

Suplementación con aceite de girasol sobre ácidos grasos de la leche en una lechería tropical

Supplementation with sunflower oil on milk fatty acids in a tropical dairy farm

PRIETO-MANRIQUE, ESPERANZA^{1*} Ph.D, VARGAS-SÁNCHEZ, JULIO² M.Sc,
ANGULO-ARIZALA, JOAQUÍN³ Ph.D, MAHECHA-LEDESMA, LILIANA^{3*} Ph.D.

¹Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Sincelejo, Sucre, Colombia.

²Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento
Sistemas de Producción, Manizales, Caldas, Colombia.

³Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Animales,
Medellín, Antioquia, Colombia.

Keywords:

Conjugated linoleic acid;
rumenic acid;
transvaccenic acid;
atherogenic index;
Cynodon plectostachyus.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of dietary supplementation with sunflower oil (0, 2 and 4% of the dry matter), on forage consumption, production, composition, concentration of milk fatty acids and on the cost-benefit ratio, in a tropical dairy farm where animals grazed Star grass (*Cynodon plectostachyus*). Nine cows were used with more than 2 births and between 70-110 days in milk. A Latin square design overshift, 3x3 (periods of 21 days) was used, each treatment was repeated 3 times. In the 0% treatment, no oil supplementation was offered. The cows supplemented with levels 2 and 4% of sunflower oil (63.32% linoleic acid and 28.32% oleic acid) received 250 and 500 g oil / animal / day, respectively. Forage intake, milk production and composition were not affected ($P>0.05$) by treatments. The proportion of c9t11 conjugated linoleic acid (CLA-c9t11) in milk tended ($P=0.0799$) to increase, transvaccenic and oleic acids increased linearly with both levels of supplementation and C12:0, C14:0 and C16:0 atherogenic fatty acids decreased ($P<0.05$), obtaining a milk with higher amount of unsaturated fatty acids and lower atherogenic index which provides benefits to human health. The benefit-cost ratio would be higher at the level of supplementation of 2%, if the milk is marketed with a diferencial value of c9t11 CLA content.

Palabras Clave:

Ácido linoleico conjugado;
ácido ruménico;
ácido transvaccénico;
índice de aterogenicidad;
Cynodon plectostachyus.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación alimenticia con aceite de girasol (0, 2 y 4% de la materia seca), sobre el consumo de forraje, la producción, composición, concentración de ácidos grasos de la leche y sobre la relación beneficio-costo, en una finca del sistema de producción lechería tropical donde los animales pastoreaban pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*). Se trabajó con nueve vacas, con más de dos partos y entre 70 -110 días de lactancia. Se utilizó un diseño de cuadrado latino de sobrecambio, 3 X 3 (periodos de 21 días), repitiendo cada tratamiento tres veces. En el tratamiento 0%, no se ofreció suplementación con aceite. Las vacas suplementadas con los niveles 2 y 4% de aceite de girasol (63.32% de ácido linoleico y 28.32% de ácido oleico) recibieron 250 y 500 g aceite/animal/día, respectivamente. El consumo de forraje, la producción y composición de la leche no fueron afectadas ($P>0.05$) por los tratamientos. La proporción de ácido linoleico conjugado c9t11 (CLA-c9t11) en la leche tendió ($P=0.0799$) a aumentar, los ácidos transvaccénico y oleico aumentaron linealmente con los dos niveles de suplementación y los ácidos grasos aterogénicos C12:0, C14:0 y C16:0 disminuyeron ($P<0.05$), obteniéndose una leche con mayor cantidad de ácidos grasos insaturados y menor índice de aterogenicidad, que ofrece beneficios para la salud humana. La relación beneficio-costo fue mayor a nivel de suplementación de 2%, si la leche se merca dea con un valor diferencial por contenido de CLA-c9t11.

INFORMACIÓN

Recibido: 31-09-2016;

Aceptado: 25-11-2016.

Correspondencia autor:

esperanza.prieto@unisucra.edu.co

liliana.mahecha@udea.edu.co

Introducción

La política para el sector lácteo colombiano, busca mejorar la competitividad de este sector, mediante el desarrollo de conglomerados productivos en zonas, con ventajas competitivas para la producción de leche (CONPES, 2010). Con el objetivo de incrementar la productividad, profundizar y diversificar los mercados interno y externo, aprovechar las oportunidades y ventajas comparativas que tiene el sector lácteo, éste busca entre otras características, el aumento de la oferta de productos lácteos funcionales (CNL, 2010).

Los ácidos grasos (AG) insaturados como el ácido linoleico conjugado C18:2 c9t11 (CLA-c9t11 o ruménico), el ácido transvaccénico C18:1 t11 (ATV) y algunos ácidos grasos de cadena larga (AGCL) omega 3 ($n-3$) y la proporción de los AG insaturados de la leche bovina, se relacionan con beneficios para la salud humana (HARRIS, 2008; GIVENS, 2010; SHINGFIELD *et al.*, 2013). Se ha reportado que CLA-c9t11 inhibe el crecimiento de varias líneas celulares de cáncer humano, reduce la tasa de desarrollo del tumor inducido químicamente, altera el metabolismo de las lipoproteínas y modifica la función inmune en modelos animales (SHINGFIELD *et al.*, 2008). El ATV es el precursor de CLA-c9t11 en los tejidos (FIELD *et al.*, 2009). Aunque los efectos de CLA-c9t11 no han sido comprobados de forma concluyente en la especie humana, los alimentos ricos en CLA-c9t11 podrían ser considerados dentro del grupo de los llamados “alimentos funcionales”.

Los AG CLA y ATV en la leche resultan del consumo de AG insaturados y de la extensión de la biohidrogenación ruminal, a su vez, CLA-c9t11 es el isómero CLA presente en mayor cantidad en la leche y proviene principalmente de la desaturación del ATV por la actividad de la enzima delta-9 desaturasa en glándula mamaria (GRIINARI y BAUMAN, 1999; BICHI *et al.*, 2012). La presencia de estos AG en la leche depende principalmente de factores dietarios (PALMQUIST, 2007), la suplementación con aceites vegetales ricos en AG poliinsaturados permite aumentarlos (CHILLIARD y FERLAY, 2004; SCHROEDER *et al.*, 2004; SHINGFIELD *et al.*, 2006; CHILLIARD

et al., 2007; ANGULO *et al.*, 2012; VARGAS-BELLO-PÉREZ *et al.*, 2015). Una comparación entre diferentes tipos de aceites de origen vegetal sugiere que aquellos con contenido más alto de ácido linoleico (como los procedentes de semillas de girasol, soja) son los más efectivos para aumentar el CLA-c9t11 en leche (DHIMAN *et al.*, 2000; SHINGFIELD *et al.*, 2006), pero la respuesta puede variar de acuerdo con la cantidad de grasa empleada y con la composición de la dieta basal (CHILLIARD y FERLAY, 2004; DEWHURST *et al.*, 2006; GRAINGER y BAUCHEMIN, 2011; SALIBA *et al.*, 2014).

De otra parte, se ha demostrado que la suplementación con aceites vegetales ricos en AG poliinsaturados, no sólo permite aumentar los niveles de CLA-c9t11 y ATV, sino que también aumenta AG insaturados (mono y poliinsaturados) y disminuye los AG saturados (ANGULO *et al.*, 2012; FERLAY *et al.*, 2013), tanto en leche como en queso, sin afectar las características sensoriales del queso (VARGAS-BELLO-PÉREZ *et al.*, 2015), con un impacto alto en la composición de la grasa y su efecto sobre la salud humana.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación alimenticia con aceite de girasol, a nivel de inclusión del 2 y 4% de la MS sobre el consumo de forraje, la producción, composición, concentración de: CLA-c9t11, ATV y otros AGCL en la leche y sobre la relación beneficio-coste en una ganadería de lechería tropical pastoreando en pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*).

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la finca San Felipe, ubicada en el municipio de Pereira (Risaralda, Colombia), a 4° 48' 51" N 75° 41' 40" O, a 1411 msnm y una temperatura promedio de 22 °C. El trabajo se realizó entre mayo y julio del 2014.

El sistema de producción de lechería tropical estuvo definido por cruces mixtos de *Bos taurus* x *Bos indicus*, con predominio de *Bos taurus* y ordeño sin ternero. Los animales que se utilizaron en el experimento correspondían a cruzamientos múltiples entre los grupos raciales Holstein, Blanco Orejinegro, Gyr y Brahman, lo que es conocido en Colombia como animales siete colores ya que no

hay un predominio específico de un grupo racial; el tipo de ordeño era mecánico y se realizaban dos ordeños/día.

Se trabajó con nueve vacas, que tenían más de 2 partos y que se encontraban entre 70-110 días de lactancia. Se utilizó un diseño de Cuadrado Latino modificado (sobrecambio), donde se aplicaron tres tratamientos, en tres periodos, y cada tratamiento se repitió tres veces.

Los tratamientos que se aplicaron fueron los siguientes:

T1: Manejo alimenticio dado por el ganadero (sin suplementación con aceite)

T2: Manejo alimenticio dado por el ganadero + 250 g/animal/día de aceite de girasol (2% de la MS consumida)

T2: Manejo alimenticio dado por el ganadero + 500 g/animal/día de aceite de girasol (4% de la MS consumida)

El manejo alimenticio dado por el ganadero consistió en pastoreo rotacional con periodo de ocupación de 1 día y descanso de 19 días, con disponibilidad permanente de sales mineralizadas y de agua fresca y limpia para los animales. La base forrajera estuvo constituida por pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*). La dieta base se suplementó con concentrado a base de harina de maíz y torta de soya, ofreciendo en promedio 3.0 kg/animal/día. La composición química y el perfil de ácidos grasos de los alimentos consumidos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de los alimentos consumidos

| Variable | Pasto | Concentrado |
|------------------------------------|-------|-------------|
| Composición Química | | |
| Grasa (%) | 2.84 | 4.02 |
| Proteína (%) | 18.90 | 23.75 |
| FDN (%) | 62.89 | 25.73 |
| FDA (%) | 26.48 | 4.25 |
| Ácidos grasos (AG) | | |
| g de AG/100 g de AG totales | | |
| C12:0 | 0.56 | 4.14 |
| C16:0 | 22.25 | 18.08 |
| C18:1 c9 | 3.07 | 26.24 |
| C18:2 c9c12 | 15.40 | 43.55 |
| C18:3 c9c12c15 | 46.37 | 1.64 |

Se utilizó aceite de girasol, del que se vende comercialmente para consumo humano. El perfil de ácidos grasos del aceite, se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos del aceite de girasol utilizado.

| Ácido graso | g /100 g AG Totales |
|-------------|---------------------|
| C16:0 | 4.88 |
| C18:0 | 3.46 |
| C18:1 c9 | 28.32 |
| C18:1 t9 | 0.01 |
| C18:2 c9c12 | 63.32 |

La cantidad de aceite que se suministró se definió con base en el consumo de MS estimado utilizando la ecuación propuesta por NRC (2001), para vacas lactantes y esperando inclusiones en la dieta del 2 y 4%. El aceite fue mezclado manualmente con el suplemento y suministrado en comedero individual, al momento del ordeño. Se suministró la mitad de la ración diaria en cada ordeño. El suministro de aceite se hizo en forma gradual iniciando con 100 g/animal/día y de acuerdo al comportamiento del animal, se aumentó la cantidad, hasta llegar a la cantidad total, proceso que requirió de 5 días.

Inicialmente se distribuyeron los tres tratamientos de forma aleatorizada en tres grupos conformados por tres vacas homogéneas fenotípica y productivamente, de forma que en cada periodo de medición, cada grupo de vacas tuviera acceso a un tratamiento diferente. Así, todas las vacas pasaron por todos los tratamientos. Cada periodo de medición tuvo una duración de tres semanas (21 días), alcanzando así, un periodo experimental total de 63 días. Las primeras dos semanas de cada periodo experimental se usaron como periodo de acostumbamiento al tratamiento y la última para realizar medición diaria de la producción de leche, del consumo de alimento y para la toma de muestras de leche, alimentos y heces.

Los días 4, 5 y 6 de la última semana de evaluación, de cada periodo experimental, se tomó muestras de leche por triplicado de cada uno de los animales: una para determinación de CLA, ATV y AGCL, otra para determinación de grasa, proteína y sólidos totales, y una tercera que se usó como contramuestra. Las muestras se colocaron en refrigeración inmediatamente

después de su recolección y las muestras tomadas para determinación de CLA, ATV y AGCL, se almacenaron a -20°C hasta su análisis. La determinación de grasa, proteína, sólidos totales y nitrógeno uréico (MUN), se realizó en la leche fresca mediante Milkoscan 133B.

Los AG de la leche se analizaron mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (FID), siguiendo la metodología propuesta por TEQUIN-OCAMPO (2014), tanto para la extracción-derivatización como para el análisis cromatográfico en sí mismo. Se utilizó un cromatógrafo de gases con automuestreador. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes; fase móvil: Nitrógeno como gas transportador, flujo de columna 1ml/min, velocidad lineal 26 cm/seg; inyector: temperatura 220°C , volumen 0.2 μl , modo splitt, radio splitt 1:50; columna: Modelo CP – Sil – 88, longitud 100m, diámetro interno 0.25 mm, espesor de la película 0.2 μL ; rampa de temperatura: temperatura 150°C , tiempo de calentamiento 3 minutos, rata $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$; detector: FID, temperatura 250°C , flujo de H_2 40 ml/min, flujo de aire 400 ml/min, flujo de N 10 ml/min. Los AG fueron separados e identificados por comparación de los tiempos de retención con sus respectivos estándares; se cuantificaron utilizando la curva de calibración de los estándares de CLA (CLA-c9t11; CLA-c10t12; CLA-t10c12 y CLA Mezcla para los isómeros restantes), de ATV y los demás AG. Se utilizó como estándar interno ácido nonadecanoico (C19:0). El porcentaje de cada AG fue calculado a partir de su concentración (ppm) determinada por cromatografía (TEQUIN-OCAMPO, 2014).

Con base en el porcentaje de cada AG se calculó mediante sumatorias, el porcentaje de AG saturados, insaturados, monoinsaturados, poliinsaturados, omega 3 (C18:3 c9c12c15; C20:3 c11c14c17; C20:5 c5c8c11c14c17), omega 6 (C18:2 t9c12; C18:2 c9c12; C18:3 c6c9c12; C18:2 c10t12; C18:2 t10c12; C20:3 c8c11c14; C20:4 c5c8c11c14; C22:2 c13c16), relación n6/n3, C10 a C16, trans C18:1 (ATV y C18:1 t9), aterogénicos (C12:0, C14:0, C16:0) e índice de aterogenicidad. El índice aterogénico (IA) fue calculado de acuerdo con ULBRICHT y SOUTHGATE (1991), mediante la ecuación $\text{IA} = (\text{C12:0} + 4\text{C14:0} + \text{C16:0}) / \text{AG insaturados}$.

Conjuntamente con la última toma de muestra de leche de cada periodo, se tomaron muestras de cada componente de la dieta, para determinar la composición química, lignina y el perfil de AG (Tabla 1). La muestra de forraje, se tomó antes de la entrada de los animales al potrero, para esto, el potrero se dividió en tres partes y de cada una, se tomó una muestra representativa de lo consumido por la vaca.

Para la determinación de la composición química de los alimentos, se utilizaron las técnicas analíticas convencionales de la AOAC (1999) (materia seca método ID 934.01, cenizas método ID 942.05, proteína bruta método ID 984.13, grasa método ID 973.18) y los descritos por VAN SOEST *et al.*, (1991) para los análisis de fibra detergente neutro y fibra detergente ácido. La determinación de lignina se realizó siguiendo el protocolo para lignina detergente ácido en beakers tecnología Ankom (LETERME y ESTRADA, 2010).

El análisis de AG de las muestras de alimentos, se hizo mediante cromatografía de gases con detector FID, siguiendo la metodología propuesta por TEQUIN-OCAMPO (2014). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes; fase móvil: Helio como gas transportador, flujo de columna 1ml/min, velocidad lineal 26 cm/seg; inyector: temperatura 220°C , volumen 0.2 μl , modo splitless; columna: Modelo CP – Sil – 88, longitud 100m, diámetro interno 0.25 mm, espesor de la película 0.2 μL ; rampa de temperatura: temperatura 150°C , tiempo de calentamiento 3 minutos, rata $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$; detector FID, temperatura 250°C , flujo de H_2 40 ml/min, flujo de aire 400 ml/min, flujo de N 10 ml/min.

Diariamente se registró el consumo de suplemento mediante oferta y rechazo. El consumo de forraje se cuantificó, usando cromo como marcador externo, para lo cual se suministró 16 g de óxido de cromo/animal/día (con 57,32 % de cromo), durante los últimos 15 días de cada periodo y en los últimos cinco días se tomó muestra de materia fecal del recto de cada animal, en horas de la mañana y de la tarde, las cuales fueron congeladas y luego en el laboratorio se descongelaron y se mezclaron para obtener una muestra por vaca por periodo, de aproximadamente 500 g, muestra que se secó a 60°C x 72 horas, se molió y en la que se determinó la concentración de cromo, mediante

espectrómetro de absorción atómica (WILLIAMS *et al.*, 1962; PENNING Y JOHNSON, 1983) y de lignina detergente ácido en beakers tecnología Ankom (LETERME y ESTRADA, 2010).

El consumo de materia seca proveniente del forraje, se calculó mediante la ecuación propuesta por CORREA *et al.*, (2009), utilizando los datos de las heces estimadas con Cr corregido por el porcentaje de recuperación en las heces y lignina como marcador interno.

El consumo de grasa y de los AG oleico, linoleico y linolénico por tratamiento, se estimó con base en el consumo de forraje y de concentrado registrado y con su respectivo porcentaje de grasa y de AG totales, estimados según lo propuesto por ALLEN, (2000).

Análisis de datos. El consumo de forraje, la producción de leche, composición de la leche, perfil de AG, se analizaron mediante ANAVA en un diseño de Cuadrado Latino modificado (sobrecambio), usando el procedimiento MIXED de SAS (2008), mediante el siguiente modelo.

$$Y_{ijl} = \mu + a_i + \theta_j + \beta_l + \sum cY_l + e_{i(jl)}$$

Donde: Y_{ijl} = variable respuesta, μ = Media general, a_i = Efecto de la i ésima vaca (fila) ($i=1,2,\dots,9$), θ_j = Efecto del j ésimo periodo (columna) ($j= 1,2,3$), β_l = Efecto del l ésimo tratamiento ($l=1,2,3$), $\sum cY_l$ = efecto residual, $e_{i(jl)}$ = error experimental con media 0 y varianza σ^2

El efecto fijo en el modelo correspondió al tratamiento experimental y los efectos aleatorios a la vaca y el periodo. El modelo también incluyó los efectos residuales (carry), los cuales fueron estimados siguiendo el procedimiento reportado por CERÓN *et al.*, (2013). La diferencia entre promedios, se analizó mediante prueba de Tuckey-Kramer, con nivel de significancia del 5%; utilizando PROC MIXED de SAS (2008), versión 9.2. Se consideraron tendencias estadísticas cuando $0.05 < P \leq 0.1$.

Adicionalmente para conocer el grado en que los ingresos, superan a los costos de la nueva inversión realizada, se calculó la relación beneficio – costo, mediante la siguiente fórmula.

$$RB:C = \text{Ingreso adicional} / \text{Egreso adicional.}$$

Para realizar este análisis solo se tuvo en cuenta el costo del aceite y se dio un precio de venta diferencial al litro de leche, de acuerdo al porcentaje de CLA-c9t11 presente en esta. Este precio de venta diferencial se calculó de una manera proporcional, teniendo como base el % de CLA-c9t11 presente en la leche sin adición de aceite y su respectivo precio de litro de leche. Estimación que se realizó debido a que en el país no existe una escala de precios de acuerdo a % de CLA-c9t11 presente en la leche.

Resultados y discusión

Consumo de forraje. El consumo de forraje no fue afectado por la adición de aceite ($P > 0.05$) (Tabla 3). Esto está de acuerdo con resultados de otros estudios con suplementación con aceite de soya al 3.6 o 4% (DHIMAN *et al.*, 2000) o aceite maíz, palma o cártamo alto en oleico, a nivel del 5% (HE y ARMENTANO, 2011), pero en desacuerdo con los resultados de BOERMAN y LOCK (2014), suplementando con aceite de soya al 2%. La reducción en el consumo de MS se ha atribuido a un efecto hipofágico de los AG insaturados, que causan señales de saciedad tales como una reducción en el tamaño de la comida, frecuencia de las comidas o una combinación de los dos (ALLEN, 2000). Adicionalmente, el efecto de la suplementación con grasa sobre el consumo, está influenciado por el grado de insaturación de los AG presentes en la dieta (DRACKLEY y ELLIOTT, 1993; BU *et al.*, 2007). De acuerdo con los resultados encontrados, estos efectos no se presentaron en este trabajo.

Un aspecto importante a tener en cuenta en la alimentación de los animales rumiantes es que, debido al efecto inhibitor de los lípidos sobre el metabolismo microbiano, un aporte de alimentos con elevados contenidos en grasa puede provocar una inhibición de la fermentación ruminal, disminuyendo significativamente la digestibilidad y el consumo de alimento (HARFOOT y HAZLEWOOD, 1997). Generalmente, se recomienda que la grasa total no exceda del 6-7% de la MS de la dieta, de otra forma puede ocurrir una depresión en el consumo de alimento (NRC, 2001). En nuestro estudio, se estimó que la grasa consumida en el tratamiento con adición del 4%, estuvo en 6.56% de la MS (Tabla 4), muy cercana al límite superior permitido, sin embargo no hubo efecto sobre el consumo de alimento.

Tabla 3. Consumo de forraje, producción, composición y perfil de ácidos grasos de la leche en una finca del sistema lechería tropical.

| Variable | Adición de aceite (%) | | | Tratamiento | Valor de P | |
|---|-----------------------|---------------------|--------------------|-------------|------------|----------|
| | 0 | 2 | 4 | | Carry 0% | Carry 2% |
| Consumo de forraje Kg MS /animal /día | 13.35 | 12.85 | 11.72 | 0.6270 | 0.2553 | 0.0674 |
| Producción y composición de la leche | | | | | | |
| Leche L/día | 11.60 | 12.95 | 11.96 | 0.4798 | 0.4205 | 0.8820 |
| Grasa % | 4.32 | 3.65 | 3.89 | 0.1576 | 0.1189 | 0.1810 |
| Proteína % | 2.94 | 3.06 | 3.02 | 0.3603 | 0.4992 | 0.7204 |
| Sólidos Totales % | 12.41 | 11.90 | 11.94 | 0.2164 | 0.3310 | 0.0613 |
| Lactosa (%) | 4.42 | 4.49 | 4.42 | 0.6859 | 0.1295 | 0.2546 |
| MUN (mg/dl) | 19.82 | 18.80 | 17.67 | 0.2598 | 0.3990 | 0.4877 |
| Grasa (Kg/día) | 0.39 | 0.42 | 0.37 | 0.5934 | 0.5452 | 0.8565 |
| Proteína(Kg/día) | 0.29 | 0.37 | 0.31 | 0.0795 | 0.1047 | 0.9742 |
| Sólidos Totales (Kg/día) | 1.20 | 1.44 | 1.21 | 0.1720 | 0.1758 | 0.9689 |
| g de AG /100 g de AG Total medido | | | | | | |
| C6:0 | 1.37 ^a | 1.22 ^a | 0.79 ^b | <0.0001 | 0.0020 | 0.0028 |
| C8:0 | 0.89 ^a | 0.75 ^a | 0.49 ^b | <0.0001 | 0.0049 | 0.0099 |
| C10:0 | 1.95 ^a | 1.42 ^b | 1.08 ^c | 0.0005 | 0.1650 | 0.2451 |
| C11:0 | 0.29 | 0.23 | 0.16 | 0.1526 | 0.1766 | 0.2151 |
| C12:0 | 2.41 ^a | 1.89 ^b | 1.45 ^c | 0.0042 | 0.1579 | 0.1224 |
| C13:0 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.2010 | 0.0951 | 0.0902 |
| C14:0 | 9.96 ^a | 8.16 ^b | 6.79 ^b | 0.0020 | 0.4349 | 0.4122 |
| C14:1 c9 | 1.01 ^a | 0.95 ^a | 0.68 ^b | 0.0014 | 0.0107 | 0.0042 |
| C16:0 | 21.84 ^a | 18.47 ^b | 15.29 ^c | <0.0001 | <0.0001 | 0.0001 |
| C16:1 c9 | 1.33 ^a | 1.14 ^{ab} | 0.95 ^b | 0.0140 | 0.0982 | 0.0922 |
| C17:0 | 0.97 ^a | 0.78 ^b | 0.62 ^c | 0.0002 | 0.2724 | 0.0065 |
| C17:1 c10 | 0.40 ^a | 0.32 ^b | 0.26 ^b | 0.0056 | 0.3916 | 0.0673 |
| C18:0 | 14.49 ^b | 15.76 ^{ab} | 17.86 ^a | 0.0231 | 0.0070 | 0.0134 |
| C18:1 c9 | 32.23 ^b | 35.30 ^a | 37.36 ^a | 0.0006 | 0.1140 | 0.2189 |
| C18:1 t11(ATV) | 6.06 ^b | 8.56 ^{ab} | 9.70 ^a | 0.0123 | 0.7116 | 0.8298 |
| C18:2 c9c12 | 1.39 | 1.30 | 1.35 | 0.7115 | 0.1686 | 0.1969 |
| C18:2 c9t11(CLA) | 1.39 | 1.92 | 2.24 | 0.0799 | 0.5044 | 0.6270 |
| C18:2 t9c12 | 0.29 ^b | 0.46 ^a | 0.48 ^a | 0.0033 | 0.6970 | 0.3302 |
| C18:3 c9c12c15 | 0.61 ^a | 0.44 ^b | 0.32 ^c | <0.0001 | 0.0402 | 0.0019 |
| C20:0 | 0.38 | 0.36 | 0.35 | 0.1409 | 0.2110 | 0.1017 |
| Sumatorias | | | | | | |
| Saturados | 54.06 ^a | 47.39 ^b | 43.35 ^c | <0.0001 | 0.3216 | 0.1379 |
| Insaturados | 45.94 ^c | 52.61 ^b | 56.65 ^a | <0.0001 | 0.3216 | 0.1379 |
| Monoinsaturados | 40.30 ^c | 46.33 ^b | 50.47 ^a | <0.0001 | 0.2171 | 0.0824 |
| Poliinsaturados | 4.82 | 4.95 | 5.39 | 0.2755 | 0.4114 | 0.6241 |
| Omega 3 (n3) | 0.82 ^a | 0.68 ^{ab} | 0.59 ^b | 0.0554 | 0.7118 | 0.4684 |
| Omega 6 (n6) | 2.79 | 2.71 | 2.71 | 0.8488 | 0.2560 | 0.4359 |
| Relación n6/n3 | 3.29 ^a | 3.90 ^{ab} | 4.63 ^a | 0.0418 | 0.2103 | 0.1670 |
| C10 a C16 | 39.14 ^a | 32.59 ^b | 26.17 ^c | <0.0010 | 0.0414 | 0.0259 |
| Trans C18:1 | 6.90 ^a | 10.49 ^a | 11.65 ^a | 0.0030 | 0.7161 | 0.9946 |
| Aterogénicos | 34.50 ^a | 28.69 ^b | 23.60 ^c | <0.0001 | 0.0709 | 0.0413 |
| Índice de Aterogenicidad | 1.43 ^a | 1.04 ^b | 0.78 ^c | <0.0001 | 0.2148 | 0.1645 |

^{ab} Valores con letras diferentes en la misma fila difieren significativamente entre tratamientos (P<0.05).

Carry= efecto residual. MUN= nitrógeno ureico en leche. Omega 3 = C18:3 c9c12c15; C20:3 c11c14c17; C20:5 c5c8c11c14c17. Omega 6 = C18:2 t9c12; C18:2 c9c12;

C18:3 c6c9c12; C18:2 c10t12; C18:2 t10c12; C20:3 c8c11c14; C20:4 c5c8c11c14; C22:2 c13c16. Aterogénicos = C12:0, C14:0, C16:0.

Índice de Aterogenicidad = (C12+4C14+C16)/AG Insaturados (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991)

Tabla 4. Consumo de grasa y ácidos grasos (kg/animal/día) estimado a partir del consumo total, en los diferentes tratamientos en una finca del sistema lechería tropical

| Tratamiento | Consumo Grasa | | | | Consumo AG Kg/a/d | | |
|-------------|---------------|-------------------------|---------------|--------------------------|-------------------|-----------|------------|
| | Kg/a/d | Grasa % MS ¹ | Aceite Kg/a/d | Aceite % MS ¹ | Oleico | Linoleico | Linolénico |
| 0% | 0.488 | 3.04 | 0.000 | 0.00 | 0.0402 | 0.1057 | 0.1776 |
| 2% | 0.754 | 4.63 | 0.250 | 1.54 | 0.1185 | 0.2750 | 0.1715 |
| 4% | 0.948 | 6.51 | 0.500 | 3.43 | 0.1819 | 0.4179 | 0.1564 |

¹ % de la MS total consumida.

De acuerdo con los datos de consumo total (forraje más concentrado), la cantidad de aceite empleada correspondió con 1.54% y 3.43% de la MS consumida (Tabla 4). En este estudio el consumo de forraje se estimó utilizando cromo como marcador externo. Una de las limitantes cuando se trabaja con animales bajo pastoreo es el cálculo de consumo de forraje y a pesar que se han ideado diferentes técnicas que permiten estimar el consumo de MS en animales bajo pastoreo, que se han publicado en diferentes revisiones y trabajos (CHÁVEZ *et al.*, 1981, CORDOVA *et al.*, 1978, LIPPKE 2002, MEJÍA 2002, SOUZA *et al.*, 2014), todos los autores coinciden en que ningún método desarrollado hasta el presente, cuantifica con exactitud el consumo de forraje por rumiantes bajo condiciones de pastoreo, lo que pudo influir en la estimación de la participación del aceite como porcentaje de la MS (1.54% y 3.43%), no obstante estos valores están cercanos a los proyectados (2 y 4%).

Producción y composición de la leche. La producción y la composición de la leche no fueron afectadas por los tratamientos ($P > 0.05$), ni se presentaron efectos residuales para estas variables ($P > 0.05$) (Tabla 3). Estos resultados son consistentes con los hallados por SCHOEDER *et al.*, (2004) quienes informan que en la mayoría de estudios analizados, la suplementación con AG insaturados no aumentó la producción de leche en vacas bajo pastoreo. En cuanto a la composición de la leche, se ha observado que cuando las vacas son alimentadas con suplementos que contienen aceite vegetal o de pescado, se presenta el síndrome de bajo contenido de grasa en leche, comúnmente conocido como “Depresión de Grasa en Leche (MFD)” (BAUMAN y GRIINARI, 2001). Clásicamente, MFD representa una depresión de la grasa de la leche sin producir ningún cambio en el rendimiento de leche, ni en sus otros componentes (BAUMAN *et al.*, 2011). El

síndrome MFD, está asociado con un aumento en la concentración en la leche de intermediarios de la biohidrogenación como C18:1 t10 y CLA t10c12 y se ha postulado que especialmente el intermediario CLA t10C12, reduce la síntesis de novo en la glándula mamaria, en situaciones de MFD (BAUMAN *et al.*, 2011). CRUZ-HERNÁNDEZ *et al.*, (2007), reportan que a mayor cantidad de concentrado y aceite, la producción de C18:1 t10 es mayor. En nuestro estudio no se presentó MFD, ni se detectó CLA t10c12 en las muestras de leche analizadas. La cantidad de concentrado consumida fue de 3.0 kg MS/animal/día y la relación forraje: concentrado estimada fue de 80:20 para los tratamientos con adición de aceite, es probable que la baja cantidad de aceite utilizado y alta participación de forraje, haya permitido una buena fermentación ruminal, evitando el proceso de biohidrogenación vía trans10, lo que estaría de acuerdo con lo reportado por RICO y HARVATINE (2013), cuando indujeron MFD usando una dieta con baja fibra y alto aceite (29.5% de FDN y 3.7% de AG poliinsaturados) y realizar reconversión con una dieta alta en fibra y baja en aceite (36.9% FDN and 1.1% AG poliinsaturados).

Perfil de ácidos grasos de la leche. Hubo una tendencia ($P = 0.07$) al aumento en la proporción de CLA-c9t11 con la adición de aceite (Tabla 3). La suplementación con aceite de girasol, aumentó ATV, oleico y esteárico ($P < 0.05$), aunque disminuyó linolénico ($P < 0.0001$). Igualmente disminuyó la proporción de los ácidos grasos láurico, mirístico ($P < 0.05$) y palmítico ($P < 0.0001$), conllevando a una disminución en la proporción de los AG saturados ($P < 0.0001$), AG del C10 a C16 ($p < 0.05$), AG aterogénicos ($p < 0.0001$) y un aumento en la proporción de AG insaturados ($p < 0.0001$), principalmente los monoinsaturados ($p < 0.0001$), lo que se vio reflejado en un menor índice de aterogenicidad ($p < 0.0001$). Los anteriores resultados están de acuerdo con los

obtenidos por otros autores al suplementar vacas con aceites vegetales ricos en AG poliinsaturados (CHILLIARD y FERLAY, 2004; SCHROEDER *et al.*, 2004; SHINGFIELD *et al.*, 2006; CHILLIARD *et al.*, 2007; ANGULO *et al.*, 2012; VARGAS-BELLO-PÉREZ *et al.*, 2015). Un menor índice de aterogenicidad y mayor proporción de AG insaturados, proporciona una mejor composición de la grasa, con efectos positivos sobre la salud humana.

La tendencia en el aumento lineal observado en CLA-c9t11 y el aumento de ATV, han sido relacionados con el mayor consumo de ácido linoleico suministrado en el aceite de girasol, el cual es biohidrogenado produciendo ATV y posteriormente parte de este ATV es desaturado por la delta 9-desaturasa en glándula mamaria dando lugar a CLA-c9t11 y ATV, presentes en la leche. En nuestro estudio *in vitro* realizado previamente (PRIETO-MANRIQUE, 2015), la adición de aceite de girasol al sustrato representativo de la misma finca de este estudio, aumentó la proporción de ATV, lo que permite explicar los resultados obtenidos en la fase de campo.

La suplementación con aceite de girasol aumentó ($P < 0.05$) la proporción de ácido oleico en leche. En este estudio se utilizó aceite comercial de girasol, que presentó una alta proporción AG linoleico C18:2 c9c12 (63.32 %), pero también una proporción considerable de AG oleico C18:1 c9 (28.32%), que pudo escapar a la biohidrogenación y ocasionar esta respuesta. REGO *et al.*, (2009) encontraron aumento en la concentración de ácido oleico cuando suplementaron con 0.5 kg/d de aceite de girasol (62% de AG linoleico y 26.3% de AG oleico) a vacas en pastoreo, argumentando que los incrementos pueden ser atribuidos a diferencia en el consumo de C18:1 c9 (y flujo al duodeno de C18:1 c9) y a la disponibilidad de AG esteárico C18:0 en glándula mamaria para ser desaturado por la Delta9-desaturasa y convertido en C18:1 c9. En rumiantes aproximadamente 40% de C18:0 absorbido por la glándula mamaria es desaturado a C18:1 c9 (LOCK y GARNSWORTHY, 2003), situación que también podría haberse presentado en este estudio.

La suplementación con aceite de girasol disminuyó los AG aterogénicos C12:0, C14:0 y C16:0. En

un meta-análisis se examinó la relación entre la producción a AG de la leche y el flujo duodenal de AG (GLASSER *et al.*, 2008), informando que el aumento del suministro duodenal de AG C18 causa un aumento cuadrático en la producción de AG C18 en la leche, con una posterior reducción lineal en la producción de AG procedentes de síntesis de novo (GLASSER *et al.*, 2008). La suplementación con aceite de girasol, utilizada en este estudio aumentó los AG C18 ingeridos, es posible que la situación descrita anteriormente se hubiera presentado. La disminución de los AG aterogénicos y el aumento de los insaturados, permiten obtener un menor índice de aterogenicidad que favorece la salud humana.

La disminución de ácido linolénico, conllevó a una reducción en los omega 3 ($P < 0.05$) y un aumento en la relación n6/n3 ($p < 0.05$) (Tabla 3). El principal n-3 en la grasa de la leche es el ácido linolénico (FERLAY *et al.*, 2013), ácido graso presente en los forrajes. La suplementación con aceite disminuyó linealmente la proporción de este AG en la leche con el aumento en el nivel de suplementación, conllevando a un aumento en la relación n6/n3, cuando se utilizó un nivel del 4%, sin embargo ésta se mantuvo por debajo de 5:1, estando dentro de lo recomendado (menor de 5:1) como favorable para la salud humana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003)

El aumento en ATV con la suplementación con aceite, ocasionó un aumento en los trans C18:1 ($p < 0.05$), donde la mayor participación fue de ATV y la proporción restante de C18:1t9.

Se presentaron efectos residuales de los tratamientos 0 y 2% de adición de aceite, para los AG palmítico, esteárico y linolénico ($p < 0.05$). La adición de aceite al 2% de la MS disminuyó la proporción de ácido palmítico y linolénico y aumentó la de esteárico en la leche, en el periodo siguiente a su aplicación, contrario al tratamiento sin adición de aceite (0%). BOERMAN y LOCK (2014) evaluaron aceite de soya al 2% de la MS en periodos de 21 días con muestreo a partir de los 18 días sin efectos residuales detectables entre tratamientos. BENCHAR *et al.*, (2012) evaluaron aceite de lino a nivel de 2.3 o 4% de la MS por periodos de 28 días, sin efectos residuales. En este estudio utilizando periodos de

21 días, se presentó efecto residual para algunas variables, constituyéndose en un acierto el modelo estadístico utilizado, ya que este realizó un ajuste por efectos residuales, evitando cometer un error en el análisis de los datos (CERÓN *et al.*, 2013).

Análisis económico. El aceite de girasol utilizado tuvo un costo de 3921.42 \$/L. El análisis económico muestra que con un precio de venta del litro de leche diferencial, proporcional con su contenido de CLA-C9t11 (Tabla 5), ingresan entre \$3.46 a \$6.29 por cada peso invertido, con una mayor relación para el tratamiento con suplementación de aceite al 2% de la MS.

Leche con un mayor contenido de CLA-c9t11 permitirá cubrir el requerimiento necesario para obtener los beneficios sobre la salud humana. Estudios en animales indican que 800 mg/día de CLA-c9t11, podrían ejercer un efecto antitumoral en una persona de unos 70 kg de peso vivo (WATKINS y LI, 2003), el efecto preventivo, sería unas diez veces menor al enunciado y los efectos reductores sobre la aterosclerosis se alcanzarían a partir de consumos diarios cercanos a los 250 mg (KRITCHEVSKY, 2003). En nuestro estudio, aunque el nivel de suplementación de aceite al 4% presentó mayor porcentaje de CLA-c9t11, este no fue favorable en términos económicos dado el mayor valor de la ración diaria de aceite, por lo tanto desde el punto de vista de la investigación, se deben evaluar otras fuentes de aceites que permitan aumentar CLA-c9t11 en la leche, como los aceites en crudo que son más económicos que los refinados y los aceites

producidos a nivel nacional. Sin embargo, estos resultados también podrían aplicarse para la producción de leche con mayor calidad de AG, la cual podría mercadearse a nichos especiales de mercado, donde las bondades saludables de la leche, sean compensadas con un mayor precio, lo que permitiría ser competitivos a niveles de suplementación con 4%.

La suplementación alimenticia con aceite de girasol a nivel de inclusión del 2% y 4% de la MS, no afectó la producción de leche, tendió a aumentar la proporción de CLA-c9t11 y aumentó ATV y oleico. Disminuyó los AG aterogénicos C12:0, C14:0 y C16:0 obteniéndose una leche con mayor cantidad de AG insaturados y menor índice de aterogenicidad, que ofrece beneficios para la salud humana. De mercadearse la leche obtenida con un valor diferencial por contenido de CLA-c9t11, un nivel de suplementación de 2% sería el más beneficioso en términos económicos.

Agradecimientos: Los autores de este trabajo agradecen la financiación de Colciencias (Proyecto Colciencias No. PRE00503029606 Titulado “Suplementación de ácidos grasos comerciales como estrategia para incrementar biomoléculas funcionales en la grasa de la leche (CLA) y disminuir los aportes de la ganadería bovina al calentamiento global (metano) en sistemas basados en pastoreo”), Universidad de Caldas, Universidad de Antioquia y la Universidad de Sucre. Así mismo, resaltan y agradecen el apoyo logístico y la colaboración de los propietarios de la finca San Felipe.

Tabla 5. Análisis económico con precio de venta del litro de leche diferencial por contenido de CLA

| Aceite g/ día (1) | Costo Variable Precio aceite/ día (2) | Producción Leche L/d (3) | CLA c9t11 | | Cálculo del estudio | | | | Relación Beneficio Costo (9=8/2) |
|----------------------|---|-----------------------------|-----------|---|---|--|--------------------------|----------------------------|---|
| | | | CLA % (4) | Precio de venta litro diferencial por CLA (5) | Total Ingreso Bruto diferencial por CLA (6=3*5) | Total Ingreso Neto diferencial por CLA (7=6-2) | Ingreso adicional (8) | Egreso Adicional (2) | |
| 0 | 0.00 | 11.60 | 1.39 | 1,130.00 | 13,108.00 | 13,108.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 250 | 980.36 | 12.95 | 1.92 | 1,563.99 | 20,253.64 | 19,273.29 | 6,165.29 | 980.36 | 6.29 |
| 500 | 1,960.71 | 11.96 | 2.24 | 1,826.42 | 21,843.98 | 19,883.27 | 6,775.27 | 1,960.71 | 3.46 |

Referencias

- ALLEN, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598–1624.
- ANGULO, J.; HILLER, B.; OLIVERA, M.; MAHECHA, L.; DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; LOSAND, B. ; NUERNBERG, K. 2012. Dietary fatty acid intervention of lactating cows simultaneously affects lipid profiles of meat and milk. *J. Sci. Food Agric.* 92:2968–2974.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. 1999. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th editions. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- BAUMAN, D.E.; HARVATINE, K.J. ; LOCK, A.L. 2011. Nutrigenomics, Rumen-Derived Bioactive Fatty Acids, and the Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 31:299–319.
- BAUMAN, D.; GRIINARI, J. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15–29.
- BENCHAAR, C.; ROMERO-PÉREZ, G.A.; CHOUINARD, P.Y.; HASSANAT, F.; EUGENE, M.; PETIT, H.V.; CÔRTEZ, C. 2012. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci.* 95:4578–4590.
- BICHI, E.; TORAL, P.G.; HERVAS, G.; FRUTOS, P.; GOMEZ-CORTES, P.; JUAREZ, M. ; DE LA FUENTE, M. A. 2012. Inhibition of $\Delta 9$ -desaturase activity with sterculic acid: effect on the endogenous synthesis of cis-9 18:1 and cis-9, trans-11 18:2 in dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 95:5242–5252.
- BOERMAN, J.P. ; LOCK, A.L. 2014. Effect of unsaturated fatty acids and triglycerides from soybeans on milk fat synthesis and biohydrogenation intermediates in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:7031–7042.
- BU, D.P.; WANG, J.Q.; DHIMAN, T.R. ; LIU, S.J. 2007. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:998–1007.
- CERÓN-MUÑOZ, M.; GALEANO VASCO, L. ; RESTREPO BETANCUR, L. 2013. Modelación Aplicada a las Ciencias Animales: Diseño experimental, con implementación del programa R-project. Fondo editorial Biogénesis. Fondo editorial Biogénesis. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia.p. 111-112.
- CHÁVEZ, A., GONZÁLEZ, M.H. y FIERRO, L.C. Consumo voluntario de forrajes en vacas gestantes durante la época de sequía; *Pastizales* 1981; 12:1–12.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44:467–92.
- CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J. ; DOREAU, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109:828–855.
- CONPES - CONSEJO NACIONAL DE POLÍTICA ECONÓMICA Y SOCIAL. República de Colombia. Departamento Nacional de Planeación. 2010. Documento CONPES 3675: Política nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. p.: 18. Bogotá D.C.

- CNL - CONSEJO NACIONAL LÁCTEO. Acuerdo de competitividad de la cadena láctea colombiana. Bogotá, diciembre 2010.
- CORDOVA, F.J., WALLACE, J.D.; PIEPER, R.D. 1978. Forage intake by grazing livestock: A review; J. Range Manage. 31: 430–438.
- CORREA C.H.J.; PABÓN, R.M.L.; CARULLA F.J.E. 2009. Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/corr21059.htm>.
- CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J.K.G.; KENNELLY, J.J.; GLIMM, D.R.; SORENSEN, B. M.; OKINE, E.K.; GOONEWARDENE, L.A. ; WESELAKE, R.J. 2007. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. J. Dairy Sci. 90:3786–3801.
- DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.F. ; SCOLLAN, N.D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. Anim. Feed Sci. Technol. 131:168–206.
- DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W.; GALLI, M.P.; ALBRIGHT, K. ; TOLOSA, M.X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. J. Dairy Sci. 83:1016–1027.
- DRACKLEY, J.K. ; ELLIOTT, J.P. 1993. Milk composition, ruminal characteristics, and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. J. Dairy Sci. 76:183–196.
- FERLAY, A.; DOREAU, M.; MARTIN, C. ; CHILLIARD, Y. 2013. Effects of incremental amounts of extruded linseed on the milk fatty acid composition of dairy cows receiving hay or corn silage. J. Dairy Sci. 96:6577–6595.
- FIELD, C.J.; BLEWETT, H.H.; PROCTOR, S. ; VINE, D. 2009. Human health benefits of vaccenic acid. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 34:979–991.
- GIVENS, D.I. 2010. Milk and meat in our diet: good or bad for health? Animal 4:1941–1952.
- GLASSER, F.; FERLAY, A; DOREAU, M.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D. ; CHILLIARD, Y. 2008. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. J. Dairy Sci. 91:2771–2785.
- GRAINGER, C. ; BEAUCHEMIN, K.A. 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? Anim. Feed Sci. Technol. 166-167:308–320.
- GRIINARI, J.M. ; BAUMAN, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *in* M. Yurawecz, M. Mossoba, J. Kramer, M. Pariza, and G. Nelson, editors. Advances in conjugated linoleic acid research. AOCS Press., Champaign, US. pp 180–200
- HARFOOT, C.G. ; HAZLEWOOD, G.P. 1997. Lipid metabolism in the rumen. *in* P. Hobson and Cs. Stewart, editors. The Rumen Microbial Ecosystem pp.: 382–426. second editions. Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall., London.
- HARRIS, W.S. 2008. Linoleic acid and coronary heart disease. Prostaglandins Leukot Essent Fat. Acids 79:169–171.

- HE, M.; ARMENTANO, L.E. 2011. Effect of fatty acid profile in vegetable oils and antioxidant supplementation on dairy cattle performance and milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 94:2481–2491.
- KRITCHEVSKY, D. 2003. Conjugated linoleic acid in experimental atherosclerosis. *in* J. L. Sebedio, W. W. Christie, and R. Adolf, editors. *Advances In Conjugated Linoleic Acid Research*. AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 292–301.
- LETERME, P.; ESTRADA, F. 2010. Análisis de alimentos y forrajes. *Protocolos de laboratorio*. Universidad Nacional de Colombia, facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira, Colombia.
- LIPPKE, H. 2002. Estimation of Forage Intake by Ruminants on Pasture; *Crop Science* 42:869–872. <http://crop.scijournals.org/cgi/reprint/42/3/869.pdf>.
- LOCK, A.L.; GARNSWORTHY, P.C. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and delta(9)-desaturase activity in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 79:47–59.
- MEJÍA, J. 2002. Consumo voluntario de forraje por bovinos bajo pastoreo; *Acta Universitaria* 12(3):56–63. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/416/41612204.pdf>.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. seventh editions. National Academy Press, Washington, DC.
- PALMQUIST, D.L. 2007. Biohydrogenation then and now. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109(8): 737–739.
- PENNING, P.D.; JOHNSON, R.H. 1983. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake: 2. Indigestible acid detergent fibr. *J. Agric. Sci.* 100:133–138.
- PRIETO-MANRIQUE, E. Efecto de la suplementación con aceites vegetales a vacas pastoreando con/ sin sistema silvopastoril intensivo con leucaena sobre los ácidos grasos en la leche y la producción de metano *in vitro*. 2015. Tesis Dr. Sci.An., Universidad de Antioquia, COL. pp 169-170.
- REGO, O.A.; ALVES, S.P.; ANTUNES, L.M.S.; ROSA, H.J.D.; ALFAIA, C.F.M.; PRATES, J.A. M.; CABRITA, A.R.J.; FONSECA, A.J.M.; BESSA, R.J.B. 2009. Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. *J. Dairy Sci.* 92:4530–4540.
- RICO, D.E.; HARVATINE, K.J. 2013. Induction of and recovery from milk fat depression occurs progressively in dairy cows switched between diets that differ in fiber and oil concentration. *J. Dairy Sci.* 96:6621–6630.
- SALIBA, L.; GERVAIS, R.; LEBEUF, Y.; CHOUINARD, P.Y. 2014. Effect of feeding linseed oil in diets differing in forage to concentrate ratio: 1. Production performance and milk fat content of biohydrogenation intermediates of α -linolenic acid. *J. Dairy Res.* 81:82–90.
- SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. 2008. Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SCHROEDER, G.F.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livest. Prod. Sci.* 86:1–18.
- SHINGFIELD, K.J.; BONNET, M.; SCOLLAN, N.D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7:132–162.

SHINGFIELD, K.J.; CHILLIARD, Y.; TOIVONEN, V.; KAIRENIUS, P. ; GIVENS, D.I. 2008. Trans fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. *Adv. Exp. Med. Biol.* 606:3–65.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; GRIINARI, J.M.; GRANDISON, A.S.; BEEVER, D.E. 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:714–732.

SOUZA, M.C., OLIVEIRA, A.S., ARAÚJO, C.V., BRITO, A.F., TEIXEIRA, R.M.A., MOARES, E.H., and MOURA, D.C. 2014. *Short communication*: Prediction of intake in dairy cows under tropical conditions. *J. Dairy Sci.* 97:3845–3854.

TEQUIN-OCAMPO, E.B. 2014. Estudio de la influencia de la suplementación lipídica en la dieta de bovinos sobre los ácidos grasos funcionales de la leche y la producción de metano y ácidos grasos volátiles del fluido ruminal por cromatografía de gases. Tesis MSc. Universidad de Caldas, Manizales, COL.

ULBRICHT, T.L. ; SOUTHGATE, D.A. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338:985–992.

VARGAS-BELLO-PÉREZ, E.; FEHRMANN-CARTES, K.; ÍÑIGUEZ-GONZÁLEZ, G.; TORO-MUJICA, P. ; GARNSWORTHY, P. C. 2015. Short communication: Chemical composition, fatty acid composition, and sensory characteristics of Chanco cheese from dairy cows supplemented with soybean and hydrogenated vegetable oils. *J. Dairy Sci.* 98:111–117.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. ; LEWIS, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597.

WATKINS, B. ; LI, Y. 2003. CLA in functional food: enrichment of animal products. *in* J.-L. Sébédio, W. W. Christie, and R. Adlof, editors. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 174–188.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMAA, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.* 59:381–385.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO Technical Report Series 916, Geneva, Switzerland.