 ± 0.04	0.43 ± 0.05	NS	0.001	NS
<b>C14:1</b>	0.33 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.36 ± 0.06	0.16 ± 0.02	0.48 ± 0.05	0.41 ± 0.05	0.36 ± 0.04	0.55 ± 0.06	0.69 ± 0.06	0.21 ± 0.03	0.0001	0.0001	0.05
<b>C15:0</b>	1.00 ± 0.04	1.01 ± 0.03	0.87 ± 0.05	0.98 ± 0.03	1.25 ± 0.10	1.06 ± 0.12	1.11 ± 0.03	1.09 ± 0.05	0.89 ± 0.03	1.04 ± 0.02	1.43 ± 0.08	1.12 ± 0.09	0.01	0.0001	NS

<b>16:0i</b>	0.28 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.25 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.02	NS	0.001	NS
<b>C16:0</b>	28.4 ± 0.83	25.6 ± 0.61	26.5 ± 0.63	24.7 ± 0.36	26.7 ± 0.45	27.9 ± 0.80	29.3 ± 0.97	26.7 ± 1.08	26.4 ± 0.52	25.9 ± 0.51	28.6 ± 1.20	29.6 ± 1.65	0.01	0.0001	NS
<b>C16:1</b>	0.89 ± 0.11	1.61 ± 0.13	1.23 ± 0.19	1.06 ± 0.12	1.09 ± 0.08	1.36 ± 0.23	1.30 ± 0.13	1.92 ± 0.14	1.50 ± 0.22	1.56 ± 0.18	1.50 ± 0.14	1.33 ± 0.19	0.0001	0.002	NS
<b>C17:0</b>	0.56 ± 0.04	0.89 ± 0.06	0.69 ± 0.05	0.55 ± 0.05	0.68 ± 0.06	0.96 ± 0.12	0.63 ± 0.05	0.88 ± 0.02	0.69 ± 0.09	0.62 ± 0.05	0.69 ± 0.06	0.91 ± 0.08	NS	0.001	NS
<b>C17:1</b>	0.23 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.31 ± 0.08	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.05	0.31 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.04	NS	NS	NS
<b>C18:0</b>	16.1 ± 0.72	17.1 ± 0.46	17.5 ± 0.54	15.4 ± 0.41	17.2 ± 0.65	17.7 ± 0.62	14.8 ± 0.56	15.0 ± 1.13	15.8 ± 0.75	13.1 ± 0.50	13.5 ± 0.61	17.3 ± 0.86	0.0001	0.0001	NS
<b>C18:1</b>	31.4 ± 1.45	35.8 ± 0.97	34.0 ± 1.50	36.6 ± 0.59	31.5 ± 1.09	32.8 ± 1.65	30.4 ± 1.06	33.9 ± 1.56	35.3 ± 1.09	36.0 ± 0.72	30.3 ± 1.75	29.8 ± 2.45	NS	0.0001	NS
<b>C18:2 n6</b>	1.28 ± 0.04	1.69 ± 0.10	1.42 ± 0.13	1.55 ± 0.08	1.55 ± 0.12	1.59 ± 0.08	1.21 ± 0.07	1.77 ± 0.13	1.73 ± 0.08	1.72 ± 0.09	1.64 ± 0.13	1.62 ± 0.15	NS	0.0001	NS
<b>C20:0</b>	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.0001	NS	NS
<b>C20:1</b>	0.16 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.02	NS	0.005	NS
<b>C18:3 n3</b>	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.05	0.40 ± 0.01	0.48 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.44 ± 0.02	0.33 ± 0.06	0.41 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.52 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.009	0.0001	NS
<b>CLA C18:2</b>	1.30 ± 0.11	1.33 ± 0.13	1.58 ± 0.22	2.11 ± 0.09	1.21 ± 0.14	0.97 ± 0.11	1.45 ± 0.08	1.27 ± 0.08	1.85 ± 0.15	2.37 ± 0.15	0.42 ± 0.22	0.93 ± 0.17	NS	0.0001	NS
<b>ARA C20:4 n6</b>	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.28 ± 0.17	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.35 ± 0.26	0.09 ± 0.01	NS	NS	NS
<b>DHA C22:6 n3</b>	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.21 ± 0.04	0.19 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.23 ± 0.08	0.16 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.36 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.04	NS	0.0001	NS
<b>OTROS Ac. Grasos</b>	2.54 ± 0.41	2.26 ± 0.19	2.39 ± 0.16	2.78 ± 0.20	3.19 ± 0.26	2.47 ± 0.37	2.64 ± 0.42	2.02 ± 0.26	2.25 ± 0.18	2.86 ± 0.18	2.63 ± 0.29	2.34 ± 0.30	-	-	-

CLA: ácido linoleico conjugado; ARA: ácido araquidónico; DHA: ácido docosahexaenoico; ai: anteiso. i: iso.; NS: no significativo.

n= 13-14. Los datos representan la media ± error estándar de la media.

En lo que respecta a la composición de ácidos grasos que presenta la leche de vacas Holstein y Normando en los diferentes momentos de la lactancia, tiene diferencias significativas por un efecto raza para varios ácidos grasos, pero en varios casos su participación es menor. Al igual que lo observado por Nantapo et al. (2014) en vacas Holstein y Jersey, no se encontraron diferencias genotípicas en los ácidos grasos de cadena corta.

Sí se destacan por su alta participación en el contenido total el C14:0 (ácido mirístico), C16:0 (ácido palmítico) y C18:0 (ácido esteárico), los tres ácidos grasos saturados. Esto es coincidente con lo publicado por Haug et al. (2007), quien indica que, del contenido total de lípidos de la leche, más de la mitad son ácidos grasos saturados, provocando el ácido mirístico y palmítico un aumento del colesterol de baja densidad (LDL) y alta densidad (HDL), mientras que el ácido esteárico no aumentaría la concentración de colesterol sérico y no es aterogénico. Nantapo et al. (2014) encontraron que la raza Jersey, que presenta contenido de lípidos superior respecto a la Holstein, tenía también mayor concentración de ácidos palmíticos y palmitoleicos, lo cual difiere de esta investigación ya que para estos ácidos grasos los mayores contenidos se encuentran en las vacas Holstein. Aquí puede observarse que para la raza Normando el contenido de ácido mirístico y palmítico es menor que para la raza Holstein, lo cual es favorable por las características antes mencionadas, y en el caso del ácido esteárico si bien es mayor en Normando, éste no presenta efectos negativos para la salud.

Se observa incidencia del efecto mes en ambas razas para la mayoría de los ácidos grasos, pero hay un gran número cuya participación es menor. Sí es de importancia el efecto mes en aquellos que se destacan por su contenido y su relevancia para la salud. Ahí encontramos el ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2n6),  $\alpha$ -linolénico (C18:3n3), CLA y DHA. El efecto mes se asociaría a la estrategia de alimentación que recibieron las vacas y las diferentes etapas de la lactancia en que se encuentran. Como ya se mencionó el ácido mirístico y palmítico tendrían incidencia en el aumento del colesterol sérico, aunque investigaciones de Daley et al. (2010) indicarían que ácidos grasos como el láurico (C12:0) y mirístico (C14:0) tendrían mayor influencia que el ácido palmítico (C16:0) en el aumento del colesterol total. Coincidente con lo encontrado

por Nantapo et al. (2014), el contenido de ácido palmítico y mirístico disminuye en la lactancia media para luego aumentar en la lactancia tardía. Esto puede deberse a que se promueve la síntesis de los ácidos grasos de cadena corta y media cuando el suministro de concentrados es necesario coincidente en este caso con la lactancia temprana que se daría hasta el mes de julio, donde el crecimiento de las pasturas y condiciones climáticas adversas disminuyen la frecuencia de pastoreo. Por lo tanto, en la lactancia media bajan las necesidades de suplementación por mayor oferta de forraje y se reflejan en la disminución de los ácidos grasos de cadena corta y media. El ácido oleico (C18:1) presenta variaciones en las etapas de la lactancia. Su contenido es de importancia porque este ácido tiene un efecto reductor del colesterol, incluido el riesgo de accidente cerebrovascular (ACV) y disminución significativa de la presión arterial en poblaciones susceptibles (Daley et al., 2010). Según indica Palladino et al. (2009) las variaciones en el contenido de los PUFA de la leche, se ve influenciado por las especies y cultivos pastoreados, así como también la cantidad y calidad del forraje disponible. También Rico et al. (2007) describen a los forrajes muy ricos en ácido  $\alpha$ -linolénico y cantidades moderadas de ácido linoleico, mientras que los henolajes y ensilajes tienen un contenido menor de ácidos grasos que los forrajes frescos. Tanto el ácido linoleico como el  $\alpha$ -linolénico son ácidos grasos esenciales por lo tanto deben ser consumidos en la dieta, y su presencia en leche se ve incrementada con el consumo de pasturas. Es por ello que tenemos las variaciones que se presentan en la lactancia de las vacas Holstein y Normando que se asocian a la oferta y consumo de pasturas. Y de la mano de estos ácidos grasos, vienen las variaciones en el contenido de CLA, que es un isómero de ácido linoleico, y del DHA (C22:6) cuyo precursor es el ácido  $\alpha$ -linolénico.

En la interacción raza-mes solo se encuentra efecto para el ácido miristoleico (C14:1) pero su incidencia es menor por el contenido que hay en ambas razas y a lo largo de la lactancia.

Cuadro 5: Composición de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), n-6 y n-3, relación n-6/n-3 y relación PUFA/SFA de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia

ACIDOS GRASOS %	NORMANDO						HOLSTEIN						EFECTOS PRINCIPALES	
	MESES DE LACTACION						MESES DE LACTACION						SIGNIFICACION P ≤	
	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	RAZA	MES
SFA	61,12 ± 1,63	55,86 ± 1,27	57,92 ± 2,06	54,23 ± 0,85	59,92 ± 1,09	59,74 ± 2,01	61,21 ± 1,18	57,41 ± 1,89	55,53 ± 1,41	53,49 ± 0,72	60,20 ± 2,06	63,17 ± 2,70	NS	0,001 SET < otros meses
MUFA	32,99 ± 1,45	37,89 ± 1,01	35,77 ± 1,61	38,39 ± 0,65	33,30 ± 1,06	34,31 ± 1,82	32,51 ± 1,05	36,54 ± 1,52	37,48 ± 1,13	38,52 ± 0,59	32,86 ± 1,70	30,93 ± 2,56	NS	0,001 SET > otros meses
PUFA	3,12 ± 0,19	3,61 ± 0,28	3,65 ± 0,42	4,35 ± 0,19	3,38 ± 0,28	3,44 ± 0,37	3,34 ± 0,18	3,69 ± 0,22	4,44 ± 0,26	4,85 ± 0,25	4,04 ± 0,22	3,11 ± 0,40	0,05 H > N	0,001 SET > otros meses
Σ n-6	1,35 ± 0,05	1,79 ± 0,11	1,50 ± 0,14	1,64 ± 0,08	1,63 ± 0,13	1,88 ± 0,21	1,30 ± 0,07	1,86 ± 0,13	1,82 ± 0,09	1,81 ± 0,09	2,00 ± 0,33	1,69 ± 0,17	NS	0,001 JUL > otros meses
Σ n-3	0,46 ± 0,04	0,49 ± 0,05	0,57 ± 0,08	0,59 ± 0,03	0,54 ± 0,03	0,60 ± 0,09	0,59 ± 0,05	0,56 ± 0,07	0,77 ± 0,06	0,67 ± 0,02	0,63 ± 0,03	0,54 ± 0,07	0,008 H > N	NS
n-6 / n-3	3,08 ± 0,23	3,75 ± 0,18	2,84 ± 0,28	2,79 ± 0,14	3,05 ± 0,16	3,55 ± 0,64	2,26 ± 0,15	3,79 ± 0,85	2,42 ± 0,16	2,68 ± 0,12	3,23 ± 0,62	3,17 ± 0,16	NS	0,001 JUL > otros meses
PUFA / SFA	0,05 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	NS	0,001 SET > otros meses

Los datos representan la media ± error estándar de la media. NS= no significativo. n= 13-14

En el Cuadro 5 se presentan los resultados que muestran que no hubo efecto de la raza en el contenido de ácidos grasos SFA, MUFA, Σ n-6, relación n-6/n-3 ni relación PUFA/SFA, pero sí en el contenido de PUFA y Σ n-3, donde la raza Holstein es superior en ambos, respecto a Normando. Coincidente con lo hallado por Nantapo et al. (2014), quienes encontraron que vacas Jersey con alto contenido de grasa respecto a Holstein no implicaba tener un aumento de SFA. En nuestro trabajo las vacas Normando presentan mayor porcentaje de grasa respecto a Holstein, pero tampoco tiene mayor contenido de SFA.

Los indicadores relacionados con la salud n-6/n-3 y PUFA/SFA al igual que lo encontrado por Nantapo et al. (2014) en sus investigaciones para raza Holstein y Jersey, no difieren entre genotipos ( $p < 0.05$ ), a pesar de las diferencias en PUFA y n-3 para Holstein, dichas variaciones no alteraron estas relaciones. Estos autores manifiestan que siempre es importante tener una proporción baja de n-6/n-3 para reducir los efectos protrombóticos negativos causados por el aumento de los n-6. La relación ideal n-6/n-3 es menor a 4, porque se debe favorecer la ingesta de n-3 y en el caso de los n-6, la ingesta debe ser controlada y reducida.

Se observa efecto mes para SFA que es menor en setiembre respecto al resto de los meses, para PUFA y MUFA es mayor en setiembre respecto a los otros meses de la lactancia. Esto se relaciona con la dieta, siendo este mes el de mayor crecimiento vegetativo de las pasturas que son fuentes de ácidos grasos insaturados, por lo tanto, la relación PUFA/SFA también será mayor en setiembre respecto al resto de los meses de la lactancia.

Además, hay diferencia significativa de n-6 en julio respecto a los demás meses y por consiguiente también de la relación n-6/n-3, asociado a la alimentación.

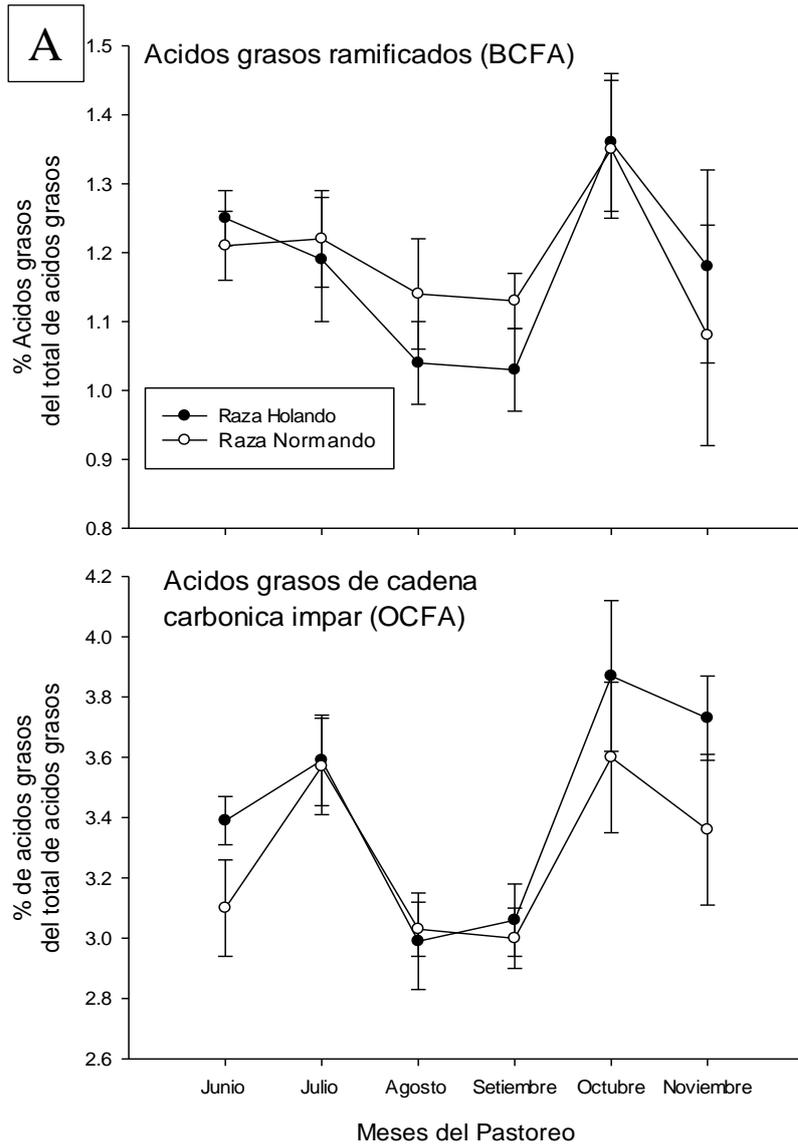
Una particularidad de la grasa de leche de rumiantes respecto a la de otros mamíferos, es la presencia de niveles destacados de OCFA. Los principales OCFA son isómeros de los ácidos tridecanoico (iso 13:0), tetradecanoico (iso 14:0), pentadecanoico (15:0, iso 15:0 y anteiso 15:0), hexadecanoico (iso 16:0), heptadecanoico (17:0, iso 17:0 y anteiso 17:0) y octadecanoico (iso 18:0). En conjunto, y dentro de un esquema de gran variabilidad, los OCFA representan casi la mitad de los OCFA de los productos lácteos seguidos por los BCFA anteiso (Vlaeminck et al., 2006). La leche de vaca es una fuente importante de BCFA, que por lo general comprende del 1,7 al 3,4% de BCFA del total de AG (Taormina et al., 2020). En esta investigación se destaca la presencia de mas ácidos grasos ramificados (BCFA) en leche de vaca Normando respecto a Holstein (Fig. 3), y coincidente con la investigación realizada por Bainbridge et al. (2016) su contenido total varía según la fase de la lactancia y el perfil en función de la actividad y composición de la población microbiana del rumen, viéndose afectados por la dieta y genética del animal. Según estos autores los ácidos grasos

bioactivos, tienen un potente potencial anti-inflamatorio, propiedades anti-cancerígenas, reducen la incidencia de la enterocolitis necrotizante en los recién nacidos, y mejoran la función del páncreas.

En los seres humano se han detectado BCFA en varios tejidos y líquidos. En los estadios finales del desarrollo fetal y tras el nacimiento son componentes bioactivos esenciales del tracto digestivo, ya que forma parte del vernix caseosa, que es el biofilm que reviste la piel del feto y del recién nacido, que algunas hipótesis lo señalan como un agente antibacteriano (Taormina et al., 2020).

Coincidentemente con el estudio de estos autores los OCFA detectados en la grasa de la leche de nuestro estudio fueron C15:0, C17:0, C 16:0i, C15:0ai, C15:0i, C14:0i y también se encontraron C13:0i y C13:ai.

Una mayor proporción de bacterias celulolíticas dan lugar a un aumento en el contenido de ácidos grasos ramificados iso, mientras que una proporción creciente de bacterias amilolíticas aumenta posiblemente los ácidos grasos ramificados anteiso y ácidos grasos lineales de cadena impar (Vlaeminck et al., 2006), lo cual se asocia al tipo de dieta que recibieron ambas razas con bajo uso de concentrados.

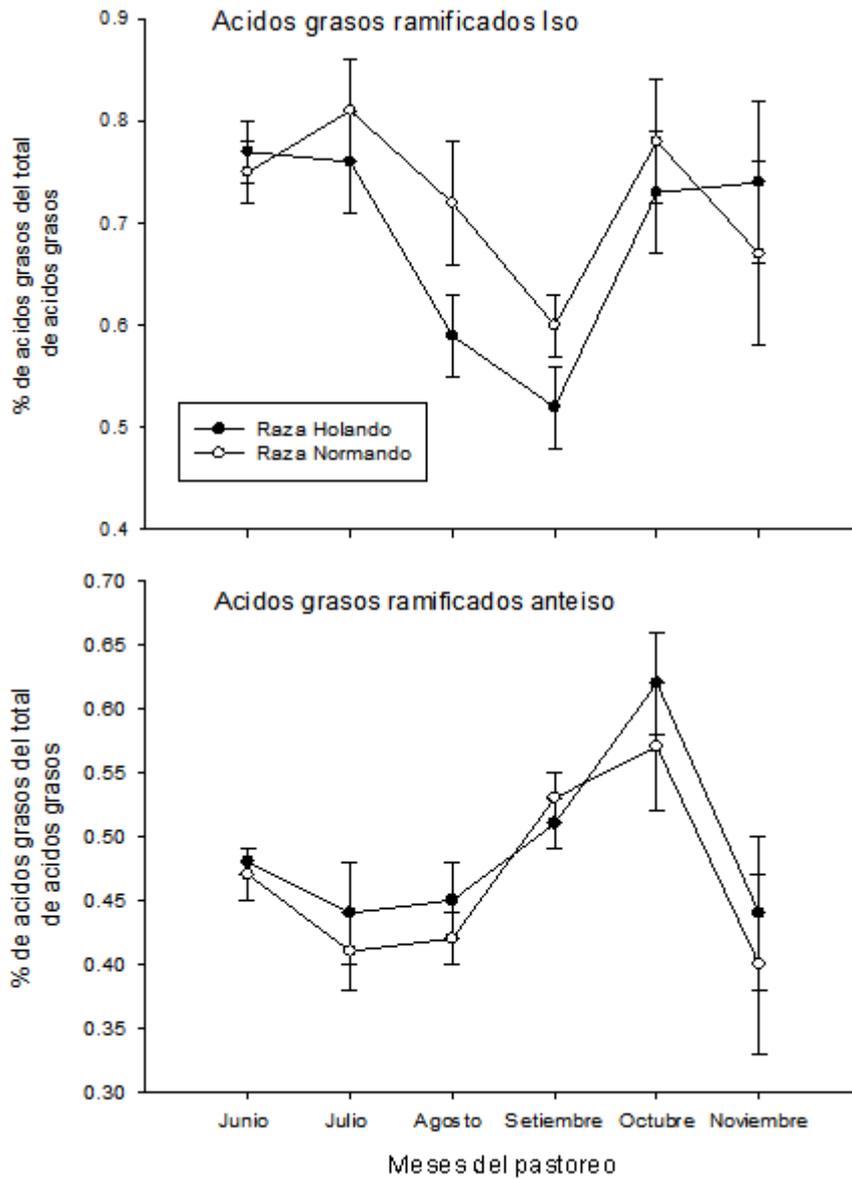


Significación para los efectos principales

	Efecto raza	Efecto mes	
$\sum$ BCFA	ns	0.02	oct+
$\sum$ OCFA	ns	0.001	oct+

+ indica el mes de mayor presencia de estos ácidos grasos

B



Significación para los efectos principales

	Efecto raza	Efecto mes	
∑ Iso	ns	0.001	Junio +, Julio +, Agosto +
∑ Anteiso	ns	0.001	Octubre +

+ indica el mes de mayor presencia de estos ácidos grasos

Figura 3: Composición de ácidos grasos ramificados (BCFA), ácidos grasos de cadena impar (OCFA) en A, y ácidos grasos ramificados Iso y ácidos grasos ramificados anteiso en B, de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia

### 3.2 OXIDACIÓN LIPÍDICA

Los valores promedios de TBARS encontrados para las dos razas, en los meses de lactancia evaluados (junio a noviembre), variaron desde 0,23 a 0,29 mg MDA/kg de leche en vacas Holstein, y 0,27 a 0,32 mg de MDA/kg de leche en vacas Normando (Cuadro 6).

Cuadro 6: Oxidación de lípidos de la leche expresado como TBARS (mg de MDA/kg de leche) de vacas Holstein Friesian y Normando, a lo largo de la lactancia, producida en sistema pastoril a cielo abierto.

RAZA	Mes de lactancia						Efectos principales		
	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Raza	Mes	Raza X Mes
	TBARS (mg MDA/kg leche)								
HOLSTEIN	0,27 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,25 ± 0,03	P < 0.01 N > H	NS	NS
NORMANDO	0,27 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,30 ± 0,02			

Los datos representan la media ± error estándar de la media. n= 13-14. Los datos se analizaron por ANOVA GLM considerando los efectos raza, mes de lactancia y la interacción raza x mes y test de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Los resultados de TBARS indican que hubo efecto raza ( $p < 0.01$ ), no hubo efecto mes ni efecto interacción raza-mes ( $p > 0,05$ ).

Esto indica que la oxidación lipídica, que es un proceso oxidativo que se produce cuando un radical libre se une a un carbono de un ácido graso, iniciando el proceso de peroxidación lipídica, donde se desorganizan y destruyen membranas, y además se producen metabolitos de los cuales algunos pueden ser tóxicos, es mayor en leche de vacas Normando. Esto puede estar asociado directamente con el mayor contenido de lípidos en general que presenta la raza Normando respecto a la Holstein, a lo largo de toda la lactancia, y no al contenido de PUFA. Se puede inferir que la leche de la raza Holstein tiene mayor resistencia antioxidante que la raza Normando, porque frente a un mismo régimen alimenticio y mayor contenido de PUFA, es menos susceptible a la oxidación.

### 3.3 OXIDACIÓN PROTEICA

Los valores promedios de carbonilos proteicos encontrados para las dos razas, en los meses de lactancia evaluados (junio a noviembre), variaron desde 0,12 a 0,27 nmoles DNPH/mg proteína en leche de vacas Holstein, y 0,13 a 0,26 nmoles DNPH/mg proteína en leche de vacas Normando (Cuadro 7).

Cuadro 7: Oxidación proteica de la leche expresada en carbonilos (nmoles DNPH/mg proteína) de vacas Holstein Friesian y Normando, en diferentes meses de la lactancia.

RAZA	Mes de lactancia						Efectos principales		
	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Raza	Mes	Raza X Mes
	Carbonilos (nmoles DNPH/mg proteína)								
<b>HOLSTEIN</b>	0,15 ± 0,04	0,12 ± 0,02 <b>a</b>	0,16 ± 0,03 <b>B</b>	0,18 ± 0,02	0,16 ± 0,04	0,27 ± 0,05 <b>b</b>	NS	P < 0.01 Nov > Jul	NS
<b>NORMANDO</b>	0,18 ± 0,04	0,13 ± 0,02 <b>a</b>	0,26 ± 0,04 <b>A</b>	0,25 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,22 ± 0,04 <b>b</b>			

Los valores son medias ± error estándar de la media. n= 13-14. a,b significan diferencias significativas entre los meses por ANOVA de una vía y test de Tukey (p < 0.05). A,B significan diferencia significativa entre razas por ANOVA de una vía y test de Tukey (p<0.05).

Los resultados de carbonilos indican que hubo efecto mes (p < 0.01), no hubo efecto raza ni efecto interacción raza-mes (p > 0,05)

Al igual que para los lípidos el stress oxidativo hace que también se oxiden las proteínas, y dependerá del sistema antioxidante de cada animal para prevenir el mismo. Y ese sistema antioxidante también está influenciado por: genética, ambiente, estado nutricional, producción de leche, condición corporal al parto, dieta. En este caso se observa que para cada raza hay diferencias entre meses, donde en noviembre es mayor a julio, y para un mismo mes existen diferencias entre razas como es el caso de agosto.

De la información obtenida del estudio de donde se obtienen estas muestras de leche de vacas Holstein y Normando (Jorge, 2017), se observa que las vacas Normando, por su carácter doble propósito, llegan al parto con mayor condición corporal y, por lo tanto, el

gasto de energía metabolizable es menor respecto de las Holstein, con la consiguiente pérdida de peso vivo en ambas razas. Si a esto le sumamos que el balance de energía negativo se extiende hasta la semana 18 que coincide en la lactancia con el mes de agosto, esto puede explicar que haya una mayor movilización por parte de las vacas Normando, y las condiciones para una mayor oxidación proteica.

Las mismas pueden explicarse por los motivos expresados anteriormente que provocarán variaciones observadas.

### 3.4 INDICES DE SALUD CARDIOVASCULAR DE LAS LECHES

Se calcularon los índices de salud (Índice Aterogénico e Índice Trombogénico) a partir de los resultados de la composición de ácidos grasos de la leche de ambas razas, vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia.

Cuadro 8: Índices de Salud Cardiovascular: Índice Aterogénico e Índice Trombogénico de la leche de vacas Holstein y Normando, en diferentes meses de la lactancia.

RAZA	Mes de lactancia						Efectos principales		
	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Raza	Mes	Raza X Mes
	INDICES DE SALUD CARDIOVASCULAR								
Índice Aterogénico (IA)									
HOLSTEIN	4,13 ± 0,101	4,21 ± 0,09	4,21 ± 0,08	4,10 ± 0,06	5,17 ± 0,58	4,60 ± 0,22	P < 0.002  N < H	P < 0.002  Set < Oct	NS
NORMANDO	3,95 ± 0,16	3,79 ± 0,11	3,78 ± 0,11	3,80 ± 0,09	4,16 ± 0,15	4,50 ± 0,39			
Índice Trombogénico (IT)									
HOLSTEIN	2,84 ± 0,15	2,39 ± 0,17	2,23 ± 0,13	2,08 ± 0,05	2,68 ± 0,17	3,19 ± 0,39	NS	P < 0.001  Set < Oct, Nov	NS
NORMANDO	2,89 ± 0,18	2,30 ± 0,11	2,55 ± 0,25	2,16 ± 0,06	2,73 ± 0,13	2,70 ± 0,21			

Los datos representan la media ± error estándar de la media. n= 13-14. Los datos se analizaron por ANOVA GLM considerando los efectos raza, mes de lactancia y la interacción raza x mes y test de Tukey (p<0.05).

Según Ulbritch y Southgate (1991) a mayor valor de los índices aterogénicos y trombogénicos, mayor efecto negativo tienen sobre la salud humana, porque estarían promoviendo la aparición de enfermedades cardiovasculares.

En este caso la leche de vaca Normando presenta menor Índice Aterogénico (IA), lo cual desde el punto de vista de la salud humana es beneficioso, ya que se definía el mismo, como

la relación entre el contenido de ácidos grasos saturados (colesterolémicos), representado por los ácidos láurico (12:0), mirístico (14:0) y palmítico (16:0), y el contenido de los ácidos grasos insaturados con acción protectora, como el ácido oleico (18:1), linoleico (18:2) y  $\alpha$ -linolénico (18:3). Cuanto mayor sea el valor del IA aumenta el riesgo de la contribución de la grasa al desarrollo de ateromas, lo cual en este caso se vería favorecido en la leche de vaca Holstein.

Cuando se estima la capacidad potencial de un alimento para favorecer la formación de coágulos en los vasos sanguíneos que produzcan trombosis o embolia, se mide con el Índice Trombogénico (IT), determinado por la relación entre los ácidos grasos protrombogénicos (SFA) y antitrombogénicos (suma de MUFA y PUFA, fundamentalmente el contenido de n-3 y n-6), se observa que no hay diferencias entre razas.

Para ambos índices hay un efecto mes, donde en el IA setiembre es menor que octubre y para IT, setiembre es menor que octubre y noviembre, lo cual puede deberse a la etapa de la lactancia y alimentación, porque según Nantapo et al. (2014) se favorece la aparición del contenido de ácido palmítico y mirístico, que aumentarían los SFA, en la lactancia tardía.

#### **4. CONCLUSIONES**

La leche de vacas Normando muestra un contenido mayor en lípidos que la leche de las vacas Holstein Friesian. Sin embargo, su contenido en dos ácidos grasos con potencial aterogénico, el ácido mirístico (C14:0) y el ácido palmítico (C16:0), aparecen en menor cantidad en la leche Normando. Es una buena característica de la leche Normando, teniendo en cuenta que el consumo excesivo de estos dos ácidos grasos podría favorecer enfermedades cardiovasculares.

Pero al mismo tiempo, uno de los ácidos grasos esenciales, el ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3n3) presenta contenidos más bajo en la leche Normando, en comparación con la leche Holstein Friesian. Esta característica no es favorable a la leche Normando, siendo este ácido graso de la familia Omega 3 o n-3, esencial para los humanos. De hecho, la suma de los ácidos grasos poliinsaturados, incluyendo los ácidos grasos de la familia Omega 3, presentan un menor contenido en la leche Normando. Sin embargo, ni el CLA, ni la relación ácidos grasos polinsaturados / ácidos grasos saturados presentan diferencias entre las dos leches. Eso reequilibraría el valor nutricional para la leche de las dos razas, y hasta favorecería la leche Normando porque la misma presenta un índice aterogénico (IA) más bajo que la leche Holstein Friesian. Un índice más bajo indica un menor riesgo cardiovascular para los consumidores de un alimento como la leche.

En lo que concierne los ácidos grasos impares y ramificados, no hay diferencias entre las dos razas, y para las dos razas dichos ácidos grasos presentan un pico de producción principalmente en el mes de octubre. Estos ácidos grasos particulares son promisorios desde el punto de vista nutricional para los consumidores de estas leches. Mas investigación se necesita sobre estos ácidos grasos especiales para determinar los posibles aportes favorables de este tipo de leches a la salud humana.

Finalmente, la leche Normando presento una mayor oxidación lipídica, pero ninguna diferencia en la oxidación proteica entre las dos leches. O sea que, a pesar de contener más ácidos grasos poliinsaturados, principal blanco de la oxidación, la leche Holstein Friesian no presento más oxidación que la leche Normando. Este punto, concierne al estatus

oxidativo diferente de las dos leches, merecería un enfoque particular y una profundización mayor en futuras investigaciones, para entender mejor el porqué de dichas diferencias en la oxidación lipídica.

## **5. BIBLIOGRAFÍA**

Alais, Ch. 1985. Ciencia de la Leche. Reimpresión. España. Editorial Reverté, S.A.  
873 p

Astigarraga L. 2019. Buscando el tipo de vaca lechera, según el sistema de producción.  
Revista ANPL N°29, 46-48. <https://www.rural-ftp.com/empresas/files/x7ecy6PGwFPWoUpt.pdf>

Bainbridge, M. L., Cersosimo, L. M., Wright, A. D. G., & Kraft, J. 2016. Content and composition of branched chain fatty acids in bovine milk are affected by lactation stage and breed of dairy cow. PLoS ONE, 11(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150386>

Calder, P. (2013). N-3 Fatty acids, inflammation and immunity: New mechanisms to explain old actions. Proceedings of the Nutrition Society, 72(3), 326-336.  
doi:10.1017/S0029665113001031

Castillo, C.; Benedito, J.L.; López Alonso, M.; Miranda, M.; Hernández, J. 2001. Importancia del estrés oxidativo en ganado vacuno: en relación con el estado fisiológico (preñez y parto) y la nutrición. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000100001>

Chihuailaf, R.; Contreras, P.; Wittwer, F. 2001. Patogénesis del estrés oxidativos: consecuencias y evaluación en salud animal.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2002/vm023f.pdf>

Chilibroste P. 2012. Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril.  
[http://www.eemac.edu.uy/cangue/joomdocs/cangue032\\_chilibroste.pdf](http://www.eemac.edu.uy/cangue/joomdocs/cangue032_chilibroste.pdf).

- Cottica, S.M., Amado, D.A.V., Aguiar, S.C., Boeing J.S., Franco, S.L., Zeoula, L.M., Visentainer, J.V.. 2018. Antioxidant activity and lipid oxidation in milk from cows with soybean oil and propolis extract added to their feed. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.33817>
- Dachev, M.; Bryndová, J.; Jakubek, M.; Moucka, Z.; Urban, M. (2021). The Effects of Conjugated Linoleic Acids on Cancer. *Processes*, 9, 454.
- Daley, C.; Abbott, A.; Doyle, P.; Nader, G.; Larson, S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9:10.
- Delaby, L.; Faverdin, P.; Michel, G.; Disenhaus, C.; Peyraud, J. L. 2009. Effect of different feeding strategies on lactation performance of Holstein and Normande dairy cows. *Animal*, 3, 891-905.
- Eder K. 1995. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography*, 671, 113-131. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00142-6](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00142-6)
- Elgersma, A., Tamminga, S., Ellen, G. 2006. Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 207–225
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 14 julio 2019. <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/es/>
- Fernández, E.F., Hernández, J.A., Suárez, V.M., Villares, J.M., Yurrita, L.R., Cabria, M.H., Rey, F.J.. 2015. Documento de Consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 92–101. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8253>
- Fernández, J.; Pérez-Álvarez, J.A.; Fernández-López, J.A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 345-353.

- Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- French, M. H.; Johansson, I.; Joshi, N. R.; MacLaughlin, E. A. 1968. Razas europeas de ganado bovino. Roma, Italia, FAO. v.1, 418 p.
- García SC, Holmes CW. 2001. Lactation curves of autumn- and spring-calved cows in pasture-based dairy systems. *Livestock Production Science*, 68(2–3), 189–203.
- Gatellier, P.; Mercier, Y.; Renerre, M. 2004. Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67, 385-394.
- Givens, D. I., & Kliem, K. E. (2009). Improving the nutritional quality of milk. In *Functional and Speciality Beverage Technology*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 135-169. <https://doi.org/10.1533/9781845695569.2.135>
- Halliwel, B., Chirico, S. 1993. Peroxidación lipídica: su mecanismo, medición y significado. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 715S – 725S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/57.5.715S>
- Haug, A., Hostmark, A., Harstad, O. 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in health and disease*, 6, 25. <https://doi:10.1186/1476-511X-6-25>
- Havemose, M.S., Weisbjerg, M.R., Bredie, W.L.P., Poulsen, H.D., Nielsen, J.H. 2006. Oxidative Stability of Milk Influenced by Fatty Acids, Antioxidants, and Copper Derived from Feed. *Journal of Dairy Science*, 89 (6), 1970-1980.

- INALE (Instituto Nacional de la Leche, UY). 2014. Encuesta lechera INALE 2014, Datos preliminares. Montevideo. 46 p. 14 julio 2019. <https://www.inale.org/historico/wp-content/uploads/2018/08/Encuesta-lechera-2014.pdf>
- Jorge E.E. 2017. Caracterización del ciclo productivo de vacas lecheras de dos razas contrastantes en un sistema pastoril de baja dependencia de insumos externos. Aspectos productivos, fisiológicos y emisiones de metano. Tesis Ing.Agr. Universidad de la República, Facultad de Agronomía. 72 p.
- Kelsey, J. A., Corl, B.A., Collier, R.J., Bauman D.E. 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 2588–2597.
- Lawless, F., Murphy, J.J., Harrington, D., Devery, R., Stanton, C. 1998. Elevation of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *Journal of Dairy Science*, 81 (12), 3259-3267.
- Lopez Ch., Briard-Bion V., Ménard O. 2014. Polar lipids, sphingomyelin and long-chain unsaturated fatty acids from the milk fat globule membrane are increased in milks produced by cows fed fresh pasture-based diet during spring. *Food Research International*, 58, 59–68.
- Lynch, S.M.; Frei, B. 1993. Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *Journal of Lipids Research*, 34, 1745-1751.
- Martínez, A., Moya, S.Y., González, H. 2010. Contenido de ácido linoleico conjugado ( CLA ) en leche de ganado lechero Holstein estabulado en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 1(1735), 221–235.

- Maxwell R.J., Mondimore D., Tobias J.. 1986. Rapid Method for the Quantitative Extraction and Simultaneous Class Separation of Milk Lipids. *Journal of Dairy Science*, 69(2), 321–325.
- Mercier, Y.; Gatellier, P.; Renerre, M. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66, 467-473.
- Nakov, D.; Andonov, S.; Trajchev, M.; 2016. Antioxidant status in dairy cows during transition period. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences UDC* 636.2.034.09: [616-008.82:546.21]
- Nantapo, C. T. W., Muchenje, V., & Hugo, A. 2014. Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey, and Friesian × Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. *Food Chemistry*, 146, 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.009>
- NCSS. 2007. 329 North 1000 East, Kaysville, UT 84037, USA.
- Oliveira, J., Regitano-d'Arce, M. 2004. Determinación de dosis económicas de TBHQ para la estabilidad del aceite de maíz. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, 24 (3), 413–418. <https://doi: 10.1590 / s0101-20612004000300020>
- Palladino, R.A., O'Donovan, M., Murphy, J.J., Mc Evoy, M., Callan, J., Boland, T.M., Kenny, D.A.. October 2009. Fatty acid intake and milk fatty acid composition of Holstein dairy cows under different grazing strategies: Herbage mass and daily herbage allowance. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 5212-5223.
- Pedernera, M., Celi, P., García, S.C., Salvin, H.E., Barchia, I., Fulkerson, W.J. 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy

cows grazing pasture. *The Veterinary Journal*, 186(3), 352–357.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.09.003>

PORTALECHERO. La Raza Normando: La Mejor Quesera del Mundo. (En línea). 07 agosto 2019. <https://www.portalechero.com/innovaportal/v/3330/1/innova.front/la-raza-normando-la-mejor-quesera-del-mundo.html>

ProCon.org. (2012). Cronología histórica: Historia de la leche de vaca desde el mundo antiguo hasta el presente. (En línea). 01 agosto 2019. <https://milk.procon.org/view.timeline.php?timelineID=000018>

Rico, J., Moreno, B., Pabón, M., & Carulla Fornaguera, J. (2007). Composición de la grasa láctea en la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(1), 30–39.

Roca Fernandez, A. I., & Gonzalez Rodriguez, A. (2012). Effect of Dietary and Animal Factors on Milk Fatty Acids Composition of Grazing Dairy Cows: A Review. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2(2), 97–109. Retrieved from [http://ijas.iaurasht.ac.ir/article\\_513534.html](http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_513534.html)  
[http://ijas.iaurasht.ac.ir/pdf\\_513534\\_075ec844639a1accaf7fa43fe7b6e5fa.html](http://ijas.iaurasht.ac.ir/pdf_513534_075ec844639a1accaf7fa43fe7b6e5fa.html)

Shuaiwang, L., Runhou, Z., Rong, K., Jinzhu, M., Changjin, A. 2016. Milk fatty acid profiles and milk production from dairy cows fed different forage quality diets. *Animal Nutrition*, 2(4), 329-333.

Simopoulos, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 56, 365–379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6)

Stahl, W. 2000. Lipid oxidation and antioxidants. *Current Opinion of Clinical Nutritional and Metabolism Care*, 3, 121-126.

Stoscheck, C.M. 1990. Quantitation of Protein. *Method Enzymology*, 182, 50-68.

Sueiro, N. (2011). Variación del contenido en ácidos grasos poliinsaturados n-3, n-6, CLA y grado de oxidación lipídica en invierno y primavera de la leche comercializada en el Uruguay. Tesis Ingeniero Agrónoma. Facultad de Agronomía. Montevideo. Uruguay. 95 p.

Sueiro, N. , Mosquera, J. , Saadoun, A. (2010). Lípidos, oxidación lipídica, ácidos grasos y CLA de la leche de cabra producida en cinco establecimientos del sur de Uruguay. Congreso AUPA. Montevideo. Agrociencia, pp. 216.

Taormina, V. M., Unger, A. L., Schiksnis, M. R., Torres-Gonzalez, M., & Kraft, J. 2020. Branched chain fatty acids an underexplored class of dairy derived fatty acids. *Nutrients*, 12(9), 1–16. <https://doi.org/10.3390/nu12092875>

Trejo R., Harte F. 2010. The effect of ethanol and heat on the functional hydrophobicity of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2338– 2343. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2918>

Ulbricht, T.L.V. and Southgate, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338, 985 – 992.

Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., & Dewhurst, R. J. 2006. Factors affecting odd-and branched-chain fatty acids in milk: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3), 389-417

## **6. ANEXOS**

### **6.1 ANEXO 1: LISTA DE CUADROS Y FIGURAS**

Cuadro 1: Efecto de estrategias contrastantes de alimentación con partos agrupados en invierno, de raza Holstein y Normando y su incidencia en la producción de leche, grasa, proteína y condición corporal, a lo largo de la lactancia.

Cuadro 2: Composición de la leche entera, su contribución consumiendo 500 ml al RDA (ingesta diaria recomendada), para algunos nutrientes y sus efectos sobre la salud.

Cuadro 3: Contenido total de lípidos (%) de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia.

Cuadro 4: Composición en ácidos grasos de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia.

Cuadro 5: Composición de ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), n-6 y n-3, relación n-6/n-3 y relación PUFA/SAT de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia.

Cuadro 6: Oxidación de lípidos de la leche expresado como TBARS (mg de MDA/kg de leche) de vacas Holstein Friesian y Normando, a lo largo de la lactancia, producida en sistema pastoril a cielo abierto.

Cuadro 7: Oxidación proteica de la leche expresada en carbonilos (nmoles DNPH/mg proteína) de vacas Holstein Friesian y Normando, en diferentes meses de la lactancia.

Cuadro 8: Índices de Salud Cardiovascular: Índice Aterogénico e Índice Trombogénico de la leche de vacas Holstein y Normando, en diferentes meses de la lactancia.

Figura 1: Mecanismos de síntesis del CLA.

Figura 2: Estructura molecular de los ácidos grasos iso y anteiso. Ejemplo del ácido margárico (C17:0) (A), C17:0i (B) y C17:0ai (C).

Figura 3: Composición de ácidos grasos ramificados (BCFA), ácidos grasos de cadena impar (OCFA) en A, y ácidos grasos ramificados Iso y ácidos grasos ramificados anteiso en B, de leche de vaca Holstein Friesian y Normando, en diferentes momentos de la lactancia.

## 6.2 ANEXO 2: ABREVIATURAS

ACV - accidente cerebrovascular	Kg - kilogramo
ADN - ácido desoxirribonucleico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - fosfato de potasio
ADP - adenosín difosfato	LDL - colesterol de baja densidad
AG - ácido graso	lt - litro
AGO - agosto	M - molar
AGV - ácidos grasos volátiles	MDA - malondialdehído
ai - anteiso	mg - miligramo
ALA - ácido $\alpha$ -linolénico	ml - mililitro
ANOVA - análisis normal de varianza	mM - milimolar
ARA - ácido araquidónico	MUFA - ácidos grasos monoinsaturados
BCFA - ácido graso saturado de cadena ramificada	N - Normando
BHT - butilhidroxitolueno	n - tamaño muestra
BSA - seroalbúmina bovina	n3 - omega 3
CAT - catalasa	n6 - omega 6
CC - condición corporal	NDPH - dihidronicotinamida adenina dinucleótido fosfato
CHD - enfermedad coronaria	nm - nanómetros
CLA - ácido linoleico conjugado	NOV - noviembre
cm - centímetro	NS - no significativo
DHA - ácido docosahexaenoico	OCFA - ácido graso de numero impar de átomos de carbonos
DNPH - dinitrofenilhidrazina	OCT - octubre
DRI - Ingesta dietética de referencia	°C - grado centígrado
EDTA - ácido etilendiaminotetracético	p - probabilidad
g - gramo	PUFA - ácidos grasos poliinsaturados

GLM - modelo general lineal  
GSH-Px - sistema glutatión peroxidasa  
H - Holstein  
HCl - ácido clorhídrico  
HDL - colesterol de alta densidad  
HF - Holstein Friesian  
hs - horas  
i - iso  
IA - índice aterogénico  
IT - índice trombogénico  
JUL - julio  
JUN - junio  
KCl - cloruro de potasio

RDA - ingesta diaria recomendada  
ROS - especies reactivas al oxígeno  
SET - setiembre  
SFA - ácidos grasos saturados  
SOD - superóxido dismutasa  
TBA - ácido tiobarbitúrico  
TBARS - especies reactivas al ácido tiobarbitúrico  
TCA - ácido tricloroacético  
UFA - ácidos grasos insaturados  
UV - ultravioleta  
 $\mu$ l - microlitro  
 $\Sigma$  - sumatoria