



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE DOS TIPOS DE ACIDOS GRASOS
SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN VACAS F1 (*Bos Taurus x Bos
indicus*) DURANTE EL POSPARTO TEMPRANO**

**PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
EDGAR BEDOLLA ORTEGA**

**ASESOR:
Dr. José Herrera Camacho**

Morelia, Michoacán. Abril 2010.





UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE DOS TIPOS DE ACIDOS GRASOS
SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN VACAS F1 (*Bos Taurus x Bos
indicus*) DURANTE EL POSPARTO TEMPRANO**

**PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
EDGAR BEDOLLA ORTEGA**

**ASESOR:
Dr. José Herrera Camacho**

Morelia, Michoacán. Abril 2011

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE DOS TIPOS DE ACIDOS GRASOS SOBRE LA COMPOSICIÓN
LECHE EN VACAS F1 (*Bos Taurus x Bos indicus*) DURANTE EL POSPARTO TEMPRANO**



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE DOS TIPOS DE ACIDOS GRASOS
SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN VACAS F1 (*Bos Taurus* x *Bos
indicus*) DURANTE EL POSPARTO TEMPRANO**

AGRADECIMIENTO

A mis padres (Romelia Bermúdez Delgado, Jesús Bedolla Ortega y Juana Ortega Villanueva):

Quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a un hijo: amor. A quienes sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme. A quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en persona de provecho. A quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo. No es fácil llegar, se necesita ahínco, lucha y deseo, pero sobre todo apoyo como el que he recibido durante este tiempo. Ahora más que nunca se acredita mi cariño, admiración y respeto. He llegado al final de este camino y en mi han quedado marcadas huellas profundas de éste recorrido. Son Madres sus miradas y sus alientos. Son Padre tu trabajo y esfuerzo. Por esto y por mucho más... Gracias.

Dr. José Herrera Camacho: Como un testimonio de gratitud por ser más que un maestro porque en cada clase mostraba el interés de trasmitirnos el mayor grado de conocimientos, más que un asesor por el tiempo e interés y conocimientos que me trasmitió y mas que un amigo por los consejos que aunque no los ponía en su totalidad en práctica ahí estaba para reafirmarlos cada vez que los necesitaba. Desde que tuve la oportunidad de conocerle fue separando las barreras y se ha convertido en todo lo antes mencionado además de ser una inspiración y motivación de éxito. Gracias...

M.C. Alejandra Marín: Gracias por despertarme el interés por la nutrición, además por estar ahí cuando necesitaba de su asesoría y por trasmitirme experiencia en las charlas, tanto en lo profesional como en moral.

A las QFB. Ochoa Salazar Maria De la Paz QFB. Reyes Villalobos Celina por su valiosa contribución en el presente trabajo, al analizar y permitirme conocer las técnicas requeridas para el presente proyecto y otros análisis de importancia en mi formación.

A mis hermanos (Chayo, Lulú, Napo, Ofe, Jesús, Hugo, Luz, Pila y Edenni): Sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer en esta vida de lucha y superación constante, deseo expresarles que el fruto del inmenso apoyo y confianza que en mi se depositó para que los esfuerzos y sacrificios hechos por mí no fueran en vano, mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos y constituye el legado más grande que pudiera recibir. Gracias.

A mi nueva familia (Mi esposa Conny y mi nena Laidy): Gracias mami por estar ahí siempre en los momentos buenos y malos, durante esta etapa de mi vida, por alentar, ayudarme a levantarme. Gracias nena por ser inspiración y motivación.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por ser la institución que me cobijo por 5 años, tiempo en el que además de prepararme profesionalmente, tuve la oportunidad de conocer gente maravillosa. Amigos y compañeros (Raúl, Viry, Gaona, Cris, Toño, Gabriel, Damián, Juan... en fin todos: Gracias por hacer me placentera e inolvidable esta etapa de mi vida, con cada uno de ustedes viví experiencias que será muy poco probable que las olvidemos por esto y mucho mas gracias.

“Mi Trofeo Es También Vuestro”

EDGAR BEDOLLA ORTEGA

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA	2
2.2 FISIOLÓGÍA DIGESTIVA DE LOS RUMIANTES	4
2.2.1 Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono	4
2.2.2 Metabolismo ruminal de los compuestos nitrogenados	12
2.2.3 Metabolismo ruminal de los lípidos	17
2.2.4 Absorción y destino metabólico de los nutrientes	21
2.2.4.1 Ácidos grasos volátiles y glucosa	21
2.2.4.2 Péptidos y aminoácidos	25
2.2.3 Lípidos	28
2.3 COMPOSICIÓN DE LA LECHE	34
2.3.1 Proteínas	35
2.3.2 Lípidos	36
2.3.3 Lactosa	37
2.3.4 Componentes inorgánicos	37
2.4. MECANISMO DE SÍNTESIS DE LA GRASA DE LA LECHE	38
2.4.1 Síntesis de ácidos grasos	38
2.4.2 Síntesis de triglicéridos	40
2.4.3 Síntesis de fosfoglicéridos	41
2.4.4 Secreción de la grasa de la leche	42
2.5. SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE	43
2.6. SÍNTESIS DE LA LACTOSA	44
2.7. FACTORES QUE MODIFICAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE	47

2.7.1 Factores Raciales y genéticos	47
2.7.2 Factores Ambientales y de manejo	48
2.7.3 Factores asociados a la condición sanitaria y fisiológica de las vacas	50
2.7.4 Factores nutricionales y de manejo alimentario	51
2.7.4.1 Manejos nutricionales para modificar los constituyentes de la leche	54
2.7.4.1.1 Modificación del contenido graso	54
2.7.4.1.2 Modificación de proteína	59
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	66
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	67
V. RESULTADOS	69
VI. DISCUSION	71
VII. Conclusión	78
VIII. BIBLIOGRAFIA	79
IX. ANEXOS	87

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición y características de las lipoproteínas plasmáticas del bovino	30
Cuadro 2. Composición de la leche	34
Cuadro 3. Composición del la leche de acuerdo a la raza	48
Cuadro 4.- Efecto de la relación F/C sobre parámetros ruminales.	55
Cuadro 5.- Efectos de la relación F/C y del tipo de carbohidratos sobre la producción y composición de leche	56
Cuadro 6.- Efectos del tipo de grasa utilizado sobre la producción y composición de leche. Respuestas observadas en % sobre la ración control.	58
Cuadro 7. Variación de la producción de grasas.	64
Cuadro 8.- Variación de la producción de grasa.	65
Cuadro 9. Efectos de la adición de lisina y metionina protegida sobre la producción y composición de leche en distintas fases de la lactancia.	65
Cuadro 10. Ingredientes de la dieta (% en base seca) y valor nutricional de la dieta utilizada	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fermentación ruminal de los hidratos de carbono en el rumen	8
Figura 2. Síntesis del metano para regenerar cofactor oxidado (NAD).	10
Figura 3. Producción de AG de acuerdo con la dieta	11
Figura 4. Proceso de biohidrogenación ruminal. AGLC: ácido graso linoleico conjugado, 18:3 ácido graso linolénico, 18:2 ácido linoleico, Trans- 11 18:1, Cis 18:1 ácido oleico, 18:0 ácido esteárico.	20
Figura 5. Efecto de las hormonas sobre el metabolismo proteico	28
Figura 6: Lipogénesis extrahepática en el rumiante. La síntesis de ácidos grasos a partir de glucosa está inhibida en hígado y es reemplazada por la síntesis en otros tejidos, como la glándula mamaria. OAA: oxaloacetato. ACC: Acetil-Coa carboxilasa.	32
Figura 7. Variación de los componentes de la leche	36
Figura 8. Mecanismo de síntesis y secreción de la grasa de la leche bovina	42
Figura 9. Síntesis de la lactosa	45
Figura 10. Síntesis de lactosa en la célula	47
Figura 11. Efectos del consumo de energía y proteína sobre la proteína láctea.	61
Figura 12. Curvas de degradación de diferentes tipos de carbohidratos y de la proteína soluble.	62
Figura 13. Inclusión de fuentes proteicas tratadas sobre la producción de leche.	63
Figura 14. Comportamiento de la grasa.	69
Figura 15. Comportamiento de la proteína	70
Figura 16. Comportamiento de los sólidos totales.	71

I. INTRODUCCIÓN

El contenido de grasa en la leche puede variar de <3 % y hasta >6 %, dependiendo del genotipo, la alimentación y el estado de salud de la vaca (Chilliard *et al.*, 2003). La grasa se encuentra emulsificada en forma de glóbulos grasos de un tamaño de 0.1 a 6 μ (Cox y Lehninger, 2006) rodeados de una membrana de fosfolíptidos y proteínas que le imparten estabilidad y evitan su coalescencia (Christie, 1981). La estabilidad de la emulsión se rompe con el batido, la congelación o la acción de agentes químicos (ácidos, detergentes, entre otros solventes), y es aumentada por la homogeneización que reduce el tamaño de los glóbulos a 2 μ o menos de diámetro. El porcentaje de sólidos totales es de 12.7% representados por la grasa en emulsión, las proteínas en suspensión coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución, Los componentes sólidos no grasos representan en promedio 8.7 % (Razz y Clavero, 2007).

Durante la digestión, las grasas se descomponen en sus partículas elementales para atravesar la membrana intestinal y ser absorbidas eficazmente y se recomponen con otra estructura, lo que puede modificar el contenido de grasa en la dieta. Los ácidos grasos de menos de 12 carbonos pasan directamente a la sangre y son transportados al hígado donde se unen con moléculas de proteínas, fosfolípidos y colesterol formando las lipoproteínas (Valenzuela *et al.*, 2006). Los lípidos se transportan en sangre hacia la glándula mamaria en lipoproteínas y allí se sintetizan los lípidos de la leche (Razz y Clavero, 2007).

La concentración de algunos componentes de la leche (grasa y proteína), están directamente relacionados con el consumo de energía (Gagliostro y Schroeder, 2007), los cuales pueden ser incrementados con la suplementación con concentrados comerciales o mejorando la cantidad de forraje (Hernández y Ponce, 2003). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de dos fuentes de ácidos grasos la composición química de la leche en vacas F1.

II. ANTECEDENTES

2.1 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

El desarrollo de la glándula mamaria se inicia en la etapa fetal. Todavía en el segundo mes de gestación se inicia la formación de los pezones y el desarrollo continúa en la sexta semana de gestación. Cuando la ternera está en el sexto mes de gestación, la ubre está desarrollada en su totalidad con cuatro glándulas separadas y el ligamento medio, los pezones y las cisternas. El desarrollo de los ductos mamarios y del tejido secretorio tiene lugar en la pubertad y en el parto. La ubre continúa su crecimiento de células a partir de las cinco lactancias, y la producción de leche se incrementa acorde. Esto no es siempre utilizado totalmente, ya que hoy la vida útil de las vacas es más corta que 2.5 lactancias (Bernard *et al.*, 2008).

La glándula mamaria de las vacas lecheras consiste en cuatro glándulas separadas con cada pezón. La leche que es sintetizada en una glándula no puede pasar a otra de las cuatro glándulas. Los cuartos izquierdos y derechos están sostenidos por ligamentos suspensorios (Angulo y Olivera, 2008).

La ubre es un órgano de grandes dimensiones y pesado, cerca de 50 kg (incluyendo la sangre y la leche). Sin embargo el peso llega hasta 100 kg reportado. Sin embargo, la ubre está bien adherida al esqueleto y a los músculos. Los ligamentos medios están compuestos por tejidos fibrosos, mientras que los ligamentos laterales están compuestos por tejido conectivo con menos elasticidad (Bernard *et al.*, 2008).

La glándula mamaria consiste en tejido secretorio y tejido conectivo. La cantidad de tejido secretorio, o el número de células secretorias es un factor

limitante a la capacidad de producción de la ubre. Es una creencia común que la ubre grande está relacionada con más alta capacidad de producción de leche. Esto es sin embargo equivocado ya que la ubre grande puede tener mucho tejido conectivo y adiposo. La leche es sintetizada en las células secretorias, lo que está dispuesto a partir de células paralelas en una estructura llamada alveolo. El diámetro de cada alveolo es de 50-250 μ m. Varios alveolos forman los lóbulos. La estructura de esta área es muy similar a la estructura del pulmón. La leche que continuamente está sintetizada en el área alveolar, es almacenada en los alveolos, los ductos mamarios y las cisternas de los pezones entre ordeños (Angulo y Olivera, 2008).

El 60-80% de la leche es almacenada en los alveolos y los pequeños ductos de leche, mientras que las cisternas 20 a 40%. Sin embargo hay una gran variación entre vacas en el almacenamiento de la leche en las cisternas. Esto es de importancia para el manejo de la rutina de ordeño (Angulo y Olivera, 2008).

El pezón consiste en una cisterna y el canal del pezón. Donde la cisterna del pezón se une con el canal, 6 a 10 anillos longitudinales forman lo que se llaman la roseta de Fürstenbergs, lo que está asociado a la defensa contra la mastitis. El canal del pezón está alrededor de músculos fibrosos, longitudinales y circulares. Entre los ordeños los músculos mantienen el canal del pezón cerrado. El canal del pezón también está provisto de queratina o sustancias asociadas a la misma para la prevención de la entrada de bacterias (Angulo y Olivera, 2008).

La glándula mamaria está densamente inervada especialmente en el pezón. La piel del pezón está provista con nervios sensoriales que son los que reciben los impulsos del ternero a la hora de mamar. La ubre está también provista de nervios conectados a los músculos en el sistema y a los ductos mamarios. Sin embargo

no hay invasión directamente invando a la producción de leche (Bernard *et al.*, 2008).

La glándula mamaria está bien soportada por vasos sanguíneos, arterias y venas. Los cuartos derechos e izquierdos se manejan de manera separada y con su sistema circulatorio individual, hay pequeñas arterias que pasan de uno a otro. La función principal del sistema arterial es proveer una fuente continua de nutrientes a las células de síntesis de leche. Para producir un litro de leche deben pasar 500 lts de sangre por la ubre (Angulo y Olivera, 2008).

La ubre también contiene el sistema linfático. Lleva los productos de desechos fuera de la ubre. Los nódulos linfáticos sirven como un filtro para destruir sustancias extrañas, también para proveer una fuente de linfocitos para prevenir infecciones (Angulo y Olivera, 2008).

2.2 FISIOLÓGÍA DIGESTIVA DE LOS RUMIANTES

2.2.1 Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono

Los hidratos de carbono pueden ser de reserva, estructurales o bien azúcares, y la degradación de cada tipo posee características propias (Relling y Mattioli, 2003).

En base a su estructura y función los H2OC pueden clasificarse en polisacáridos de reserva, como el almidón, polisacáridos estructurales como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina, y finalmente H2OC simples o azúcares, entre los cuales encontramos mono y disacáridos (Cunningham, 1994).

El almidón es un polímero de moléculas de D-glucosa ordenadas como una cadena lineal con enlaces glucosídicos alfa 1-4 en la amilosa, o con ramificaciones que se inician en uniones glucosídicas alfa 1-6 en la amilopectina. Igualmente todos estos enlaces en el almidón, por ser de tipo alfa, son desdoblados tanto por los microorganismos amilolíticos del rumen como por la amilasa pancreática del animal (Relling y Mattioli, 2003).

El almidón es un polisacárido de reserva para los vegetales y está presente especialmente en los granos. Como poseen baja concentración de agua y aportan mucha energía en poco volumen, los granos se consideran un alimento concentrado energético. Al ingresar con la dieta el almidón es atacado principalmente por las bacterias amilolíticas que lo desdoblan para consumir glucosa y producir AGV, especialmente propionato. La digestibilidad del almidón en el rumen es elevada y la fracción que logra pasar al intestino puede ser degradado por la amilasa pancreática y así absorberse como glucosa. Esta última alternativa favorece al rumiante al aportarle una fuente directa de glucosa, que de otro modo debería sintetizar por gluconeogénesis hepática empleando el propionato absorbido en el rumen. Un mecanismo que transfiere pequeñas cantidades de almidón al intestino son los protozoos, que pueden almacenarlo en su cuerpo. La digestibilidad ruminal del almidón depende en gran medida de la facilidad con que acceden a él las bacterias amilolíticas (Church, 1988; Relling y Mattioli, 2003).

Los H2OC estructurales (celulosa, hemicelulosa y pectina) reciben este nombre porque sirven de estructura y sostén del vegetal. Los vegetales, carentes de esqueleto, mantienen en parte su forma gracias a la presencia de una pared celular rígida, que rodea a las células vegetales. Los H2OC estructurales se disponen de un modo semejante al tejido conjuntivo animal. La celulosa, de naturaleza fibrilar, se asemeja al colágeno, mientras que la hemicelulosa, la pectina y la lignina fijan estas fibras de modo similar a como lo hacen el ácido

hialurónico y el condroitín sulfato en el conectivo animal. Cuando el forraje es tierno, las paredes celulares poseen la mayor concentración de pectinas, y a medida que maduran pasan a predominar la celulosa y la hemicelulosa que le otorgan mayor resistencia, para que finalmente aparezcan concentraciones crecientes de lignina, que infiltra la pared celular y le da mayor rigidez y el color amarillento característico del forraje maduro. Entre los componentes de la pared celular se encuentran también cadenas de glucoproteínas (Relling y Mattioli, 2003).

Estructuralmente la celulosa es un polímero de glucosas unidas por enlaces glucosídicos beta 1-4, y su estructura fibrilar le permite unirse entre sí por puentes de hidrógeno, creando fibrillas de gran resistencia. La hemicelulosa y la pectina se caracterizan por ser más heterogéneas, incluyendo monosacáridos neutros y ácidos como el ácido galacturónico, especialmente abundante en la pectina (Cunningham, 1994).

Las uniones glucosídicas de tipo beta no son atacadas por enzimas digestivas, sólo pueden ser degradadas por las enzimas microbianas liberadas por la flora ruminal, lo cual representa la base de la simbiosis bacteria-rumiante en los procesos digestivos fermentativos (Relling y Mattioli, 2003).

La degradación de los H₂O_C estructurales sigue los siguientes pasos (Relling y Mattioli, 2003):

- a) *Los microorganismos celulolíticos se adhieren a la superficie de los trozos de fibra vegetal, cortada por efecto de la masticación, mezclado y rumia con el fin de exponer la pared celular. Si bien el ataque bacteriano puede realizarse sobre la superficie de la hoja, esta está recubierta por ceras que perjudican la adhesión celular y en este caso las bacterias inician*

su acción sobre los estomas foliares libres de ceras, de cualquier modo la degradación sería muy lenta si no mediase la ruptura del forraje.

b) *Los microorganismos liberan en el medio ruminal celulasas que realizan la digestión extracelular de la celulosa produciendo residuos pequeños, especialmente celobiosa (disacárido). El efecto de las celulasas sobre la superficie de la fibra vegetal se observa como canales, visibles al microscopio, denominados “figuras de corrosión”.*

c) *La celobiosa es incorporada a la bacteria y atacada por la celobiasa, que la desdoblará en dos glucosas.*

d) *La glucosa es utilizada por el microorganismo para obtener energía vía glucolítica y producir AGV como producto final, principalmente acetato, que es eliminado del soma bacteriano.*

La celulosa representa del 10 al 30 % de la materia seca del forraje y su digestibilidad varía entre el 50 y el 75 %. La hemicelulosa se encuentra en una concentración algo menor (10-25 % de la materia seca) y su digestibilidad varía entre el 35 y el 80 %. Las variaciones en la digestibilidad de ambas están provocadas fundamentalmente por la concentración de lignina en el forraje. Estructuralmente la lignina no es un H₂O_C, sino un polímero de unidades fenil propano de estructura muy compleja y de elevado peso molecular. Representa menos del 3 % de la materia seca en forrales tiernos y aumenta con el ciclo vegetativo hasta concentraciones superiores al 15 %. Como no es digestible ni por las enzimas digestivas del animal ni por las microbianas del rumen, carece de valor nutricional y además bloquea el acceso de los microorganismos a los H₂O_C de la pared. Una de las características funcionales más importantes de los hongos en el ecosistema ruminal es su capacidad para degradar celulosa unida a lignina. Esta propiedad se debería al efecto mecánico de las hifas que se introducen en

las cutículas y paredes celulares lignificadas y al dividirse la rompen, exponiendo los H₂O_C estructurales. Por esta razón los hongos adquieren importancia en dietas que emplean forrajes muy lignificados como la paja de trigo, duplicando la capacidad celulolítica de las bacterias (Cunningham, 1994).

La digestión ruminal de las pectinas es muy diferente de los otros H₂O_C estructurales. Si bien forman parte de la pared celular son cuantitativamente importantes en los forrajes tiernos, en los cuales la pared celular poco desarrolla facilita su disponibilidad a nivel ruminal. Además, las pectinas son ricas en ácido galacturónico, que al poseer carga les otorgan una solubilidad que las hace casi completamente digestibles. Por esta razón las pruebas más comunes de valoración de los alimentos incluyen las pectinas en el mismo grupo que los azúcares, como H₂O_C solubles (Relling y Mattioli, 2003).

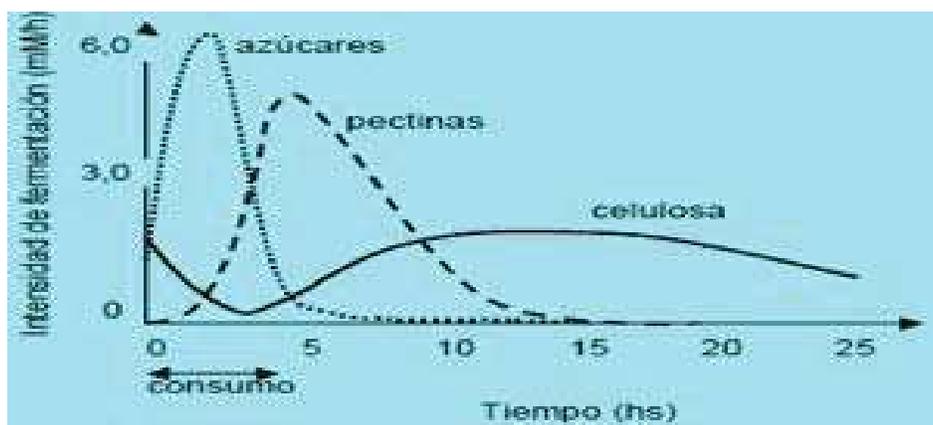


Figura 1. Fermentación ruminal de los hidratos de carbono en el rumen.

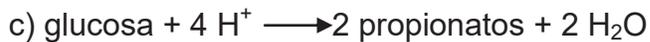
Los H₂O_C simples o azúcares se encuentran generalmente en concentraciones menores al 10 %, salvo en los pastos tiernos de primavera, durante el rebrote del forraje, cuando alcanzan hasta el 20 % de la materia seca. Se encuentran dentro de las células vegetales y se solubilizan rápidamente en el líquido ruminal, por lo cual su degradación en el rumen es completa y tan rápida que cuesta encontrarlos (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

Del mismo modo que los azúcares simples poseen alta disponibilidad ruminal, lo propio ocurre con el resto de los componentes del contenido celular (fosfolípidos y proteínas solubles). Por esta razón, cuando un rumiante consume forrajes tiernos, como en un rebrote de primavera por ejemplo, la relación contenido: pared celular es suficientemente alta como para crear condiciones de fermentación muy diferentes a cuando el animal consume forrajes maduros con alto contenido de pared celular. En este último caso el predominio de “fibra”, o H₂O_C no solubles (celulosa y hemicelulosa) condiciona el desarrollo de un ambiente típicamente celulolítico, con pH superior a 6 y baja producción y absorción de AGV, entre los que predomina el acetato. Cuando lo que predomina es contenido celular de alta disponibilidad, aunque el animal se alimente de forraje el aporte de “fibra” es bajo y las condiciones ruminales resultantes serán más semejantes a dietas suplementadas con almidón, con menor pH y mayor producción de AGV, en particular de propionato (Relling y Mattioli, 2003).

El balance energético de la fermentación está condicionado por el tipo de AGV producido

Al ser el ambiente ruminal fuertemente anaeróbico los microorganismos sólo disponen de la vía glucolítica para obtener energía, produciendo AGV (C₂, C₃ o C₄), ATP y NADH + H⁺. Los microorganismos utilizan el ATP como fuente de energía y eliminan el AGV como un producto de desecho. Para poder degradar una segunda molécula de glucosa por la vía glucolítica necesitarán que el cofactor que se ha reducido (NADH + H⁺) sea nuevamente oxidado (NAD). Como el metabolismo microbiano es anaerobio y por lo tanto no existe una cadena respiratoria que acepte estos hidrogeniones, los microorganismos los transfieren a distintos aceptores o sumideros de hidrógeno. Uno de los más importantes es el carbono, originando la formación de metano (CH₄). A pesar de que este compuesto posee energía intrínseca no puede ser aprovechado por el rumiante, que no posee una ruta metabólica para degradarlo, y se pierde por eructación. Es así como la producción de metano en el rumen reduce la eficiencia en la utilización de los H₂O_C. Esta pérdida puede llegar hasta el 18 % de la energía aportada por

la dieta. Dependiendo del AGV producido, cada vía metabólica produce un balance diferente de hidrogeniones, según las siguientes ecuaciones (Relling y Mattioli, 2003):



Por cada 8 H⁺ producidos (tomados de 4 NADH + H⁺ o FADH₂ que deben oxidarse) se forma un metano (Figura 2).

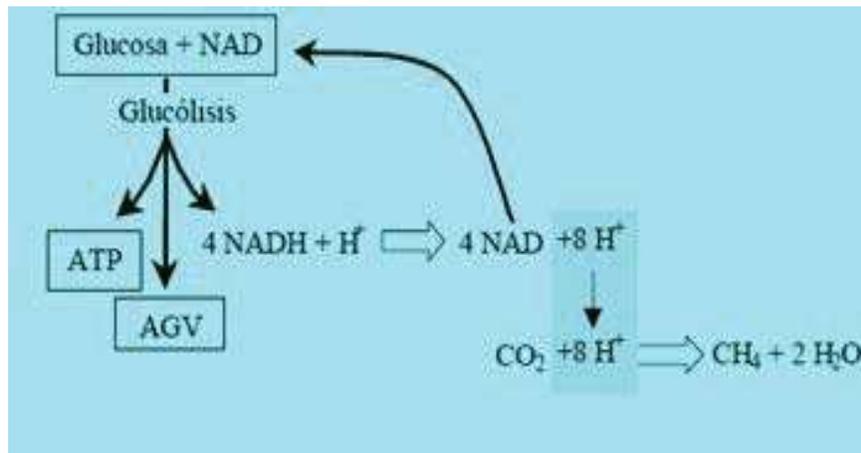


Figura 2. Síntesis del metano para regenerar cofactor oxidado (NAD).

Si se observan las reacciones anteriores, se verá que la formación de metano será mayor con la producción de acetato, menor con la producción de butirato y en cambio se consumen hidrogeniones durante la síntesis de propionato. Esto demuestra que una dieta suplementada con almidón es más eficiente desde el punto de vista energético. Por otro lado la suplementación con almidón aumenta la energía aportada por la dieta, incrementando la producción total de AGV (Figura 3). Cuando la adición de granos no supera el 30 a 35 % del total de materia seca consumida, existe un efecto positivo que favorece incluso la digestión celulolítica de la "fibra", sin alterar el pH ni las características productivas del rumen. Estos

efectos beneficiosos requieren sin embargo de un proceso de adaptación a la dieta. Si el primer día de suplementación se reemplaza el 35 % de la materia seca con granos, el animal correrá serio riesgo de sufrir un cuadro de acidosis ruminal, descendiendo su pH por debajo de 5,5 permitiendo así el crecimiento de la flora lactogénica, productora del lactato y responsable del cuadro clínico de acidosis. Si el cambio de dieta es gradual, el pH desciende más lentamente y permite que desarrolle la flora lactolítica, de crecimiento más lento, que metaboliza el lactato produciendo especialmente propionato. Se requieren de 7 a 14 días para que la flora se adapte a cada cambio gradual de la dieta. Otro aspecto a tener en cuenta entre las consecuencias de la suplementación con almidón es el cambio de pH que se produce en el rumen lo cual se creía que cambiaba destino metabólico de cada AGV, ya que se asume que una relación C2:C3 menor de 3 sería inapropiado para animales en lactancia. Este cambio de pH también cambia la población ruminal y el metabolismo de los ácidos grasos insaturados (Relling y Mattioli, 2003).

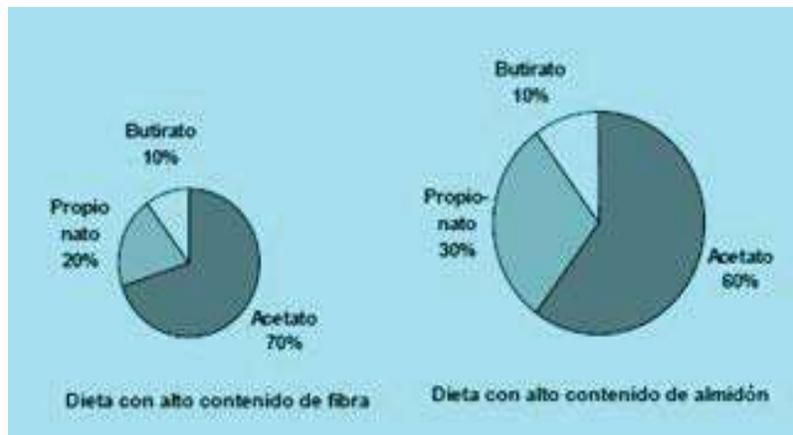


Figura 3. Producción de AG de acuerdo con la dieta.

Además de la producción de metano, otra fuente de pérdida de energía en el rumen es la producción de calor, que representa alrededor del 6,5 % de la energía contenida en la dieta (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

2.2.2 Metabolismo ruminal de los compuestos nitrogenados

Las proteínas y los péptidos son degradados hasta oligopéptidos por la acción de las enzimas proteolíticas pancreáticas (tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa), luego los oligopéptidos son degradados por las oligopeptidasas de la membrana apical de los enterocitos liberando aminoácidos di y tripéptidos que finalmente son absorbidos. Sin embargo, a diferencia de los no rumiantes, la proteína que llega al intestino del rumiante es diferente de la ingerida con la dieta, debido a que los microorganismos ruminales degradan más de la mitad las proteínas consumidas. Lo hacen mediante proteasas de membrana que desdoblan las proteínas en péptidos y algunos aminoácidos libres, los que son absorbidos por el microorganismo. Una vez incorporados al microorganismo los péptidos son hidrolizados hasta aminoácidos, los cuales pueden ser empleados para sintetizar proteína microbiana o bien, como ocurre con la mayor parte de ellos, son utilizados como fuente energética. En este caso los microorganismos separan el grupo amino del aminoácido y lo liberan al medio ruminal como un producto de desecho, y emplean la cadena carbonada para obtener energía como si se tratara de un hidrato de carbono. Por otro lado, los grupos amino (-NH₂) libres se convierten, por adiciones de H⁺ en el ambiente reductor del rumen, en amoníaco (NH₃) y luego en amonio (NH₄⁺), por lo cual la concentración de este último sirve como un indicador de la actividad proteolítica en el rumen. Los protozoarios poseen mayor capacidad proteolítica que las bacterias y los hongos, pero debido a que se encuentran en menor cantidad son responsables solo del 10 al 20 % de la actividad proteolítica ruminal, a la que los hongos contribuyen en un porcentaje todavía menor y son fundamentalmente las bacterias las que realizan la mayor parte de la degradación proteica a nivel ruminal (más del 50 %) (Relling y Mattioli, 2003).

Independientemente del aporte proteico de la dieta, la mayor parte de las proteínas que llegan al intestino del rumiante son propias del soma bacteriano.

Así como los microorganismos cubren una parte de sus requerimientos energéticos desdoblando aminoácidos, las bacterias y los hongos pueden resintetizarlos siguiendo el camino inverso, uniendo cadenas carbonadas, proveniente especialmente de los hidratos de carbono, con grupos amino provenientes del NH_4^+ o desde otra fuente de nitrógeno no proteico (NNP). Se considera que, dependiendo de la dieta, entre el 40 y el 95 % de las proteínas bacterianas derivan del NH_4^+ ruminal. Las bacterias pasan con el quimo hacia el intestino y allí son digeridas, representando una importante fuente de proteínas para el rumiante. Las bacterias poseen entre 30 y 50 % de proteína verdadera, con 70 a 75 % de digestibilidad y un valor biológico (indicador de calidad) aceptable (70 %), aportando los 10 aminoácidos considerados esenciales para los tejidos de mamíferos (Relling y Mattioli, 2003).

Los protozoos no pueden sintetizar proteínas a partir del NH_4^+ y dependen de una fuente de aminoácidos preformados, como la dieta o bien otros microorganismos (bacterias, hongos u otros protozoarios) de los que se alimentan. Cuando los protozoos consumen proteína bacteriana para sintetizar la propia elevan su valor biológico, vale decir que sintetizan una proteína con cantidad y tipo de aminoácidos más cercana a la requerida por el rumiante, y a este efecto se lo denomina “animalización de las proteínas”. Este efecto es claramente beneficioso para el rumiante que finalmente degradará al protozoario en su intestino y aprovechará sus proteínas. Sin embargo, se cree que los protozoos representan alrededor del 10 % de la biomasa microbiana del rumen y aportan un porcentaje aún menor de la proteína microbiana que llega al intestino, debido a que utilizan su motilidad para alejarse de la zona de escape. Otro efecto negativo de los protozoos es que consumen microorganismos que ya son una fuente proteica para

el rumiante, haciendo que del 30 al 50 % del nitrógeno proteico microbiano se recicle en el rumen (Cunningham, 1994).

La cantidad de proteína bacteriana que llega al intestino depende del aporte energético de la dieta y de su equilibrio con el aporte nitrogenado.

La cantidad de proteína bacteriana que llega al intestino del rumiante depende de dos factores. Por un lado en la medida en que una dieta balanceada aporta mayor cantidad de energía estimula la división microbiana, aumentando su concentración en el rumen y lo por tanto su llegada al intestino. Por otro lado se ha insistido en que las bacterias requieren dos sustratos para sintetizar sus proteínas somáticas, siendo estos las cadenas carbonadas y una fuente de N. Así, la producción ruminal de proteína puede verse afectada por desbalances entre ambos sustratos. Si el desequilibrio se debe a un exceso de nitrógeno, ya sea como proteína verdadera o como alguna fuente de NNP, aumentará la concentración ruminal de NH_4^+ debido a que no es empleado para sintetizar proteínas bacterianas debido a la falta relativa de cadenas carbonadas. El exceso de NH_4^+ perjudica al animal en dos aspectos. Por un lado aumenta el pH ruminal y puede alterar su funcionamiento si éste supera el rango normal y por otra parte el NH_4^+ es absorbido por el rumen y detoxificado en el hígado, mediante la formación de urea, con el consecuente gasto energético adicional para el rumiante (Relling y Mattioli, 2003).

Si el desequilibrio se debe a una falta de nitrógeno en relación a la energía que aporta la dieta, este será el factor limitante para el desarrollo bacteriano ya que no se formarán los grupos amino. Se ha estimado que el mayor desarrollo bacteriano se logra con una concentración ruminal de amoníaco de 5 mg/dl, y valores superiores tienen relación directa con su desbalance con exceso de nitrógeno en la dieta (Cunningham, 1994).

Los forrajes que integran las pasturas o verdes de buena calidad aportan normalmente cantidades adecuadas de proteínas. Sin embargo, estas proteínas poseen alta disponibilidad ruminal, por lo cual son rápidamente degradadas y sirven fundamentalmente como fuente de NH_4^+ para la síntesis de proteína bacteriana. Para ello es necesario que exista también una fuente de hidratos de carbono de rápida disponibilidad. Los forrajes cumplen este requisito especialmente en primavera, al presentar altas concentraciones de hidratos de carbono solubles. Durante el otoño, en cambio, los forrajes tienden a mantener su concentración proteica pero disminuye significativamente la de hidratos de carbono solubles, creando un desbalance que lleva a un exceso de NH_4^+ en el rumen (Cunningham, 1994).

El rumiante mantiene un aporte continuo de nitrógeno para los microorganismos ruminales haciendo recircular urea.

El amoníaco presente en el rumen es completamente absorbido a través de su pared, siendo insignificante la cantidad que consigue pasar al abomaso. Inicialmente se pensaba que sólo se absorbía por difusión simple y a través del epitelio ruminal ya que al ser el NH_3 una molécula sin cargas de superficie (apolar) posee alta liposolubilidad. Luego se demostró que la mayor parte de NH_3 se encuentra y se absorbe como NH_4^+ , que si bién no puede difundir porque su carga de superficie le aporta hidrosolubilidad, es absorbido por mecanismos destinados a la absorción de potasio (K^+), como canales de K^+ o cotransporte $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$. Como el amoníaco es un compuesto tóxico para el organismo es combinado con CO_2 para formar urea. Esta reacción se produce en el hígado por el llamado ciclo de Krebs-Henseleit o de la ornitina y consume energía a razón de tres ATP por molécula de urea producida. En la mayoría de las especies la urea se elimina del organismo a través de la orina, como producto de desecho del metabolismo proteico. El rumiante en cambio aprovecha la urea usándola como una fuente de nitrógeno para los microorganismos ruminales. La urea llega al

rumen secretada con la saliva o directamente a través de la pared ruminal, difundiendo a favor de su gradiente de concentración. Una vez en el rumen es rápidamente desdoblada por la flora ureolítica en CO₂ y amoníaco, cerrando el denominado *ciclo rumino-hepático de la urea* (Church, 1988) y (Relling y Mattioli, 2003).

Una parte de los requerimientos proteicos del animal pueden ser cubiertos con una fuente de nitrógeno no proteico.

Cuando la proteína es un elemento costoso de suplementar, el metabolismo ruminal aporta la posibilidad de reemplazar una parte de las proteínas de la dieta por alguna fuente de NNP más económica, como la urea. Sin embargo, esta alternativa se va perdiendo a medida que el animal aumenta su producción y en consecuencia aumentan también sus requerimientos proteicos, haciendo que dependa cada vez más para cubrirlos de la fracción de proteína verdadera que pasa al intestino sin degradarse en el rumen (proteína pasante o by pass) (Cunningham, 1994).

Otro aspecto importante a considerar es que si bien pueden estar equilibradas las cantidades de NNP y de energía en la dieta, puede existir un desequilibrio en la dinámica de disponibilidad ruminal. Esto puede presentarse cuando se usa urea como NNP y granos como fuente energética. La urea es rápidamente desdoblada por la flora ureolítica y deja libre una cantidad excesiva de amoníaco, debido a que el grano tarda más tiempo en ser degradado (Relling y Mattioli, 2003).

2.2.3 Metabolismo ruminal de los lípidos

Los lípidos se encuentran normalmente en bajas cantidades en los alimentos de origen vegetal. Los forrajes frescos poseen lípidos celulares y de superficie. Los primeros incluyen principalmente fosfolípidos, semejantes a los vistos en las membranas animales y glucolípidos de membrana, especialmente galactolípidos, ricos en ácidos grasos esenciales. Los lípidos de superficie incluyen ceras y cutina, carentes de valor nutritivo. El porcentaje de ácidos grasos en los forrajes verdes puede alcanzar el 8 a 10 % de la materia seca (MS) en el caso de pastos tiernos, observándose valores mínimos (0,5 a 1 % de la MS) en pastos henificados, o maduros y fructificados durante el verano. Los granos de oleaginosas, como girasol y soja, son ricos en lípidos (20-40 % de la MS) con un elevado contenido de triglicéridos. Las tortas, subproductos de la extracción del aceite, contienen hasta un 3 % de lípidos, mientras que los granos de cereales varían entre el 2,1 % (trigo) y el 7,1 % (avena). Tanto los forrajes como las semillas poseen un elevado porcentaje de ácidos grasos insaturados. Esto es importante debido a que los ácidos linoleico (C18:2 n-6) y linolénico (C18:3 n-3) son considerados esenciales, o sea que deben ser aportados por la dieta porque el organismo es incapaz de sintetizarlo o bien lo hace por debajo de los requerimientos. El ácido araquidónico (C20:4 n-6), empleado para la síntesis de prostaglandinas, es considerado esencial a pesar de que puede ser sintetizado a partir del linoleico. De todas formas la cantidad de los ácidos grasos insaturados que llegan al intestino delgado es mínima debido al proceso de biohidrogenación que ocurre en el rumen (Relling y Mattioli, 2003).

Cuatro procesos ocurren a nivel ruminal con los lípidos: hidrólisis, biohidrogenación, síntesis y saponificación de ácidos grasos.

De estos cuatro procesos, la hidrólisis, luego la biohidrogenación, síntesis y por último la saponificación, se realizan siempre y en forma sucesiva. El proceso de síntesis de grasas a nivel ruminal depende de la cantidad de ácidos grasos consumidos (Church, 1988) y (Relling y Mattioli, 2003).

El primer paso de la digestión de las grasas en el rumen consiste en procesos de hidrólisis por lipasas bacterianas, ubicadas en la superficie de los microorganismos, por lo cual las bacterias necesitan adherirse a la superficie del alimento. Como principales productos de la hidrólisis se liberan ácidos grasos y glicerol, sumados a alcoholes aminados derivados de los fosfolípidos y galactosa de los galactolípidos. Estos últimos junto con el glicerol son metabolizados y convertidos en AGV, que se absorben por la pared ruminal. A continuación, los ácidos grasos insaturados sufren un proceso de hidrogenación microbiana, o biohidrogenación, especialmente por bacterias adheridas al alimento. Esto se debería por un lado a que los ácidos grasos al ser moléculas bipolares disminuyen la digestibilidad de los alimentos, debido a que los extremos hidrofílicos se adhieren al alimento dejando expuesto los extremos hidrofóbicos, lo que dificulta el acceso de las enzimas digestivas bacterianas. Por otro lado los ácidos grasos insaturados alteran la tensión superficial y la permeabilidad de las membranas bacterianas, perjudicando especialmente a la flora celulolítica. Esta hidrogenación no es completa, afecta entre el 70 y el 90 % de los ácidos grasos y queda un remanente que en parte es incorporado al propio soma bacteriano, pasando a ser una fuente de ácidos grasos esenciales e insaturados para el rumiante al ser absorbidos en el intestino (Relling y Mattioli, 2003).

La biohidrogenación lleva varios pasos bioquímicos (Figura 4). Muchas veces la biohidrogenación no es completa quedando productos intermedios, de los cuales algunos tienen funciones metabólicas en los animales. El porcentaje de hidrogenación esta en relación con la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que lleguen al rumen y del pH ruminal. A mayor cantidad de ácidos grasos

insaturados, menor va a ser la proporción de biohidrogenación. Cuando más bajo es el pH ruminal, mayor es la inhibición del crecimiento de las bacterias encargadas de la biohidrogenación, sobretodo del grupo que realiza el último paso (de 18:1 a 18:0), quedando de esa forma mayor cantidad de metabolitos intermedios. La biohidrogenación resulta también útil al inactivar ciertos compuestos tóxicos como alcaloides, fenoles y estrógenos vegetales, y representa para el organismo un ahorro de vitamina E, encargada de proteger a los ácidos grasos insaturados de los procesos oxidativos (Relling y Mattioli, 2003).

Debido al pH ácido del rumen los lípidos se saponifican formando jabones insolubles de calcio y de magnesio, y esta es la forma como el 70 a 80 % de los lípidos abandonan el rumen. El resto de los lípidos llegan al abomaso como fosfolípidos, especialmente de origen microbiano (Relling y Mattioli, 2003).

Los microorganismos ruminales no almacenan lípidos como triglicéridos, pero deben sintetizar sus membranas plasmáticas para lo cual emplean ácidos grasos que toman del rumen o bien que sintetizan en su soma, creando así una variedad de ácidos grasos, algunos de ellos de cadenas impares y ramificadas, los cuales al reciclarse en el rumen por muerte bacteriana representan un factor de crecimiento importante para otros microorganismos, y una vez absorbidos pueden seguir alguna vía común a los demás ácidos grasos, incluso contribuyen a determinar las características organolépticas de la leche, como su olor y sabor. La cantidad de ácidos grasos sintetizados por las bacterias dependen de la cantidad que ingrese por la dieta, disminuyendo a medida aumenta su cantidad. Los lípidos representan el 10 al 15 % de la materia seca bacteriana, sumando 100 a 150 gramos diarios a los lípidos aportados por la dieta (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

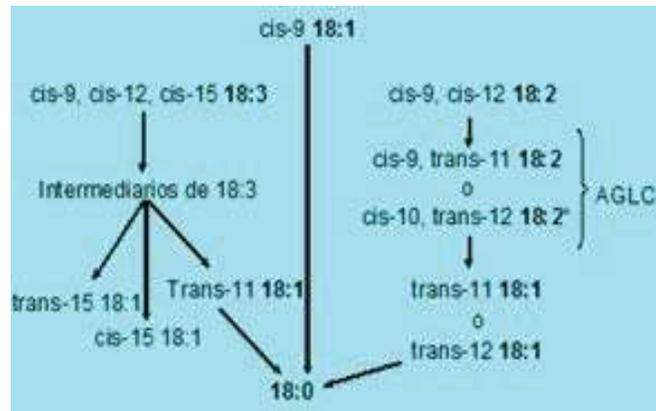


Figura 4. Proceso de biohidrogenación ruminal. AGLC: ácido graso linoleico conjugado, 18:3 ácido graso linolénico, 18:2 ácido linoleico, Trans- 11 18:1, Cis 18:1 ácido oleico, 18:0 ácido esteárico

El bajo pH del abomaso y de la porción proximal del duodeno separa los ácidos grasos del catión, los pasa a la forma no disociada y los obliga a adherirse a partículas sólidas, lo cual posibilitará su absorción intestinal. Los lípidos son emulsionados por la secreción biliar, la cual es especialmente rica en sales biliares y en fosfatidilcolina o lecitina, que junto a las demás secreciones que se vuelcan al intestino aportan una cantidad de lípidos equivalente a la que llega del rumen. Debido a la baja velocidad de la secreción pancreática y a su pobre contenido de bicarbonato, el pH intestinal permanece bajo y la lipasa (de poca importancia en el rumiante) y fosfolipasas pancreáticas logran actuar a partir del yeyuno. Con dietas convencionales el 25 % de los ácidos grasos son absorbidos en el yeyuno proximal (pH 2,8 a 4,2) y el 55 a 65 % en el yeyuno medio y distal (pH 4,2 a 7,6). Las sales biliares son reabsorbidas en el yeyuno e íleon para cumplir con su ciclo enterohepático (Relling y Mattioli, 2003).

2.2.4 Absorción y destino metabólico de los nutrientes

2.2.4.1 Ácidos grasos volátiles y glucosa

Si se tiene en cuenta que el 60 al 80 % de los requerimientos energéticos del rumiante son cubiertos por los AGV absorbidos y en parte metabolizados en la mucosa ruminal, resulta evidente que no se trata de un simple epitelio protector, como podría sugerir su estratificación y queratinización. Es por el contrario un eficiente epitelio absortivo, selectivo gracias al cierre de la vía paracelular por uniones estrechas y a la apertura de la vía transcelular mediante conexiones intercelular por uniones GAP. Esta conformación le permite al epitelio poseer un flujo neto de ingreso de Na^+ al colocar una mayor concentración de Na-K-ATPasas en el estrato basal. La absorción de Na^+ se asocia al ingreso de Cl^- , HCO_3^- y AGV hacia el medio interno (Relling y Mattioli, 2003).

Los AGV se absorben por dos mecanismos diferentes, dependiendo de su estado de disociación. Cuando se encuentran en su forma no disociada y por lo tanto liposoluble, son absorbidos por difusión simple a través de la membrana luminal. Cuando los AGV se encuentran disociados la capa de hidratación les quita liposolubilidad y les aumenta el diámetro, impidiéndoles difundir por la membrana celular, por lo cual deben ser contratransportados con bicarbonato intracelular (Relling y Mattioli, 2003).

Aparentemente los mecanismos por los cuales los AGV abandonan la superficie basal son semejantes a los citados para la absorción luminal, sufriendo diferentes grados de metabolización. Con respecto al acetato, una pequeña cantidad puede ser utilizada como fuente energética en la mucosa, pero la gran mayoría pasa a la circulación portal, desde la cual será captado en un 20 % por el

hígado y el resto pasará a la circulación general para ser tomado por otros tejidos. Con respecto al propionato una fracción es degradada o convertida en lactato antes o durante su absorción. El resto del propionato pasa a la circulación portal y un 95 % es captado por el hígado. El butirato absorbido es convertido casi en su totalidad en betahidroxibutirato en la propia mucosa ruminal. Este cuerpo cetónico, junto a la pequeña cantidad de butirato que queda, pasa a la circulación portal (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

La glucosa absorbida en el intestino llega generalmente en forma de almidón, ya sea libre o bien dentro de los protozoos. Uno de los estímulos más importantes de la secreción de amilasa pancreática es la llegada de proteína verdadera al intestino, demostrando una vez más la importancia del balance glucídico-proteico en los rumiantes. Si bien una pequeña cantidad de glucosa podría pasar por la vía paracelular cuando aumenta su concentración, su absorción depende principalmente de un cotransporte con Na⁺, y la capacidad de estos transportadores no parece ser una limitante de la absorción, ya que pueden duplicar su número en sólo 2 a 4 días (Cunningham, 1994).

Cada AGV posee un destino metabólico distinto.

Los AGV con número par de carbonos (C2 y C4) pueden ser usados como fuente energética directa en cualquier tejido, ingresando como acetyl-CoA al ciclo de Krebs, o bien ser empleados para sintetizar ácidos grasos, por lo cual se los considera lipogénicos. El propionato posee un destino completamente distinto, ya que es el único de los tres AGV que puede ser convertido en glucosa. Por esta razón se lo considera glucogénico y adquiere gran importancia en la nutrición de los rumiantes, quienes deben sintetizar la mayor parte de la glucosa que necesitan (Cunningham, 1994) y (Relling y Mattioli, 2003).

Los requerimientos de glucosa del rumiante sólo pueden ser cubiertos por gluconeogénesis.

Si bien las células pueden obtener energía por oxidación de diferentes compuestos, sean éstos monosacáridos, ácidos grasos o aminoácidos, la principal fuente energética para los tejidos es la glucosa, incluso es la única de importancia para el sistema nervioso, el cual podría cubrir hasta el 50 % de sus requerimientos energéticos con ácidos grasos o cuerpos cetónicos, pero requiere para ello de un período de adaptación. Siendo entonces tan evidente la importancia de mantener un aporte continuo de glucosa a los tejidos, el organismo controla dentro de un rango estrecho su concentración plasmática o glucemia. Si bien los rumiantes poseen una glucemia inferior a los no rumiantes (40 a 60 contra 100 mg/dl respectivamente), sus requerimientos de glucosa son igualmente elevados. Esto se debe a que sus tejidos poseen el mismo metabolismo basal que en los no rumiantes y los requerimientos aumentan por las exigencias de la producción (masa corporal, lana o leche). Así, una vaca lechera de 500 kg de peso vivo requiere 500 g de glucosa por día sólo para mantenerse viva y sin perder peso, mientras que cuando produce 30 kg de leche por día los requerimientos se elevan a 2500 g diarios. Debido a que la mayor parte de la glucosa consumida por los rumiantes es convertida en AGV en el rumen, la cantidad de glucosa que llega intacta al intestino y logra ser absorbida es muy limitada. Esta fracción cubre apenas el 5 al 15 % de los requerimientos cuando la dieta es rica en fibra, y llega al 30 % si ésta es rica en almidón con capacidad pasante. Estas características hacen que los rumiantes deban sintetizar la glucosa que necesitan a partir de compuestos no glucídicos (gluconeogénesis). Esta función la realiza principalmente el hígado y secundariamente el riñón (Cunningham, 1994).

El hígado es el principal órgano formador de glucosa y llega a sintetizar hasta el 85 a 90 % del total cuando se emplean dietas ricas en fibra. Emplea como principales sustratos propionato, lactato, aminoácidos y glicerol. El propionato es

el principal precursor hepático, a partir del cual se sintetiza del 25 al 55 % de la glucosa, dependiendo de su producción ruminal, de modo que este porcentaje llega al 65 % cuando la dieta es rica en almidón. A partir del lactato el hígado sintetiza del 5 al 15 % de la glucosa. El lactato proviene en parte de la absorción ruminal, e incluye el producido por la flora microbiana y el formado en la pared ruminal a partir del propionato absorbido. La mayor parte del lactato llega al hígado proveniente de los tejidos, especialmente como producto de la glucogenolisis. El hígado utiliza los aminoácidos excedentes de la dieta y los procedentes del recambio proteico normal en los tejidos, formando glucosa con sus cadenas carbonadas y urea o glutamina con los grupos amino. Todos los aminoácidos, a excepción de lisina, taurina y leucina, son glucogénicos, y pueden sostener más del 30 % de la gluconeogénesis hepática. Los aminoácidos glucogénicos más importantes son alanina, glutamina, glicina y serina (70 %), especialmente los dos primeros (40-60%). Alanina y glutamina provienen especialmente del músculo, el cual los elimina al plasma como productos de su metabolismo proteico. En el tejido muscular parte de los aminoácidos son desaminados, destinando los cetoácidos para obtener energía. Los grupos amino, que no pueden quedar libres por ser tóxicos, son añadidos a otras cadenas carbonadas formando alanina a partir de piruvato y glutamina a partir de los ácidos α -ceto glutárico y glutámico. La producción de glutamina en el músculo es una vía importante para deshacerse del amoníaco, debido a que el tejido muscular no puede sintetizar urea para neutralizarlo. La glutamina muscular va al hígado donde libera el amoníaco para ser neutralizado como urea, y en parte es captada por el riñón, quien la emplea para sintetizar glucosa y liberar amoníaco a la orina. Finalmente el hígado puede emplear también glicerol para sintetizar glucosa. Este compuesto es liberado por el tejido adiposo durante la lipólisis, por lo cual la gluconeogénesis hepática depende en un 5 % del glicerol cuando el animal se encuentra bien alimentado, pero puede llegar hasta el 40 % cuando se encuentra en ayuno (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

Como hemos visto los precursores hepáticos para la gluconeogénesis son varios y la importancia relativa de cada uno varía según el estado fisiológico del animal y el tipo de dieta. El principal y más importante es propionato. En una vaca lechera en su pico de producción usa lactato como segunda fuente, pero al final de la lactancia el hígado puede hasta producir lactato (Relling y Mattioli, 2003).

El riñón sintetiza por gluconeogénesis alrededor del 10 % de la producción diaria de glucosa. Emplea como principal sustrato al lactato (50 %) y en menor proporción glicerol, alanina y propionato (10-30 %). A diferencia del hígado, el riñón emplea glutamato y aspartato para sintetizar glucosa, y si bien emplea glutamina también libera cantidades importantes de ésta al plasma, de modo que la mitad de la glutamina que llega al hígado puede provenir del riñón (Relling y Mattioli, 2003).

2.2.4.2 Péptidos y aminoácidos

La absorción de aminoácidos en el rumiante, a diferencia de los no rumiantes, se realiza principalmente en el íleon. Se absorben tanto aminoácidos libres como en forma de péptidos pequeños. Los mecanismos de absorción que no dependen de transportadores, como difusión por canales, endocitosis o por vía paracelular poseen una importancia menor.

Se han identificado numerosos transportadores, los cuales poseen especificidad por el tipo de aminoácido a absorber, y generalmente funcionan asociados a la captación de Na.⁺ Se han descrito mecanismos de cotransporte secundario para aminoácidos libres y terciario para péptidos pequeños. Los aminoácidos salen del enterocito por difusión facilitada y aunque pasan a la circulación portal la asociación entre los absorbidos y los encontrados en la sangre suele ser baja. Esto se debe al elevado recambio proteico en el propio intestino así

como el tejido adiposo del omento y el sistema vascular que lo irriga. Este proceso consume aproximadamente el 25 % del gasto energético. A pesar de que el intestino representa sólo el 0,05 % de la masa proteica del organismo contribuye en forma desproporcionada (30 a 45 %) a la síntesis proteica total. Esta síntesis se realiza con aminoácidos provenientes del lumen, aunque la principal fuente (alrededor del 80 %) es la sangre arterial. El tipo de aminoácido utilizado como fuente energética va a depender de la dieta, pero en caso de exceso de aminoácidos hay algunos, como leucina o valina, que son oxidados preferentemente con respecto a otros, como fenilalanina o histidina. Como la oxidación de estos aminoácidos no es completa hasta CO₂ y agua, el intestino produce una gran cantidad de alanina (Relling y Mattioli, 2003).

El elevado recambio proteico explica la gran capacidad de adaptación del intestino a los productos de absorción durante los cambios en la dieta. Los aminoácidos absorbidos desde el lumen intestinal, sumados a los que provienen del recambio proteico del enterocito y a los que llegaron por sangre arterial, pasan a la circulación y se suman a un pool de aminoácidos libres, del cual toman y ceden aminoácidos todos los tejidos, dependiendo de su estado de recambio y balance proteico. Como en el caso del metabolismo de las proteínas no existe un verdadero depósito, como el glucógeno o la grasa, este pool de aminoácidos libres representa la reserva proteica del organismo, a la cual contribuye especialmente el músculo con hasta el 50 % del total (Cunningham, 1994; Relling y Mattioli, 2003).

Algo interesante para tener en cuenta es que la presencia de péptidos y aminoácidos a nivel de la luz del intestino delgado promueve la absorción de los mismos. Esto lo hace a través del estímulo de la secreción de la hormona colesistokinina. Esta hormona es sintetizada por células endocrinas del duodeno, y es secretada a la circulación sanguínea. Dentro de sus funciones esta hormona regula la secreción exocrina del páncreas, aumentando la cantidad de enzimas pancreáticas en la luz del intestino delgado. Otra función es la de disminuir el

movimiento gastrointestinal, de esta forma permite mayor tiempo a las enzimas para actuar, lo que en teoría aumentaría la digestibilidad de los alimentos (Relling y Mattioli, 2003).

Los aminoácidos esenciales y no esenciales coinciden en términos generales con aquellos de monogástricos, y todos ellos son aportados por las proteínas microbianas al menos en condiciones de mantenimiento. Esta fuente puede ser insuficiente cuando aumenta el requerimiento proteico por estados de gestación, lactancia o crecimiento (Cunningham, 1994).

El balance del recambio proteico en cada tejido y en el organismo en general crea un estado de anabolismo o catabolismo proteico, el cual está regulado hormonalmente. Las hormonas anabólicas aumentan especialmente el balance proteico a nivel muscular a expensas del pool plasmático, mientras que las catabólicas crean un balance negativo especialmente a nivel visceral. La insulina es un poderoso anabólico para el organismo, aumentando el balance proteico en todos los tejidos y disminuyendo el catabolismo hepático y muscular. La hormona del crecimiento (STH o GH) aumenta el anabolismo proteico en todos los tejidos. Los glucocorticoides crean un estado de catabolismo proteico, con disminución de la síntesis proteica muscular y ahorro de aminoácidos que son derivados hacia el hígado, donde los propios glucocorticoides aumentan su captación e incorporación a la gluconeogénesis. Las hormonas tiroideas aumentan el recambio proteico en la mayoría de los tejidos, y en altas concentraciones crean un balance negativo en el músculo. El glucagón no posee importantes efectos sobre el metabolismo proteico, aumentando la gluconeogénesis hepática a partir de aminoácidos, pero sin actuar a nivel muscular. Entre las hormonas sexuales, la testosterona es un anabólico muscular importante, mientras que los estrógenos poseen este efecto especialmente a nivel uterino (Figura 5) (Relling y Mattioli, 2003).

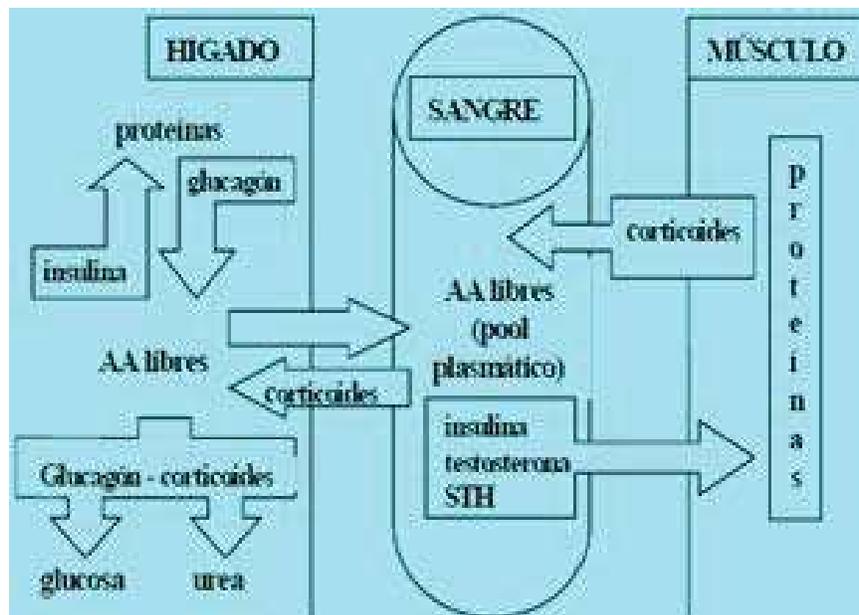


Figura 5. Efecto de las hormonas sobre el metabolismo proteico

2.2.3 Lípidos

Los lípidos que llegan al intestino delgado en los rumiantes difieren de aquellos de los no rumiantes, siendo en los primeros la mayoría ácidos grasos libres que provienen de el proceso de fermentación y biohidrogenación ruminal (Relling y Mattioli, 2003).

A nivel intestinal, las sales de los ácidos grasos formadas en el rumen se disocian, dejando de esa forma una molécula bipolar, con un extremo hidrofílico y otro hidrofóbico. Esta característica de la bipolaridad de los ácidos grasos, mas la ayuda de las sales biliares producen la formación de micelas, las cuales van a ser absorbidas a nivel intestinal. Existe una absorción/uso preferencial de los ácidos grasos esenciales, que son convertidos en fosfolípidos (Cunningham, 1994).

Así como los péptidos/aminoácidos estimulan su propia absorción, los lípidos hacen algo similar. La presencia de lípidos en la luz del intestino produce la

secreción de hormonas como colesistekinina, PIG y GLP-1. Colesistekinina, como dijimos antes aumenta la secreción de enzimas pancreáticas, disminuye la movilidad gastrointestinal, así como también estimula la contracción de la vesícula biliar, lo cual permite que haya más sales biliares, por ende favorece la absorción de los lípidos. Las otras dos hormonas, cumplen una función más importante como incretinas, en la redistribución de la energía, principalmente hacia el tejido (Relling y Mattioli, 2003).

Los ácidos grasos que poseen menos de 14 carbonos, pueden pasar directamente a la circulación portal, mientras que los más largos son reesterificados como triacilglicéridos (TAG), tomando el α -glicerofosfato de la vía glucolítica. El enterocito debe enviar a circulación los TAG, pero tanto éstos como el colesterol esterificado no son hidrosolubles. Por ello sintetiza lipoproteínas, estructuras con núcleo liposoluble rodeado por una capa hidrosoluble formada por proteína (llamadas en este caso apoproteínas), colesterol libre y fosfolípidos. Las lipoproteínas se clasifican según su densidad. El intestino produce dos tipos de lipoproteínas, el quilomicrón y la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL). En el caso de los rumiantes la llegada más lenta y persistente del quimo al intestino, así como la elevada concentración de ácidos grasos saturados estimula preferentemente la síntesis de VLDL. La relación VLDL: quilomicrones es 3:1 en ovinos correctamente alimentados, pero aumenta la producción de quilomicrones cuando llega al intestino una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Las lipoproteínas VLDL y quilomicrones ingresan al quilífero central de la vellosidad intestinal y vía linfática alcanzan la circulación general. Sumadas a las VLDL que también se forman en el hígado estas lipoproteínas se encargan de aportar ácidos grasos a los tejidos periféricos extrahepáticos. Por esta razón son las lipoproteínas más rápidamente utilizadas, tienen una vida media de apenas 2 a 5 minutos y representan sólo el 1 al 4 % de las lipoproteínas circulantes (Relling y Mattioli, 2003).

La captación tisular ocurre gracias a la acción de lipoproteinalipasas (LPL) ubicadas en el endotelio vascular de aquellos tejidos que emplearán los ácidos grasos para obtención de energía o para su depósito. De la acción de la LPL sobre los quilomicrones quedan partículas residuales con proteínas, ésteres de colesterol y fosfolípidos, que son captadas por el hígado. Las VLDL se convierten por acción de la LPL en lipoproteínas de baja densidad o LDL. Esta lipoproteína representa una fuente de colesterol para los tejidos. Realizan la función contraria las lipoproteínas de alta densidad o HDL, que sintetizadas en el hígado y en el intestino serían las responsables de movilizar el exceso de colesterol desde los tejidos extrahepáticos hasta el hígado, para su eliminación por (Relling y Mattioli, 2003).

Como hemos dicho la enzima LPL cumple una función muy importante en el abastecimiento de ácidos grasos a los tejidos, sobre todo a nivel del tejido adiposo. Por lo cual no es de sorprenderse que la actividad LPL dependa de la concentración plasmática de insulina. Las hormonas IIG y GLP-1 también estimulan la actividad de esta enzima y a igual concentración producen un estímulo similar, pero la como la concentración de IIG es 10 veces mayor a nivel plasmático, esta debería tener una mayor importancia in vivo (Relling y Mattioli, 2003).

Cuadro 1. Composición y características de las lipoproteínas plasmáticas del bovino

COMPONENTE	QUILOMICRONES	VLDL	LDL	HDL Livianas	HDL Pesadas
Colesterol libre*	4- 6	3- 9	6- 8	4- 6	1- 4
Colesterol éster*	1- 4	5- 15	29- 33	29- 33	13- 29
Triacolglicéridos*	72- 87	45- 63	1- 3	1- 3	1- 6
Fosfolípidos*	4- 5	12- 17	22- 27	22- 27	12- 27
Apoproteínas*	1- 3	8- 16	33- 39	33- 39	39- 68
Diametro (Å)	650- 2400	310- 650	120- 150	120- 150	93- 120
Densidad	< 0.95	<1.006	1.026- 1.076	1.060- 1.091	1.091- 1.180

* expresados como porcentaje. (Bouchart, 1993)

El metabolismo lipídico se asocia especialmente al balance energético del animal.

Los ácidos grasos pueden tener diferentes destinos o usos metabólicos. Pueden cumplir una función estructural como fosfolípidos de membrana, pueden formar parte de un sistema de segundo mensajero como en el caso del fosfatidilinositol, pueden ser usados en la síntesis de prostaglandinas como aquellos poliinsaturados, etc. Sin embargo, el metabolismo lipídico se asocia especialmente al metabolismo energético en el animal. Esto es debido, por un lado, a que aporta por unidad de peso el doble de energía que las proteínas o los hidratos de carbono, y por otro lado porque se puede almacenar en poco espacio, gracias a su baja concentración de agua. El otro depósito de energía alternativo para el organismo es el glucógeno, pero éste fija tres partes de agua por cada una de glucógeno almacenado. Es por lo expuesto que los lípidos son sintetizados y depositados (lipogénesis) o degradados (lipólisis) en respuesta al balance energético del animal (Cunningham, 1994).

La lipogénesis ocurre ante un balance energético positivo y comprende la síntesis de tres ácidos grasos y su esterificación con α -glicerofosfato para formar triacilglicéridos (TAG). Los ácidos grasos se sintetizan a partir de acetil-CoA. En los no rumiantes el acetil-CoA puede provenir del metabolismo de los glúcidos, aportados por la vía glucolítica. Como el acetil-CoA se sintetiza dentro de la mitocondria debe ser transportado al citoplasma donde se realiza la síntesis de ácidos grasos. Debido a que la membrana mitocondrial es impermeable al acetil-CoA, éste se combina con oxaloacetato y forma citrato, el cual puede salir y ya en el citoplasma se revierte la reacción gracias a una enzima llamada citrato liasa. El acetil-CoA citosólico es ahora convertido en malonil-CoA por un complejo enzimático llamado acetil-CoA carboxilasa (ACC), y a partir del malonil-CoA se forma el ácido graso incorporando sucesivamente grupos acetilos aportados por más acetil-CoA, bajo la acción de otro complejo multienzimático llamado ácido

La lipólisis predomina en el organismo al establecerse un balance energético negativo o bien en situaciones de estrés. Comprende la hidrólisis de los TAG y la liberación de los ácidos grasos y el glicerol desde los sitios de depósito. El glicerol es liberado a la circulación sanguínea al no poder ser utilizado por el adiposito, y es empleado por el hígado como sustrato para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos no esterificados circulan unidos a la albúmina plasmática y poseen dos destinos posibles. Captados por el hígado pueden ser empleados para resintetizar TAG o fosfolípidos y recircular como VLDL. La otra alternativa es su oxidación completa con producción de energía. Para ello los ácidos grasos captados por cualquier tejido son activados a acil-CoA y transportados hacia el interior de la mitocondria por el sistema de la carnitina acil transferasa. Luego se realiza la β -oxidación del acil-CoA, que consiste en la liberación secuencial de acetilos como acetil-CoA, que ingresan al ciclo de Krebs para producir CO₂, agua y ATP. Nunca la degradación de ácidos grasos desemboca en la producción de glucosa, por ello la movilización de grasa sirve como fuente energética alternativa cuando el rumiante necesita ahorrar glucosa destinada al sistema nervioso (Cunningham, 1994) y (Relling y Mattioli, 2003).

La degradación y la síntesis de lípidos permiten mantener el aporte energético a los tejidos y por lo tanto están controladas por las hormonas que gobiernan el metabolismo energético en el organismo. La lipólisis se inicia por acción de la lipasa hormono-sensible (LHS), enzima encargada de hidrolizar y liberar el primer ácido graso del TAG. La LHS es el paso limitante de esta vía, ya que las dos hidrólisis subsiguientes ocurren espontáneamente quedando los tres ácidos grasos y el glicerol libres en la célula. La LHS se activa en función de la concentración de AMPc intracelular, el cual activa una proteinkinasa A que fosforila la subunidad regulatoria de la LHS, permitiendo la liberación y activación de la subunidad catalítica. El AMPc se produce a partir del ATP por acción de la adenilatociclasa de membrana, la cual es regulada por la acción de dos proteínas fijadas a nucleótidos de guanina: la Gs estimulante y la Gi inhibidora de la

adenilatociclasa. Las hormonas que controlan la lipólisis son de naturaleza hidrosoluble y por lo tanto se unirán a receptores en la superficie externa de la membrana, estimulando una de estas proteínas G ubicadas en la capa interna. Los agonistas β -adrenérgicos activan la G_s , aumentando el AMPc y la activación de la LHS. Por este mecanismo actúa la adrenalina, que liberada desde la médula adrenal es la principal estimulante de la lipólisis en el organismo. Los agonistas α -adrenérgicos en cambio, actúan estimulando la G_i , inhibiendo la adenilato ciclasa y activando fosfodiesterasas que degradan el AMPc intracelular. La somatotrofina parece estimular la lipólisis en forma indirecta, aumentando la sensibilidad del tejido al disminuir la capacidad inhibitoria de la G_i (Relling y Mattioli, 2003).

La insulina es la hormona que domina el esquema metabólico ante un balance energético positivo, y es en consecuencia también la principal responsable del anabolismo graso. Actúa estimulando la síntesis al aumentar el aporte de sustratos. Aumenta la llegada de ácidos grasos activando la LPL en los endotelios del tejido adiposo, y aumenta también la captación de glucosa, que elevará la concentración de α -glicerofosfato por la vía glucolítica. Simultáneamente inhibe la lipólisis, disminuyendo la concentración de AMPc, inhibiendo en consecuencia la LHS. Otros factores como la adenosina y prostaglandinas de la serie E también inhiben la LHS. La insulina estimula también la síntesis de ácidos grasos a partir de acetil-CoA en el tejido adiposo, activando la acetil-CoA carboxilasa. Esta enzima paso limitante es a su vez inhibida por el aumento de AMPc provocado por la adrenalina (Relling y Mattioli, 2003).

2.4 COMPOSICIÓN DE LA LECHE

La leche vacuna está constituida en promedio por 87% de agua y 13% de llamados **sólidos lácteos (Cuadro 2)**, porcentajes que varían según la raza, etapa de lactancia, manejo nutricional y muchos otros factores. Dentro de los **sólidos totales** se encuentran (Ponce, 2009)

Cuadro 2. Composición de la leche

COMPONENTES	PROMEDIOS GENERALES (g/ Kg)			
	Jerrige, 1980	Alais, 1985	Taverna y Coulon, 2000	Taverna <i>et al.</i> , 2001
AGUA	8.71	8.72	8.8	8.81
SOLIDOS TOTALES	12.9	12.73	11.85	11.95
LACTOSA	4.8	4.75	4.57	4.61
GRASA	4.0	3.81	3.48	3.51
PROTEÍNA	3.35	3.3	3.17	3.17
CENIZAS	0.75	0.87	0.63	0.66
CALCÍO	0.125	0.087- 0.126	0.117	0.124
FÓSFORO	0.095	0.072- 0.265	0.086	0.094
MAGNESÍO	0.012	0.010- 0.013	0.012	0.012
POTASÍO	0.150	0.116- 0.145	0.140	0.150
SODÍO	0.050	0.034- 0.045	0.058	0.060
CLORO	0.110	0.067- 0.106	0.137	0.144

(Taverna, 2001)

2.3.1 Proteínas

Fluctúa entre 3 y hasta 4% y comprende no sólo a fracción proteica verdadera sino también la no proteica constituida por urea y amoníaco (Taverna, 2001; Gallardo, 2006). La proteína verdadera está constituida a su vez por cantidades variables de distintos tipos de caseína (alfa-1, alfa-2, beta-2 y kappa) y lactoalbúminas que pueden representar entre 15 a 20% de las proteínas. La fracción proteica verdadera es alta al inicio de la lactancia especialmente en la fase calostrál, para ir disminuyendo hasta los 40 a 60 días, que corresponde al incremento en el volumen o “peak” de lactancia (Razz y Clavero 2007). En las fases siguientes aumenta gradualmente hasta llegar a su máximo en la tercera fase de lactancia. (Fig. 1) (Jensen, 2002). La fracción nitrogenada no proteica, principalmente la urea varía en función de la movilización de aminoácidos del

tejido muscular, en la primera fase y de la cantidad de proteína soluble y nivel de carbohidratos no estructurales en la dieta (Hernandez y Ponce, 2003).

2.3.2 Lípidos

Constituye la fracción energética de la leche y al mismo tiempo es la más variable y la más fácil de modificar tanto en concentración como en composición. El 99% de los lípidos se encuentra en forma de triglicéridos y el resto como fosfolípidos, glicolípidos, colesterol, ácidos grasos libres, esteroides y vitaminas liposolubles. Los principales ácidos grasos constituyentes poseen entre 4 y 18 carbonos, siendo más abundante el mirístico (C14), palmítico (C16), oleico (C18-1) y linoleico (C18-2). El triglicérido más importante es el 1,2 dipalmitil-3 butiroil glicérido (Hernandez y Ponce, 2003). Al igual que en la proteína, está en alta concentración al inicio de la lactancia, para disminuir durante el peak y luego ir aumentando su concentración a medida que avanza la lactancia. En la segunda y tercera fase de lactancia es donde es más factible variar nutricionalmente las concentraciones de grasa, ya que en la primera etapa, un alto porcentaje de ella proviene de la movilización de grasa del tejido adiposo (Gallardo, 2006).

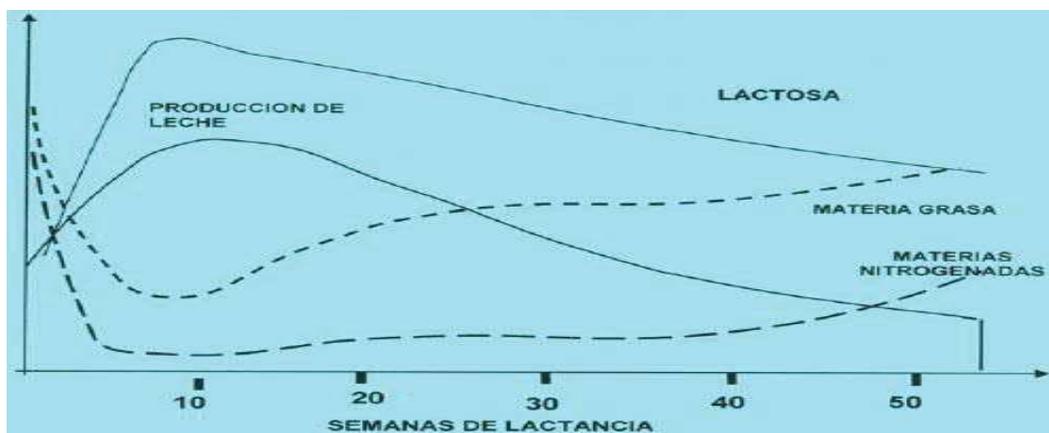


Figura 7. Variación de los componentes de la leche (Manterola, 2008)

2.3.3 Lactosa

Es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una de galactosa (Gallardo, 2006). Su concentración tiende a ser relativamente independiente de la dieta y es el principal agente osmolar de la leche, facilitando el flujo desde el interior de la célula secretora a los alvéolos. Por ello, su concentración va relativamente paralela a los volúmenes emitidos y además está estrechamente correlacionada con los niveles de sodio, cloro y potasio, que también tienen un rol osmolar. A medida que aumenta la concentración, inmediatamente se produce un mayor volumen, por lo que su concentración se mantiene estable. Como su sustrato original es el ácido propiónico en rumen, al aumentar el porcentaje de concentrados, se aumenta la cantidad de lactosa y por lo tanto hay una respuesta en mayor volumen de leche (Jensen, 2002).

2.3.4 Componentes inorgánicos

Constituyen el principal aporte mineral de la leche, especialmente calcio, fósforo y magnesio, los cuales se encuentran asociados a las caseínas, por lo que precipitan conjuntamente con ellas. El potasio, sodio y cloro, son fundamentales para la osmolaridad, por lo que están en estrecha relación con la lactosa (Ponce, 2009).

Estos elementos provienen directamente de la sangre por lo que no es posible su modificación, ya que son absorbidos por las células por gradiente de concentración (Razz y Clavero 2007).

2.4. MECANISMO DE SÍNTESIS DE LA GRASA DE LA LECHE

2.4.1 Síntesis de ácidos grasos

No todos los AG de la leche bovina se sintetizan en la glándula mamaria. En general, ellos provienen de tres fuentes: AG esterificados en los triglicéridos de las lipoproteínas que circulan en la sangre (procedentes de la dieta y el metabolismo ruminal) (Figura 8 #4), AG no esterificados que circulan en la sangre provenientes de la movilización de reservas corporales (AGAlbúmina) (Figura 8 #5), y la síntesis de novo en la MEC (Figura 8 #6) (Clegg *et al*, 2001).

Los AGCC y el 50% de los AGCM saturados con un número par hasta de 16 Carbonos, son sintetizados *de novo* en el citoplasma de la MEC a partir del acetato y 3-hidroxi butirato que llegan en la sangre proveniente de la fermentación en el rumen, en reacciones catalizadas por las enzimas acetil CoA carboxilasa (ACC) y ácido graso sintetasa (FAS). El otro 50% de los AGCM saturados con un número par hasta de 16 Carbonos procede de lípidos circulantes en sangre que tienen su origen en la dieta, el rumen y la grasa movilizada de las reservas corporales (Angulo *et al*, 2008).

El origen del ruménico puede ser el rumen (7%) o la síntesis *de novo* (93%) en el retículo endoplasmático de la MEC, a partir del TVA que proviene del rumen. Este proceso es conocido como desaturación (Figura 8 #7) y es llevado a cabo por medio del complejo enzimático $\Delta 9$ desaturasa conocido también como Stearoil CoA Desaturasa o SCD que lleva a cabo la formación de los ácidos miristoleico (C14:1), palmitoleico (C16:1), y oleico (C 18:1 *cis*-9), utilizando como sustratos el ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), y esteárico (C18:0), respectivamente (Angulo *et a.l*, 2005; Angulo *et a.l*, 2008). En la glándula mamaria bovina es posible la desaturación pero no la elongación de cadenas de más de 16 carbonos

debido a que no existen las enzimas necesarias (Chilliard *et al.*, 2000), por lo tanto, los AG de 18 ó más carbonos (excepto los que se originan como producto de la desaturación tales como el oleico y el ruménico), proceden de lípidos circulantes en sangre. Gran importancia se le ha concedido a la enzima lipoproteína lipasa (LPL) por ser la encargada de hacer el corte de los AG que vienen en la sangre y suministrarlos a la MEC para su utilización (Figura 8 #8). A partir de estudios inmunohistoquímicos y bioquímicos, se ha encontrado que la LPL está localizada tanto en la superficie y dentro de la célula principal de los principales tejidos como en la superficie luminal de las células endoteliales vasculares. Sin embargo, aún no hay claridad del lugar exacto en la glándula mamaria (Ponce, 2009).

Algunos han encontrado que se origina en la MEC mientras que otros la han encontrado en los adipocitos mamaros localizados en las células intersticiales. Por lo tanto, se cree que posiblemente esta enzima es producida en los adipocitos, secretada y transportada a través de la MEC tanto hacia los capilares endoteliales como hacia el sitio de secreción de leche en la MEC (Bernard *et al.*, 2008). Una vez la LPL realiza el corte de AG en los capilares mamaros, estos deben atravesar lateralmente la bicapa lipídica de la membrana del capilar, luego cruzar células adyacentes que se encuentran entre el capilar y la MEC, para finalmente alcanzar la MEC, sin embargo, no existe claridad de cómo se logra este paso. Clegg *et al.*, (2001) referencian la necesidad de un gradiente de concentración de AG, lo cual es posiblemente creado por traslocadores de AG o proteínas de enlace. Entre los más conocidos y estudiados hasta el momento se encuentran el FABP y la CD36 (Ponce, 2009) (Figura 8 #9).

2.4.2 Síntesis de triglicéridos

Previo a la síntesis de triglicéridos, los AG son activados por la combinación con Coenzima A, formando los Acil- CoA (Figura 8 #10).

El primer paso en la biosíntesis de triglicéridos es la esterificación de un Acil-CoA con el glicerol 3 fosfato en la posición *sn*-1, en reacción catalizada por una glicerofosfatoaciltransferasa (GPAT) localizada en el retículo endoplasmático, dando como resultado un monoacilglicerol 3 fosfato (Figura 8 #11) (Bernard *et al.*, 2008). El glicerol utilizado para la formación del glicerol 3-fosfato procede de la transformación de la glucosa que viene en la sangre ó del fraccionamiento de los triglicéridos incluidos en las lipoproteínas transportadas en la sangre (Figura 8 #12).

El segundo paso es la esterificación de otro Acil-CoA con el monoacilglicerol 3 fosfato en la posición *sn*-2, en reacción catalizada por la enzima Acilglicerolfosfato aciltransferasa ó Lisofosfatidil aciltransferasa (AGPAT ó LPAAT) (Bauman *et al.*, 2008) (Figura 8 #13), la cual tiene una mayor afinidad por los AGS en el orden C16 > C14 > C12 > C10 > C8 DePeters *et al.*, (2001), el producto final de esta reacción es el diacilglicerol-3-fosfato, llamado también ácido fosfatídico.

El tercer paso es la eliminación hidrolítica del fosfato en la posición *sn*-3 del diacilglicerol 3 fosfato, seguida de una transferencia de otro grupo acilo procedente de un acil CoA, en reacción catalizada por la enzima diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) (Figura 8 #14) (Bernard *et al.*, 2008).

2.4.3 Síntesis de fosfoglicéridos

La mayor parte de los lípidos polares que se encuentran en la leche bovina, provienen de la membrana plasmática apical de la MEC y de la membrana reticular. En forma general, se conoce que los fosfoglicéridos, principales constituyentes en número de los lípidos de membrana presentes en la leche bovina, se sintetizan en la bícapa citosólica de la membrana del RE permitiendo que las cadenas de AG hidrofóbicas permanezcan clavadas en la membrana mientras se une a enzimas que catalizan sus reacciones con precursores del citosol. Para mantener estable la membrana, alguno de estos nuevos lípidos sintetizados son transferidos a la otra mitad de la bícapa (Lumen); esta transferencia ocurre gracias a una proteína de membrana llamada FLIPASA, resultando en un crecimiento de ambas mitades de la bícapa. En el proceso de síntesis, dos AG son unidos a la coenzima A, luego los acylcoA son unidos al glicerol 3 fosfato, produciendo ácido fosfatídico, el cuales simultáneamente insertado en la membrana (Ponce, 2009).

Posteriormente una fosfatasa convierte el ácido fosfatídico en diacilglicerol. Finalmente, diferentes grupos polares se unen al diacilglicerol dando lugar a la formación de fosfatidilcolina, fosfatidiletalonamina, ó fosfatidilserina. El fosfatidilinositol es formado a partir de ácido fosfatídico, y no a partir del diacilglicerol (Cooper, 2000).

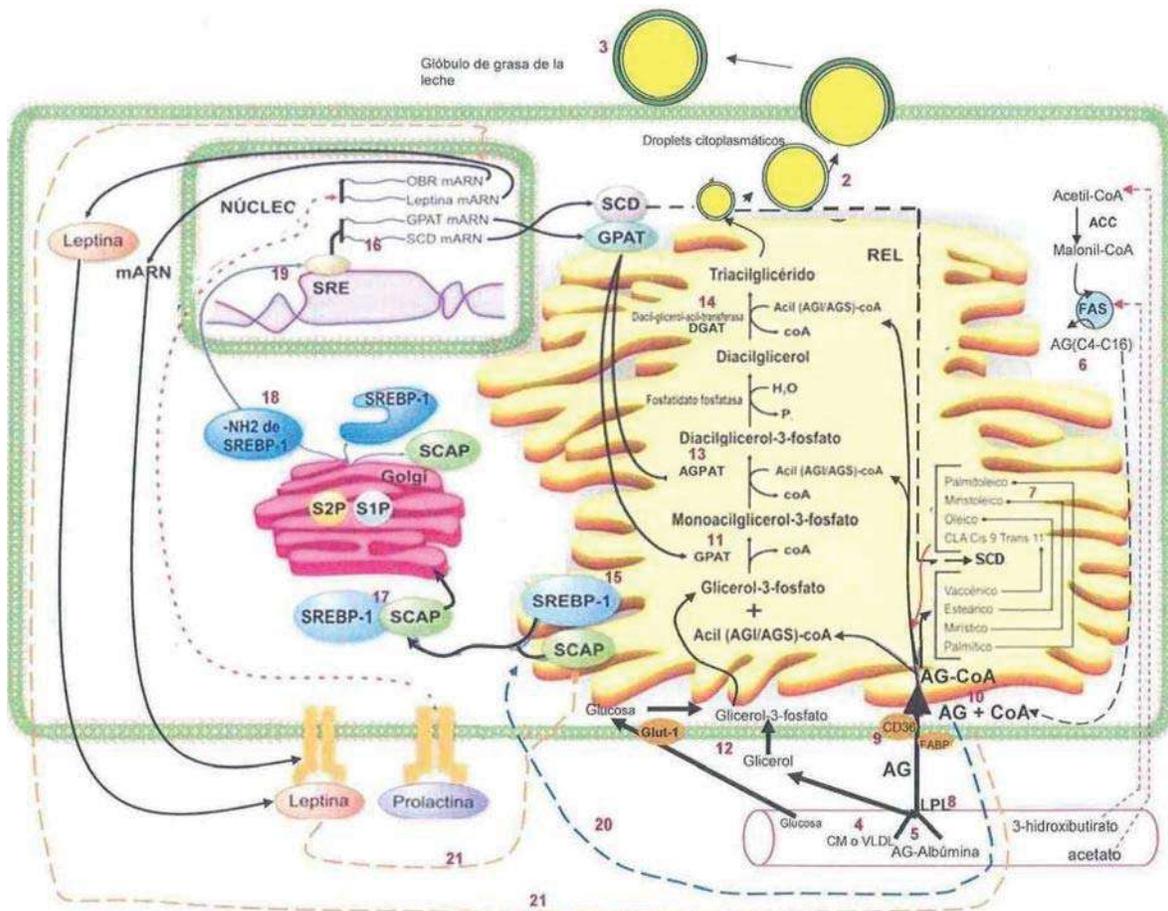


Figura 6. Mecanismo de síntesis y secreción de la grasa de la leche bovina (Angulo J. y Olivera M. 2008).

2.4.4 Secreción de la grasa de la leche

La grasa de la leche se elabora en forma de pequeñas vesículas lipídicas en el retículo endoplásmico (Angulo y Olivera, 2002). Cuando se dirigen hacia las porciones apicales de la célula van aumentando de tamaño por fusión con gotas de grasa mayores, para finalmente provocar un abombamiento esférico de la membrana plasmática, que acabara siendo expulsado hacia los alveolos. En su camino a través del citoplasma se absorben determinadas moléculas (por ej. Xantinoxidasa y la glucoproteínas butirifilina) la membrana que rodea a los gránulos de grasa procede de la membrana celular, con una proporción

evidentemente mucho menor de membranas de la vesículas secretoras del aparato de Golgi (Zanela, 2006).

2.5 SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE

Las proteínas que aparecen en la leche proceden del plasma sanguíneo (albúmina del suero de la leche, IgG e IgM), son sintetizadas por las células glandulares de la ubre (caseínas, α - lactoalbúminas y β - lactoalbúminas) o por las células plasmáticas de la ubre (IgA) (Clegg *et al.*, 2001). La síntesis proteica en la ubre se basa en la expresión de genes estimulada por las hormonas secretoras a raíz de la gestación y que provoca la diferenciación de las células glandulares. La traducción del correspondiente ARNm secuencias de aminoácidos de las proteínas de la leche (proteínas exportadas) se realiza en el ribosoma del retículo endoplásmico rugoso. Para eso es necesario disponer de todos los aminoácidos esenciales y no esenciales (Reinhardt y Lippolis, 2006). Evidentemente una parte significativa de los aminoácidos no esenciales procede de la sangre. Las proteínas recién formadas llevan secuencias de aminoácidos en los extremos N, que cumplen la función de péptidos señal de paso a través de la membrana del retículo endoplásmico a sus espacios huecos. En la cara interna de la membrana existe una peptidasa señal que descompone el péptido señal permitiendo que la proteína adopte su estructura específica (Taverna, 2001; Bauman *et al.*, 2006).

En el retículo endoplásmico y después en el aparato de Golgi las proteínas sufren nuevas modificaciones consistentes en glucosilación y fosforilación. En este proceso las caseínas experimentan una fosforilación, durante la cual se transfieren grupos fosfato del ATP a restos de serina y treonina, algunas secuencias de tripéptidos de la proteína sirven de puntos de identificación para purinasas específicas. A continuación las proteínas se envuelven en vesículas secretoras donde se asocian a micelas que además de proteínas contienen calcio, magnesio,

fosforo y citrato- estas vesículas se desplazan hacia el polo apical de las células (Bauman *et al.*, 2006). Ahí se funden con la membrana celular para secretar su contenido hacia la luz de los alveolos. Tras la secreción se desprenden los fragmentos C terminales de las caseínas β para elaborar las fracciones 'Y de caseína (Reinhardt y Lippolis, 2006).

2.6 SÍNTESIS DE LA LACTOSA

La lactosa es un azúcar estrictamente específico de la leche, cuya síntesis y secreción está íntimamente relacionada con el volumen total de leche que producen los mamíferos. La glándula mamaria retiene 900 gramos de agua por cada 50 gramos de lactosa sintetizada, siendo el principal componente osmótico mediante un proceso activo de extracción de agua hacia las vesículas de Golgi donde se produce la síntesis (Jensen, 1995).

Desde el punto de vista energético, la síntesis de lactosa consume hasta un 70 por ciento de toda la glucosa circulante en la vaca lechera, lo que representa una considerable carga metabólica para los rumiantes (Mohar, 1992). En su síntesis participan varios metabolitos como la propia glucosa o derivados de esta, proceso que está regulado por un complejo enzimático conocido como lactosa-sintetasa, compuesto por dos proteínas: la proteína A, o galactosil transferasa que se encuentra en diversos tejidos y la proteína B o alfa lactoalbúmina que es una proteína sintetizada por las propias células epiteliales del tejido mamario (Luquet, 1995; Kennelly, 1999).

La síntesis de la lactosa (Figura 9) es posible solamente en presencia de la proteína A, pero la reacción exige entonces concentraciones elevadas de glucosa. La α -lactoalbúmina permite que se realice la reacción con cantidades de glucosa

muy inferiores, por ello la tasa de síntesis de la lactosa está regulada por esta última (Jensen, 1995).

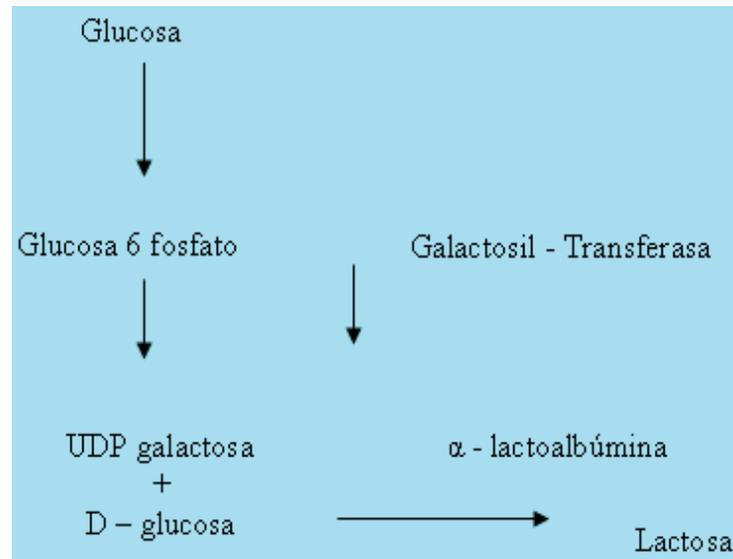
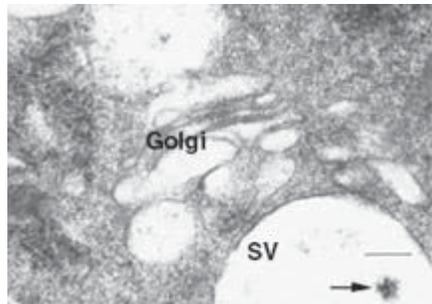


Figura 9. Síntesis de la lactosa

El flujo de alfa lactoalbúmina y su interacción con la proteína A insertada en la estructura de la pared del aparato de Golgi promueve la síntesis continua de lactosa. Se presume que las limitaciones en el precursor glucosa, y en los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas del complejo lactosa-sintetasa e incluso en portadores energéticos como el ATP, pudieran condicionar a este nivel la síntesis de lactosa y por tanto la producción láctea.

1. Una molécula de glucosa se convierte en UDP-glucosa, que a su vez se convierte en una UDP-galactosa. Otro de glucosa se utiliza para la síntesis de la lactosa sin modificaciones. Por lo tanto, dos glucosas se requieren para cada molécula de lactosa sintetizada.
2. La glucosa pasa a través de la membrana de Golgi en el lumen de Golgi por un transportador de glucosa (GLUT 1). La presencia de GLUT 1 en la membrana de Golgi al parecer es específica de las células epiteliales mamarias, como la mayoría de las células no tienen este transportador de

glucosa en la membrana de Golgi. El transporte de la glucosa no está activo (que no requieren de energía), y al parecer no es la limitación de velocidad. Pero se ve afectada por los niveles de glucosa en el citoplasma. El aparato de Golgi se muestra en la imagen de abajo, junto con una vesícula secretora (SV) que contiene una micela de caseína (flecha).



3. UDP-galactosa es transportado de forma activa en el lumen de Golgi, y el transporte de UDP-galactosa en el lumen de Golgi puede ser la limitación de velocidad a la lactosa síntesis. UDP-glucosa no es transportada en el aparato de Golgi.
4. La lactosa es un disacárido impermeable que no puede difundir fuera de la membrana de Golgi o fuera de la membrana de las vesículas secretoras. Esta característica es importante para la síntesis de la leche, ya que es la síntesis de la lactosa no difusible que se traduce en agua entra en el aparato de Golgi.
5. La UDP generados a partir de la síntesis de la lactosa podría tener efectos inhibidores de la síntesis de la lactosa, si se acumulaba en el lumen del Golgi. Sin embargo, UDP se hidroliza rápidamente en la UMP y P inorgánico por difosfatasa nucleósidos (NDPase). UMP activamente eliminado del aparato de Golgi, mientras que el P inorgánico se difunde fuera del aparato de Golgi.
6. La reacción de síntesis de la lactosa es esencialmente de un solo sentido, es decir, la lactosa no se hidroliza para formar glucosa y galactosa. Los niveles muy altos de la lactosa no inhibir su propia síntesis.

7. La actividad de la enzima sintasa de la lactosa se compone de:
1. "A" de proteínas = galactosiltransferasa (GT)
 2. una "B" proteína = α -lactoalbúmina (α -LA)

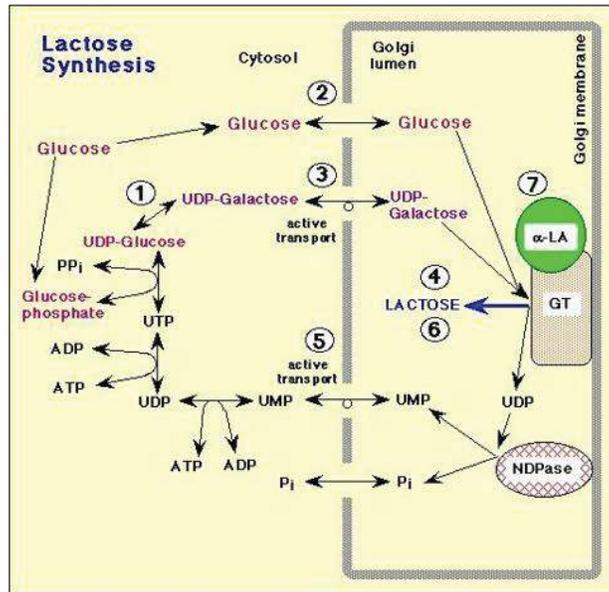


Figura 10. Síntesis de lactosa en la célula. Siglas: GT = galactosiltransferasa, α -LA = α -lactoalbúmina, NDPase = difosfatasa nucleotídica; Pi = fosfato inorgánico; PPi = inorgánicos difosfato, UDP = uridina difosfato, UDP-galactosa = uridina difosfato galactosa; UDP-glucosa = uridina difosfato glucosa; UMP = uridina monofosfato; UTP = trifosfato de uridina.

2.7 FACTORES QUE MODIFICAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE

2.7.1 Factores Raciales y genéticos

La grasa es el componente lácteo más variable entre y dentro de razas y la lactosa el menos variable o más estable. La raza que produce leche con el mayor tenor de grasa es la Jersey (Ponce, 2009).

También existen diferencias raciales en cuanto a la proporción de proteína total y tipo de proteína producida en la leche. Es así como las razas Jersey y

Guernsey presentan los mayores porcentajes de proteína total, caseína y suero (Hernandez, y Ponce, 2003).

Se informa que a través de selección genética podría incrementarse el porcentaje de proteína en la leche, al igual que la selección por grasa aumentar el contenido de grasa de la leche, pero la selección individual de algún componente tendría consecuencias negativas sobre la producción de leche, por lo que se recomienda seleccionar conjuntamente por proteína, grasa y producción de leche (Gallardo, 2006).

Cuadro 3. Composición del la leche de acuerdo a la raza

RAZA	SÓLIDOS TOTALES%	GRASA %	PROTEÍNA %	LACTOSA %	COMPONENTES INORGÁNICOS %
Suizo	12.69	3.83	3.28	4.82	0.75
Holstein	11.91	3.56	3.02	4.61	0.73
Jersey	14.75	4.87	4.46	4.60	0.77
Brahmá n	14.1	4.78	3.83	4.74	0.75

(Gonzales V. H. 2007)

2.7.2 Factores Ambientales y de manejo

El número ordinal de lactancia y/ o la edad, tiene un efecto significativo sobre el porcentaje y la producción total de grasa, el porcentaje de proteína de la leche y la composición de dicha proteína (Gallardo, 2006).

Se informa una disminución en el porcentaje de materia grasa de 0,2% al pasar de 5 lactancias. Se espera que la producción total de grasa aumente conjuntamente con el aumento de la producción de leche, aunque a menudo se observa una caída en el porcentaje de materia grasa. Para la proteína, se informa que la producción de proteína ya disminuye en vacas de más de 3 años de edad, observándose un 0,4% menos de producción en vacas de más de 5 lactancias (Ponce, 2009). Esa caída parece ocurrir primeramente en la fracción de la caseína, aunque también se informa de una disminución en la fracción de la proteína del suero (Hernandez, y Ponce, 2003).

El estado de la lactancia influye en el contenido de grasa, proteína y minerales. Al inicio de la lactancia, es decir cuando se está produciendo calostro, se encuentran altas concentraciones de grasa (principal fuente de energía en las primeras etapas de vida del ternero), de proteína (especialmente de inmunoglobulinas, con un rol importante en la inmunidad pasiva del ternero), y de minerales (potasio, con efecto laxante sobre el ternero). Posteriormente, la materia grasa disminuye durante los primeros 2 meses de lactancia y tiende a aumentar nuevamente en forma gradual y lenta conforme la lactancia progresa. Además de los cambios en el porcentaje de materia grasa, se observa una variación del tipo de ácidos grasos que la componen, es así como hay un predominio de los ácidos grasos de cadena corta e intermedia en la primera mitad de la lactancia (Chilliard *et al.* 2003).

A su vez, la proteína total cae abruptamente en pocos días, en la transición de calostro hacia leche y alcanza el mínimo alrededor de la 5 a 10 semana de lactancia, correspondiendo con la máxima producción de leche, posteriormente el contenido de proteína tiende a aumentar gradualmente conforme progresa la lactancia o bien aumentar cuando la vaca queda gestante (Gallardo, 2006).

Se informan variaciones estacionales en la composición de la leche, pero este efecto puede confundirse con la etapa de la lactancia de las vacas. Aún así, se reconoce que hay un efecto de la estación del año sobre el porcentaje de grasa de la leche, donde los meses de verano se caracterizan por promediar 0,4% menos de grasa que los meses de invierno. También se observa una modificación en la composición de la grasa, en verano disminuye el ácido palmítico en relación al estearico y los ácidos octadecanoicos (Hernandez, y Ponce, 2003).

Se observa que tanto el porcentaje como la producción de proteína son mayores durante el otoño e invierno que lo obtenido en primavera y verano. Sin embargo, el estado de la lactancia y las prácticas de alimentación confunden esas observaciones, por ejemplo, se informa que vacas en primavera y a pastoreo producen leche con mayor porcentaje de proteína (Gallardo, 2006).

Las variaciones en el procedimiento de ordeña y/o frecuencia de ordeña prácticamente no tienen efecto sobre el contenido de proteína, a diferencia del efecto observado para la grasa, donde una ordeña completa incrementa el contenido graso de la leche en comparación a una ordeña incompleta (Hernandez, y Ponce, 2003). Al acortar el lapso de ordeña se afecta negativamente el porcentaje de grasa de la leche obtenida en esa ordeña. La frecuencia de ordeña no influiría mayormente en el porcentaje de grasa producida, al pasar de 2 a 3 ordeñas algunos autores han encontrado un efecto negativo, mientras que otros no han observado ningún efecto (Gallardo, 2006).

2.7.3 Factores asociados a la condición sanitaria y fisiológica de las vacas

La mastitis generalmente produce una disminución del porcentaje de materia grasa, aún cuando ésta disminuye menos de lo que disminuye la proteína y la lactosa. La inflamación de la glándula mamaria provoca un cambio en la

composición de la grasa: se observa un aumento de los ácidos grasos de cadena corta y libres y una disminución de los ácidos grasos de cadena larga y fosfolípidos (Chilliard *et al.* 2003).

El efecto sobre el porcentaje de proteína total es pequeño, sin embargo, las mastitis alteran drásticamente la composición de la proteína, disminuyendo las fracciones de: caseína, beta-lactoglobulina y alfa-lactoalbúmina y aumentando las proteínas sericas (Ponce, 2009).

El efecto sobre la composición láctea de diferentes hormonas endógenas, ajenas al proceso de síntesis y eyección de la leche, no es muy claro. Avances tecnológicos permiten hoy día utilizar la hormona del crecimiento como una herramienta para incrementar el nivel productivo de las vacas y que de, acuerdo a los resultados de la investigación realizada en el área, no causaría cambios sustanciales en la composición de la leche. Podría provocar cambios o no en el porcentaje de grasa, dependiendo de las dosis de hormona utilizada, los resultados muestran que a bajas dosis no hay cambio, y altas dosis se observa un aumento del porcentaje de grasa láctea. Sobre la fracción de proteína, en algunos ensayos se ha verificado una leve disminución del porcentaje de proteína total y un aumento de la fracción de lacto-albumina (Chilliard *et al.*, 2003).

2.7.4 Factores nutricionales y de manejo alimentario

Las típicas dietas formuladas para vacas de alta producción contienen un alta concentración de energía que suele provenir de fuentes de carbohidratos fácilmente fermentables más que de grasas y a menudo dichas dietas provocan una condición denominada síndrome de baja materia grasa de la leche, por todos bien conocido. Este síndrome deriva de una alteración en el proceso fermentativo a nivel ruminal con un cambio en el pH del rumen, como consecuencia una

depresión en la digestión de la fibra y por ende un cambio en los productos de fermentación ruminal, disminuyendo el sustrato disponible para la síntesis de grasa a nivel de la glándula mamaria (Gallardo, 2006).

El tipo de forraje, la calidad del forraje (madurez, contenido de fibra), el tamaño de partícula o de picado del forraje tiene gran influencia sobre el porcentaje de grasa de la leche. Es así como el forraje finamente molido produce un cambio en los productos de fermentación ruminal con el consiguiente aumento del propionato y la reducción de acetato y por lo tanto disminución del porcentaje de materia grasa láctea (Gallardo, 2006).

El estado de madurez del forraje es un factor importante en el momento de reunir un nivel adecuado de fibra en la dieta, ya sea, para mantener o incrementar el contenido de grasa láctea (Hernandez, y Ponce, 2003).

La fuente de carbohidratos dietarios, es otro factor a considerar, dado que pueden influir sobre la fermentación en el rumen y consecuentemente sobre el porcentaje de grasa láctea. Por ejemplo la menor o más lenta degradación ruminal del maíz en el rumen en comparación con la cebada podría resultar en la producción de leche con un mayor contenido de grasa. En ese sentido, hoy día se manejan una serie de tratamientos orientados a modificar y mejorar el comportamiento degradativo en el rumen y obtener mayor producción y mejor composición de la leche (Ponce, 2009).

La concentración de la proteína cruda dietaria afecta la producción de leche y consecuentemente el porcentaje de proteína láctea, sin afectar mayormente el porcentaje de materia grasa, salvo que se afecte el crecimiento microbiano y la actividad celulolítica, que es la que contribuye con el sustrato para la síntesis de materia grasa en la glándula mamaria (Gallardo, 2006). Así también, todos

aquellos factores que influyen sobre la fermentación ruminal y el crecimiento microbiano afectan el contenido de proteína de la leche. Un insuficiente aporte de proteína dietaria reduce la producción de proteína láctea, pero este efecto puede ser minimizado con la incorporación a la dieta de alimentos con proteína de baja degradabilidad ruminal. También, bajo ciertas circunstancias productivas y de manejo alimentario, es posible usar la suplementación de aminoácidos protegidos, para mejorar el contenido de proteína de la leche (Gallardo, 2006).

La energía de la dieta es el factor nutricional de mayor importancia que afecta la producción y porcentaje de proteína de la leche; ya sea en cantidad, densidad energética o fuente de energía. Un incremento de la energía dietaria produce un aumento de la producción de leche y del porcentaje de proteína. Fuentes de energía que deriven en un incremento del ácido propiónico conducen a un mayor contenido de proteína en la leche (Hernandez, y Ponce, 2003).

La adición de grasas y aceites en la dieta de las vacas lecheras ha recibido bastante atención y hay abundante información acerca del tema. Se han evaluado numerosas fuentes de lípidos, tanto naturales como manufacturados, determinando que el efecto sobre la producción de leche y la composición de la leche dependen del tipo de grasa, características de la dieta y del método de alimentación, etapa de lactancia, condición corporal, raza, entre otros. A través de la suplementación de aceites y grasas es posible cambiar tanto el contenido de grasa (aumentarlo o disminuirlo) como también modificar la composición de la grasa láctea. Cuando se analiza la proteína láctea, el efecto dependerá del origen de la grasa y/o aceite, con fuentes de origen vegetal se ha observado una disminución del porcentaje de proteína, con una disminución de la fracción de caseína; cuando la fuente es de origen animal no se ha observado efectos o bien estos han sido mínimos (Gallardo, 2006).

2.7.4.1 Manejos nutricionales para modificar los constituyentes de la leche

2.7.4.1.1 Modificación del contenido graso

Como gran parte de los precursores utilizados por la glándula mamaria para síntesis de los ácidos grasos se originan en el rumen, por fermentación de los alimentos, cualquier modificación a este proceso afecta directamente la concentración de grasa en la leche. Dado que una parte importante de la grasa tiene su origen en los ácidos acético y butírico, existe una asociación positiva entre la producción de estos y la CMG; relación que es inversa respecto de la producción de propionato. Por esta razón, un 60% de la variación en la CMG estaría explicada por cambios en la concentración de propionato. Estos antecedentes resaltan la posibilidad de controlar la concentración la CMG a través de la modificación del patrón fermentativo, por medio de diversos factores como: tipo y presentación del forraje, relación forraje concentrado, nivel y frecuencia de alimentación y naturaleza química de los carbohidratos de rápida fermentación (Mahecha *et al.*, 2008; Martínez y Sánchez, 2007).

Es el caso de una dieta con relación forraje/concentrado baja. En el Cuadro 4 se observa que a medida que se va aumentando la fracción concentrado en reemplazo del forraje, la fibra detergente neutro (FDN) total va disminuyendo, lo que es esperable, el tiempo de masticación se va reduciendo, el aporte tampón de saliva también disminuye, por menor rumia, el pH ruminal decae significativamente y la relación C2/C3 se va reduciendo (Manterola, 2008).

La relación más favorable sería 40% Forraje/60% concentrado para lograr una relación molar C2/C3 de 2.1. Sin embargo, esta relación puede variar según el tipo de forraje y concentrado utilizado y según el plano de alimentación. La relación concentrado/forraje debe ajustarse al nivel de alimentación de los animales vale decir que si se aumenta el consumo de materia seca, se requiere mayor cantidad

de forraje para mantener el porcentaje de grasa en leche. Diversos autores coinciden en que cuando se mantiene una relación F/C constante, por cada Megajoule de consumo extra, la materia grasa se reduce entre 0,03 y 0,15 unidades porcentuales. En términos generales, el aporte de FDN para mantener o incrementar el porcentaje de grasa de la leche debe ser equivalente o superior a 1,2% del peso vivo y alrededor del 75% de éste debe ser de fibra larga (Gonzales, 2007).

Cuadro 4. Efecto de la relación F/C sobre parámetros ruminales.

FORRAJE	CONCENTRADO	FDN	Tº Masticación	Ap. Tampón saliva	Ph Rumen	Proporción
		% de MS	Min/día	Kg/día		C ₂ /C ₃
100	0	65	960	2.4	7	3.9
80	20	55	940	2.3	6.6	3.4
60	40	45	900	2.2	6.2	2.9
40	60	34	820	2.1	5.3	2.1
20	80	24	660	1.9	5.4	1.4
0	100	14	340	1.5	5.0	0.8

(Gonzales, 2007).

El aporte de carbohidratos no estructurales (CNE), los cuales provienen principalmente de cereales, provoca respuestas variadas en la producción y composición de leche. Este efecto está relacionado con la tasa de degradación ruminal y con el porcentaje de almidón sobre pasante que puede tener cada uno de ellos.

Si la fracción degradable en rumen es fermentada muy rápidamente, se produce una baja fuerte del pH ruminal que inhibe la actividad de la flora celulolítica, reduciendo la fermentación de la fibra, lo cual determina una menor producción de acetato, alterándose la relación C₂/C₃, disminuyendo el contenido de grasa en leche. Otro efecto de un bajo pH ruminal es la biohidrogenación incompleta de las grasas insaturadas, lo cual lleva a la absorción de ácidos grasos

de cadena larga en configuración trans a diferencia de los sintetizados en glándula mamaria que son Cis, por lo que tienen un efecto inhibitor directo de la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria. Bajo estos antecedentes, es relativamente fácil reducir o aumentar la grasa en leche, modificando la relación F/C y variando el tipo de CNE de la ración (Bauman *et al.*, 2008).

Cuadro 5. Efectos de la relación F/C y del tipo de carbohidratos sobre la producción y composición de leche

RELACION HENO/CONCENTRADO				
	40 : 60		10 : 90	
	CEBADA	MAIZ	CEBADA	MAIZ
Producción de leche Kg/día	16.1	19	20.6	15.6
% Grasa	4.35	3.9	2	2.9
Producción de grasa Gr/día	725	761	419	461
% Proteína	3.05	2.9	2.9	3.3
% Lactosa	4.39	4.4	4.48	4.41
Producción de lactosa Gr/día	729	852	954	714
Consumo de almidón Kg/día	4.1	4.3	5.75	6.37
Almidón digerido en rumen %	89	72	90	67

(Sutton *et al.*, 1980)

Al comparar la cebada con el maíz, en una relación 40/60, se observa que el maíz produce un mayor volumen de leche, con menos concentración de grasa, sin embargo el mayor volumen compensa y el total de kilos es mayor con maíz. Lo mismo se encuentra con la proteína láctea. La lactosa no presenta diferencias en concentración. Al analizar el consumo de almidón éste es muy similar en ambos cereales, sin embargo, la cebada presenta un mayor porcentaje de almidón digerido en rumen, por lo que el maíz aporta mayor cantidad de almidón sobre pasante, que inducirá una mayor producción de lactosa (Gonzales, 2007).

Al aumentar el aporte de concentrado y tener una relación 10/90 la cebada provoca una mayor producción de leche, sin embargo el contenido de grasa cae fuertemente, de tal forma que con maíz se produce mayor cantidad de gramos de grasa por día. Sin embargo, con la proteína ocurre algo diferente, ya que si bien hay una menor concentración, el volumen de leche compensa esta menor concentración. Al analizar el consumo de almidón, se observa que el del maíz es superior, sin embargo la cantidad de almidón degradada en rumen en cebada es muy superior al del maíz. Esto afecta los patrones fermentativos, reduciendo la actividad celulolítica y fomentando la amilolítica, por lo que se reduce la generación de acético y aumenta la de propiónico. De todas formas, la cebada produjo algo más de sólidos totales por día que el maíz (Gonzales, 2007).

La adición de grasa en la dieta ha dado resultados variables sobre el contenido de grasa láctea. El uso de grasa debe tener como objetivo aumentar la concentración energética de la ración cuando se ha logrado alcanzar el máximo de inclusión de concentrados farináceos en la ración. Se ha visto que el aporte de grasa extra en la ración no origina una respuesta directa en la concentración de grasa láctea, contra lo esperado por los productores. Al aumentar el consumo de grasa, la respuesta más normal es un incremento en el volumen de leche sin variar la concentración de grasa, por lo que lo que se aumenta son los kilos diarios producidos. Es conveniente destacar una serie de elementos a considerar a la hora de adicionar grasas a las raciones (Manterola, 2008):

- El pH ruminal originado por la ración utilizada, ya que si éste es bajo, se producirá una biohidrogenación incompleta de los ácidos grasos poliinsaturados y un aumento en su absorción, lo que inhibirá la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria.
- El grado de protección de la grasa: Los ácidos grasos no esterificados tienen un efecto inhibitorio directo sobre la flora celulolítica, reduciendo la fermentación de la fibra y por lo tanto la producción de acetato.

- La digestibilidad de la fibra de la ración: La fibra menos digestible se verá más negativamente afectada por la inclusión de grasas no inertes.
- El consumo de energía previo: Por efectos metabólicos, la grasa tiene un efecto de reducir el consumo de materia seca y por lo tanto de energía.
- El perfil de los ácidos grasos: El aumento de ácidos grasos a nivel de la glándula mamaria determina una inhibición de la síntesis de ácidos grasos de cadena corta.
- Estado de lactancia y mérito genético: Al inicio de la lactancia, el aporte extra de grasa se traducirá en un aumento del volumen de leche en las vacas con mayor potencial genético y una reducción de la movilización de las reservas corporales en las de menor potencial. En el último tercio de lactancia, las vacas con mayor potencial responderán principalmente en la producción de leche, pero las de menor potencial aumentarán el depósito de grasa.

Cuadro 6.- Efectos del tipo de grasa utilizado sobre la producción y composición de leche. Respuestas observadas en % sobre la ración control

TIPO DE GRASA	Forma de inclusión	Producción de leche	% de grasa	% de proteína	Producción de grasa	Producción de proteína
Copra	Libre	4.3	9.4	-	16.2	-
Sebo	Libre	-0.9	10.7	-1.1	9.4	-3.2
Algodón	Semilla	12	8.6	-3.4	13.4	0
Algodón	Libre	0.9	-15.6	0.9	-17.3	-0.7
Girasol	Semilla	4.9	-12.6	2.7	-15.3	-0.2
Girasol	Libre	0.9	-15.6	0.9	-17.3	-0.7
Soya	Semilla	1.4	-1.21	-2.3	-	-
Soya	Extrusionada	1.4	1.12	-2.7	-	-
Soya	Libre	-0.7	-0.4	-2.2	0	-3.2
Raps+Linaza	Extrusados	2.5	-1.3	-7	-10	-4.2
Jabón cálcico	Saponificado	0.15	-3	-3.8	12	11
Grasa	Hidrogenada	0.01	3.9	1.4	4.2	1.4

(Martínez y Sánchez, 2007).

Las grasas de semillas oleaginosas son insaturadas y el efecto depende del tipo de ración y del nivel de aporte. Su inclusión provoca incrementos en el volumen de leche y en la grasa. Constituyen la mejor fuente de grasa cuando además la ración requiere de aporte proteico. Respecto a los aceites, ellos ejercen un efecto negativo sobre la fermentación ruminal de la fibra, efecto que es mayor en fibras menos digestibles. El efecto derivado de la inclusión es un incremento en la producción de leche y grasa pero un descenso en la concentración de ella. Las grasas animales, por el hecho de ser saturadas tienen un efecto menos adverso sobre la fermentación ruminal que los aceites. Finalmente las grasas aportadas como jabones cálcicos o grasas hidrogenadas no afectan a la fermentación ruminal y permiten modificar el perfil graso de las grasas de la leche, aumentando los PUFAs (Martínez y Sánchez, 2007).

Existen una serie de aditivos que permiten potenciar la actividad fermentativa ruminal y por lo tanto la generación de acetato e incrementar la concentración de grasas lácteas. Entre ellos se destacan los tampones o Buffers, como el bicarbonato de sodio o potasio y el alcalinizante el óxido de magnesio. Estos productos actúan muy eficientemente cuando hay un alto aporte de concentrados en la dieta o inclusiones altas de ensilajes de maíz (Gonzales, 2007).

2.7.4.1.2 Modificación de proteína

Las modificaciones logradas en el porcentaje de proteína láctea mediante cambios en la alimentación son muy inferiores a los obtenidos en la grasa y generalmente fluctúan entre 0,1 y 0,3 unidades porcentuales. Esto se debe a que el proceso de síntesis proteica está muy relacionado con el código genético e implica que si falta un aminoácido específico, el proceso se detiene. Los dos aminoácidos más limitantes son la lisina y la metionina, seguidos por la treonina y los ramificados valina e isoleucina. Debido a que el mayor aporte de aminoácidos

proviene de la síntesis proteica microbial en rumen, los esfuerzos deben orientarse a potenciar al máximo ese proceso, y apoyarlo con fuentes proteicas sobre pasantes sólo cuando los niveles de producción lo ameriten o cuando la ración sea deficiente en ciertos aminoácidos esenciales. Esto aseguraría la llegada de la suficiente cantidad de aminoácidos a la glándula mamaria para una adecuada síntesis proteica. Por otra parte hay que tener en cuenta que el rumiante utiliza diversos aminoácidos para sintetizar glucosa, fundamental para la síntesis de lactosa. En la medida en que el rumiante tenga fuentes de glucosa ya sea a partir del propionato o de almidones sobrepasantes, no utilizará aminoácidos para este fin y los derivará a síntesis proteica (Bauman *et al.* 2008) y (Manterola, 2008).

Al analizar los efectos de diferentes factores nutricionales sobre el porcentaje y producción de proteínas lácteas, se observa que el consumo de energía es el factor más importante ya que cuando se aumenta el aporte de energía en la ración por incremento en el aporte de CNE se produce un aumento de la producción de leche y del porcentaje de proteína. Esto se debe a que al aumentar el nivel de CNE, aumentan los niveles de insulina lo cual provocará una mayor captación de aminoácidos por la glándula mamaria y un incremento en la síntesis proteica. A nivel ruminal, un incremento en la energía disponible para la síntesis proteica microbial derivará en un mayor aporte de proteína metabolizable y sustratos glucogénicos. Las respuestas medidas han sido de 0.03 unidades porcentuales de proteína por cada MegaJoule extra de energía (Manterola, 2008).

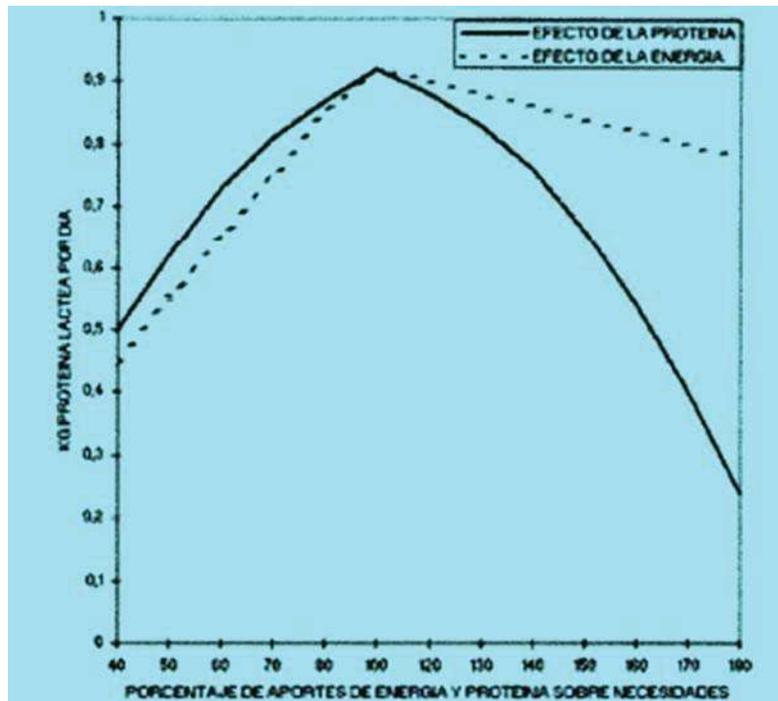


Figura 11. Efectos del consumo de energía y proteína sobre la proteína láctea.

Esto se debe a un aumento en los niveles de insulina, que determina un incremento en el contenido de proteína láctea. Por otra parte el aumento en energía disponible para la síntesis microbiana determinará un mayor aporte de proteína metabolizable y una mayor proporción de ácido propiónico. A esto se suma el efecto ahorrante ya mencionado, por parte de los CNE, que evitarán que el rumiante utilice aminoácidos glucogénicos para obtener su glucosa. La respuesta esperada es de 0,03 unidades porcentuales de incremento en proteína láctea, por cada MegaJoule extra de energía consumida (Gallardo, 2006).

El aporte de mayor cantidad de proteína provoca respuestas mínimas en la concentración de proteína láctea que se calcula en 0,02 unidades porcentuales en el rango de 9 a 17% de proteína en la ración. La proteína microbiana es la mayor y principal fuente de aminoácidos esenciales, por lo que los esfuerzos deben orientarse a maximizar la producción de proteína microbiana. La proteína no degradable pero digestible debe constituir un complemento a la microbiana y debe

tener un perfil de aminoácidos adecuado a los requerimientos de la glándula mamaria, especialmente en los aminoácidos limitantes) (Manterola, 2008).

Como una parte importante de las fuentes proteicas del rumiante provienen de las praderas y estas poseen elevadas cantidades de proteínas muy solubles y altamente degradables, el aporte de CNE de diferente tasa de degradación es fundamental para maximizar la síntesis proteica microbial y evitar los excesos de amoníaco que significarán un costo energético y uso de aminoácidos esenciales para la conversión del amoníaco a urea. Al respecto se muestra en la figura 5, como lograr esta sincronización entre la generación de amoníaco y la generación de energía y cadenas carbonadas para el crecimiento microbial (Manterola, 2008).

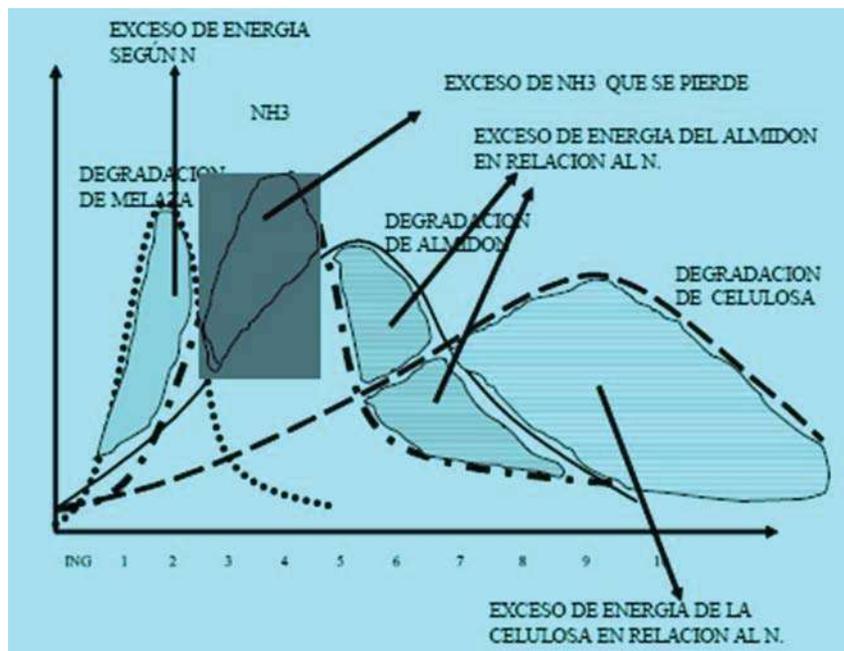


Figura 12. Curvas de degradación de diferentes tipos de carbohidratos y de la proteína soluble.

Se puede visualizar que en la medida que se aporten fuentes de CNE de diferente tasa de degradación, un mayor porcentaje del amoníaco total puede ser captado por las bacterias ruminales para la síntesis de sus proteínas (Manterola, 2008).

El uso de proteínas y aminoácidos protegidos ha tenido respuestas exitosas y en otros casos no ha habido respuestas productivas. En gran parte de las investigaciones se ha logrado aumentar el contenido de proteína pero principalmente se ha logrado mantener la concentración proteica al aumentar el volumen de producción. Es el caso de estudios realizados en una lechería en Casablanca en que se protegió el gluten de maíz y el afrecho de soya con formaldehído al 1%. (Figura 12) (Gonzales, 2007; Manterola, 2008)

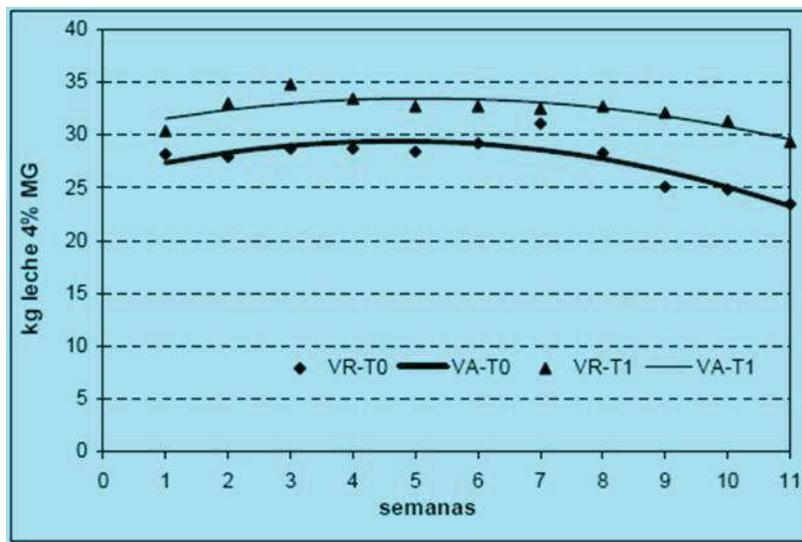


Figura 13. Inclusión de fuentes proteicas tratadas sobre la producción de leche.

Se aprecia que la inclusión de gluten de maíz y afrecho de soya tratados con formaldehído provocó una respuesta inmediata en vacas lecheras de alta producción, observándose resultados significativos a partir de la primera semana y que se hicieron más significativos después de la mitad del período de control (Manterola, 2008).

Se puede observar que al cabo de las 11 semanas de ensayo, se obtiene casi un 17% de mayor producción de leche al incluir estas fuentes proteicas, tratadas (Manterola, 2008).

Respecto a los efectos sobre la producción de proteínas se observan diferencias a favor de los subproductos tratado, de hasta 15% (Manterola, 2008).

Respecto a los efectos sobre la producción de grasa, se observaron diferencias más marcadas entre los tratamientos que en el caso de las proteínas, a favor del tratamiento con subproductos tratados (Manterola, 2008).

Cuadro 7. Variación de la producción de grasas.

INTERVALOS	T ⁰	T ¹	DIFERENCIA NETA	DIFERENCIA %
1	10.7	8.98	-1.72	-16.1
2	21.1	19.65	-1.45	-6.9
3	31.5	31.25	-0.25	-0.8
4	41.86	43.61	1.75	4.2
5	51.76	81.26*	7.8	10.6
6	62.16	68.91*	6.75	10.9
7	73.46	81.26	7.8	10.6
8	83.66	93.46*	9.8	11.7
9	92.6	105.46*	12.86	13.9
10	101.63	117.06*	15.43	15.2
11	112.23	128.76	16.53	14.7

Cuadro 8.- Variación de la producción de grasa.

INTERVALOS	T ⁰	T ¹	DIFERENCIA NETA	DIFERENCIA %
1	9.9±0.6	11.8*±0.6	1.8	18.43
2	19.8±1.2	24.5*±1.2	4.8	24.01
3	29.9±1.6	38*±1.6	8.1	27.01
4	40±2.1	50.7*±2.1	10.8	26.36
5	49.8±2.4	62.9*±2.4	13.1	26.98
6	60.7±2.8	75.3*±2.8	14.7	24.17
7	72.8±3.3	87.8*±3.3	14.9	20.5
8	83.2±2.8	100*±3.8	16.8	20.18
9	91.8±4.1	111.9*±4.1	20.1	21.85
10	100.3±4.5	123.6*±4.5	23.4	23.3
11	108.3±4.9	134.9*±4.9	26.6	24.55

La adición de aminoácidos protegidos, especialmente lisina y metionina, provocan un incremento en el volumen de leche y en el porcentaje de proteína láctea, pero la respuesta depende de la etapa de lactancia.

Cuadro 9. Efectos de la adición de lisina y metionina protegida sobre la producción y composición de leche en distintas fases de la lactancia.

Semana	1 a 9	10 a 20
N ⁰ Experimentos	16	71
Aportes de metionina gr/día	10	8
Aportes de lisina gr/día	24	20
Respuestas sobre grupo control		
Leche (kg/día)	0.7	0.1
Proteína (gr/día)	56	31
Grasa (gr/día)	10	1
% de proteína	0.12	0.1
% de grasa	-0.1	0

Se observa que las mayores respuestas son en la producción de leche más que en el contenido de proteína.

La inclusión de grasas suplementarias en la ración, siempre se ha asociado con una reducción del porcentaje de proteína de la leche (Cuadro 8) disminuyendo en 0,04 unidades porcentuales por cada 1% de aumento de aporte de grasa de la ración. Una de las principales causas es la sustitución de los CNE por grasa, que determina una menor disponibilidad de energía rápida para los microorganismos afectándose la síntesis proteica. Además hay una disminución del ácido propiónico a nivel ruminal, por lo que el rumiante deriva más aminoácidos a obtener glucosa.

III. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La suplementación de ácidos grasos poliinsaturados saponificados en vacas F1 (*Bos taurus x Bos indicus*) durante el posparto temprano producirá un mejora en la grasa, proteína y sólidos no grasos de la leche en comparación con una suplementación de ácidos grasos saturados en la dieta.

Objetivo General

Evaluar el efecto de dos fuentes de ácidos grasos (poliinsaturados y saturados saponificados) sobre la composición de la leche en vacas F1 (*Bos taurus x Bos indicus*).

Objetivos Específicos

- 1) Evaluar el efecto de dos fuentes de ácidos grasos sobre la concentración de grasa en la leche en vacas F1 (*Bos taurus x Bos indicus*).
- 2) Evaluar el efecto de dos fuentes de ácidos grasos sobre los porcentajes de proteínas presentes en la leche de vacas F1 (*Bos taurus x Bos indicus*).
- 3) Evaluar el efecto de dos fuentes de ácidos grasos sobre los sólidos totales presentes en la leche en vacas F1 (*Bos taurus x Bos indicus*).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio: El presente estudio se llevó a cabo en el período comprendido de julio a diciembre de 2009, en el sector Bovinos de Carne de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, localizada en la zona centro del estado de Michoacán de Ocampo. La región se localiza a 19° 42' 10" de latitud Norte y 101° 11' 32" de longitud Oeste, 1921 msnm. El clima se clasifica como templado con lluvias en verano. La temperatura promedio anual es de 26° C, la precipitación pluvial media es de 762.1 mm³ (INEGI, 2004).

Animales y alimentación: Se utilizaron 20 vacas *Bos indicus x Bos taurus*, próximas al parto en un rango de peso vivo de 400 a 450 kg, condición corporal de 3 puntos (escala del 1 al 5, donde 1 (emaciada) y 5 (obesa) (Ayala *et al.*, 1990). Las vacas fueron distribuidas de manera aleatoria en dos grupos para su alimentación, Grupo 1: alimentado con rastrojo de avena y un concentrado suplementado con aceite vegetal con 60.7% de ácidos grasos saponificados (PUFA; n=10) y Grupo 2: concentrado con aceite vegetal con 66.0 % de ácidos grasos saturados (SFA; n=10). Los ingredientes utilizados fueron en función de su disponibilidad y fue elaborada considerando un peso vivo de 450 kg y una

producción de leche de 5 kg por día (NRC, 1984). La suplementación inicio el día siete posparto y se mantuvo por espacio de 63 días.

Cuadro 10. Ingredientes de la dieta (% en base seca) y valor nutricional de la dieta utilizada

Ingrediente	% BS	Nutriente	Aporte nutricional
Rastrojo de Maíz	63.38	Materia seca (%)	74.85
Melaza	15.0	Fibra cruda	22.0
Sorgo grano	9.93	Proteína cruda (%)	10.7
Soya	8.11	EM (Mcal/kg)	2.32
Aceite	3.21	Calcio (%)	0.53
Fosfato dicálcico	0.11	Fósforo (%)	0.21
Vitaminas	0.25		
Total	100.00		

Determinación de la composición química de la leche. La determinación de la composición química de la leche se realizo en muestra lácteas tomadas a intervalos de siete días a partir de la primera semana posparto y hasta el día 70. Las muestras de leche fueron colectadas a las 07:00 h de los cuatro cuartos, previa eliminación de una muestra láctea. El porcentaje de grasa en la leche fue determinado mediante el Método Gerber, la concentración de proteína se determino mediante el método Kjeldahl y el porcentaje de sólidos totales mediante el secado de la muestra en la estufa, en todos los casos se siguieron los procedimientos descritos en el manual de la AOAC (2002).

Análisis estadísticos. Los resultados de la concentración de grasa, proteínas y lípidos totales fueron sometidas a un análisis de varianza en un diseño completamente al azar y la comparación de medias, se realizo utilizando la prueba de T-Student, en ambos casos se utilizo el paquete estadístico SAS (2002).

V. RESULTADOS

Los resultados de la composición de la **grasa** en leche, indican que no hubo diferencias significativas estadísticamente ($X^2=0.1657$) entre el grupo suplementado con PUFA respecto al grupo suplementado con SFA, lo cual sugiere, que la suplementación en las cantidades proporcionadas, y bajo las condiciones presentadas, no se presentan diferencias sobre la composición de la grasa en la leche, encontrando una media de 3.88 ± 0.19 Y 3.7 ± 0.34 %, en el grupo de vacas suplementadas con PUFAs respectivamente con las vacas suplementadas con SFA.

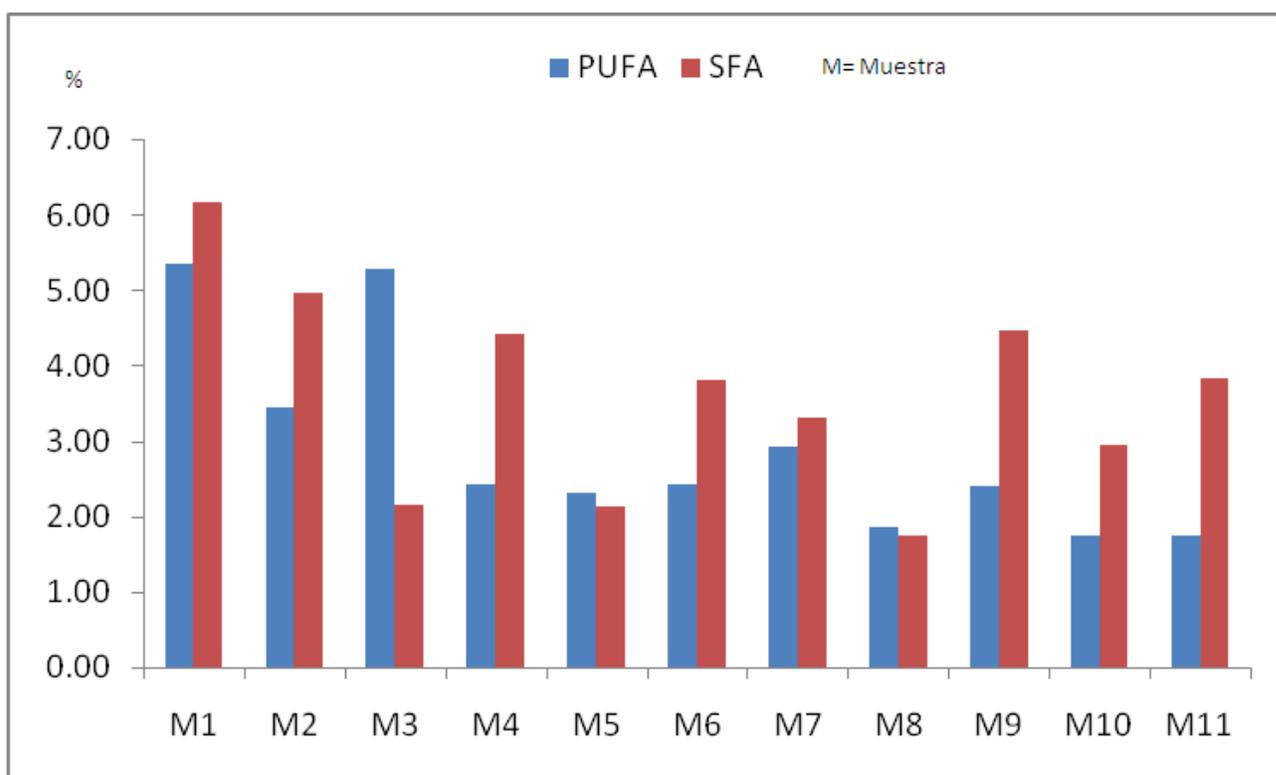


Figura 14. Comportamiento de la grasa.

Los resultados de la composición de la **proteína** en leche, indican que no hubo diferencias significativas estadísticamente ($X^2=0.2957$) entre el grupo suplementado con PUFA respecto al grupo suplementado con SFA, lo cual sugiere, que la suplementación en las cantidades proporcionadas, y bajo las condiciones presentadas, no tienen efecto sobre la composición de la proteína en la leche, encontrando una media de 3.60 ± 0.18 y 3.1 ± 0.25 % para el grupo PUFAs y SFA respectivamente.

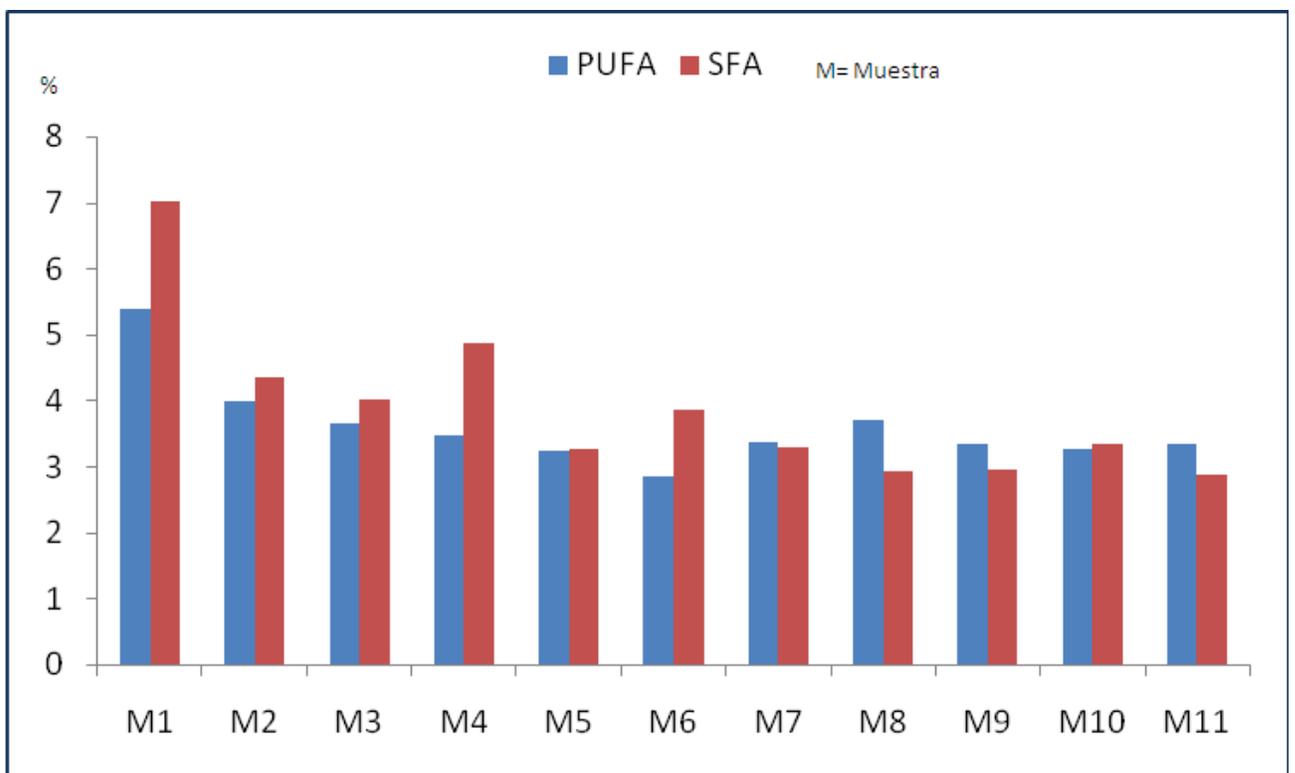


Figura 15. Comportamiento de la proteína

Los resultados de los **sólidos totales** en leche, indican que hubo diferencias significativas estadísticamente ($X^2=0.0214$) entre el grupo suplementado con PUFA respecto al grupo suplementado con SFA, lo cual sugiere, que la suplementación en las cantidades proporcionadas, y bajo las condiciones

presentadas, tienen efecto sobre los porcentajes de sólidos totales en la leche, encontrando 10.94 ± 0.34 para PUFAs y 12.00 ± 0.37 % para SFA.

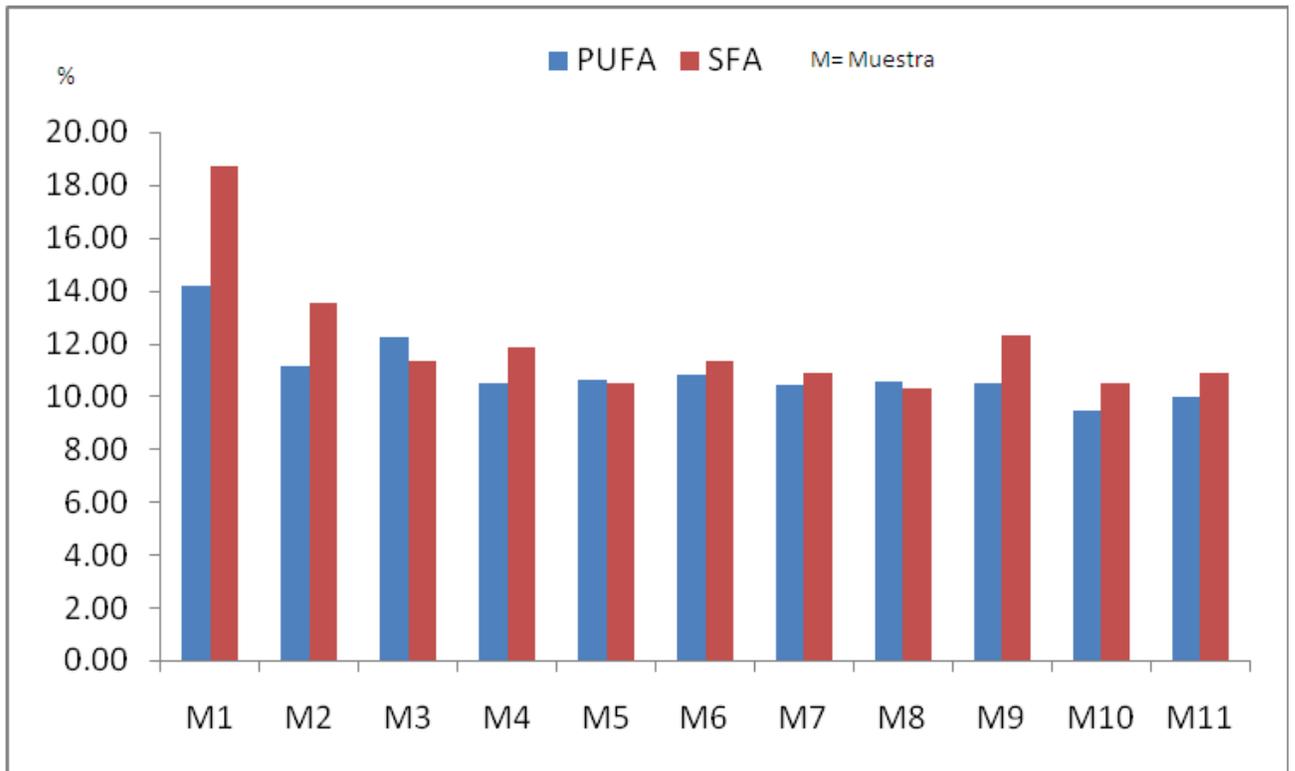


Figura 16. Comportamiento de los sólidos totales.

VI. DISCUSIÓN

En el presente estudio, no se reportan diferencias significativas ($p > 0.1657$) en el porcentaje de grasa láctea en los distintos tratamientos, existiendo una leve tendencia a aumentar en las suplementadas con SFA, lo que muestra que los tipos de grasas probados no produjeron efectos en el balance de las concentraciones de ácidos acético y propiónico a nivel ruminal. Algunos autores señalan que grandes cantidades de grasas poliinsaturadas en la dieta pueden provocar una disminución en la grasa láctea, alterando la fermentación ruminal y con ello produciendo una menor síntesis de ácido acético (C2) precursor, junto con

el ácido butírico, de los ácidos grasos de cadena corta y del 50% del palmítico presentes en la leche (Sutton, 1979; Storry *et al.*, 1979; Selner y Acultz, 1980; Coppock y Wilks, 1991). Por otra parte, Chalupa *et al.* (1986) señalan que la adición de grasas saturadas de cadena larga, aumenta la concentración de grasa láctea.

Al igual que Rego *et al.*, (2004), mencionan que la grasa en la leche se puede incrementar por manipulación nutricional, principalmente la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados; ya que determinaron que cuando las vacas alimentadas con pastos con elevada concentración de PUFAS, además de concentrado, la calidad de la leche respecto a la grasa en la misma, se modificaba, pero no de manera significativa, lo cual, atribuye a la cantidad de lípidos, principalmente el linoleico presentes en los alimentos, los cuales son insuficientes para modificar, el ambiente ruminal y el patrón de biohidrogenación.

Rego y Almeida (2002) observaron que al reemplazar los pastos por una dieta basada en maíz y silo de pastos, inducían un incremento en la grasa láctea, en los ácidos grasos de cadena corta y media y una disminución en los ácidos grasos de cadena larga, particularmente el ácido oleico.

Martínez y Sánchez (2007) reportaron que las grasas aportadas como jabones cálcicos o grasas hidrogenadas no afectan a la fermentación ruminal y permiten modificar el perfil graso de las grasas de la leche, aumentando los PUFAs. Al igual que Fuentes, 2009 quien publica que al proteger en jabones los AGs se logra integrar directamente a la grasa láctea, logrando así en ambos casos incrementar los niveles de grasa en la leche.

Otros autores, como Aguilar *et al.*, (2008), mencionan que aunque hubo una ligera disminución en la producción de leche, la concentración de proteína, grasa y lactosa no tuvieron cambios significativos al suplementar con grasas protegidas.

En el 2009, Bauman *et al.*, en estudios realizados in vivo, encontraron que al suplementar con pufas, se incrementaba en aproximadamente 2 % la totalidad de los ácidos grasos contenidos en la leche; principalmente el n-3.

Con respecto a la proteína láctea, Tomlinson *et al.*, (1994), evaluaron el efecto de la fuente proteica y del aporte de proteína total y de la fracción no degradable sobre la materia grasa y proteína láctea en dietas suplementadas con un 2% de una sal cálcica de ácidos grasos libres de aceite de palma, donde no encontraron efecto de la suplementación grasa sobre la proteína láctea, lo mismo que con las distintas fuentes de proteína, aún cuando la interacción grasa /fuente proteica sugirió que la proteína dietaría afectó el contenido de la proteína láctea. Así mismo menciona que el origen de la proteína contenida en la dieta, afectó el contenido de la proteína láctea; sin embargo, la interacción entre el porcentaje de proteína y la fuente de proteína indicó que las diferencias son dependientes del porcentaje de proteína de la dieta. Mientras Christensen *et al.* (1994) y Weigel *et al.* (1997), señalan que la suplementación grasa no afectó la concentración de la grasa y proteína láctea.

Otros autores (Firkins y Eastridge, 1992; Drackley y Elliot, 1993; Wu *et al.*, 1993) han encontrado que la suplementación con grasas protegidas disminuye el contenido de proteína láctea. Al respecto, Chalupa y Sniffen (1991) propusieron un aporte adicional de 72 g de proteína no degradable por cada Megacaloría de energía neta aportada por la grasa, sobre un 3% de suplementación grasa en la ración; sin embargo, es necesario tener presente que para expresar el potencial de síntesis de proteína láctea debe maximizarse la producción de proteína bacteriana, más que aumentar la fracción de proteína no degradable en la ración.

La síntesis de proteína microbiana es función del aporte de energía a las bacterias, por lo que es posible optimizar la síntesis de proteína láctea incrementando el aporte de carbohidratos solubles y de la fracción de proteína

degradable en la dieta, independiente de la suplementación grasa Relling y Mattioli, 2003.

Las cantidades de proteína, grasa y lactosa que son sintetizadas por la glándula mamaria dependen de las cantidades de los sustratos que son suministrados por la sangre. Los sustratos primarios para la síntesis de la leche entera son: el acetato, el butirato, y los ácidos grasos de cadena larga (para la síntesis de la grasa), los aminoácidos (para el síntesis de la proteína) y glucosa (para el síntesis de la lactosa). La lactosa regula la osmolaridad de la leche y su concentración láctea es poco variante.

La glucosa es sintetizada por el hígado, y su síntesis depende del suministro del propionato que viene principalmente de la fermentación de los almidones y los azúcares en el rumen.

Otros autores como, Avila *et al.*, 1998; González *et al.*, 1998; y Franulic *et al.*, 1999 han establecido que el uso de aceites hidrogenados no produce alteraciones de la fermentación ruminal, además adquieren un alto valor de digestibilidad para todos los ácidos grasos que la componen y no afecta la absorción intestinal de otros nutrientes, por lo que la respuesta en la composición de leche debería ser positiva, al incrementar los niveles de sólidos ya que en primer instancia no se afecta la fermentación ruminal trayendo con esto la obtención de los ácidos grasos volátiles, precursores de los componentes de la leche; de ahí que no se hayan obtenido diferencias significativas entre los tratamientos.

Existen dos enfoques del efecto de los AGI sobre la cantidad de grasa de la leche: uno general y otro diferencial. El enfoque general se basa en resultados obtenidos en hígado de humanos y ratas, en donde se encontró que los AGI y en especial los PUFA indujeron la expresión génica de enzimas responsables de la oxidación de AG y reprimieron enzimas relacionadas con la lipogénesis (Moon *et*

al., 2002). El enfoque diferencial considera que en la glándula mamaria bovina no siempre los AGI causan reducción de la síntesis de la grasa de la leche. Las razones podrían ser resumidas en tres aspectos principales:

Primero, porque no todos los AGI que llegan directamente a la glándula mamaria, procedentes de la dieta, tienen el mismo efecto regulatorio sobre las enzimas lipogénicas mamarias y/o sobre la síntesis de la grasa de la leche. La adición de ácido ruménico en MEC bovinas, no afectó el metabolismo lipídico mientras que el *trans*-10 *cis*-12 CLA disminuyó la síntesis de triglicéridos (Peterson *et al.*, 2004); la adición *in vitro* de TVA y de ruménico mejoró la actividad de la enzima SCD en MEC bovinas, mientras que el oleico y el linoleico la disminuyeron (Jayan *et al.*, 2000); asimismo, la adición *in vitro* de TVA y de esteárico no afectó la transcripción del gen promotor de la SCD en MEC bovinas mientras que el linoleico y el oleico la disminuyeron (Keatin *et al.*, 2006).

Segundo, porque existen otros aspectos en la glándula mamaria que afectan la regulación que puedan causar ciertos AG que vienen directamente de la dieta, lo cual no ha sido clarificado hasta el momento, pero que podría en cierto modo estar asociado con las relaciones de disponibilidad de ciertos AG en la glándula mamaria. Posiblemente, a esto se deba el que hayan resultados contrastantes sobre el efecto de algunos AGI cuando se han trabajado *in vitro* directamente sobre la MEC bovina, en infusiones abomasales o intestinales, ó a través de lípidos protegidos. Se ha encontrado que la adición de ácido oleico ó linoleico en MEC bovinas disminuye la actividad de las enzimas lipogénicas ACC y FAS (Jayan *et al.*, 2000). Sin embargo, Yonezawa *et al.* (2004) y Enjalbert *et al.* (1998) encontraron que la grasa de la leche aumentaba ó no había diferencia. Así mismo, Mahecha *et al.*, (2008) no encontraron efecto sobre la grasa de la leche al suplementar con lípidos protegidos mientras que Ahnadi *et al.*, (2002) encontraron reducción.

Tercero, porque en los rumiantes el rumen impide que la mayor parte de AGI que se ingieren en la dieta, lleguen en forma intacta a la glándula mamaria, ya que son biohidrogenados parcial o totalmente por los microorganismos ruminales. Por lo tanto, en dietas en que los AGI no estén protegidos a la degradación ruminal, el efecto sobre la regulación de las enzimas lipogénicas depende no tanto del AG de la dieta sino de sus metabolitos ruminales, y estos metabolitos no siempre son los mismos ya que dependen de las interacciones generadas a nivel ruminal con otros nutrientes. Por ejemplo, se reporta que la suplementación de aceites vegetales en dietas bajas en fibra causan depresión de la grasa de la leche, mientras que con dietas altas en forraje no (Cruz *et al.*, 2007). Asimismo, se ha encontrado que la suplementación de aceite de pescado solo, causa depresión en la grasa de la leche (Rego *et al.*, 2005), mientras que la combinación de aceite de pescado con aceite de girasol la incrementa (Palmquist y Griinari, 2006). Algunos estudios en los que se ha obtenido incremento en *trans*-10 *cis*-12 CLA; *trans*-7 *cis*-9 CLA, *trans*-9 *cis*-11 CLA, ó *trans*-10 18:1, se ha reportado disminución en la expresión de algunas enzimas lipogénicas y caída de la grasa de la leche (Harvatin *et al.*, 2006) y (Perfield *et al.*, 2007). Por el contrario, trabajos en los que no ha habido un cambio significativo en alguno de estos metabolitos, no se ha obtenido alteración en la grasa de la leche ó el cambio ha sido mínimo (Palmquist y Griinari, 2006; Murrieta, *et al.*, 2006; Cruz *et al.*, 2007).

No obstante, aún falta por relacionar el efecto de una gran parte de metabolitos ruminales con diferentes enzimas que intervienen en la síntesis de la grasa de la leche. También es necesario profundizar en la vía de regulación de estos AG.

Hasta el momento, los pocos estudios realizados sobre regulación de AG en glándula mamaria bovina, han encontrado asociación entre la suplementación de algunos AGI y el cambio en la proteína de unión al elemento de respuesta a los esteroides (SREBP-1) (Peterson *et al.*, 2004; Keating *et al.*, 2006; Harvatin *et al.*,

2006), razón por la cual se ha planteado como vía principal de regulación en la glándula mamaria bovina. SREBP-1 es una familia de proteínas sintetizadas como formas precursoras inactivas, las cuales se encuentran ancladas a la membrana del RE y a la membrana nuclear en una disposición de horquilla, como se observa en la figura 8 #15. El gen de las enzimas lipogénicas que actúan en la glándula mamaria contiene un extremo SRE (Figura 8 #16) al que se unen las SREBP. Ante la ausencia de un estímulo desencadenante, la SREBP se encuentra conformando un complejo con la proteína SCAP (SREBP cleavage activating protein; proteína activante del rompimiento de las SREBP) en el RE. Sin embargo, ante un estímulo desencadenante, la SCAP sufre un cambio conformacional y se desprende de su unión al RE, de forma que SCAP y SREBP migran al complejo de Golgi (Figura 8 #17) a través de vesículas (recubiertas de proteínas COP-II) (Ponce, 2009).

Estas vesículas también contienen una serina-proteasa inactiva de la familia subtilisina (Sitio-1 protease; SP1). En la membrana de Golgi, la proteasa SP1 se activa y corta SREBP en el medio de su bucle hidrófilo luminal. Tras este corte, SP2, una metaloproteasa transmembrana dependiente de zinc, que posiblemente reside en Golgi de forma constitutiva, vuelve a cortar a SREBP en la región intramembrana del lado citoplasmático. Este proceso denominado “RIP” (regulated intermembrane proteolysis ó proteólisis de intermembrana regulada) libera la región aminoterminal (68 kDa) denominada forma madura ó activa (Figura 8 #18), que contiene una señal de localización nuclear que interacciona directamente con el receptor citosólico llamado importina, permitiendo su transporte al núcleo. Una vez en el núcleo, SREBP puede unirse a las regiones SRE presentes en regiones promotoras de genes involucrados en la síntesis de lípidos y regular su expresión (Figura 8 #19) (Palmquist y Griinari, 2006; Cruz *et al.*, 2007; Bernard *et al.*, 2008).

Estudios realizados por Feuermann *et al.* (2006) y Yonezawa *et al.* (2004), han encontrado asociación entre la adición *in vitro* de AGI, el cambio en la expresión de mRNA de prolactina y leptina, y la síntesis de triglicéridos. Sin embargo, estos

estudios no evaluaron la vía por la cual los AG actuaron para que la leptina ó ellos directamente, incidieran en la síntesis lipídica, tampoco se evaluó el efecto sobre la composición de los triglicéridos.

VII. CONCLUSIÓN

Es factible modificar la composición de la leche mediante el manejo de diversos factores dietarios. Sin embargo, las respuestas a obtener son diferentes, según el tipo de componente. La lactosa por su rol osmorregulador mantiene una concentración altamente estable, siendo la desnutrición la única causa de variación dejándonos que es independiente de la dieta; por otra parte la concentración de grasa láctea puede ser altamente modificada principalmente al proporcionar grasas protegidas a la dieta y con respecto a la proteína láctea depende principalmente del nivel energético de la ración. Por lo tanto en el presente trabajo se logro no afectar la fermentación y con esto se obtuvo niveles considerables de AGV, precursores de los componentes lacteos además con el concentrado proporcionado en la dieta se aumentaron los niveles de N, para con esto lograr incrementar los niveles de proteína, por otro lado, llevar grasas hasta nivel intestinal se tiene una mayor disponibilidad de esta para ser absorbida y transportada a la glándula mamaria, de esta forma reduce las movilizaciones grasas que se presentan al inicio de la lactancia y se evita el descenso de los niveles de grasa y proteína presentes en este periodo.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Ahnadi CE, Beswick N, Delbecchi L, Kennelly JJ. y Lacasse P. 2002. Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *J Dairy Res.* 69 (4) pág.521-531.
- Angulo J, Mahecha L, Giraldo CA, Olivera M. 2005. Prostaglandinas y grasa de la leche. Síntesis a partir de ácidos grasos poliinsaturados, en bovinos. En: *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca.* Medellín-Colombia: Editorial Biogénesis.
- Angulo J. y Olivera M. 2008. Fisiología de la producción láctea en bovinos: Involución de la glándula mamaria, láctogénesis, galactopoyesis y eyección de la leche. En: *Buenas Prácticas de Producción de Leche: Contexto socioeconómico, Morfofisiológico, Sanitario y Normativo.* Medellín-Colombia: Editorial Biogénesis.
- AOAC. 2002. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.* Arlington, VA. 1.
- Atwal, A.S. and J.R Erfle. 1992. Effects of feeding fish meal to cows on digestibility, milk production, and composition. *J. Dairy Sci.* 75: 502-507.
- Avila, J., F. González y F. Bas. 1998. Efecto del tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la fermentación ruminal "in situ" medida a través de la digestión de la FDN y la dinámica de la digestión proteica. *Ciencia e Investigación Agraria.* N°2 (25) 109117.
- Ayala, B. A. J., L.R. Delgado, N. Honhold, M. J. Magaña. 1990. El uso del puntaje en la medición de la condición corporal en rumiantes. En: *Memoria de la 2ª Reunión de Producción Animal Tropical.* Eds. CP/CEICADES-UADY/FMVZ. Merida, Yuc. Mex. 42-46 pp.
- Bauman D. E., I. H. Mather, R. J. Wall, and A. L. Lock 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science* 89:1235–1243.

- Bauman DE, Perfield JW, Harvatine KJ, Baumgard LH. 2008. Regulation of Fat Synthesis by Conjugated Linoleic Acid: Lactation and the Ruminant model. *J Nutr* 138(2): 403-409.
- Bernard L., Leroux C. Y Chilliard Y. 2008 Expression and Nutritional Regulation of Lipogenic Genes in the Ruminant Lactating Mammary Gland. *Adv Exp Med Biol.* 606: 67-108.
- Castro Bolaños M., Herrera Ramírez C. y Lutz Cruz G. 2005. Composición, caracterización y potencial aterogénico de aceites, grasas y otros derivados producidos o comercializados en Costa Rica. *Acta Med Costarric* 47(1).
- Chardigny JM, Masson E, Sergiel JP, Darbois M, Loreau O. y Noël JP. 2003. The position of rumenic acid on triacylglycerols alters its bioavailability in rats. *J Nutr* 133(12): 4212-4224.
- Chalupa, W. and CH.J. Sniffen. 1991. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. *Dairy Nutrition Management. Veterinary Clinics of North American. Food Animal Practice* 7(2):353.
- Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge RM y Doreau M. 2000 Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Ann Zoot.* 49 :181-205.
- Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J. y Lamberet G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science.* 86:. 1751–1770.
- Christensen, R.A., M.R. Cameron, J.H. Clark, J.K. Drackley, J.M. Lynch and D.M. Barbano. 1994. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acid in the diet of dairy cows fed supplemental fat. *J. Dairy Sci.* 77: 1618.
- Christie W. W. 1981. *Lipid Metabolism in ruminant animals. Lipid metabolism in the mammary gland of ruminant animals.* 1ª edición. Editorial Pergamon press pp 227- 279.

- Coomer, J.C., H.E Amos,. C.C. Williams and J.G. Wheeler. 1993. Response of early lactation cows to fat supplementation in diets with different nonstructural carbohydrate concentrations. *J. Dairy Sci.* 76: 3747.
- Copopck, C.E and D.L.Wilks. 1991. Supplemental fat in high energy ration for lactating cows: Effects of intake, digestion, milk yield and composition. *J. Animal Sci.* 69:3826.
- Clegg RA, Barber MC, Pooley L, Ernens I, Larondelleb Y, Traversa MT. 2001. Milk fat synthesis and secretion: molecular and cellular aspects. *Livest Prod Sci.* 70: 3–14.
- Cruz Hernandez C, Kramer JKG, Kennelly JJ, Glimm DR, Sorensen BM y Okine EK. 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.
- David, A., F. González y F. Bas. 1999. Efecto de la suplementación de un aceite de pescado hidrogenado (GHP) y una sal cálcica de ácidos grasos libres de sebo bovino, sobre la digestibilidad aparente de terneros rumiantes. *Ciencia e Investigación Agraria* 26(1): 43-48.
- DePeters E. J., German J. B., Taylor SJ, Essex S. T. y Perez-Monti H. 2001. Fatty Acid and Triglyceride Composition of Milk Fat from Lactating Holstein Cows in Response to Supplemental Canola Oil. *J Dairy Sci.* 84: 929–936.
- Eastridge , M.L. and J.L. Firkins. 1991. Feeding hydrogenated fatty acids and triglycerides to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 2610-2616.
- Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C. y Moncoulon R.1998. Odenal Infusions of Palmitic, Stearic or Oleic Acids Differently Affect Mammary Gland Metabolism of Fatty Acids in Lactating Dairy Cows. *J Nutr.* 128(9):1525-1532.
- Gagliostro y Schroeder, 2007. Efectos de la suplementación con sales cálcicas de ácidos grasos insaturados sobre la digestión ruminal en vacas lecheras en pastoreo. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 5: 88-99.

- Gallardo M. 2006. Alimentación y composición química de la leche. Leche y sus derivados. Arg. Prod. An. 55 (12):
- Gallardo M.R., Maiztegui, J., Valtorta, S., Paoletta, M., Lorenzón M. y Romano G. 2000. Efectos del suministro de Lasalocid a vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo de alfalfa. I Congreso Mundial de la Leche. Hoard's Dairyman. 24 al 26 de julio, Querétaro (México).
- Goff H.D. and Hill A.R. 1992. Chemistry and Physics in Dairy Science and Technology Handbook I. Principles and Properties. Ed. Y.H. Hui, VCH Publishers Inc. New York.
- Gonzales V. H. 2007 Factores nutricionales que afectan la producción y composición de le leche.<http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Factor/Factor.pdf>
- Harvatine K. y Bauman D. E. 2006. SREBP1 and Thyroid Hormone Responsive Spot 14 (S14) Are Involved in the Regulation of Bovine Mammary Lipid Synthesis during Diet-Induced Milk Fat Depression and Treatment with CLA. J Nutr 136: 2468–2474.
- Heid HW y Keenan TW. 2005 Intracellular origin and secretion of milk fat globules. Eur J Cell Biol. 84(2-3): 245-258.
- Hernandez, R.; Ponce, P. 2003 Caracterización de la composición láctea en Cuba y factores asociados a su variación. Revista Electronica De Veterinaria 4: 133-152.
- Hernandez, R.; Ponce, P. 2005. Efecto de tres tipos de dietas sobre la aparición de trastornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian. Zootecnia Tropical 23: 295-310.
- INEGI. 2004. Secretaría de Desarrollo Social. Consejo Nacional de Población. Delimitación de las Zonas Metropolitanas de México. México, D. F.
- Jayan G. y Herbein J. 2000. "Healthier" dairy fat using *trans*-vaccenic acid. Nutr Food Sci. 30 (6): 304–309.

- Jensen R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January to december J. Dairy Sci. 85: 295-350.
- Mahecha L, Angulo J, Salazar B, Cerón M, Gallo J. y Molina CH. 2008. Supplementation with bypass fat in silvopastoral systems diminishes the ratio of milk saturated/unsaturated fatty acids. Trop Anim Health Prod. 40:209-216.
- Månsson H. L. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. J Food Nutr Res 52 pag. 134-156
- Manterola B. H. 2008. Manejo nutricional y composición de la leche, el desafío de incrementar los sólidos totales en la leche. Una necesidad de corto plazo. http://www.agronomia.uchile.cl/extension/circular_extensio_panimal/CIRCULAR%20DE%20EXTENSION/N_33/capitulo_1.pdf
- Martínez M. A. L. y Sánchez C. J. F. 2007. Factores nutricionales que afectan a la composición de la leche. Engormix . <http://www.engormix.com/MAGanaderia-leche/nutricion/articulos/factores-nutricionales-afectan-composicion-t1466/141-p0.htm>
- Moon Y. S., Latasa M. J., Griffin M. J. y Sul H. S. 2002. Suppression of fatty acid synthase promoter by polyunsaturated fatty acids. J Lipid Res. 43(5): 691-698.
- Morales S. y Sol M.1999. Factores que afectan la composición de la leche. TECNO VET: Vol. 5 (1).
- Murrieta C. M., Hess B. W., Scholljegerdes E.J., Engle T.E., Hossner K. L. y Moss G. E. 2006. Evaluation of milk somatic cells as a source of mRNA for study of lipogenesis in the mammary gland of lactating beef cows supplemented with dietary highlinoleate safflower seeds. J Anim Sci. 84:2399–2405.
- National Research Council. 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6a ed. National Academy Press. Washington, D. C.

- Noble RC. 1981. Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals. In: Lipid metabolism in ruminant animals. WW Christie editor. Pergamon Press. United Kingdom 57-93 pp.
- Palmquist DL y Griinari JM. 2006. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combinations of sunflower and fish oils in the diet. Anim Feed Sci Technol 131:358-369.
- Perfield J. W, Lock A. L, Griinari J. M, Saebø A., Delmonte P. y Dwyer DA. 2007. *trans*-9, *cis*-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. J Dairy Sci. 90(5):2211-2218.
- Peterson D, Matitashvili E y Bauman D. 2004. The inhibitory effect of *trans*-10 *cis*-12 CLA on lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells involves reduced proteolytic activation of the transcription factor SREBP-1. J Nutr. 134 (10): 2523-2527.
- Ponce P. 2009 Composición láctea y sus interrelaciones: expresión genética, nutricional, fisiológica y metabólica de la lactación en las condiciones del trópico. Sanidad Animal 31:1-12.
- Razz R., Clavero T. 2007. Efecto de la suplementación con concentrado sobre la composición química de la leche en vacas doble propósito pastoreando *panicum máximum- leucaena leucocephala*. Revista Científica, FCZ-LUZ 17: 53-57.
- Rego OA, Rosaa HJD, Portugalb P, Cordeiroa R, Borbaa AES, Vouzelaa CM. 2005. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows Livest Prod Sci. 95:27-33.
- Reinhardt TA y Lippolis JD. 2006 Bovine milk fat globule membrane proteome. J Dairy Res. 73(4): 406-416.
- Relling Alejandro Enrique y Mattioli Guillermo Alberto. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Editorial EDULP, pp 3-67.

- Romero, L.A., Aronna, M.S., Comeron, E.A. y Quaino, O. 2002. Evaluación del silaje de sorgo forrajero para la producción de leche". Arg. Prod. An. 22 (1):128.
- SAS. Statistical Analysis System Institute. 1996. SAS/STAT User's Guide: Version 6.0 Statistics SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina.
- Shauff, D.L. and J.H. Clark. 1989. Effects of prilled fatty acids and calcium salts of fatty acids on rumen fermentation, nutrient digestibilities, milk production and milk composition. J. Dairy Sci. 72:917
- Spitsberg VL. 2005. Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. J Dairy Sci. 88: 2289-2294.
- Taverna M. y Coulon J.B. 2000. La calidad de la leche y de los quesos. Ed. INTA. Rafaela 113 pp.
- Taverna, M. 2001. Composición química de la leche. Rev. Arg. Prod. Anim. 2 vol.1 pag. 186- 198.
- Taverna, M. 2002. "Manual de referencia para el logro de calidad de leche". INTA Rafaela. 1ra Edición Abril. pp135.
- Valenzuela A, Sanhueza JB, Nieto S. 2006. Docosahexaenoic acid (DHA), essentiality and requirements: why and how to provide supplementation. Grasa y Aceites 57: 229-237.
- Valenzuela A, Sanhueza J y Nieto S. 2002. El uso de lípidos estructurados en la nutrición: una tecnología que abre nuevas perspectivas en el desarrollo de productos innovadores. Rev Chil Nutr. 29(2): 106-115.
- Valtorta, S.E.; Gallardo, M.R.; Castro, H.C. y Castelli, M. C. 1996. Artificial shade and supplementation effects on grazing dairy cows in Argentina. Transactions of the ASAE (American Society Agric. Eng.). 39(1): 233-236.
- Villoch A., Martínez E., Rivero R., Ríos I., García L. y Ponce P. 1991. Influencia de diferentes condiciones de alimentación sobre la producción y composición de la leche. Salud Anim. 13: 48-55.

- Yonezawa T, Yonekura S, Kobayashi Y, Hagino A, Katoh A. y Obara Y. 2004. Effects of Long-Chain Fatty Acids on Cytosolic Triacylglycerol Accumulation and Lipid Droplet Formation in Primary Cultured Bovine Mammary Epithelial Cells. *J Dairy Sci.* 87: 2527–2534.
- Zanela Balbinotti Maira 2006. Unstable non-acid milk and milk composition of Jersey cows on feed restriction. *Pesq. Agrop. Bras.* 41(5): 835-840.

IX. ANEXOS

MÉTODOS PARA DETERMINAR LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE

DETERMINACIÓN DE GRASA POR EL MÉTODO DE GERBER

El método de Gerber perfeccionado por el químico Suizo N. Gerber, en 1892, se fundamenta al igual que el de Babcock, en el empleo del ácido sulfúrico y la fuerza centrífuga para separar la grasa de la leche o sus derivados en unas botellas especiales que permite medir directamente el porcentaje de grasa por volumen. Al mezclarse la grasa con el ácido en determinadas proporciones, el ácido primero precipita y luego disuelve las proteínas y demás constituyentes de la leche con excepción de la grasa. Al mismo tiempo el ácido digiere la membrana del glóbulo de grasa y eleva la temperatura de la muestra, lo que a su vez disminuye la tensión interfacial (grasa-fase acuosa ácida) y la viscosidad. En estas condiciones la grasa funde, se aglomera y tiende a separarse favorecidos por la diferencia de su densidad (0.93) y la densidad de la mezcla ácida (1.43). A diferencia del método de Babcock, el método de Gerber utiliza alcohol Isoamílico, el cual ayuda a disminuir la tensión interfacial favoreciendo la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa, además de prevenir la sulfonación y carbonización de la misma (AOAC., 2002).

El método de Gerber tiene las siguientes ventajas sobre el de Babcock: es más rápido, requiere menor cantidad de ácido y sus resultados no son afectados por la homogenización. Sin embargo tiene la desventaja de necesitar otro reactivo, tapones especiales que deben ser reemplazados con el uso y es más peligroso. Los resultados obtenidos con este método son ligeramente superiores que los obtenidos por el de Babcock (AOAC., 2002).

Materiales:

- Butirómetros de Gerber
- Centrifuga de Gerber calentada a 55 °C
- Baño de agua a 55 – 60 °C
- Pipetas volumétricas de 11 mL

Reactivos:

- Ácido Sulfúrico (p.e. 1,82 - 1,83).
- Alcohol Isoamílico (p.e. 0,810 – 0,812),

Muestras:

- Leche Cruda

Procedimiento:

Hacer dos determinaciones en paralelo.

1. Transferir $10 \pm 0,2$ mL de ácido sulfúrico enfriado entre 15,5 y 21,1 °C a un butirómetro de Gerber.
2. Adicionar cuidadosamente 11 mL de leche a no más de 23,9 °C (lentamente al principio para evitar la mezcla) y 1 mL de alcohol Isoamílico. Nunca debe adicionarse el alcohol directamente sobre el ácido.
3. Insertar el tapón y sujetando el butirómetro por los extremos agitar los líquidos totalmente evitando quemarse con proyecciones de la mezcla ácida. Cuando la cuajada se halla disuelto por completo continuar la agitación por 10 a 15 segundos para asegurar la total digestión. En caso de leche homogeneizada la agitación debe ser un 50% más prolongada.

4. Invertir el butirómetro varias veces para mezclar el ácido remanente en el cuello.
5. Llevar los butirómetros invertidos a la centrifugadora a 1000 r.p.m. por cinco minutos. La centrifuga debe estar calentada a no menos de 55°C.
6. Remover los butirómetros y leer inmediatamente el porcentaje de grasa, haciendo coincidir la base de la columna con el cero, por medio del ajuste del tapón.
7. Si el número de butirómetros es grande, se pueden colocar en baño María a 55-60°C hasta el momento de efectuar la lectura. De resultar difícil la separación de la grasa se recomienda calentar los butirómetros a 65°C y repetir la centrifugación.

Resultados Problemáticos:

La columna de grasa separada debe observarse de un color amarillo translúcida sin partículas suspendidas y el líquido bajo la columna debe estar perfectamente claro. A veces se forman unos depósitos entre la capa de la materia grasa y la solución atacada, las causas pueden ser que la leche no se haya mezclado completamente con el ácido, que sean impurezas provenientes del ácido o partículas de sucio de los tapones. En todo caso es recomendable repetir la prueba. Si la materia de grasa no se separa bien, puede ser que los butirómetros se hayan enfriados o que la cantidad de ácido sea insuficiente. En el primer caso basta con volver a calentar los butirómetros y en el segundo se debe repetir el análisis (AOAC. 2002).

SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS EN LECHE POR EL MÉTODO A.O.A.C.

En este método, una cantidad exactamente conocida de la muestra preparada se evapora en baño de María para eliminar la mayor parte del agua y luego se somete a desecación en una estufa hasta peso constante. La muestra desecada puede utilizarse para determinar el porcentaje de cenizas totales por incineración a no más de 550°C realizando el cálculo por diferencia de peso (AOAC. 2002).

Materiales y aparatos:

- Cápsula de porcelana o platino (diámetro no menos de 5 mm y 20-25 mm alto)
- Pinzas
- Baño de vapor
- Estufa de desecación (AOAC:98-100°C) (100±2°C según COVENIN 932)
- Mufla (550°C)
- Desecador de vidrio
- Balanza analítica

Muestra:

- Leche

Procedimiento:

Hacer dos determinaciones en paralelo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Determinación de sólidos totales: (COVENIN 932-76)

1. Pesar 5 g de muestra preparada (20°C) en cápsulas de porcelana previamente taradas. Si se van a determinar las cenizas, emplear crisoles tapados.
2. Evaporar sobre un baño de vapor por 30 minutos, exponiendo la mayor parte de la superficie externa del crisol al vapor.

3. Llevar los crisoles a la estufa de desecación calentada a $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
4. Después de 3 horas de desecación, enfriar los crisoles en un desecador
5. Pesar los crisoles rápidamente. Repetir hasta que la diferencia no sea mayor de 0,5 mg (Periodos de 30 min)
6. Calcular el porcentaje de sólidos totales de cada muestra y tomar el promedio.

Expresar los resultados en peso/volumen.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS DE LA LECHE POR EL MÉTODO KJELDAHL

Principio del método

Este método se puede dividir en dos partes. La primera, en la que se realiza una digestión de la muestra en con ácido sulfúrico y en presencia de un catalizador a 425°C, con el fin de transformar el nitrógeno de las proteínas en NH_4^+ que al tratarlo con sosa forma NH_3 (AOAC. 2002):

Este amoniaco es destilado, todavía en estado gaseoso en el seno de un volumen conocido de ácido bórico.

La segunda parte es la valoración. Consiste en una volumetría en la que se valora la cantidad de sosa que no ha reaccionado con el ácido bórico, con HCl y se obtiene la cantidad de nitrógeno amoniacal y orgánico en la muestra.

Material y aparatos

- Unidad de digestión “Bloc-digest” de selecta.
- Destilador “Pro-nitro I” de selecta.
- Tubos para digestión y destilación.
- Bureta de 25ml.
- Material general del laboratorio.

Reactivos

- Ácido sulfúrico 96%.
- Agua oxigenada de 110 volúmenes.
- Pastillas de catalizador para Kjeldahl.
- NaOH 35% (P/V).
- HBO₂ 4% (P/V).
- HCl 0.1N S.V.

- Indicador mixto

Procedimiento operatorio

Digestión

- Colocar en un tubo para digestión alrededor de 5g de leche exactamente pesada y perfectamente homogeneizada (enjuaga con pequeñas porciones de agua del recipiente donde se ha pesado la muestra), e introduce sucesivamente con precaución y por este orden: 1 pastilla de catalizador, 10ml de sulfúrico y 10 ml de agua oxigenada. Mezclar suavemente por rotación.
- Coloca los tubos anteriores en el bloque digestor. Coloca el cabezal para extracción de vapores, abre la trompa de agua, programa el digestor a una Tª de 250°C durante 5 minutos y ponlo en funcionamiento.
- Observa que no se formen espumas en los tubos, si se formasen hay que sacar los tubos del bloque digestor hasta que desaparezcan. Volver a introducir los tubos de nuevo en el bloque una vez hayan desaparecido las espumas. Se repetirá este proceso tantas veces sea necesario.
- Transcurrido el tiempo, se reprograma el digestor a una temperatura de 425°C durante 20 minutos y se pone en funcionamiento. Vigila que no se formen espumas, si se forman se actuará como en el apartado anterior. Transcurrido el tiempo de digestión se desconecta el bloque digestor y se sacan los tubos para que se enfríen a temperatura ambiente. Si el contenido de los tubos no es transparente o quedan restos negros en las paredes del tubo se aumenta el tiempo 10 ó 15 minutos más.

Destilación

- En un matraz Erlenmeyer de 250ml colocar 50ml de ácido bórico y añade dos o tres gotas de indicador mixto. Introduce hasta el fondo del Erlenmeyer la alargadera del aparato de destilación.

- Coloca el tubo para digestión de la prueba en blanco en el aparato de destilación, asegurándote que queda perfectamente adaptada la boca del matraz a la goma para que no se produzcan pérdidas.
- Pulsa el botón de dosificación de NaOH dos veces y observa que el contenido del tubo de digestión vira a color azul oscuro, si no es así vuelve a pulsar una vez más el botón de dosificación.
- Conecta el interruptor de formación de vapor y destila el contenido del matraz hasta que en el Erlenmeyer se hayan recogido unos 200ml de destilado. Comprueba que con las primeras gotas de destilado el contenido del Erlenmeyer vira a color verde, si no fuera así se debe parar el suministro de vapor, dejar enfriar el matraz y volver a añadir una dosis más de NaOH
- Terminada la destilación, baja el Erlenmeyer a la bandeja inferior de manera que la alargadera del aparato destilador no quede sumergida en el destilado. Quita el tubo de su posición y deja escurrir sobre el Erlenmeyer, los restos de destilado que han quedado en el refrigerante.
- Valora el contenido del Erlenmeyer con HCL 0,1N hasta el viraje del indicador a rojo claro o rosa.
- Repite todos los pasos anteriores con la muestra de leche.

Expresión de resultados

Cálculos

$$\%N \text{ total} = 1.40 * (V1 - V2) * N * f/P$$

V1 = Volumen en ml de HCl gastados en la valoración de la muestra

V2 = Volumen en ml de HCl gastados en la valoración del blanco

P = Masa de la muestra de leche en g

N = Normalidad del HCl

F = Factor del HCl

$$\%Proteínas = \% N \text{ total} * 6.38$$