



**FONDEF**  
Fondo de Fomento al Desarrollo  
Científico y Tecnológico

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**

# Desarrollo de una línea base para la Potencial Generación de Productos Lácteos Diferenciados y Protocolos de Producción de Leche y Derivados de Alto Valor Nutricional



Región de Los Ríos  
GOBIERNO REGIONAL

Proyecto financiado por la Región de los Ríos, a través del  
Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico.

BOLETÍN INIA N° 291

---

**EDITORES:**

Rodrigo Morales Pavez

*Médico Veterinario, Mg .Cs. Vet., Dr. Cs. Investigador INIA Remehue.*

Ignacio Subiabre Riveros

*Ingeniero en Alimentos, INIA Remehue.*

**COMITE EDITOR INIA REMEHUE:**

Lucio Pérez Prieto. *Ingeniero Agrónomo, PhD. Investigador INIA Remehue.*

Camila Muñoz Muñoz. *Médico Veterinario, PhD. Investigadora INIA Remehue.*

Constanza Sepúlveda Teuber. *Ingeniero Agrónomo. Extensionista INIA Remehue.*

**DIRECTOR RESPONSABLE:**

Rodrigo De La Barra Ahumada

*Ingeniero Agrónomo, Mg. Cs., Dr. Cs.*

*Director Regional INIA Remehue.*

**BOLETÍN N° 291, ISSN 0717-4829**

Este boletín fue editado por el Centro Regional de Investigación INIA Remehue, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura, con financiamiento del proyecto FONDEF Regional, Región de Los Ríos "Desarrollo de una línea base para la potencial generación de productos lácteos diferenciados y protocolos de producción de leche y derivados de alto valor nutricional".

Permitido su reproducción total o parcial citando la fuente y autores.

**CITA BIBLIOGRÁFICA:**

Morales, R., edición 2014. Desarrollo de una línea base para la potencial generación de productos lácteos diferenciados y protocolos de producción de leche y derivados de alto valor nutricional. Osorno Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín N° 291, 72 pp.

**DIGITALIZACIÓN, APOYO GRÁFICO, DISEÑO Y DIAGRAMACION:**

Ricardo Del Río G.

*Imprenta América Osorno*

**CANTIDAD DE EJEMPLARES:**

200

Osorno, Chile 2014

---

# AUTORES

**María Visitación Calvo**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**Andrés M. Carvajal**

*INIA Remehue*

---

**Pilar Castro-Gómez**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**Javier Fontecha**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**Francisca Holgado**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**German Holmberg**

*INIA Remehue*

---

**Manuela Juárez**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**Bredford Kerr**

*Centro de Estudios Científicos, CECS.*

---

**Francisco Lanuza**

*INIA Remehue*

---

---

**Rodrigo Morales**

*INIA Remehue*

---

**Soledad Muñoz**

*Escuela de Graduados*

*Facultad de Ciencias Agrarias*

*Universidad Austral de Chile*

---

**Luis M. Rodríguez-Alcalá**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.*

*Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

**Ignacio Subiabre**

*INIA Remehue*

---

**María Antonia Villar-Tajadura**

*Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos.*

*Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM*

---

---

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<i>Capítulo 1</i>	
<b>CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE PROVENIENTE DE TRES SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA REGIÓN DE LOS RÍOS</b>	<b>21</b>
<i>Capítulo 2</i>	
<b>FACTORES GENÉTICOS QUE INFLUENCIAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE BOVINA</b>	<b>37</b>
<i>Capítulo 3</i>	
<b>CONSUMIDORES DE LECHE FUNCIONALES</b>	<b>53</b>
<i>Capítulo 4</i>	
<b>LÍPIDOS BIOACTIVOS EN PRODUCTOS LÁCTEOS</b>	<b>57</b>

## ÍNDICE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) y triglicéridos (TG).	14
<b>Figura 2.</b> Biosíntesis de ácidos grasos y secreción de gotas de grasa en células de glándula mamaria de bovino.	15
<b>Figura 3.</b> Principales tipos de proteínas de la leche: caseínas y séricas.	16
<b>Figura 4.</b> Estructura de micelas de caseínas en leche (Basado en el modelo propuesto por Walstra, 1999).	17

---

<b>Figura 1.1.</b>	<i>Algunas fases del proceso desde obtención de las muestras de leche (arriba) hasta su extracción e inyección en el cromatógrafo de gases (abajo).</i>	25
<b>Figura 1.2</b>	<i>Concentración de CLA por sistema productivo en el tiempo.</i>	29
<b>Figura 1.3.</b>	<i>Consumo de forraje fresco por sistema productivo en el tiempo.</i>	30
<b>Figura 1.4.</b>	<i>Concentración de ácidos grasos n-6 por sistema productivo en el tiempo.</i>	31
<b>Figura 2.1.</b>	<i>Aumento promedio en la producción de leche individual (A) y sólidos totales (B) a través del tiempo (EEUU).</i>	40
<b>Figura 2.2</b>	<i>Esquema resumiendo etapas de la selección genómica.</i>	41
<b>Figura 2.3.</b>	<i>Estructura y organización de los genes codificantes para caseínas y proteínas séricas en el bovino.</i>	45

## ÍNDICE TABLAS

<b>Tabla 1.1.</b>	<i>Criterio de selección de predios que participaron en el estudio y características del sistema productivo.</i>	24
<b>Tabla 1.2</b>	<i>Componentes de la dieta por sistema productivo.</i>	26
<b>Tabla 1.3.</b>	<i>Composición de la dieta y perfil de ácidos grasos por sistema productivo.</i>	26
<b>Tabla 1.4.</b>	<i>Cantidad y composición de leche por sistema productivo.</i>	27
<b>Tabla 1.5.</b>	<i>Perfil de ácidos grasos (g/100g de ácidos grasos totales) por sistema de producción.</i>	28
<b>Tabla 2.1.</b>	<i>Contenido de sólidos totales y producción de leche en bovinos lecheros según raza.</i>	37

---

<b>Tabla 2.2.</b>	<i>Diferencias en el contenido de ácidos grasos en leche (g/dL) en razas bovinas en comparación a Holstein.</i>	38
<b>Tabla 2.3.</b>	<i>Efecto del genotipo del marcador DGAT1 K232A sobre el contenido de grasa y proteína y la composición de la grasa de la leche según el genotipo en bovinos lecheros de la región de Los Ríos.</i>	42
<b>Tabla 2.4.</b>	<i>Frecuencias alélicas (%) de las variantes K y A para el marcador DGAT1 K232A en rebaños lecheros de la región de Los Ríos.</i>	43
<b>Tabla 2.5.</b>	<i>Efecto del genotipo del marcador SCD1 A293V sobre el contenido de grasa y proteína y la composición de la grasa de la leche según el genotipo en bovinos lecheros de la región de Los Ríos.</i>	44
<b>Tabla 2.6.</b>	<i>Frecuencias alélicas (%) de las variantes A, B y E para el gen CSN3 (k-caseína) en rebaños lecheros de la región de Los Ríos.</i>	46
<b>Tabla 3.1.</b>	<i>Comparación entre consumidores que prefieren leches diferenciadas nutricionalmente y el resto de los consumidores encuestados (%).</i>	54
<b>Tabla 3.2.</b>	<i>Comparación de consumidores funcionales y no funcionales ordenadas por nivel de ingreso.</i>	55
<b>Tabla 3.3.</b>	<i>Comparación de consumidores funcionales y no funcionales según nivel educacional.</i>	55
<b>Tabla 3.4.</b>	<i>Disponibilidad a pagar por parte de consumidores funcionales ordenados por nivel de ingresos.</i>	56



---

## PRÓLOGO

En el contexto de los desafíos de la industria alimentaria del siglo 21, se plantea la necesidad de incrementar la producción en un 100% de alimentos para la población mundial del año 2050. Sin embargo, éstos alimentos además deben apuntar a una mejor nutrición con bajo impacto ambiental, temáticas que se fusionan en el concepto de nutrición sustentable. Para el sector lácteo este desafío implica un aumento en la producción de 900 millones de toneladas de leche fresca equivalentes a nivel mundial según cálculos derivados de informes de la FAO. Junto al aumento de producción, el desafío para el sector lácteo global incluye además la entrega de productos lácteos nutritivos, saludables e innovadores según las necesidades de los mercados. Dentro del ámbito nutricional de los alimentos, es fundamental considerar el enfoque planteado por la Organización de las Naciones Unidas (ONU), que en la actualidad 3 de cada 5 muertes en el mundo son responsabilidad de “enfermedades no transmisibles”, dentro de las cuales destacan la obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardio-vasculares, todas ellas relacionadas con una dieta poco saludable. En éste contexto, la leche y los productos lácteos se encuentran en una excelente posición gracias a su composición nutricional, especialmente en cuanto a la calidad de sus ácidos grasos, proteínas y minerales. Sólo tomando en cuenta los ácidos grasos, la leche contiene más de 400 tipos diferentes y aunque la mayor parte de ellos son saturados (65%), contiene además cantidades importantes de ácidos grasos mono y poli-insaturados junto con otros ácidos grasos muy especiales gracias a sus beneficios en salud humana como el ácido linoleico conjugado (CLA) y ácido butírico. Considerando la evidencia reciente que apunta a redefinir los efectos de los ácidos grasos saturados de la leche en la salud humana y las evidencias ya conocidas de los efectos beneficiosos de los ácidos grasos poli-insaturados y otros como los CLA, hacen de la leche y productos lácteos una excelente fuente nutricional de ácidos grasos fundamentales en la salud humana.

Por otro lado, la leche por sus características nutricionales ya mencionadas, tiene amplias oportunidades para desarrollar alimentos con valor agregado, como lo son los alimentos funcionales con miras a satisfacer las necesidades dinámicas de los consumidores en los diferentes mercados. En términos de innovación, en el mercado

mundial de lácteos, existe una alta tasa de desarrollo de productos con características funcionales principalmente en las áreas de aportes de calcio y vitamina D, probióticos, proteína láctea y ácidos grasos lácteos como el CLA.

El desarrollo del sector lácteo de nuestro país, debe seguir las tendencias internacionales y junto con proponerse los desafíos de aumentar la producción de alimentos, debe incluir el desarrollo de productos innovadores que apunten a las necesidades de los consumidores tanto del mercado nacional como de otros mercados, que como se vislumbran apuntarán cada vez más a temas como lo es la nutrición saludable. Un primer avance en ésta línea, implica la caracterización de la leche producida por nuestros sistemas productivos, especialmente en los sistemas pastoriles del sur de Chile y su potencialidad de ser manejada para el desarrollo de productos lácteos innovadores. Es por eso que el Consorcio Lechero, vislumbró el aporte que el proyecto denominado “Desarrollo de una Línea Base para la potencial generación de Productos Lácteos Diferenciados y Protocolos de Producción de Leche y Derivados de Alto Valor Nutricional”, ejecutado por INIA Remehue y el Centro de Estudios Científicos (CECs), y financiado por FONDEF –Región de Los Ríos, podría hacer al sector lácteo nacional, razón por la cual participó en él.

De esta manera, el boletín técnico presentado a continuación como producto de los resultados de este proyecto, junto con entregar información científica fundamental para la comprensión de la composición nutricional de la leche y su relación con la salud humana, entrega información inédita en nuestro país que permite visualizar las potencialidades de la composición nutricional de la leche producida en el sur de Chile, los factores involucrados y los desafíos futuros en cuanto al desarrollo de productos alimentarios. Los resultados de este proyecto se constituyen en una base de información fundamental para la industria y los productores lecheros, para la evaluación de oportunidades de desarrollo de productos innovadores y con alto valor agregado.

**Octavio Oltra H.**

Departamento de Investigación y Desarrollo  
Consorcio Tecnológico de la Leche

## INTRODUCCIÓN<sup>1</sup>

El sector lácteo chileno ha mantenido un crecimiento sostenido en las últimas décadas, observándose aumentos de la recepción de leche en planta por sobre el 4% anual promedio nacional (ODEPA, 2013). Sin embargo, el crecimiento ha sido mucho mayor en la Región de Los Ríos (8.3%) y Los Lagos (4.3%), principales regiones productoras de leche del país. En cambio otras regiones como Bío Bío y La Araucanía han crecido menos que el promedio nacional (2.6% y 0.5% respectivamente) y otras han sufrido bajas en su producción, como la zona central (-1.3%). Lo anterior se explica, en parte, por la mayor competencia por el uso de suelo con una agricultura más intensiva y rentable, y por el desplazamiento progresivo de la producción de leche hacia zonas que permitan una mayor competitividad al utilizar sistemas más pastoriles. Así, las praderas se instalan como la mayor fortaleza de esta competitividad ya que son el principal y más económico alimento para el rebaño lechero. Dentro de los costos de la producción de leche en el sur de Chile, la pradera participa con más del 30% de los costos totales, siendo por lo tanto el componente principal de estos costos. Existen alrededor de 2,8 millones de hectáreas de praderas ubicadas en la depresión intermedia desde la región del Bío Bío hasta Los Lagos (zona centro-sur y sur, entre los paralelos 36° y 42° latitud sur) en donde se encuentra el 75% de la masa bovina del país y se produce aproximadamente la recepción del 94% de la leche bovina nacional (INE, 2007; ODEPA, 2013). Alrededor del 60% de estas praderas son naturales de baja productividad, las restantes son mejoradas con un 28% de participación, y las sembradas con especies mejoradas genéticamente, alcanzan un 13% del total. La intensificación de los sistemas lecheros responde en parte a un aumento progresivo de la proporción de las praderas sembradas y al mejoramiento tecnológico de la fertilización y manejo de utilización de las praderas mejoradas y naturales, que en conjunto, permiten un mejoramiento sustantivo de la productividad animal por superficie. La superficie de praderas disponible, aún por mejorar, permite proyectar un crecimiento sostenido de la producción de leche competitiva.

El consumo nacional de lácteos se empuja por los 150 L per capita año de leche equivalente por habitante generándose excedentes de producción de leche para la

---

<sup>1</sup> Francisco Lanuza & Andrés M. Carvajal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, Ruta 5 km 8, Osorno

exportación de *commodities* principalmente (ODEPA 2014). Este mercado de exportación ha ido en un creciente aumento desde la década de los 90, llegando a la fecha a cifras por sobre los 270 millones de USD anuales. Sin embargo, también han sido crecientes las importaciones alcanzando al equivalente de 410 millones (16%) de litros de leche el año 2013. En el concierto mundial, nuestro sector lácteo tiene una baja participación en la producción (0,04%) y en el comercio exterior la cifra se acerca al 0,03%. Dado que las tasas de crecimiento anual de la producción nacional son mayores a las tasas de aumento del consumo, se espera que la disponibilidad de leche para exportar sea creciente en el tiempo. Sin embargo, a pesar de que la demanda mundial está en franco crecimiento, y en especial la de China, que duplicará su consumo actual de 25 L de leche equivalente para el 2020, se hace necesario cada vez más agregarle un mayor valor a la materia prima a través de la búsqueda de atributos saludables de la leche y/o de procesamientos tecnológicos para ofrecer productos lácteos diferenciados a la población. Esto permitirá el aumento de consumo de lácteos a nivel nacional y generar también *comodities* diferenciados para el mercado global.

Lo anterior se apoya fuertemente en que durante los últimos 20 años han aumentado rápidamente los cambios de las dietas alimenticias y estilos de vida, resultantes de la industrialización, desarrollo socioeconómico y globalización de mercados, siendo esto particularmente importante en los países con economías emergentes. Sin embargo, a menudo este mejor nivel de vida ha sido acompañado de patrones culturales con dietas poco saludables y una actividad física insuficiente para mantener un equilibrio óptimo entre el balance energético y un peso vivo saludable. Lo anterior, da como resultado un incremento de la prevalencia de las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta en todos los grupos socioeconómicos y que representan la principal causa de muerte y discapacidad a nivel mundial (WHO, 2003; WCRF/AICR, 2007). FAO (2010) ha publicado un reporte de una junta de expertos WHO/FAO, que contiene una completa revisión de los avances científicos sobre las grasas y ácidos grasos, que deben ser considerados como nutrientes clave por afectar, por una parte, al crecimiento y desarrollo temprano, y además, por estar asociados a enfermedades crónicas.

En el perfil de ácidos grasos de la leche de vaca y productos lácteos hay algunos que tienen una influencia favorable sobre la salud humana (Lock y Baumann, 2004; FAO, 2010). Entre ellos, el ácido linoleico conjugado (CLA) y sus isómeros son la principal fuente de CLA en las dietas del humano. El CLA predominante (90%) en la grasa de leche es el ácido ruménico (AR: ácido linoleico conjugado *cis-9 trans-11*) que se origina durante el proceso de biohidrogenación de los ácidos insaturados en el rumen y por síntesis endógena en la glándula mamaria (Lock y Bauman, 2004; Khanal y Olson, 2004;

Kalac y Samková, 2010; Bauman y Lock, 2010). Este ácido graso (AR), presente en la grasa de rumiantes tiene varios atributos positivos para la salud humana destacándose algunas propiedades anticancerígenas, inmunoestimulantes y efectos antiaterogénicos, entre otros. (Ver las revisiones de Whigham et al, 2000;. Albers y Wielen, 2003; Haug et al, 2007; Bauman y Lock, 2010; FAO, 2010; Crumb, 2011; Dilzer y Park, 2012).

La leche también es una fuente de ácidos grasos n-3, que son reconocidos por prevenir la enfermedad cardiovascular, la diabetes tipo 2, la artritis reumatoide, el asma, enfermedades degenerativas asociadas a la edad, y en ocasiones, por una reducción del riesgo en algunos tipos de cáncer, entre otras propiedades beneficiosas (Ver las revisiones de Ruxton et al, 2004;. Hibbeln et al., 2006; DeFilippis y Sperling, 2006; Haug et al., 2007; FAO, 2010).

En la actualidad, está bien documentado que la dieta del animal afecta el contenido y la composición de la grasa láctea (Bauman y Griinari, 2003; Bauman et al, 2008). La leche de vacas a pastoreo contiene más ácidos grasos n-3 y ácido ruménico que aquella de animales alimentados en base a granos y concentrados (Kay et al, 2005; Gómez-Cortés et al, 2009). Esto se debería al alto contenido de ácido linoléico (n-3) en la composición de los ácidos grasos del pasto (Elgersma et al., 2003). Kelly et al. (1998) informaron que la leche de vacas de alta producción en pastoreo presenta el doble de concentración de AR en su materia grasa, en comparación con la grasa de la leche de vacas alimentadas con una dieta totalmente mezclada base ensilaje de maíz; hubo eso sí, un 19% menos de consumo en las vacas a pastoreo y cerca de un 30% menos de producción de leche.

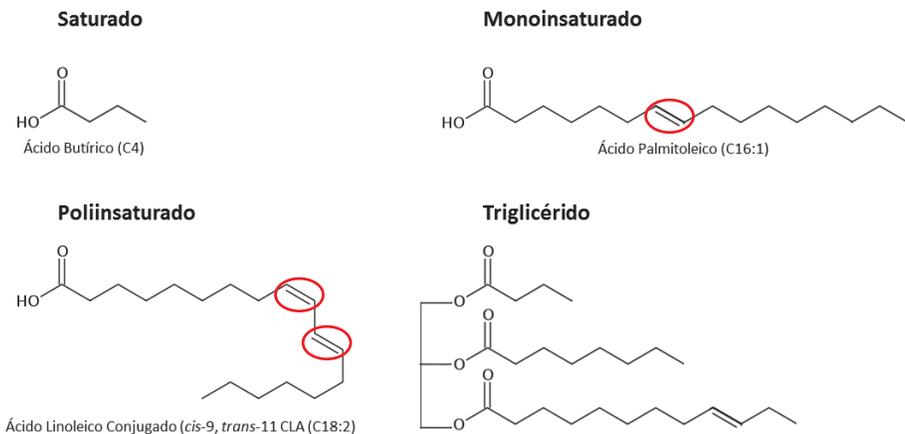
En los últimos años, la demanda de productos más sanos en la población mundial y nacional ha ido en aumento (Schnettler et al, 2010; Realini et al, 2014). En un estudio reciente se ha demostrado que los consumidores están dispuestos a pagar un sobreprecio por los productos enriquecidos con ácidos grasos n-3 y/o CLA (Realini et al., 2014). Además, los consumidores a nivel nacional valoran positivamente los productos alimenticios que provienen de animales alimentados con pasto y criados al aire libre (Schnettler et al, 2008; Morales et al, 2013).

Al considerar la dinámica del crecimiento y potencial de la producción de leche en la zona sur, y en particular, a la predominancia de los sistemas pastoriles que permiten durante gran parte del año realizar una producción de leche natural, se podría añadir valor al aumentar los ácidos grasos saludables de la leche y productos lácteos (n-3 y AR o CLA), para generar así una mayor competitividad. Sin embargo, existe escasa información científica sobre la influencia de los diferentes sistemas de producción de leche en Chile en el perfil de ácidos grasos de la leche.

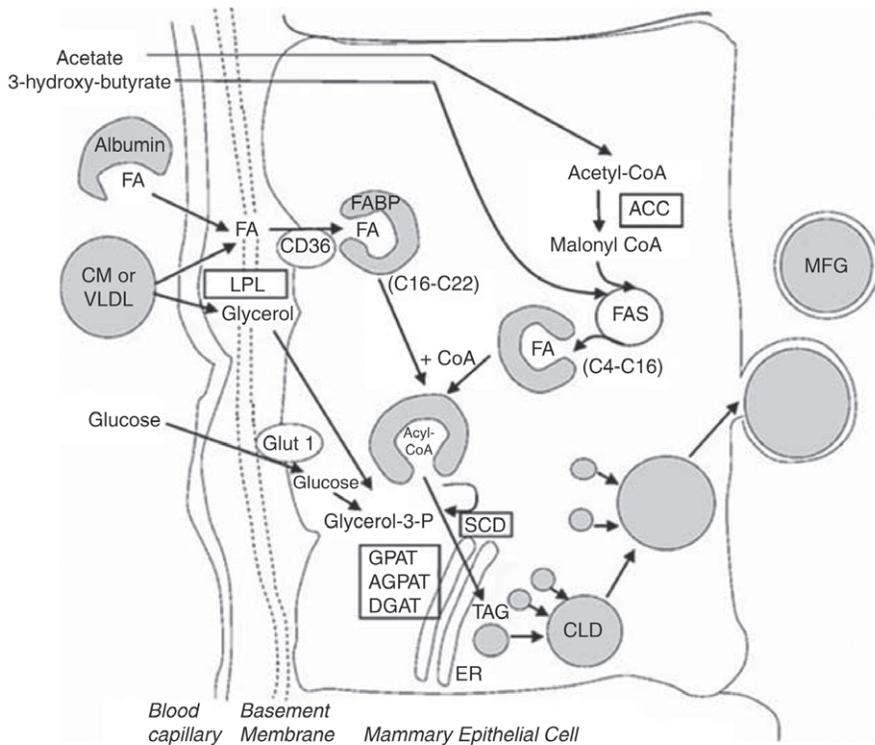
El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de los ácidos grasos de la leche producida en la Región de Los Ríos (Chile) bajo tres diferentes sistemas de producción lechera (pastoril, mixto y dieta TMR, ver más información en el capítulo 1).

## COMPOSICIÓN Y BIOSÍNTESIS DE GRASA Y PROTEÍNA DE LA LECHE

La grasa de la leche es una mezcla compleja de lípidos que incluye principalmente triglicéridos, fosfolípidos y colesterol. Los triglicéridos están compuestos de ácidos grasos (AG) que se ensamblan durante la fase final de formación de gotas de grasa que se secretan a la leche, y pueden clasificarse de acuerdo a su estructura (tipo de enlace) y/o tamaño (largo de la cadena de átomo de carbono). Así, tenemos ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI), y de cadena corta (C2-C6), media (C8-C14) o larga (C16-C24; Figura 1). En los bovinos su biosíntesis ocurre a nivel ruminal pero también en la glándula mamaria (síntesis *de novo*), donde se expresan genes que codifican enzimas que permiten la elongación y esterificación de los AG, el ensamble de los triglicéridos y la formación y secreción de gotas de grasa finalmente son secretadas a la leche. Las principales enzimas que participan y regulan este proceso son: ACC (acetil-CoA carboxilasa) y FAS (ácido graso sintetasa) que participan en la elongación de la cadena de ácidos grasos; y SCD (estearoil-CoA desaturasa) y DGAT1 (diacilglicerol aciltransferasa 1) que participan en la desaturación de AG e incorporación en triglicéridos, respectivamente (Shingfield *et al.*, 2010; Figura 2).



**Figura 1.** Estructura de los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) y triglicéridos (TG).



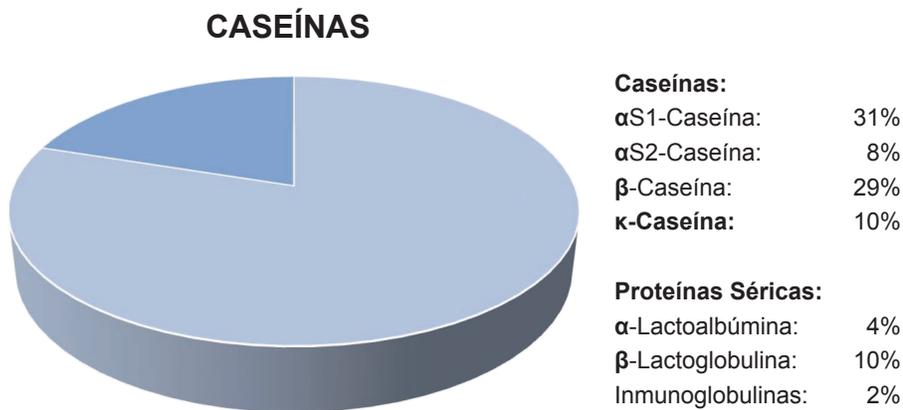
**Figura 2.** Biosíntesis de ácidos grasos y secreción de gotas de grasa en células de glándula mamaria de bovino. ACC, acetil-CoA carboxilasa; AGPAT, 1-acilglicerol 3-fosfato aciltransferasa; CD36, cluster de diferenciación 36; CLD, gota de grasa citoplasmática; CM, quilomicrón; DGAT1, diacilglicerol aciltransferasa; FA, ácido graso; FABP, proteína ligante de ácidos grasos; FAS, ácido graso sintetasa; Glut-1, transportador de glucosa 1; GPAT, glicerol-3fosfato aciltransferasa; LPL, lipoproteína lipasa; MFG, glóbulo de grasa láctea; SCD, estearoil-CoA desaturasa; TAG, triglicérido; VLDL, lipoproteína de densidad muy baja. (Modificado de Shingfield *et al.*, 2010).

Las proteínas de la leche son el sólido más abundante de la leche y le confieren atributos de alta calidad nutricional y valor comercial. En general se dividen en dos grandes grupos: caseínas y proteínas del suero (Requena *et al.*, 2007; Figura 3), aunque se han reconocido más de 40 tipos de proteínas.

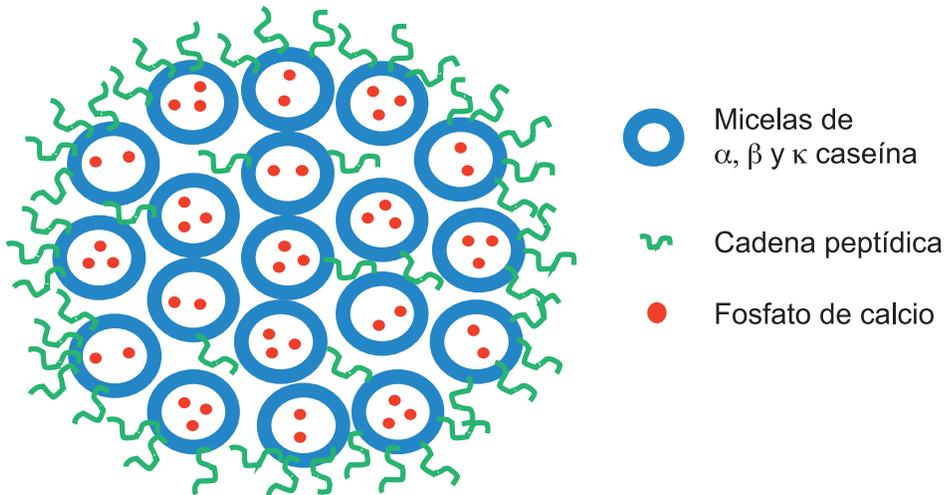
**1. Caseínas.** Las caseínas son las proteínas más abundantes de la leche llegando a constituir el 80% de las proteínas totales, y en su estructura poseen los ocho aminoácidos esenciales que el cuerpo humano no puede sintetizar. Son Secretadas por la glándula mamaria y desde el punto de vista nutricional su función está asociada

a favorecer la digestión de la leche y aumentar la absorción de los aminoácidos. Las caseínas son hidrofóbicas (muy poco soluble en agua) y por tanto interactúan entre sí formando esferas microscópicas llamadas micelas, las cuales a su vez están compuestas de submicelas donde las caseínas se mantienen unidas a través del fosfato de calcio (Figura 4). Una vez que las micelas llegan al estómago y toman contacto con el medio ácido, precipitan y forman un coágulo que mantiene una secreción sostenida de aminoácidos, los cuales son absorbidos de manera más eficiente. Las caseínas se dividen en cuatro grupos:  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  y  $\kappa$ -caseína, las cuales tienen distintas variantes que se asocian con la producción y la calidad de la leche, y especialmente con las propiedades de elaboración de algunos subproductos como el queso (DiStasio y Mariani, 2000; Caroli *et al.*, 2009).

- 2. Proteínas séricas.** Las proteínas séricas son principalmente  $\beta$ -lactoglobulina (BLG),  $\alpha$ -lactoalbúmina (ALA), pero también son importantes las inmunoglobulinas (Ig) y lactoferrina (LF). Todas estas tienen diversas funciones fisiológicas, pudiendo entregar propiedades nutraceuticas y/o funcionales para la salud humana. Por ejemplo, LF tiene propiedades anti-microbianas y estimulantes del sistema inmune, siendo su principal función la protección de la glándula mamaria contra la infección por patógenos como *E. coli* y *S. aureus* (Lacasse *et al.*, 2008). Por otro lado, algunas variantes de las proteínas séricas se han relacionado a producción y calidad de leche (sólidos totales), así como a la concentración de caseínas. Además, el procesamiento de estas proteínas confiere propiedades tecnológicas como la textura y formación de cuajo, características importantes para los derivados lácteos.



**Figura 3.** Principales tipos de proteínas de la leche: caseínas y séricas.



**Figura 4.** Estructura de micelas de caseínas en leche (Basado en el modelo propuesto por Walstra, 1999).

## REFERENCIAS

- Albers R, and R Van der Wielen. 2003. Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 57: 595–603.
- Bauman D E, and J M Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr* 23: 203–227.
- Bauman D E, J W Perfield, K J Harvatine, and L H Baumgard. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *J Nutr Sci* 138(2): 403–409.
- Bauman D.E. and Lock A.L. 2010. Milk fatty acid composition: challenges and opportunities related to human health. In: Wittwer et al. (Eds) Updates on Ruminant Production and Medicine. XXVI World Buiatrics Congress, Santiago Chile 2010: 278 – 289.
- Caroli AM, Chessa S and Erhardt G. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *J. Dairy Sci.* 92: 5335-5352.

- Crumb D J 2011. Conjugated Linoleic Acid ( CLA ) -An Overview. International Journal of Applied Research in Natural Products 4: 12–18.
- DeFilippis A P, and L S Sperling. 2006. Understanding omega-3's. Am Heart J 151(3): 564–570.
- Di Stasio L, and Mariani P. 2000. The role of protein polymorphism in the genetic improvement of milk production. Zoot. Nutr. Anim. 26: 69-90.
- Dilzer A, and Y Park. 2012. Implication of Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Human Health. Crit Rev Food Sci Nutr 52: 488–513.
- Elgersma A, G Ellen, H van der Horst, B G Muuse, H Boer, and S Tamminga. 2003. Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval. Anim Feed Sci Tech 108: 191–205.
- FAO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. *Report of an expert consultation*. FAO Food and Nutrition Paper 91, FAO. Rome (Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/i1953e/i1953e00.pdf>)
- Gómez-Cortés P, P Frutos, A R Mantecón, M Juárez, M A de la Fuente, and G Hervás. 2009. Effect of supplementation of grazing dairy ewes with a cereal concentrate on animal performance and milk fatty acid profile. J Dairy Sci 92(8): 3964–3972.
- Haug A, Hostmark AT and Harstad OD. 2007. Bovine milk in human nutrition-a review. Lipids Health Dis. 6: 25-41.
- Hibbeln J R, T L Blasbalg, J A Riggs, and W E Land. 2006. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. Am J Clin Nutr 83: 1483S–1493S.
- INE. 2007. Instituto Nacional de Estadísticas VII Censo nacional Agropecuario y Forestal. Disponible en: [http://www.ine.cl/canales/chile\\_estadistico/censos\\_agropecuarios/censo\\_agropecuario\\_07\\_comunas.php](http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/censos_agropecuarios/censo_agropecuario_07_comunas.php)
- Kalač P, and E Samková. 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. Czech J Anim Sci 55: 521–537.
- Kay J K, J R Roche, E S Kolver, N a Thomson, and L H Baumgard. 2005. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. J Dairy Res 72(3): 322–332.

- Kelly M L, E S Kolver, D E Bauman, M E Van Amburgh, and L D Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J Dairy Sci* 81(6): 1630–1636.
- Khanal, R C and Olson K. C. 2004. Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content in Milk, Meat, and Egg: A Review. *Pak J. Nut* 3 (2): 82-98, 2004
- Korhonen H and Pihlanto A. 2006. Bioactive peptides: production and functionality. *Int Dairy J.* 16: 945-60.
- Lacasse P, Lauzon K, Diarra MS, Peticlere D. 2008. Utilization of lactoferrin to fight antibiotic-resistant mammary gland pathogens. *J. Anim. Sci.* 86 (Suppl 13) 66-71.
- Lock A L, and D E Bauman. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39(12): 1197–1206.
- Morales R, A P S Aguiar, I Subiabre, and C E Realini. 2013. Beef acceptability and consumer expectations associated with production systems and marbling. *Food Qual Prefer* 29(2): 166–173.
- ODEPA. 2014. Sector Lácteo. Estadísticas de comercio exterior. Disponible en: <http://www.odepa.cl/boletin/sector-lacteo-estadisticas-de-comercio-exterior-mayo-2014>
- ODEPA. 2013. Boletín de la leche. Disponible en: <http://www.odepa.cl/wp-content/uploads/2014/01/boletinleche2013.pdf>
- Realini C E, Z Kallas, M Pérez-Juan, I Gómez, J L Olleta, M J Beriain, P Albertí, and C Sañudo. 2014. Relative importance of cues underlying Spanish consumers' beef choice and segmentation, and consumer liking of beef enriched with n-3 and CLA fatty acids. *Food Qual Prefer* 33: 74–85.
- Requena FD, Agüera El y Requena F. 2007. Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. *Rev. Elect. Vet.* 8(1).
- Ruxton, C H S, S C Reed, M J a Simpson, and K J Millington. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Diet* 17(5): 449–459.
- Schnettler B, C Shene, M Rubilar, H. Miranda, J. Sepúlveda, and M. Denegri. 2010. Aceptación hacia yogurt con diferentes ingredientes funcionales en consumidores de supermercados del sur de Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 60(5): 380–390.

- Schnettler B, R Vidal M, R Silva F, L Vallejos C, and N Sepúlveda B 2008. Consumer Perception of Animal Welfare and Livestock Production in the Araucania Region , Chile. *Chil J Agr Res* 68(1): 80–93.
- Shingfield KJ, Bernard L, Leroux C and Chilliard Y. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*. 4: 1140-66.
- WCRF/AICR (World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research). 2007. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC. Disponible en: [http://www.dietandcancerreport.org/cancer\\_resource\\_center/downloads/Second\\_Expert\\_Report\\_full.pdf](http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center/downloads/Second_Expert_Report_full.pdf)
- Whigham L D, M E Cook, and R L Atkinson. 2000. Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacological Research* 42(6): 503–510.
- WHO. 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, WHO Technical Report Series 916, WHO, Geneva. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_916.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf)

## Capítulo 1

# CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE PROVENIENTE DE TRES SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA REGIÓN DE LOS RÍOS<sup>1</sup>

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las recomendaciones dietéticas reconocen que la leche y los productos lácteos son una excelente fuente de nutrientes esenciales (ej: calcio, potasio, magnesio, zinc, riboflavina, vitamina A, folato, vitamina D y proteínas de elevada calidad nutricional), así como un vehículo ideal de componentes bioactivos que pueden aportar beneficios para la salud humana (Collomb *et al.*, 2006; Hur *et al.*, 2007). Uno de estos componentes es la grasa láctea (3 a 5% en leche), considerada uno de los constituyentes más importantes de la leche en cuanto a su valor nutricional, la aptitud tecnológica (fabricación de productos lácteos) y la palatabilidad que entrega a los productos lácteos (Rodríguez-Alcalá y J. Fontecha, 2009).

Se ha comprobado que el perfil de ácidos grasos de la leche tiene influencia en la salud humana (Lock and Bauman, 2004), y que éste depende directamente de la alimentación recibida por el animal (Bauman and Griinari, 2003; Bauman *et al.*, 2008). En los últimos años se han asociado varios efectos positivos de los ácidos linoleicos conjugados (CLA) sobre la salud humana, como por ejemplo propiedades anticancerígenas e inmunoestimulantes, entre otras (Whigham *et al.*, 2000; Albers and Wielen, 2003; Haug *et al.*, 2007; Crumb, 2011; Dilzer and Park, 2012). Estas acciones son atribuidas a la actividad biológica de su principal isómero, *cis*-9, *trans*-11 CLA. En este sentido, el CLA tiene efectos sobre la salud humana (Dilzer and Park, 2012). Por otra parte, los ácidos grasos de la serie *n*-3 han mostrado efectividad en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes, artritis y cáncer (Ruxton *et al.*, 2004; Hibbeln *et al.*, 2006; DeFilippis and Sperling, 2006; Haug *et al.*, 2007). Los factores principales asociados a la composición lipídica en leche bovina tienen relación con la dieta, observándose que la relación forraje:concentrado es el factor más relevante en

<sup>1</sup> Rodrigo Morales<sup>a</sup>, Ignacio Subiabre<sup>a</sup>, Soledad Muñoz<sup>b</sup>, Andrés M. Carvajal<sup>a</sup>, German Holmberg<sup>a</sup>, Francisco Lanuza<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, Ruta 5 km 8, Osorno.

<sup>b</sup>Programa de Magister en Ciencia mención Producción Animal, Universidad Austral de Chile.

la variación de CLA y ácidos grasos n-3 (Jensen 2002). Leche proveniente de animales alimentados a pradera contiene mayor cantidad de ácidos grasos n-3 y ácidos ruménico que la leche proveniente de animales alimentados a base de concentrado (Kay *et al.*, 2005; Gómez-Cortés *et al.*, 2009). El objetivo de este trabajo fue establecer el efecto del sistema de manejo-alimentación (Confinamiento, Mixto y Pastoril) sobre el perfil lipídico de la leche bovina de la Región de Los Ríos.



## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron nueve predios mediante una encuesta realizada a 90 productores lecheros. Estos se clasificaron principalmente de acuerdo a los sistemas de manejo (alojamiento) y alimentación (niveles de suplementación) llevados a cabo, distribuyéndose en tres tratamientos: TMR (Dieta Totalmente Mezclada, Confinamiento intensivo o de estabulación completa); Sistema Mixto (SM, semi-intensivo o de estabulación parcial en invierno) y Sistema Pastoril (SP, extensivo o pastoreo todo el año). Cada tratamiento

contó con 3 predios. En la Tabla 1.1 se establecen las características de los predios pertenecientes a cada tratamiento respecto a la ración utilizada, la superficie promedio útil para la lechería (ha), la producción de leche anual (millones de litros) y el número de vacas en leche, más los criterios de selección de los predios.

El consumo voluntario de forraje fresco en los sistemas productivos mixto y pastoril fue estimado según Baker (1982) mientras que el consumo de forraje conservado y concentrado se estimó a partir de la información obtenida de los registros de cada uno de los productores en base a la cantidad ofertada.

En los predios se tomó muestras de leche de estanque, y de los alimentos utilizados (pradera, ensilajes y concentrados):

- A)** En la leche de estanque se realizaron los siguientes análisis una vez al mes por 18 meses (Abril 2012-Septiembre 2013):
  - Grasa y proteína total, células somáticas, UFC (unidades formadoras de colonias).
  - Perfil de ácidos grasos (principalmente omega 3, omega 6 y CLA).
- B)** En pradera, forrajes conservados y concentrados se realizó un análisis de la composición nutricional de una muestra compuesta mensual por predio.

Los análisis de composición de leche se realizaron en un equipo MILKOSCAN™ (Materia grasa, Proteína, Sólidos Totales, Sólidos No Grasos y Urea) y para el Análisis de Calidad Higiénica en un FOSSOMATIC™ (Recuento de Células Somáticas). Estos análisis se realizaron en el laboratorio de calidad de leche del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Carillanca.

Para el perfil de ácidos grasos, primero se realizó la extracción de la grasa por el método de Bligh y Dyer (1959), modificado por Lumbey y Colwell (1991) y una vez extraída, se metiló de acuerdo al método de Ichihara *et al.* (1996). Posteriormente se realizó la cuantificación por cromatografía gaseosa (Rico *et al.*, 1990). Las mediciones se llevaron a cabo en el laboratorio de calidad de alimentos de INIA Remehue (Figura 1.1).

El análisis estadístico utilizado fue un ANOVA de medidas repetidas, con sistema de alimentación, tiempo e interacción entre ambas variables, considerándose la prueba de Tukey para comparaciones múltiples, utilizando el programa SAS.

**Tabla 1.1.** Criterio de selección de predios que participaron en el estudio y características del sistema productivo.

**Criterios de selección de predios:**

- Predio localizado en la Región de Los Ríos.
- Similar período de confinamiento de vacas durante la lactación, en sistemas mixtos.
- Período de pastoreo para los sistemas pastoriles y mixtos.
- Tipo de raza (Holstein Friesian).
- Similar nivel de producción.
- Que cuenten con control lechero.
- Similar sistema de producción.
- Productor interesado en participar del estudio.

Características de los sistemas		
Pastoril	Mixto	Ración totalmente mezclada
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vacas en producción: 185</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vacas en producción: 382</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vacas en producción: 450</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pastoreo todo el año.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pastoreo en otoño, primavera y verano.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soiling de pradera como parte de la dieta totalmente mezclada (TMR).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentrado en sala de ordeña.</li> <li>• Suplementación de forraje conservado en otoño e invierno. Suplemento de cultivos en el verano (nabos).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentrado en sala de ordeña y TMR en confinamiento durante el invierno.</li> <li>• Suplementación de forraje conservado en otoño e invierno.</li> <li>• Riego de praderas en verano.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentrado en sala de ordeña</li> <li>• Confinamiento a lo largo de todo el año.</li> <li>• Alimentación con una ración TMR.</li> </ul>





**Figura 1.1.** Algunas fases del proceso desde obtención de las muestras de leche (arriba) hasta su extracción e inyección en el cromatógrafo de gases (abajo).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el sistema Pastoril se entregó mayor cantidad de forraje fresco, mientras que en el sistema TMR se entregó la mayor cantidad de concentrado y forraje conservado y la menor cantidad de forraje fresco (Tabla 2.2). El sistema Pastoril además incluyó nabo forrajero en la dieta en los meses de verano (mes 10: 5 kg DM<sup>-1</sup> y mes 11: 2.8 kg DM<sup>-1</sup>(Tabla 1.2).

**Tabla 1.2** Componentes de la dieta por sistema productivo.

Componentes de la dieta	Sistema productivo		
	Pastoril	Mixto	TMR
Forraje fresco kg d <sup>-1</sup>	6,62 <sup>a</sup>	5,78 <sup>a</sup>	3,69 <sup>b</sup>
Forraje conservado kg d <sup>-1</sup>	3,66 <sup>b</sup>	4,17 <sup>b</sup>	7,24 <sup>a</sup>
Concentrado kg d <sup>-1</sup>	4,84 <sup>b</sup>	6,76 <sup>b</sup>	10,00 <sup>a</sup>
Forraje fresco: concentrado ratio	1,39 <sup>a</sup>	0,90 <sup>b</sup>	0,38 <sup>c</sup>
Nabo forrajero kg d <sup>-1</sup>	0,44	---	---
Total CMS kg d <sup>-1</sup>	15,6 <sup>b</sup>	16,7 <sup>b</sup>	20,8 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup>Letras iguales dentro de la fila no indican diferencias significativas entre sistemas de producción ( $P > 0.05$ ). Forraje fresco: pastoreo o/y soiling de *Lolium multiflorum* (Sistema ración totalmente mezclada). Forraje conservado: pradera y ensilaje de maíz, pradera y alfalfa.

**Tabla 1.3.** Composición de la dieta y perfil de ácidos grasos por sistema productivo.

Componentes de la dieta	Sistema productivo		
	Pastoril	Mixto	TMR
Materia seca %	24,8 <sup>c</sup>	30,1 <sup>b</sup>	33,8 <sup>a</sup>
Proteína cruda (%MS)	20,7	20,8	17,1
Energía metabolizableMcal kg <sup>-1</sup>	2,72	2,71	2,75
Fibra detergente neutra (%MS)	40,9 <sup>a</sup>	37,5 <sup>a</sup>	31,9 <sup>b</sup>
Extracto etéreo (%MS)	3,31	3,10	3,19
Perfil de ácidos grasos (g/100g de ácidos grasos totales)			
C16:0	31,9	31,6	26,1
C18:1	18,3	16,1	23,8
C18:2	18,9 <sup>c</sup>	26,0 <sup>b</sup>	33,1 <sup>a</sup>
C18:3	16,5 <sup>a</sup>	14,3 <sup>a</sup>	9,1 <sup>b</sup>
C20:0	0,961 <sup>a</sup>	0,649 <sup>b</sup>	0,621 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>Letras iguales dentro de la fila no indican diferencias significativas entre sistemas de producción ( $P > 0.05$ ).

De acuerdo a la tabla 1.3 el sistema TMR presentó la mayor cantidad de materia seca y menor fibra detergente neutra (FDN) en su dieta. El sistema Pastoril presentó el valor más bajo de C18:2 *n*-6, mientras que los sistemas SP y SM tuvieron valores más elevados de C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linoleico) que TMR en su dieta. Esto puede relacionarse con la composición de la pradera, ya que esta contiene una alta proporción de ácido  $\alpha$ -linoleico (50%-75%), en relación al total de ácidos grasos (Elgersma et al., 2006).

El sistema TMR presentó la mayor producción de leche por vaca, seguido del SM y en menor cantidad el SP (Tabla 1.4). El porcentaje de grasa fue más alto para el SP y más bajo para SM, resultados similares fueron obtenidos por Calvache, 2009. El contenido de lactosa fue más alto en el sistema TMR y más bajo en SP, con lo cual se podría explicar la positiva relación entre la lactosa y la energía proporcionada por la dieta (Kendall et al., 2009). El contenido de urea fue más alto en SP que en TMR, situando al sistema SM en el medio. De todos modos los valores se encontraron en el rango normal (0.150 – 0.420g ml<sup>-1</sup>) de acuerdo a Noro y Wittwer (2003). Las células somáticas fueron más altas en TMR por sobre los otros dos sistemas, este tipo de sistemas aumentan el riesgo de contaminación ambiental, asociada con la mastitis subclínica, y por lo tanto esto puede resultar en valores altos de recuento de células somáticas (Golberg et al 1992; Olivo et al 2005).

**Tabla 1.4.** Cantidad y composición de leche por sistema productivo.

Parámetro	Sistema productivo		
	Pastoril	Mixto	TMR
Leche por vaca (kg d <sup>-1</sup> )	23,0 <sup>b</sup>	25,3 <sup>ab</sup>	28,7 <sup>a</sup>
Grasa (%)	4,14 <sup>a</sup>	3,68 <sup>b</sup>	3,84 <sup>ab</sup>
Proteína (%)	3,47	3,43	3,39
Lactosa (%)	4,74 <sup>c</sup>	4,85 <sup>b</sup>	4,92 <sup>a</sup>
Urea (g ml <sup>-1</sup> )	0,308 <sup>a</sup>	0,298 <sup>ab</sup>	0,284 <sup>b</sup>
Recuento células somáticas (×10 <sup>2</sup> cel ml <sup>-1</sup> )	172,7 <sup>b</sup>	163,9 <sup>b</sup>	210,7 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup>Letras iguales dentro de la fila no indican diferencias significativas entre sistemas de producción (P> 0.05).

De acuerdo a la tabla 1.5, la leche proveniente del sistema SP presentó valores más bajos de C18:2 *n*-6 *cis* y  $\alpha$ -linolenico en leche, que el sistema TMR, resultados similares obtuvieron Jenkins y McGuire (2006). Lo anterior puede asociarse a la composición de ácidos grasos de la dieta. De la misma forma Dhiman et al. (1999), White et al. (2001) y Gómez-Cortés et al. (2009) determinaron que altas concentraciones de alimento concentrado en la dieta, deribaban en altos contenidos de ácidos grasos *n*-6 en la leche por sobre los encontrados en sistemas pastoriles. Visto de otra manera, incrementos del ácido  $\alpha$ -linolenico en leche, se pueden obtener por dietas en base a pradera (Gómez-

Cortés *et al.*, 2009). Leche proveniente de SP y SM presentaron valores más altos de CLA y C18:3 *n*-6 que leche proveniente de TMR. Además, leche proveniente del Sistema Pastoril tuvo valores más altos de C18:3 *n*-3. Es importante recalcar que la leche proveniente de los sistemas SP y SM tuvieron aproximadamente un 50% más de CLA que la leche TMR. Cabe señalar que el ácido ruménico (CLA) es producido como resultado de los procesos de biohidrogenación que ocurren en el rumen, donde la dieta compuesta por ácidos grasos insaturados (principalmente C18:2 *n*-6 y C18:3 *n*-3) experimentan sucesivas etapas de isomerización y reducción (Lock y Bauman, 2004; Kalač y Samková, 2010). Es importante recalcar que la mayoría del CLA presente en la grasa de la leche es sintetizado en la glándula mamaria por la enzima  $\Delta$ -9-desaturasa a partir de metabolitos intermedios formados en el rumen mediante conversión endógena (Bauman and Griinari, 2003).

El positivo efecto del consumo de pradera sobre el contenido de CLA en la leche de vacas lecheras, ha sido previamente estudiado (Kelly *et al.*, 1998; Ferlay *et al.*, 2006; Gómez-Cortés *et al.*, 2009). En el presente estudio los contenidos de CLA en la grasa de la leche para los sistemas SP y SM, superaron los reportados por Aviléz *et al.* (2012, 2013), incluso los reportados en los sistemas pastoriles del sur de Chile.

**Tabla 1.5.** Perfil de ácidos grasos (g/100g de ácidos grasos totales) por sistema de producción.

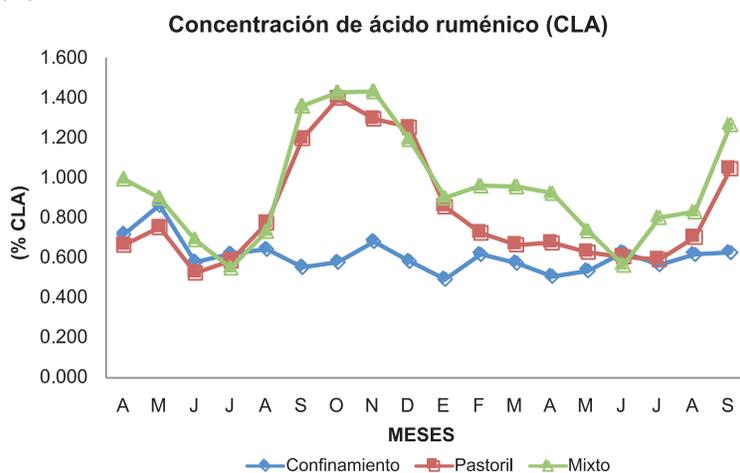
Ácidos Grasos	Sistema productivo		
	Pastoril	Mixto	TMR
<b>Total AGS</b>	67,19	66,17	67,98
C14:0	10,77	10,63	11,03
C16:0	30,54	31,04	32,34
C18:0	13,75	12,58	12,19
<b>AGI</b>	32,31	33,34	31,58
C18:1 <i>t</i> -11	0,88	1,34	0,70
C18:1 <i>c</i> -9	25,50	25,71	24,61
C18:2 <i>n</i> -6 trans	0,27	0,31	0,26
<b>C18:2 <i>n</i>-6 cis</b>	<b>1,30<sup>b</sup></b>	<b>1,81<sup>ab</sup></b>	<b>2,28<sup>a</sup></b>
<b>C18:3 <i>n</i>-3</b>	<b>0,74<sup>a</sup></b>	<b>0,69<sup>ab</sup></b>	<b>0,53<sup>b</sup></b>
<b>C18:3 <i>n</i>-6</b>	<b>0,10<sup>a</sup></b>	<b>0,08<sup>a</sup></b>	<b>0,073<sup>b</sup></b>
<b>CLA C18:2 <i>c</i>-9, <i>t</i>-11</b>	0,83a	0,96 <sup>a</sup>	0,61 <sup>b</sup>
Indefinidos	0,49	0,49	0,44
<b><i>n</i>-3</b>	0,74 <sup>a</sup>	0,70 <sup>ab</sup>	0,53 <sup>b</sup>
<i>n</i> -6	2,49	3,16	3,21
<b><i>n</i>-6:<i>n</i>-3</b>	3,41 <sup>b</sup>	4,75 <sup>ab</sup>	6,64 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup>letras iguales dentro de la fila no indican diferencias significativas entre sistemas de producción ( $P > 0.05$ ). AGS: ácidos grasos saturados. AGI: ácidos grasos insaturados.

El departamento Británico de Salud, 1994 y Hibbeln *et al.*, 2006, consideran que proporciones de ácidos grasos *n-6:n-3*, no deben superar un nivel de 4.0. Proporciones por sobre este valor son considerados como factores de riesgo para ciertos tipos de cánceres y enfermedades coronarias. En ese sentido sólo el sistema pastoril obtuvo relaciones *n-6:n-3* menores a 4.0.

La interacción entre tiempo y sistema productivo fue significativa para el ácido ruménico y los ácidos grasos *n-6*. Terminando el invierno y comenzando la primavera el CLA incrementó en los sistemas SP y SM (figura 1.2). Este incremento coincidió con el incremento de pradera en el mismo período (figura 1.3). De acuerdo a Balocchi (1986) la producción de pradera en el Sur de Chile varía durante todo el año, con bajos niveles de crecimiento en invierno y en veranos secos.

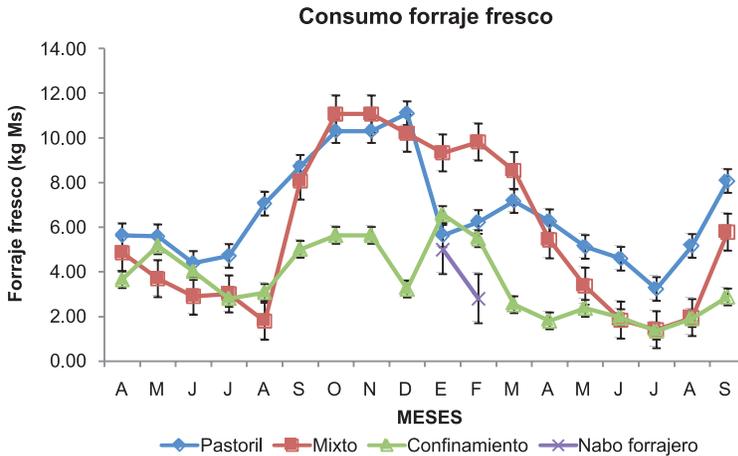
Jahreis *et al.* (1997) compararon la agricultura convencional utilizando altos insumos externos de fertilizantes y concentrado, con o sin pastoreo durante el verano, contra bajos insumos externos, producción orgánica a pastoreo en verano. La leche producida orgánicamente obtuvo los valores más altos de ácido ruménico en la grasa de la leche, especialmente entre Mayo y Septiembre, donde se establece el período de la pradera. En otro estudio la leche proveniente de sistemas pastoriles y sistemas orgánicos con bajos insumos externos, obtuvieron altas concentraciones de ácido ruménico y  $\alpha$ -linolénico, comparado con leche proveniente de sistemas con altos insumos (Butler *et al.*, 2008). En ese sentido Dhiman *et al.* (1999) indicaron que el incremento de la proporción de pradera en la dieta esta directamente relacionado con el incremento de ácido ruménico en la leche.



**Figura 1.2** Concentración de CLA por sistema productivo en el tiempo.

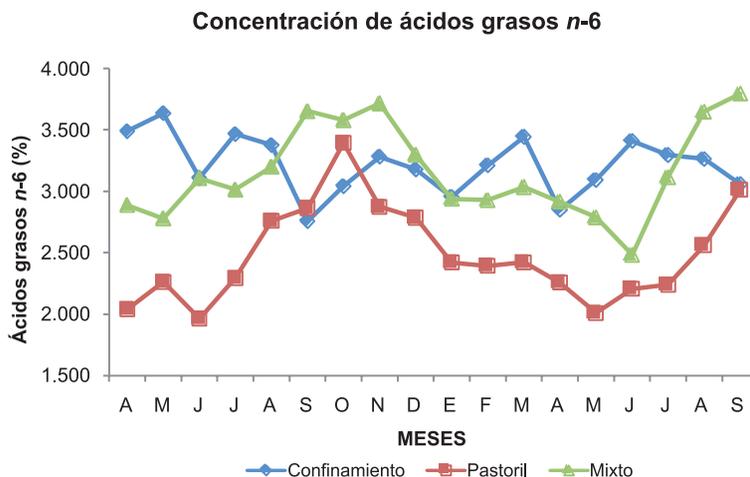
En el verano durante los meses Febrero y Marzo, el ácido ruménico presentó valores más altos en el SM que en TMR, mientras que SP se mantuvo con valores intermedios. Estas diferencias se pueden deber a: alto consumo de praderas y a praderas de mejor calidad en las dietas del SM producto del riego. Este riego aumentó el crecimiento de pradera, tal como lo reportaron (Nissen and Robert, 2009) y en consecuencia el consumo de ésta en el sistema SM (figura 1.3). Por otro lado la calidad de la pradera en estos meses es más baja en comparación a la primavera, esto se debe a la alta madurez de la pradera en condiciones no nitrogenadas (Balocchi, 1986). Además el contenido de C18:3 *n*-3 se ve afectado por la temporada y por la fecha de corte, alcanzando los valores más altos en primavera (Dewhurst et al., 2001). Las concentraciones de los isómeros de CLA disminuyen en pradera maduras (Aviléz , 2012).

Adicionalmente en el verano en el sistema SP se suplementó con altas proporciones de nabo forrajero en la dieta y dicha inclusión disminuye la concentración del ácido ruménico en la leche (Thomson et al., 2000).



**Figura 1.3.** Consumo de forraje fresco por sistema productivo en el tiempo.

Durante los dos meses de otoño (Abril –junio ) se observó una diferencia significativa en la concentración de ácidos grasos *n*-6 (figura 1.4), donde SP presentó niveles más bajos que TMR en el primer año, mientras que en el segundo año se repitió la misma diferencia. Este resultado era predecible por la alimentación de SP en otoño, ya que esta época pasa a ser de transición en el sistema y aumenta progresivamente hacia el invierno el consumo de forraje conservado y concentrado.



**Figura 1.4.** Concentración de ácidos grasos n-6 por sistema productivo en el tiempo

Aunque los predios fueron seleccionados lo más homogéneamente posible de acuerdo a su producción y alimentación, éstos presentaban diferencias. De acuerdo a lo mismo la estimación de consumo de algunos componentes de la dieta como el forraje conservado y suplementos, fueron determinados por cada agricultor, no fueron estandarizados, por lo que no son estrictamente comparables.

## CONCLUSIONES

La grasa de la leche proveniente de SP y SM presentaron concentraciones más altas de n-3 y ácido ruménico, principalmente a fines del invierno y durante la primavera. Este incremento está asociado al alto consumo de pradera en estos dos sistemas. Estos resultados corroboran la información previa que señala que el consumo de pradera produce una leche de mejor calidad.



## REFERENCIAS

- Albers R, and R Van der Wielen. 2003. Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 57: 595–603.
- Aviléz J P, G Von Fabeck, and M Alonzo. 2013. Conjugated linoleic acid content in milk of Chilean Black Friesian cows under pasture conditions and supplemented with canola seed (*Brassica napus*) concentrate. *Span J Agric Res* 11(3): 747–758.
- Aviléz J P, P Escobar, C Diaz, G Von Fabeck, R Matamoros, F García, and M Alonzo. 2012. Effect of extruded whole soybean dietary concentrate on conjugated linoleic acid concentration in milk in Jersey cows under pasture conditions. *Span J Agric Res* 10(2): 409–418.
- Baker R D 1982. Estimating herbage intake from animal performance. In: Herbage intake handbook, pp. 77-93. Ed. J.D. Leaver Hurley: *British Grassland Society*.

- Balocchi O. 1986. Alternativas de producción de forraje suplementario. P 127-130. In: Anrique, R. (ed). Producción de forrajes. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Bauman D E, and J M Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr* 23: 203–227.
- Bauman D E, J W Perfield, K J Harvatine, and L H Baumgard. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *J Nutr Sci* 138(2): 403–409
- Bligh E G, and W J Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37:911-917.
- British Department of Health. 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease. Report on Health and Social Subjects N° 46. Her Majesty's Stationery Office (HMSO), The National Archives, London, UK.
- Butler G, J Nielsen, T Slots, C Seal, M. Eyre, R Sanderson, and C Leifert. 2008. Fatty acid and fat soluble antioxidant concentrations in milk from high and low input conventional and organic systems: seasonal variation. *J Sci Food Agric* 88: 1431–1441.
- Calvache° I 2009. Variación anual de la concentración de la proteína y grasa lactea en rebaños lecheros del centro y sur de Chile. *Tesis de magíster* en producción animal. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Collomb M, W Bisig, and U Bütikofer. 2008. Seasonal variation in the fatty acid composition of milk supplied to dairies in the mountain regions of Switzerland. *Dairy Sci Tech* 88: 631–647.
- Crumb D J 2011. Conjugated Linoleic Acid ( CLA ) -An Overview. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 4: 12–18.
- De Filippis A P, and L S Sperling. 2006. Understanding omega-3's. *Am Heart J* 151(3): 564–570.
- Dewhurst R J, N D Scollan, S J Youell, J K S Tweed, and M O Humphreys. 2001. Influence of species , cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science* 56: 68–74.
- Dhiman T R, G R Anand, L D Satter, and M W Pariza. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J Dairy Sci* 82(10): 2146–2156.

- Dilzer A, and Y Park. 2012. Implication of Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Human Health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52: 488–513.
- Elgersma A, S Tamminga, and G Ellen. 2006. Modifying milk composition through forage. *Anim Feed Sci Tech* 131(3-4): 207–225.
- Ferlay A, B Martin, P Pradel, J B Coulon, and Y Chilliard. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *J Dairy Sci* 89(10): 4026–4041.
- Goldberg J J, Wildman E E, Pankey J W, Kunkel J R, Howard D B and M B Murphy 1992. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. *J Dairy Sci* 1992;75:96–104.
- Gómez-Cortés P, P Frutos, A R Mantecón, M Juárez, M A de la Fuente, and G Hervás. 2009a. Effect of supplementation of grazing dairy ewes with a cereal concentrate on animal performance and milk fatty acid profile. *J Dairy Sci* 92(8): 3964–3972.
- Haug A, AT Høstmark, and O M Harstad. 2007. Bovine milk in human nutrition--a review. *Lipids Health Dis* 6: 25.
- Hibbeln J R, T L Blasbalg, J A Riggs, and W E Land. 2006. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. *Am J Clin Nutr* 83: 1483S–1493S.
- Hur S J, G B Park, and S T Joo. 2007. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock Science* 110(3):221-229.
- Ichihara K, A Shibahara, K Yamamoto, and T Nakayama. 1996. An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids* 31:535-539.
- Jahreis G, J Pritsche, and H Steinhart. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutrition Research* 17: 1479–1484.
- Jenkins T C, and M a McGuire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J Dairy Sci* 89(4): 1302–1310.
- Jensen R G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* 85(2):295-350.
- Kalač P, and E Samková. 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech J Anim Sci* 55: 521–537.

- Kay J K, J R Roche, E S Kolver, N a Thomson, and L H Baumgard. 2005. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J Dairy Res* 72(3): 322–332.
- Kelly M L, E S Kolver, D E Bauman, M E Van Amburgh, and L D Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J Dairy Sci* 81(6): 1630–1636.
- Kendall C, C Leonardi, P C Hoffman, and D K Combs. 2009. Intake and milk production of cows fed diets that differed in dietary neutral detergent fiber and neutral detergent fiber digestibility. *J Dairy Sci* 92: 313–323.
- Lock A L, and D E Bauman. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39(12): 1197–1206.
- Lumley I D, and R K Colwell. 1991. Extraction of fats from fatty foods and determination of fat content. P. 227-245. In Rossell, J.B., and J.L.R. Pritchard (eds.) *Analysis of oilseeds, fats and fatty foods. Elsevier Applied Science, London, UK.*
- Nissen, J M, and L F Robert. 2009. Efecto del riego, frecuencia de corte y fertilización nitrogenada en una pradera artificial de la región de Los Ríos. *Agro Sur* 37(1): 41–51.
- Olivo C J, Beck L I, Mossate Gabbi A, Santini Charão P, Sobczak M F, Gomes Uberty L F, Dürr J W and Araújo Filho R. 2005. Composition and somatic cell count of milk in conventional and agro-ecological farms: a comparative study in Depressão Central, Rio Grande do Sul state, Brazil. *Livest Res Rural Dev* volume 17 Article #72 retrieved April 28, 2014, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/6/oliv17072.htm>.
- Rico, J E, B Moreno, M L Pabón, and J Carulla. 2007. Composición de la grasa láctea en la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis -9 , trans -11. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 20(1): 30–39.
- Rodriguez-Alcalá, L M, F Harte, y J Fontecha, 2009. Fatty acids profile and CLA isomers content of cow, ewe and goat milks processed by high pressure homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10 (1):32-36.
- Ruxton C H S, S C Reed, M J Simpson, and K J Millington. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Diet* 17(5): 449–459.

- Thomson N, D Clark, C Waugh, W van der Poel, and A MacGibbon. 2000. Effect on milk characteristics to supplementing cows on a restricted pasture allowance with different amounts of either turnips or sorghum. p. 320–323. *In Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production. New Zealand Society of Animal Production.*
- Whigham L D, M E Cook, and R L Atkinson. 2000. Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacological Research* 42(6): 503–510.
- White S L, J A Bertrand, M R Wade, S P Washburn, J T Green, and T C Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci* 84(10): 2295–2301.

## Capítulo 2

# FACTORES GENÉTICOS QUE INFLUENCIAN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE BOVINA<sup>1</sup>

### INTRODUCCIÓN

La composición de la leche es regulada por varios factores siendo uno de los más importantes la genética. A nivel de sólidos totales (grasa y proteína) o del tipo de ácido graso o proteínas en leche, se puede observar que existen diferencias entre razas y/o biotipos, y dentro de cada raza entre los individuos (Kelsey *et al.*, 2003). Por ejemplo, bovinos de raza Holstein-Friesian producen mayores volúmenes de leche respecto a bovinos Jersey, mientras que estos tienen un mayor contenido de sólidos totales en leche (Tabla 2.1). Por otro lado, razas de Europa central como Montbeliarde tienen un mayor contenido de ácido linoleico conjugado (CLA). Varios autores han determinado que el porcentaje de variabilidad del perfil de ácidos grasos y proteínas de la leche que es determinado por el componente genético (heredabilidad) está entre bajo a moderado, pudiendo alterarse la composición mediante selección genética (Soyeurt y Gengler, 2008; Bove *et al.*, 2008; Arnould y Soyeurt, 2009; ver Tabla 2.2).

**Tabla 2.1.** Contenido de sólidos totales y producción de leche en bovinos lecheros según raza. ST, sólidos totales (grasa + proteína).

Raza	Producción (L/ordeña)	Grasa (%)	Proteína (%)	ST (%)
Jersey	7,97	4,6	3,6	8,2
Normanda	7,25	4,4	3,6	8,0
Guernsey	7,61	4,5	3,3	7,8
Roja Noruega	9,06	4,2	3,5	7,7
Roja Sueca	9,06	4,2	3,5	7,7
Brown Suizo	9,38	4,0	3,3	7,3
Montbeliarde	8,15	3,8	3,4	7,2
Ayrshire	8,11	3,9	3,1	7,0
Overo Colorado	5,04	3,5	3,3	6,8
Holstein F.	10,56	3,6	3,0	6,6

<sup>1</sup> Andrés M. Carvajal<sup>a</sup> & Bredford Kerr<sup>b</sup>.

<sup>a</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, Osorno.

<sup>b</sup> Centro de Estudios Científicos (CECs), Valdivia.

## HERRAMIENTAS DE MEJORAMIENTO GENÉTICO

La concentración de sólidos totales corresponde a una variable continua y por tanto puede ser analizada mediante herramientas cuantitativas. Las diferencias en calidad o composición de leche que se observan entre animales de igual o distinta raza pueden transmitirse a la progenie, y por lo tanto son heredables. Se ha descrito que alrededor del 60% de la variación de los componentes de la leche es hereditario, y por tanto depende de factores genéticos, enfatizando la importancia que tiene la selección de reproductores que mejoren algún componente de la leche. Si bien un gran porcentaje de productores a nivel mundial, incluido Chile, ha privilegiado el biotipo o razas de animales que producen más litros de leche por sobre una concentración dada de grasa o proteína, esta tendencia ha cambiado en varios países, donde se ha ponderado favorablemente la producción de leche con un mayor contenido de sólidos totales a través de un esquema de pago a productores. Esto, debido a que gran parte de los requerimientos de la industria están asociados a producción de leche en polvo, queso, mantequilla y otros derivados lácteos, en los cuales es más eficiente disminuir el contenido de agua. Así, el trabajo mediante programas de mejoramiento genético ha permitido aumentar el contenido de sólidos en leche seleccionando aquellos animales que poseen los alelos (o genes) favorables para esta característica, en otras palabras, que poseen un mayor potencial para producción de sólidos. En Chile, durante el último tiempo también se ha comenzado a pagar un valor adicional por sólidos, tendencia que podría aumentar en el futuro.

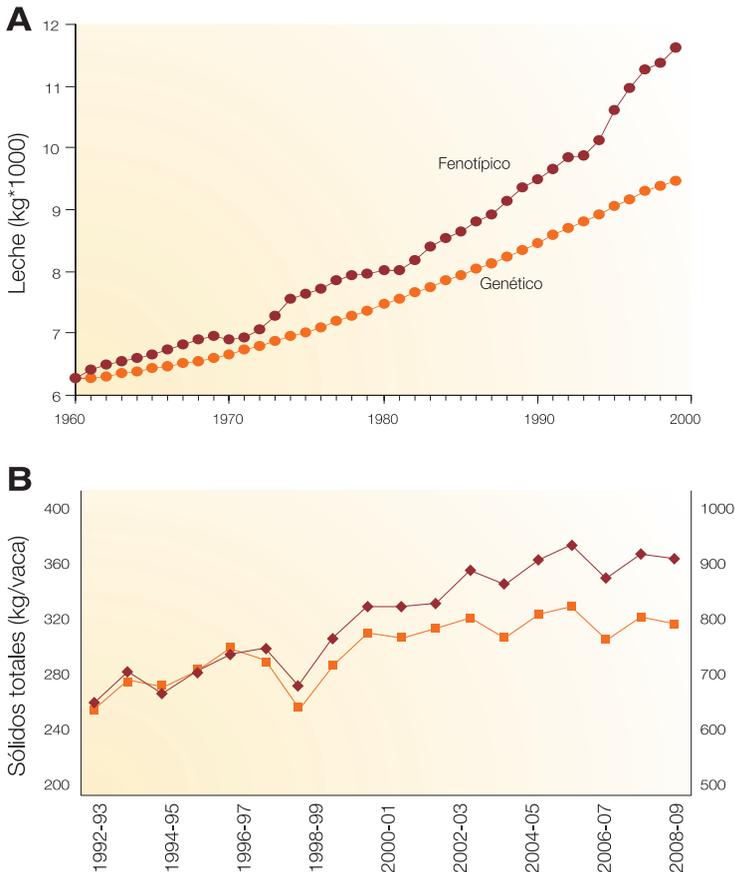
**Tabla 2.2.** Diferencias en el contenido de ácidos grasos en leche (g/dL) en razas bovinas en comparación a Holstein. Montbe: Montbeliarde; B. Suizo: Brown-suizo; B. Blue: Belgian blue. (Modificado de Soyeurt y Gengler, 2008).

AG	Jersey	Montbe	Guernsey	B. Suizo	Normanda	B. Blue	Red/White
C4:0	-3,67	-5,50		10,90	-2,75		
C6:0	9,51	-2,54	20,73	4,77	0,85		
C8:0	20,60	1,02	13,16	9,08	5,10		
C10:0	30,34	6,98	14,29	9,15	9,30		
C10:1	70,83	-16,67	12,50				
C12:0	32,22	6,46	7,59	10,38	10,77	-0,11	0,32
C14:0	6,75	2,61	5,64	3,64	1,87	-0,30	0,13
C14:1	-4,76	-28,09	-11,31	-14,87	-10,11		
C15:0	-2,04		-6,80	-6,76			
C16:0	-0,80	-11,49	7,20	-0,37	-8,15	-0,69	-0,15
C18:0	6,74	10,89	4,64	-5,13	14,93	-0,49	-0,08
C16:1	-13,11		-7,14	7,30		-0,54	-0,52
C18:1	11,72	5,37	-11,15	0,98	1,37	-0,21	-0,31
C18:2	-1,02	5,94	-4,92	5,27	3,96	-0,09	-0,23
CLA	13,07	-6,82	-5,11				
C18:3	-11,15	1,22	-19,79	-4,77	-6,10		

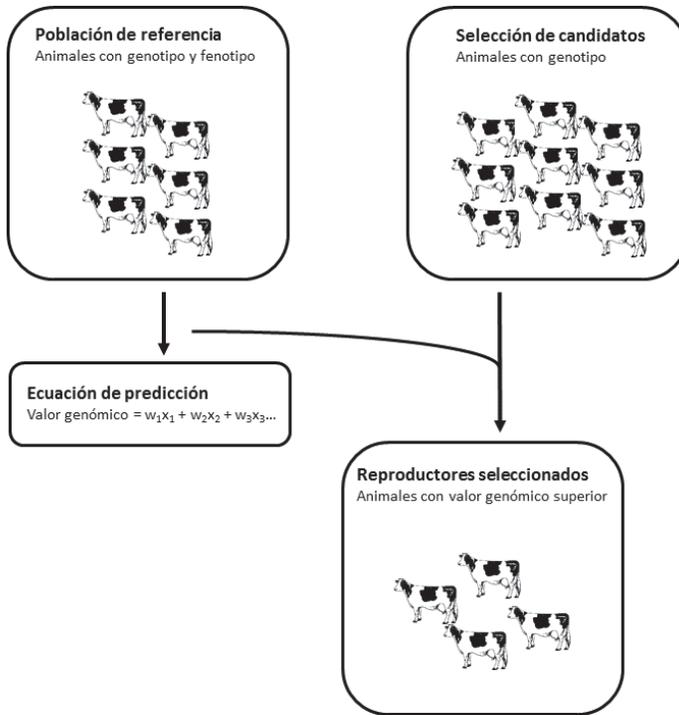
Los programas de mejoramiento genético han utilizado principalmente dos estrategias: **cruzamientos interraciales y selección genética**. El sistema de cruzamientos se utiliza a nivel predial y consiste en incorporar a nuestro rebaño una raza de mayor contenido de sólidos (grasa y/o proteína) mediante el uso de semen de una gran variedad de toros probados. Así, la progenie (F1) se beneficiará del vigor híbrido o "heterosis". Sin embargo, este sistema requiere un ordenamiento importante de los registros genealógicos del plantel y la identificación animal inequívoca. Además, el productor debe tener absoluta claridad de su objetivo de mejoramiento a corto, mediano y largo plazo, y las implicancias de trabajar con una u otra raza. La selección genética corresponde a la identificación de los mejores animales reproductores y por tanto requiere un número de animales importante, aplicándose a nivel poblacional (cientos o miles de animales, diversos rebaños). El proceso se lleva a cabo mediante técnicas matemático-estadísticas que utilizan datos productivos y genealógicos y la variabilidad propia de los planteles, logrando identificar aquellos animales que portan genes (o alelos) que mejoran la característica de interés, aunque no necesariamente se conoce cuál es ese gen o su forma (variante). Una de las ventajas del sistema de selección genética que ofrece la posibilidad de trabajar con reproductores de cada raza, y por tanto el productor no necesita cambiar de raza, sin embargo, el proceso es lento y requiere un escenario de organización como programa de mejoramiento genético. En todos los países donde se ha utilizado esta herramienta se puede observar como resultado un mejoramiento permanente y acumulativo (Figura 2.1).

El contenido de grasa y proteína total en leche así como el perfil de composición de cada uno de ellos está determinado en parte por la expresión y/o actividad de enzimas (tipo de proteínas) que constituyen las vías metabólicas que regulan la biosíntesis, actividad y degradación de éstos. Cada una de estas enzimas es codificada por un gen específico, cuya expresión o variante (alelo) han sido blanco de estudio (genes candidatos) ya que pueden asociarse o determinar el contenido y composición de la leche. Durante los últimos años se ha comenzado a trabajar con herramientas de genética molecular, los llamados **marcadores genéticos o moleculares**, que permiten estudiar y disectar en detalle la participación de genes particulares o conjuntos de genes u otras regiones del genoma en la regulación de la producción y composición de la leche. Así, hoy en día se ha desarrollado la tecnología de **selección genómica**, la cual permite identificar el potencial genético de un animal para diferentes características productivas, y predecir el desempeño de sus crías. Básicamente, se trata de estimar el mérito genético de animales reproductores en base a su genotipo, al comparar su información genética respecto de una población de animales, en los que además de esta información, se ha determinado su mérito real al medir la productividad de su progenie (ej: hijas y nietas; población referencia). Así, se genera una ecuación de predicción y animales que tengan

la misma información debieran manifestar igual desempeño (Figura 2.2). La información de marcadores moleculares se basa en la variabilidad natural que existe en la secuencia de ADN de un individuo y su asociación a diversas características, especialmente aquellas difíciles de medir mediante los métodos de selección convencionales (por ejemplo, de baja heredabilidad; difícil, onerosa o tardía medición del fenotipo; medible sólo en un sexo). Es importante señalar que dicha información es adicional y complementaria a la obtenida en programas convencionales, y ambas tecnologías debieran utilizarse para obtener el mayor progreso genético.



**Figura 2.1.** Aumento promedio en la producción de leche individual (A) y sólidos totales (B) a través del tiempo. En A se muestra efecto de ganancia genética sobre la producción real de leche en EE.UU. (Modificado de Dekkers y Hospital, 2001). B, producción de sólidos totales por vaca (verde) y por hectárea (gris) en Nueva Zelanda.



**Figura 2.2** Esquema resumiendo etapas de la selección genómica. La determinación del genotipo en una población animal que además posee una estimación real del mérito genético (población de referencia) por la medición de la característica de interés en su progenie permite la generación de una ecuación de predicción genómica la cual se utiliza para identificar los animales reproductores (mejorantes) dentro de un población que sólo cuenta con información de genotipo (selección de candidatos).

## GENES ASOCIADOS A LA COMPOSICIÓN GRASA DE LA LECHE

Se ha descrito que los genes *Dgat1* y *Scd1* juegan un papel fundamental en la composición de la grasa láctea ya que codifican enzimas importantes para la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos (Schennink et al., 2008) y han sido propuestos como candidatos para estudiar el efecto de marcadores. En el bovino, estos genes se encuentran localizados en los cromosomas 14 y 26, respectivamente.

El gen *Dgat1* (que codifica para la misma enzima responsable del último paso de la biosíntesis de triglicéridos) el cual se expresa en la glándula mamaria y en tejido adiposo

influye sobre la composición de la leche, determinando la concentración de la grasa y proteína. Se ha descrito que el polimorfismo K232A en este gen explica un 50% de la variación genética del porcentaje de grasa en leche en varias razas (Grisart et al., 2002). La variante lisina (K) de este polimorfismo se asocia a un descenso en la producción de leche pero con un incremento en el porcentaje de grasa y proteína láctea (Winter et al., 2002), mientras que la variante Alanina (A) se relaciona a un aumento en la producción de leche, con una caída en la producción de grasa y también proteína debido a la síntesis deficiente de triglicéridos en la glándula mamaria. Animales con la variante K tienen una mayor actividad enzimática de DGAT1 en comparación con aquellos con la variante A (Grisart et al., 2004). Por otro lado, se ha descrito que el alelo A se asocia a un perfil de leche con menor contenido de ácidos grasos saturados (AGS) y más ácidos moniinsaturados (AGMI; Schennink et al., 2007), lo cual sugiere una composición que sería beneficiosa para la salud humana. En concordancia con esto, en el presente trabajo se determinó el perfil de composición de grasa que difiere según la combinación de alelos que llevan los animales. Aquellos animales con genotipo AA producen leche con un menor contenido de grasa y proteína total y AGS, y mayor contenido de AGPI y ácidos omega 3 y omega 6 (Tabla 2.3). Es interesante que algunos FA como láurico y mirístico, los cuales se han asociados a enfermedades coronarias, estén menos representados.

**Tabla 2.3.** Efecto del genotipo del marcador DGAT1 K232A sobre el contenido de grasa y proteína y la composición de la grasa de la leche según el genotipo en bovinos lecheros de la región de Los Ríos.

FA	Genotipo Dgat1		
	AA	AK	KK
Leche (L)	19,32 <sup>a</sup>	22,17 <sup>a</sup>	20,48 <sup>a</sup>
Grasa	3,78 <sup>c</sup>	4,37 <sup>b</sup>	5,68 <sup>a</sup>
Proteína	3,50 <sup>b</sup>	3,70 <sup>a</sup>	3,92 <sup>a</sup>
SFA	66,42 <sup>b</sup>	67,46 <sup>ab</sup>	69,29 <sup>a</sup>
Láurico (C12)	3,18 <sup>b</sup>	3,43 <sup>a</sup>	3,27 <sup>ab</sup>
Mirístico (C14)	11,15 <sup>b</sup>	11,65 <sup>a</sup>	11,12 <sup>ab</sup>
Palmítico (C16)	29,62 <sup>a</sup>	30,60 <sup>a</sup>	30,79 <sup>a</sup>
MUFA	29,59 <sup>a</sup>	28,65 <sup>a</sup>	27,34 <sup>a</sup>
PUFA	3,99 <sup>a</sup>	3,89 <sup>ab</sup>	3,37 <sup>b</sup>
Linoleico (C18:2)	1,19 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,12 <sup>a</sup>
CLA 9c 11t	1,33 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>
n-3	0,86 <sup>a</sup>	0,78 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>
n-6	0,20 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>	0,13 <sup>ab</sup>

<sup>ab</sup> Letras iguales dentro de la fila no indican diferencia significativa ( $P > 0,05$ ). AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; N3: ácidos omega 3; N6: ácidos omega 6; N6:N3: proporción N6/N3; CLA cis9 t11: ácido linoleico conjugado.

Es interesante que la distribución de estas variantes genéticas son dependientes de la raza. Estudios de nuestro grupo en rebaños lecheros de la región de Los Ríos han determinado que la variante K que favorece el contenido de grasa es más frecuente en bovinos de raza Jersey (76%), la cual se caracteriza por su alto nivel de grasa y proteína, en comparación con bovinos Holstein (33%), Overo colorado (26%), Montbeliarde (4%) y Frisón negro (3%; Tabla 4; Dezamour et al., 2013).

**Tabla 2.4.** Frecuencias alélicas (%) de las variantes K y A para el marcador DGAT1 K232A en rebaños lecheros de la región de Los Ríos.

Biotipo	N° Vacas	Frecuencias alélicas	
		K	A
Holstein	58	34	66
Jersey	51	72	28
Frisón negro	52	3	97
Montbeliarde	50	4	96
Overo colorado	58	27	73

La enzima  $\Delta$ -9 desaturasa, la cual es codificada por el gen *Scd1*, genera ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y CLA en la glándula mamaria, por lo que es considerada una enzima lipogénica. El gen *Scd1*, el cual es altamente variable (polimórfico) en bovinos, ha recibido especial atención pues se relaciona al perfil de ácidos grasos de la canal de la carne y de la leche (Mele y col., 2007; Mioli et al, 2007). El polimorfismo más estudiado corresponde al marcador A293V, donde se produce una sustitución de valina, el aminoácido conservado, por alanina. Este polimorfismo tiene efectos importantes sobre la composición de la leche. En el presente trabajo se ha determinado que el alelo "C" predomina en distintas razas lecheras, acorde con lo descrito por Moioli et al. (2007), pero distinto al reporte de Mele et al. (2007) donde se reporta "T" como el alelo más frecuente en bovinos Holstein, indicando la incorporación de esa variante como resultado del proceso de selección de animales. Sin embargo, se han descrito algunas diferencias entre razas. En bovinos Jersey, por ejemplo, se observa que la actividad de SCD1 es menor en relación a bovinos Holstein, y por tanto los últimos tienen mayor contenido de CLA. Resultados del presente estudio corroboran esta respuesta. En relación al genotipo, se encontró que el genotipo CC se asocia a un menor contenido de láurico, mirístico y palmítico, menor contenido de PUFA, mayor nivel de Omega 3, pero una menor proporción *n-6:n-3*. Por su lado, el genotipo TT se asocia a mayor contenido de CLA, acorde al reporte de Mele et al. (2005) en bovinos Holstein. También se corroboró la asociación de la variante T con una mayor producción de leche pero ausencia de efecto sobre contenido de grasa o proteína. Al respecto, la literatura no muestra una respuesta concluyente.

**Tabla 2.5.** Efecto del genotipo del marcador *SCD1* A293V sobre el contenido de grasa y proteína y la composición de la grasa de la leche según el genotipo en bovinos lecheros de la región de Los Ríos.

FA	Genotipo <i>Scd1</i>		
	CC	CT	TT
Leche (L)	19,33 <sup>b</sup>	23,35 <sup>a</sup>	22,35 <sup>ab</sup>
Grasa	4,24 <sup>a</sup>	4,19 <sup>a</sup>	4,23 <sup>a</sup>
Proteína	3,64 <sup>a</sup>	3,70 <sup>a</sup>	3,51 <sup>a</sup>
SFA	67,48 <sup>a</sup>	67,15 <sup>a</sup>	69,17 <sup>a</sup>
Láurico (C12)	3,22 <sup>b</sup>	3,36 <sup>ab</sup>	3,69 <sup>a</sup>
Mirístico (C14)	11,11 <sup>c</sup>	11,57 <sup>b</sup>	12,40 <sup>a</sup>
Palmítico (C16)	30,56 <sup>b</sup>	30,59 <sup>b</sup>	32,77 <sup>a</sup>
MUFA	28,18 <sup>a</sup>	28,14 <sup>a</sup>	26,52 <sup>a</sup>
PUFA	3,68 <sup>b</sup>	4,28 <sup>a</sup>	4,16 <sup>ab</sup>
Linoleico (C18:2)	1,17 <sup>b</sup>	1,47 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>
CLA 9c 11t	1,23 <sup>b</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>
<i>n</i> -3	0,84 <sup>a</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	0,72 <sup>b</sup>
<i>n</i> -6: <i>n</i> -3	2,13 <sup>b</sup>	2,67 <sup>a</sup>	3,47 <sup>a</sup>

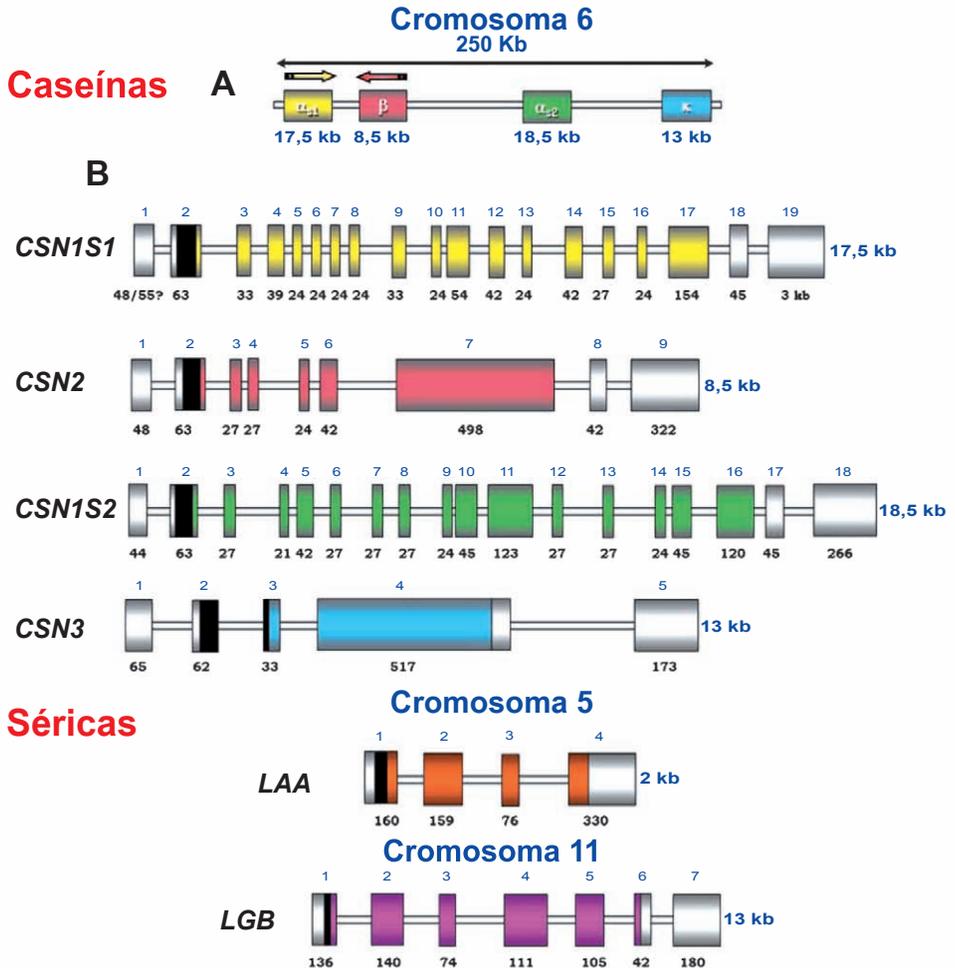
<sup>ab</sup> Letras iguales dentro de la fila no indican diferencia significativa ( $P > 0,05$ ). AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; N3: ácidos omega 3; N6: ácidos omega 6; N6:N3: proporción N6/N3; CLA cis9 t11: ácido linoleico conjugado.

## GENES ASOCIADOS A LA COMPOSICIÓN PROTEICA DE LA LECHE

Como ya se describió, el gen *Dgat1* incide fuertemente en la composición de la proteína total pero a nivel de tipo de proteínas, los genes que codifican para caseínas y proteínas del suero tienen efectos específicos sobre la composición y algunas propiedades tecnológicas.

Las caseínas alfaS1, beta, alfaS2 y kappa son codificadas por los genes *Csn1s1*, *Csn2*, *Csn1s2* y *Csn3*, respectivamente, los cuales se agrupan en el cromosoma 6 (Figura 2.3). Estos genes en conjunto (supercluster) se heredan a la progenie de forma simple (herencia mendeliana) con una heredabilidad moderada. Los genes de las caseínas presentan variaciones (polimorfismos) que generan un número de alelos variable: 9 para *Csn1s1*, 12 para *Csn2*, 4 para *Csn1s2* y 14 para *Csn3*. Como cada animal es portador sólo de dos alelos para cada gen, la combinatoria resultante de las distintas variantes alélicas para cada caseína es muy alta. Dicha combinación se llama haplotipo. En nuestro

laboratorio hemos determinando las frecuencias genéticas más importantes para estos marcadores en rebaños lecheros de la región de Los Ríos encontrando que las variantes más frecuentes para *Csn1s1*, *Csn2*, *Csn1s2* y *Csn3* son B, A1, A y A, respectivamente (ver Tabla 2.6 para CSN3).



**Figura 2.3.** Estructura y organización de los genes codificantes para caseínas y proteínas séricas en el bovino. A, organización genómica del locus de caseínas. B, organización estructural de los genes. LAA, alfa-lactoalbúmina; LGB, beta-lactoglobulina (Modificado de Caroli et al., 2009).

Varios reportes han demostrado que existe una relación entre las variantes de caseínas y las características productivas de la leche, como cantidad de litros producidos y/o rendimiento y composición de proteínas. Para *Csn1s1*, las 12 variantes se nombran desde la A hasta la L, produciendo múltiples combinaciones alélicas. En general, la variante más frecuente es B y algunos autores han descrito que animales con genotipo BB tienen un rendimiento significativamente mayor en litros de leche que los animales con genotipo BC. Este último genotipo es el más frecuente en animales Jersey, que en general no producen un volumen muy importante de leche.

**Tabla 2.6.** Frecuencias alélicas (%) de las variantes A, B y E para el gen *CSN3* (*k*-caseína) en rebaños lecheros de la región de Los Ríos.

Biotipo	N° Vacas	Frecuencias alélicas		
		A	B	C
Holstein	57	71	25	4
Jersey	49	23	76	1
Frisón negro	47	66	32	2
Montbeliarde	42	48	52	0
Overo colorado	45	58	36	6

Las variantes más comunes para *Csn2* son A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> y B pudiendo generar seis posibles combinaciones alélicas: A<sup>1</sup>A<sup>1</sup>, A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>, A<sup>2</sup>A<sup>2</sup>, A<sup>1</sup>B, A<sup>2</sup>B y BB. Entre estas, la variante B es favorable para conferir propiedades óptimas para la formación del cuajo, paso crítico en la elaboración de quesos (Caroli et al., 2009), aunque junto a la variante A<sup>1</sup> se han relacionado en algún grado a enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 1. También se han descrito algunas diferencias por raza: bovinos Holstein producen leche que es rica en la variante A<sup>1</sup> mientras que animales Guernsey con A<sup>2</sup>.

El gen para  $\kappa$ -caseína (*Csn3*) presenta 14 variantes siendo las más frecuentes A y B. Estudios en bovinos Holstein y Jersey muestran que la leche producida por animales con genotipo BB contiene mayores niveles de sólidos totales (grasa y proteína), además de correlacionarse con un mayor rendimiento en litros de leche, respecto de aquellos animales que tienen el alelo AA ó AB (Tsiaras et al., 2005; Comin et al., 2008). Se calcula que esta variante puede ofrecer un promedio de 2.000 Kg. más de leche durante toda la vida productiva del animal, estimando en aprox. un 3% las diferencias en el contenido proteico de la leche entre los animales  $\kappa$ -caseína AA y BB. Por otro lado, la leche producida por animales con genotipo BB posee propiedades superiores para la

manufacturación de queso como menor tiempo de renina (coagulación) y un cuajo más firme, debido a una mayor estabilidad en la formación de las micelas (Caroli *et al.*, 2009). Esta leche tiene un mayor contenido de  $\kappa$ -caseína formando micelas pequeñas, lo que favorece una mayor retención de sólidos y mayor resistencia a temperatura, resultando en un rendimiento superior (5-10%) durante la producción de queso comparado con el rendimiento obtenido a partir de leche producida por animales con genotipo AA, la que tiene un menor contenido de  $\kappa$ -caseína y micelas más grandes. Es interesante que el estudio de la frecuencia de estas variantes en rebaños lecheros de la región de Los Ríos muestra que el alelo B sólo se encuentra más frecuentemente en bovinos Jersey (76%) y Montbeliarde (52%; Tabla 2.6), corroborando resultados anteriores en frisonas de La Araucanía en donde se reportó la mayor frecuencia del alelo A (Felmer y Butendieck, 1998). Por el contrario a lo descrito para  $\kappa$ -caseína B, las variantes alélicas G y E han sido relacionadas con propiedades reológicas de la leche adversas como propiedades de coagulación deficientes (variante G) y efectos negativos sobre la formación del cuajo (variante E; Caroli *et al.*, 2009).

Como fue mencionado anteriormente, los genes que codifican para los 4 tipos de caseínas de la leche están codificados en un súper locus y se ha considerado de gran utilidad el análisis del haplotipo completo por sobre el análisis de cada uno de los genes por separado dado que el estudio de haplotipos considera la interacción entre los genes, entregando más información. Otros han sugerido la necesidad de separar el súper locus que codifica para las caseínas en dos bloques, uno que agrupe a  $\alpha$ S1- $\beta$ - $\alpha$ S2 caseína y otro para  $\kappa$ -caseína, describiendo una alta asociación entre el primer bloque con rendimiento y concentración de proteínas en leche. Un estudio en 30 razas bovinas mostró que las variantes alélicas más frecuentes fueron para  $\alpha$ S1-caseína, variantes B y C;  $\beta$ -caseína, A<sup>2</sup> y A<sup>1</sup>;  $\alpha$ S2-caseína, A y  $\kappa$ -caseína, B, A y H, siendo la combinación B/A<sup>1</sup>/A/A la de mayor frecuencia para el haplotipo  $\alpha$ S1-caseína /  $\beta$ -caseína /  $\alpha$ S2-caseína /  $\kappa$ -caseína (Jann *et al.*, 2004). Este haplotipo puede tener variaciones geográficas pero ha sido corroborado en nuestro estudio, incluyendo la predominancia de la variante B en bovinos Jersey. En bovinos Holstein y Finnish Ayrshire el haplotipo B-A1-B para  $\alpha$ S1- $\beta$ - $\kappa$  caseína ha sido asociado con un incremento en el porcentaje de grasa y proteínas en la leche, pero inversamente correlacionado con el rendimiento de leche; mientras el haplotipo C-A2-B ha sido asociado con una disminución en el rendimiento y concentración de proteínas (Bonfatti *et al.*, 2010; Caroli *et al.*, 2009). En conjunto, estos reportes muestran que haplotipos distintos tienen efectos específicos sobre las características productivas en las diferentes razas de bovinos. Niveles aumentados de caseína y en particular  $\kappa$  ó  $\alpha$ S1-caseína pueden aumentar el valor de la proteína y mejorar las características de la leche. Diferentes enfoques han sido realizados para alcanzar este objetivo incluyendo

ingeniería genética y transgenia. Brophy *et al.* (2003) generaron bovinos transgénicos que sobreexpresaban  $\beta$  y  $\kappa$ -caseínas, los cuales producían leche con un mayor contenido de caseína y proteína totales sin alterar el perfil de ácidos grasos, aminoácidos y vitaminas. Sin embargo, la comercialización de esta leche enfrenta diversos desafíos éticos para el consumidor, además de requerir una serie de estudios sobre el impacto real sobre las propiedades funcionales de la leche y su efecto en la salud de los consumidores.

En relación a las proteínas del suero, las más importantes son  $\beta$ -lactoglobulina (BLG) y  $\alpha$ -lactoalbúmina (ALA) las que tienen efectos sobre las propiedades tecnológicas y funcionales de la leche.

BLG es la principal proteína del suero y se han descrito dos variantes alélicas mayoritarias: A y B, cuyas frecuencias difieren entre diferentes poblaciones de bovinos lecheros. Estudios en bovinos Holstein han descrito su asociación a parámetros productivos como rendimiento de caseínas (y proteínas) y porcentaje de grasa, lo cual trae como consecuencia un incremento en la producción de queso (variante B). La variante A se asocia con un mayor nivel de BLG y proteínas totales del suero de la leche, y con un menor contenido de caseínas y grasa, así como con un menor rendimiento en litros de leche (Requena *et al.*, 2007). Se ha sugerido que la variante B puede asociarse a mayor cantidad de caseínas. Por su parte ALA participa en la biosíntesis de lactosa, el principal azúcar contenido en la leche. Hasta ahora se han descrito sólo 3 variantes: A, B y C, las que se relacionan a producción de leche y sólidos totales. En bovinos Holstein, la variante A se asocia con mayor producción de leche y mayor rendimiento de proteínas y grasa. A su vez, la variante B ha sido asociada con un mayor porcentaje de proteína y grasa, observándose valores intermedios en los animales heterocigotos, (Requena *et al.*, 2007).

## CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

Los antecedentes recién expuestos señalan que factores genéticos como raza y genotipo son importantes para establecer la composición de la leche, tanto a nivel de proteína y grasa total, así como a nivel del tipo de proteínas (caseínas y proteínas séricas) y tipo de ácidos grasos. Estos efectos deben ser considerados junto con otras intervenciones como factores ambientales, principalmente la alimentación a la cual son sometidos los animales, así como factores propios del animal como estado de lactancia o edad.

A nivel de raza, hay biotipos que favorecen la producción de leche por sobre el contenido de sólidos totales (grasa y proteína). Los bovinos Holstein-Friesian han sido

seleccionados para producir grandes volúmenes de leche y en comparación a bovinos Jersey presentan un bajo contenido de sólidos totales. A este nivel es importante el marcador K232A presente en el gen *Dgat1*, el cual corresponde a un gen mayor que determina fuertemente el contenido de grasa y proteína en leche. Así, este marcador se ha incorporado a los programas de evaluación genómica para identificar animales con mayor mérito genético para esta característica. Como se ha descrito, bovinos Jersey presentan una mayor frecuencia del alelo K, el cual favorece un mayor contenido de sólidos totales. No obstante, la presencia de animales heterocigotos para este marcador pudiera utilizarse para aumentar su frecuencia mediante cruzamientos.

Dado que por lejos el principal tipo de ácido graso en leche corresponde a su estado saturado (AGS), no es extraño que bovinos Jersey presenten un alto contenido de éste, en desmedro de ácidos grasos insaturados (AGMI y/o AGPI). Diferencias a nivel de algunas actividades enzimáticas que participan en la conversión de AGS a AGMI como la delta-9 desaturasa explican que animales Holstein presenten en leche mayor contenido de AGMI pero también de CLA. El genotipo TT (variante A) para el marcador A293 del gen *Scd1* se ha asociado a estas mismas respuestas, mayor contenido de AGMI y CLA no sólo en leche sino que también en carne. El caso de ácidos omega 6 u omega 3 es distinto, donde sus niveles están más fuertemente determinados por la dieta, en especial el tipo de forrajes y/o suplementos que son variables respecto al contenido de AGPI.

En el caso de las caseínas, las proteínas más abundantes de la leche, existe un número importante de variantes las cuales determinan no sólo el tipo de proteína, sino que con esto algunas de las variables fisicoquímicas que afectan la transformación de la leche a cuajo y con esto la producción de queso. De especial interés es la  $\kappa$ -caseína, donde la variante B del gen *Csn3* es importante para aumentar el contenido de proteína y también grasa, y favorecer un tipo de micela que favorece la coagulación y rendimiento quesero.

En un futuro más cercano que lejano, los planteles de animales podrán ser clasificados respecto a su información genética, tipo de manejo y alimentación, pudiendo direccionar su producción según el interés particular de los agricultores, y considerando criterios económicos, pero también en relación del tipo de producto a generar. Hoy cada vez más los mercados están requiriendo alimentos sanos, funcionales, o con características que los diferencian de cualquier *commodity*, pudiendo corresponder a leche o derivado lácteos diferenciados, enriquecidos o carentes de alguno de sus componentes, generando un valor adicional.

## REFERENCIAS

- Arnould VMR and Soyeurt A. 2009. Genetic variability of milk fatty acids. *J. Appl. Genet.* 50: 29-39.
- Bonfatti V, Di Martino G, Cecchinato A, Degano L and Carnier P. 2010. Effects of beta-kappa-casein haplotypes, beta-lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of Simmental cows. *J. Dairy Sci.* 93: 3809-3817.
- Bove G, Minick Bormann JA, Lindberg GL, Freeman AE and Beitz DC. 2008. Short communication: estimates of genetic variation of milk fatty acids in US Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1209-1213.
- Brophy B, Smolenski G, Wheeler T, Wells D, L'Huillier P and Laible G. 2003. Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of beta-casein and kappa-casein. *Nat. Biotechnol.* 21: 157-62.
- Caroli AM, Chessa S and Erhardt G. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *J. Dairy Sci.* 92: 5335-5352.
- Comin A, Cassandro M, Chessa S, Ojala M, Dal Zotto R, De Marchi M, Carnier P, Gallo L, Pagnacco G and Bittante G. 2008. Effects of composite  $\beta$ - and  $\kappa$ -casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91: 4022-4027.
- Dekkers CM and Hospital F. 2001. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Rev. Genetics.* 3: 22-32.
- Dezamour JM, Huircan P, Subiabre I, Morales R, Kerr B y Carvajal AM. 2013. Efecto de raza y genotipo sobre la composición de la grasa láctea en rebaños lecheros de la región de Los Ríos. En: *Proceedings del XXXVIII Congreso Sociedad Chilena de Producción Animal*. Frutillar, 23-25 Octubre. pp. 19-20.
- Di Stasio L and Mariani P. 2000. The role of protein polymorphism in the genetic improvement of milk production. *Zoot. Nutr. Anim.* 26: 69-90.
- Felmer R y Butendieck N. 1998. Frecuencia alélica del gen de la k-caseína bovina en un rebaño Frisón Negro Chileno. *Arch. Med. Vet.* 30(2).
- Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano, Mni M, Reid S, Simon P, et al. 2002. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.* 12: 222-231.

- Grisart B, Farnir F, Karim L, Cambisano N, Kim J-J, Kvasz A, Mni M, Simon P, Frere JM, Coppieters W and Georges M. 2004. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 2398-2403.
- Jann OC, Ibeagha-Awemu EM, Ozbeyaz C, Zaragoza P, Williams JL, Ajmone-Marsan P, Lenstra JA, Moazami-Goudarzi K and Erhardt G. 2004. Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genet. Sel. Evol.* 36: 243-257.
- Kelsey JA, Corl BA, Collier RJ and Bauman DE. 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 2588-2597.
- Mele M, Conte G, Castiglioni B, Chessa S, Macciotta, NPP, Serra A, Pagnacco G and Secchiari P. 2007. Stearoyl-Coenzyme A Desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. *J. Dairy Sci.* 90: 4458-4465.
- Moioli B, Contarini G, Avalli A, Catillo G, Orrù L, De Matteis G, Masoero G and Napoletano F. 2007. Short communication: Effect of Stearoyl Coenzyme A Desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk. *J. Dairy Sci.* 90: 3553-3558.
- Requena FD, Agüera EI y Requena F. 2007. Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. *Rev. Elect. Vet.* 8(1).
- Schennink A, Stoop WM, Visker MH, Heck JM, Bovenhuis H, van der Poel JJ, van Valenberg HJ and van Arendonk JA. 2007. DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Anim. Genet.* 38: 467-473.
- Schennink A, Heck JM, Bovenhuis H, Visker MH, van Valenberg HJ and van Arendonk JA. 2008. Milk fatty acid unsaturation: Genetic parameters and effects of Stearoyl-CoA Desaturase (*SCD1*) and Acyl CoA: Diacylglycerol Acyltransferase 1 (*DGAT1*). *J. Dairy Sci.* 91: 2135-2143.
- Soyeurt H and Gengler N. 2008. Genetic variability of fatty acid in bovine milk. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 203-210.
- Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G and Boscos CM. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88: 327-334.

Winter A, Kramer W, Werner FA, Kollers O, Kata S, Durstewitz S, Buitkamp G, et al. 2002. Association of a lysine- 232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 9300-9305.

## Capítulo 3

# CONSUMIDORES DE LECHES FUNCIONALES<sup>1</sup>

### INTRODUCCIÓN

La generación de productos funcionales lácteos que se obtienen en las condiciones productivas del sur de Chile, es un interesante desafío para la cadena láctea. Sin embargo, a pesar del enorme interés y el aumento del consumo de alimentos funcionales, poco se sabe sobre cómo los consumidores perciben estos productos. En este sentido, la mayoría de los estudios que analizan el comportamiento de los consumidores y las actitudes hacia los alimentos funcionales se concentran en países desarrollados como los EE.UU., Canadá, Finlandia, Australia y Suecia, dejando de lado los mercados emergentes. Estos estudios tienen en común el racional proceso de toma de decisiones que los consumidores experimentan en la compra de alimentos declarados saludables. El objetivo del presente trabajo fue conocer las características y disposición a pagar de los consumidores de tres importantes ciudades de Chile por productos lácteos funcionales. La aproximación económica al tema se realizó mediante encuestas a consumidores de leches, determinando tanto la disponibilidad a pagar por un potencial producto que entregue beneficios para la salud como el grado de conocimiento de los consumidores sobre componentes funcionales de la leche, además de caracterizar al consumidor de productos lácteos nutricionalmente diferenciados.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 605 encuestas durante Diciembre-Enero 2013 en Santiago, Valdivia y Osorno. La encuesta contó de preguntas referidas a la disponibilidad del consumidor a pagar por un potencial producto funcional y preguntas sobre nivel socioeconómico y educacional, presencia de niños en el hogar, presencia de algunas enfermedades en

---

<sup>1</sup> German Holmberg & Rodrigo Morales  
Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, Ruta 5 km 8, Osorno

el hogar, conocimiento de compuestos funcionales, edad y género entre otros, que permiten la caracterización de los consumidores. Para ello se realizan comparaciones entre el grupo que explicitó su preferencia por leches diferenciadas nutricionalmente ( $n=231$ ) con el grupo que no lo hizo ( $n=374$ ). Ambos grupos se compararon a través del test de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presentan los principales resultados del trabajo. Frente a la consulta de si estarían dispuestos a pagar más por una leche que les reportara beneficios para la salud un 79,1% de los encuestados totales se manifestó positivamente, no existiendo diferencia entre consumidores que prefieren alimentos funcionales y el resto. En promedio los consumidores estarían dispuestos a pagar \$161,8 más por el litro de leche, lo que corresponde a un 24,5% más con respecto a lo pagan actualmente, no existiendo diferencia entre grupos.

Un 38,2% de los consumidores compra en algún grado leches diferenciadas por atributos funcionales.

**Tabla 3.1.** Comparación entre consumidores que prefieren leches diferenciadas nutricionalmente y el resto de los consumidores encuestados (%).

Preguntas	Funcionales (%)	Otros (%)	P =
Pagaría más por una leche que le entregue beneficios (%)	81,4	77,8	0,293
Prefiere un marca en especial	59,31	62,6	0,424
Porcentaje de mujeres	62,3 <sup>a</sup>	52,7 <sup>b</sup>	0,020
Presencia de niños en la casa	37,7 <sup>b</sup>	50,3 <sup>a</sup>	0,0001
Se preocupa de su salud con comida sana	50,2 <sup>a</sup>	35,6 <sup>b</sup>	0,0004
Consume habitualmente vitaminas u antioxidantes	50,2 <sup>a</sup>	26,7 <sup>b</sup>	0,0001
Lee la información de fecha de vencimiento productos	87,5 <sup>a</sup>	77,3 <sup>b</sup>	0,002
Lee la información nutricional de los productos	57,1 <sup>a</sup>	40,4 <sup>b</sup>	0,0001
Lee las certificaciones de calidad de pudieran tener	35,5 <sup>a</sup>	26,7 <sup>b</sup>	0,023
Conoce o ha oído hablar de los Omega	77,5 <sup>a</sup>	57,0 <sup>b</sup>	0,0001
Conoce o ha oído hablar de los CLA	25,1 <sup>a</sup>	17,9 <sup>b</sup>	0,034
Conoce o ha oído hablar del Butirato	18,6	16,0	0,414

<sup>ab</sup> Letras iguales dentro de la fila no indican diferencia estadística ( $P \leq 0,05$ ).

Las encuestas realizadas indican que un alto porcentaje (65%) de los encuestados, conocía o ha oído hablar de los ácidos OMEGA, sin embargo manifiesta poco conocimiento del ácido linoleico conjugado (CLA) y del butirato. Lo anterior se puede interpretar como una respuesta a los esfuerzos en marketing desarrollados por los productos de tipo "light", los

cuales han hecho énfasis en los contenidos de OMEGA de sus productos. Esto refuerza el hecho de que es necesario informar a los consumidores y comunicar los beneficios para la salud de sus productos.

Setenta y nueve por ciento de los encuestados manifestaron que estarían dispuestos a pagar más por una leche que le entregara beneficios para la salud, sin que existieran diferencias entre los grupos de comparación. Esto revela la alta potencialidad del mercado de las leches funcionales.

Por otra parte los consumidores que evidenciaron su preferencia por productos diferenciados nutricionalmente, están más preocupados por su salud y presentan mayor preocupación por la información sobre los productos.

Algunos estudios demuestran que el consumo de alimentos funcionales está asociado a un mercado dominado por los consumidores acomodados, ya que éstos tienden a estar disponibles a un mayor precio (Petrovici y Ritson, 2006), situación corroborada parcialmente en este estudio.

**Tabla 3.2.** Comparación de consumidores funcionales y no funcionales ordenadas por nivel de ingreso.

Consumidores	Menos de M\$300	M\$300-M\$600	M\$600-M\$1000	M\$1000-M\$1500	Más de M\$1500
Funcionales (%)	22,5	23,8	25,5	13,9	14,3
NO funcionales (%)	33,7	27,6	21,9	10,4	6,4

Del análisis del Tabla 3.2 se puede decir que existe diferencia entre ambos grupos de comparación con respecto a que los consumidores cuyo ingreso familiar es inferior a \$300.000 está más representado en el grupo que hemos denominado no funcional y a su vez el grupo cuyo ingreso familiar es mayor a \$ 1.500.000 está en términos comparativos más representado en el grupo funcional.

**Tabla 3.3.** Comparación de consumidores funcionales y no funcionales según nivel educacional.

Consumidores	Básica	Media incompleta	Media completa	Superior incompleta	Superior completa
Funcionales (%)	6,9	5,6	24,2	25,1	38,1
NO funcionales (%)	15,2	5,1	28,1	22,2	29,4

Caso similar ocurre con los niveles educacionales donde las diferencias entre grupos se presentan en los consumidores con educación básica y consumidores con enseñanza superior completa (Tabla 3.3).

**Tabla 3.4.** Disponibilidad a pagar por parte de consumidores funcionales ordenados por nivel de ingresos.

Disponibilidad	Menos de M\$300	M\$300-M\$600	M\$600-M\$1000	M\$1000-M\$1500	Más de M\$1500
A Pagar (%)	93,7	69,2	82,1	81,0	80,7
A Pagar (\$)	133,3	188,9	160,47	176,6	154,6

## CONCLUSIONES

En el mercado nacional, un alto porcentaje de consumidores estaría dispuesto a pagar por una leche con características funcionales, ya que la mayoría de los encuestados manifestó que estaría dispuesto a pagar más por una leche que le entregara beneficios para la salud, siendo este porcentaje de un 79,2% en el total de la muestra. Al comparar ambos grupos no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Esto revela la alta "disposición a pagar" que existe en el mercado de los consumidores de leche por productos de tipo funcional. Además, al ser consultados cuanto más pagarían por una leche beneficiosa para su salud, en promedio la muestra indicó que pagarían \$161,8 más por el litro de leche, lo que corresponde a un 24,5% más con respecto a lo que actualmente pagan por un litro de leche, no existiendo diferencia entre los grupos de comparación.

Al realizar los análisis según nivel de ingresos existen algunas diferencias las que se dan entre los consumidores de menor y mayor nivel de ingreso (Tabla 3.4), situación similar cuando se analiza el nivel educacional (Tabla 3.3). Algunos estudios muestran que el consumo de alimentos funcionales está asociado a un mercado dominado por los consumidores acomodados, ya que estos tienden a estar disponibles a un mayor precio (Petrovici y Ritson, 2006), situación corroborada parcialmente en este estudio.

Sin embargo, si se pretende generar una leche enriquecida con CLA, obtenida de las condiciones de pastoreo del sur de Chile, el consumidor debería ser informado acerca de los beneficios que el CLA reporta a la salud.

## REFERENCIAS

Petrovici DA, and Ritson. C. 2006. Factors influencing consumer dietary health preventative behaviors. BMC Public Health, 6:222.

## Capítulo 4

# LÍPIDOS BIOACTIVOS EN PRODUCTOS LÁCTEOS<sup>1</sup>

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las recomendaciones dietéticas reconocen que la leche y los productos lácteos son una excelente fuente de nutrientes esenciales (ej: calcio, potasio, magnesio, zinc, riboflavina, vitamina A, folato, vitamina D y proteínas de elevada calidad nutricional), así como un vehículo ideal de componentes bioactivos que pueden aportar beneficios para la salud humana (Collomb *et al.*, 2006; Hur *et al.*, 2007). No obstante, se insiste en la recomendación de un consumo preferente de productos lácteos desnatados o con reducido contenido en grasa. Sin embargo, durante los últimos años se han realizado investigaciones que han dado lugar a un número creciente de publicaciones, encaminadas a reconsiderar la significativa actividad biológica de los ácidos grasos presentes en la leche, en relación con la salud humana (German y Dillar, 2006; Akal *et al.*, 2006; IDF, 2007; Steijns, 2008; Lecerf, 2008; Parodi, 2009). En consecuencia, actualmente estamos asistiendo a un proceso de revalorización de la imagen de la grasa láctea, detectándose un creciente interés en todos aquellos aspectos que se refieren a los lípidos lácteos como fuente de ingredientes bioactivos y funcionales cuyo consumo aporta beneficios para el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades crónicas en humanos. En particular, cabe destacar la reconocida actividad del ácido linoleico conjugado (CLA) en la inhibición del cáncer, aterosclerosis y mejoramiento de las funciones inmunológicas (Parodi, 2005).

Con vistas a potenciar la actividad y por tanto los beneficios del consumo de estos compuestos lipídicos, en el laboratorio Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM se llevan a cabo estudios dirigidos a incrementar su contenido de forma natural en productos lácteos enriquecidos, o bien su aislamiento

---

<sup>1</sup> Luis M. Rodríguez-Alcalá, María Visitación Calvo, María Antonia Villar-Tajadura, Pilar Castro-Gómez, Francisca Holgado, Manuela Juárez & Javier Fontecha\*.

Departamento de Bioactividad y Análisis de alimentos. Grupo Lípidos. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM. C/ Nicolás Cabrera, 9. Campus de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), 28049, Madrid.\*(jfontecha@if.csic.es)

para posterior utilización como ingredientes funcionales. El conocimiento en profundidad de los mecanismos que regulan los contenidos de estos componentes con actividad biológica y el efecto potencialmente beneficioso de su consumo, es esencial para incrementar el valor añadido de los productos lácteos.

Estudios de meta-análisis recientes (Elwood et al., 2010) indican que el consumo de leche y productos lácteos tiene una incidencia positiva en la salud al disminuir el riesgo sobre las enfermedades cardiovasculares (CVD) y en lo que a la grasa láctea respecta, no existe ninguna evidencia científica clara que demuestre que su consumo moderado tenga incidencia negativa sobre las CVD (Steijns, 2008). Así, conviene indicar que a pesar del elevado contenido en ácidos grasos saturados (AGS, 65%) de la grasa láctea, solo la fracción correspondiente a los ácidos laúrico (C12), mirístico (C14) y palmítico (C16), podría considerarse desfavorable, si se produce un consumo excesivo (Legrand, 2008). El ácido esteárico (C18) es considerado neutro desde la perspectiva de la salud humana, aunque sin duda es tan efectivo para reducir el colesterol plasmático como el ácido oleico (C18:1), también presente en grasa láctea en concentraciones altas (15-23%). La exclusiva presencia en grasa láctea de AGS de cadena corta, butírico (C4), caproico (C6) y de cadena media, caprílico (C8) y cáprico (C10), no ejerce efecto sobre los niveles del colesterol en sangre (Parodi, 2004). El ácido butírico, ha sido descrito como un agente antitumoral por inhibir el crecimiento y la diferenciación de células tumorales de próstata, mama y colon, así como por favorecer su apoptosis en animales de experimentación (Hassig et al., 1997; German, 1999). El ácido butírico parece además actuar de forma sinérgica con otros componentes de la dieta como resveratrol y retinol o fármacos específicos utilizados para el tratamiento de la hipercolesterolemia, por lo que no serían necesarias concentraciones plasmáticas muy elevadas para proporcionar un efecto beneficioso. Por otro lado, para los ácidos C6, C8 y C10 se han descrito actividades antibacterianas y antivíricas tanto en ensayos *in vitro* como en animales de experimentación (Thormar et al., 1994; Hilmarsson et al., 2006). Además, la presencia de estos ácidos grasos de cadena corta y media, favorece el punto de fusión más bajo a la grasa láctea, lo que la confiere diferentes propiedades químicas y físicas frente a otras grasas animales saturadas, afectando de manera positiva su digestibilidad y favoreciendo su biodisponibilidad.

Por último, señalar que la grasa láctea es la principal fuente de CLA de nuestra dieta. El CLA consiste en una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, que, como se ha indicado, destacan por su elevado potencial como promotores de salud humana. El principal isómero de CLA es el ácido ruménico (C18:2 *cis*-9, *trans*-11, RA) que se forma en el rumen a partir del ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) presente en

la dieta de los animales. El precursor fisiológico del CLA es el ácido vacénico (*trans*-11 C18:1, TVA) ya que aproximadamente el 90% del isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA de la grasa de leche se produce por vía endógena en la glándula mamaria, con la participación de la D-9-desaturasa a partir del TVA (Kay et al., 2004; Bauman et al., 2006). Desde los primeros estudios que demostraban el efecto anticancerígeno del CLA (Ha et al., 1987), y en particular del isómero mayoritario *cis*-9, *trans*-11 C18:2, ha constituido el objetivo de multitud de estudios que determinan sus propiedades bioquímicas y fisiológicas (Parodi, 2009).

## LA GRASA LÁCTEA COMO FUENTE DE CLA

Se ha demostrado que el contenido de CLA en la leche puede diferir no sólo según la especie de rumiante sino entre razas e individuos dentro de la misma raza. Entre estos factores fisiológicos o genéticos, la actividad  $\Delta$ -9 desaturasa ha sido el más investigado en los últimos años (Palmquist, 2005). En este sentido, se sabe que son los lípidos aportados con la dieta los que juegan un papel clave como moduladores de la composición de ácidos grasos de la leche de ruminantes y por tanto, representan una herramienta practica para alterar de forma natural el rendimiento y la composición de la grasa láctea (Sanz Sampelayo, et al. 2007; Chilliard et al., 2007). Además, dentro del desarrollo de estrategias para aumentar el contenido en CLA de la grasa láctea, resulta esencial el conocimiento de los procesos metabólicos implicados, como son la lipólisis, la biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) que tienen lugar en el rumen y de la desaturación de vacénico y otros ácidos grasos en glándula mamaria. (Fuente y Juárez 2004; Luna et al., 2005; Jenkins y McGuire, 2006). Así, el empleo de fuentes dietéticas ricas en AGPI permite obtener productos de origen animal cuya grasa es más insaturada aunque, la utilización de estos suplementos en algunas raciones puede alterar el proceso de fermentación ruminal y afectar negativamente al rendimiento productivo de los animales (Gonthier et al., 2005). En este contexto, la modificación de la dieta basal del ganado y sobretudo la suplementación lipídica de la misma, es decir la relación suplemento forraje, han sido objeto de exhaustivos estudios (Stanton et al 2003; Bauman et al., 2006, Shingfield et al., 2008; Toral et al., 2010).

Por otro lado han surgido numerosos trabajos de investigación que pretenden incrementar los niveles de los ácidos eicosapentenoico (EPA) y docosahexanoico (DHA) de forma natural utilizando suplementos de origen marino (Castañeda-Gutierrez et al., 2007, Abu Ghazaleh et al., 2009). Sin embargo, su interés práctico resulta limitado dado el elevado costo de estos sustratos lipídicos y la posible limitación de las legislaciones

alimentarias a la utilización de estos compuestos. Diversos estudios concluyen que los mejores resultados se obtienen cuando se suplementa con fuentes lipídicas (aceites y semillas) de alto contenido en linoleico y  $\alpha$ -linolénico (lino, girasol y soja) y pastos verdes. Otra estrategia empleada para mejorar las características nutricionales de la grasa láctea consiste en su sustitución por aceites vegetales o grasas enriquecidas en ácidos grasos omega-3 (Luna *et al.*, 2004). Se logra así un descenso de los ácidos grasos saturados a expensas de un aumento de los AGMI y AGPI, muy favorable desde el punto de vista funcional. En la actualidad, ya se comercializan lácteos enriquecidos en omega-3, con elevados niveles de EPA y DHA. Existe un amplio abanico de productos que presentan alegaciones nutricionales relacionadas con los AGPI omega-3 (Shahidi *et al.*, 2008) o la sustitución con aceites ricos en CLA (Rodríguez-Alcalá y Fontecha, 2007).

## EFECTOS BIOLÓGICOS DEL CLA

La información disponible en la bibliografía científica sobre los efectos anticancerígenos, antiaterogénicos del CLA (principalmente el isómero *cis-9, trans-11* C18:2), así como un gran número de otros efectos potencialmente beneficiosos para la salud, es muy extensa. Estos efectos están ampliamente descritos en experimentación con animales y en estudios *in vitro* con cultivos celulares, sin embargo, las evidencias en investigación con humanos son contradictorias y en muchos casos no permiten establecer una asociación clara entre el consumo de CLA y su efecto biológico. Ello pudiera deberse a factores tales como las elevadas dosis empleadas con animales, diferencias metabólicas asociadas a la especie, el protocolo empleado o el empleo de isómeros puros o de mezclas sintéticas de isómeros (Benjamin *et al.*, 2009, Park y Pariza, 2007).

Además del ácido ruménico, otros isómeros de CLA también se han asociado con diversos procesos metabólicos relacionados con la salud. Así el isómero *trans-10, cis-12* C18:2, ha alcanzado una gran relevancia por promover la pérdida de peso corporal (Belury *et al.*, 2007), aunque podría ser también causante de la disminución en los niveles de glucosa e incrementos de resistencia a insulina plasmática (Riserus 2002; Khanal y Dhiman, 2004). El *cis-9, cis-11* C18:2 ha sido ensayado en cultivos celulares de cáncer de mama y parece comportarse como un agente bloqueador de estrógeno humano, mientras que el *trans-9, trans-11* C18:2 parece ejercer un potente efecto inhibitor del crecimiento de células de cáncer de colon. Otras investigaciones utilizando muestras lácteas ricas en CLA, encontraron efectos positivos en la incidencia de cáncer de mama y colorectal en mujeres (Aro *et al.*, 2000, Knekt *et al.*, 1996, Larsson *et al.*, 2005). En los trabajos llevados a cabo en niños obesos o con sobrepeso en donde se administraban

batidos lácteos o cápsulas con concentraciones de CLA de 3 a 4,2 g/día de Ruménico y C18:2 *trans*-10, *cis*-12 en proporción 1:1, encontraron disminuciones en la acumulación de grasa corporal, y no registraron variaciones en los niveles de glucosa e insulina en sangre (Racine *et al.*, 2010). Actualmente existen dos teorías propuestas para explicar los efectos biológicos del CLA (Wall *et al.*, 2008). La primera sostiene que los isómeros de CLA disminuyen las concentraciones del ácido araquidónico en los fosfolípidos de las membranas celulares, actuando a nivel de los señalizadores celulares como los eicosanoides. Esta podría ser la explicación del incremento en los niveles de IgA e IgM y marcadores de inflamación observados en mujeres con dosis de 1,1-3 g/día (Kwak *et al.*, 2009) o de anticuerpos de hepatitis B en hombres al administrarse 1,7 g/día durante 12 semanas (Albers *et al.*, 2003). La segunda hipótesis, sitúa al CLA como regulador de genes implicados en el metabolismo lipídico, apoptosis, funciones del sistema inmune y balance energético, además de poder suprimir la expresión de genes de factores de inflamación (Akahoshi *et al.*, 2004).

Estudios llevados a cabo en humanos empleando aceites de alto contenido en CLA o mezclas de isómeros concluyen que el consumo de 6 g/día durante 1 año y de 3 g/día durante 2 años no presenta efectos adversos en la salud del consumidor, lo que ha llevado a la FDA a conferir la clasificación GRAS a los aceites ricos en CLA obtenidos por síntesis química siempre que la dosis administrada sea de 1,5 g/toma (FDA, 2007). A pesar de ello existe un intenso debate en torno a la seguridad del consumo de CLA y diversas revisiones y trabajos de investigación ponen de manifiesto que aún a las dosis seguras propuestas, se puede producir estrés oxidativo, incrementos en las relaciones LDL/HDL y colesterol total/HDL, hepatotoxicidad y resistencia a insulina apuntando al isómero C18:2 t10, c12 como principal responsable (Tricon *et al.*, 2006; Silveira *et al.*, 2007; Ramos *et al.*, 2009). Un estudio reciente, empleando dosis de 4,25 g/día de isómeros individuales y mezclas 1:1 de RA y C18:2 t10, c12 reportó que este último ácido graso puede producir alteraciones en la expresión de genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y la producción de insulina y que según los autores contribuye a explicar otros trabajos previos donde se relaciona el CLA con la inducción de diabetes (Herrmann *et al.*, 2009). Así pues, la información existente hasta la fecha muestra la necesidad de continuar avanzando en los estudios clínicos sobre el CLA que permitan aclarar las contradicciones existentes.

## **BACTERIAS PRODUCTORAS DE CLA**

La presencia de CLA en productos procedentes de rumiantes se debe, como se ha indicado anteriormente, a que es un intermediario metabólico del proceso de biohidrogenación

de los ácidos grasos de la dieta (Hennessy et al., 2009). Este proceso se realiza por la acción de la isomerasa del ácido linoleico que poseen las bacterias del rumen *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Megasphaera elsdenii* (Jouany et al., 2007). Por tanto, una posible estrategia para incrementar el contenido de CLA en productos lácteos fermentados es el empleo de bacterias lácticas con capacidad para transformar AGPI y producir CLA. En los últimos años se han descrito diferentes bacterias lácticas y probióticas como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* y *Bifidobacterium* que producen incrementos notables de CLA cuando se añade ácido linoleico como sustrato (Alonso et al., 2003; Ogawa et al., 2005; Sieber et al., 2004; Wang et al., 2007). Las razones de por qué las bacterias podrían transformar el ácido linoleico a CLA no están del todo claras, y se ha sugerido que esta conversión puede ser un mecanismo de detoxificación. Se ha determinado que el máximo de producción de CLA *cis-9, trans-11* por las bacterias lácticas se genera en las primeras 24 horas de incubación, mientras que en una fase estacionaria tardía, la conversión se transforma en *trans-9 trans-11* CLA (Coakley et al., 2003). Un estudio reciente realizado en nuestro laboratorio a partir de 22 bacterias probióticas, cinco de ellas, pertenecientes a los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, fueron capaces de producir CLA en leche desnatada utilizando ácido linoleico como sustrato (Rodríguez-Alcalá et al., 2011). En otros estudios se ha observado que *Bifidobacterium breve* LMC 017 y LMC 520 convierten eficientemente el sustrato monolinoleína en CLA con la ayuda de proteínas "carriers", que facilitan la interacción del sustrato con la bacteria. Así, se demuestra la posibilidad de utilizar esta cepa en la producción de yogur enriquecido en CLA (Chung et al., 2008; Choi et al., 2008). Igualmente se ha estudiado la producción de CLA con co-cultivos binarios de *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* y *B. lactis* con *Streptococcus thermophilus* y distintos prebióticos como maltodextrina, oligofruktosa y polidextrosa en leche fermentada. La mayor producción de CLA (38% más que el cultivo control) se encontró en una leche fermentada por *S. thermophilus*, *L. acidophilus* adicionada de maltodextrina (Oliveira et al., 2009). Por otro lado, la cantidad de CLA puede ser incrementada no sólo mediante su ingesta directa sino también mediante la incorporación a nuestra flora intestinal de bacterias lácticas con alta capacidad para producir CLA. Recientemente se ha observado un aumento del isómero *cis-9 trans-11* CLA en los hígados de ratones y cerdos después de un tratamiento dietético en el que se les suministraba oralmente la bacteria *B. breve* NCIMB 702258 combinada con ácido linoleico. Este trabajo sugiere que la microbiota influye en la composición grasa del hospedador y puede ser manipulada por la administración oral de microorganismos productores de CLA (Wall et al., 2009).

## LIPIDOS LÁCTEOS BIOACTIVOS PRESENTES EN LA MEMBRANA DEL GLÓBULO GRASO

En la leche, la membrana del glóbulo graso está compuesta principalmente de lípidos y proteínas de las células epiteliales de la glándula mamaria de la que proceden. Incluyen cantidades significativas de fosfolípidos (PLs) y colesterol. Aunque los PLs constituyen un porcentaje pequeño de los lípidos totales (0,5-1% en leche de vaca y 0,3% en leche humana) están implicados en el metabolismo celular debido a su carácter lipofílico e hidrofílico. Entre los PLs presentes en el glóbulo graso, destacan la fosfatidilcolina (PC) fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y fosfatidilserina (PS). La mayoría de los esfingolípidos en la leche son glucoceramidas (GluCer), lactosilceramida (LacCer) y esfingomielina (SM) (Rombaut y Dewewettinck 2007). Últimamente estos compuestos han adquirido especial importancia ya que parecen desarrollar importantes funciones como agentes activos para reducir del riesgo de CVD, frente al cáncer de colon, frente a patógenos gastrointestinales y frente a enfermedades como Alzheimer, depresión, y estrés (Spitsberg, 2005). Todo ello ha permitido considerar la membrana del glóbulo graso como un potencial nutraceutico.

Entre los fosfolípidos (PLs) lácteos destacan las esfingomielinas, que representan un tercio de los PLs de leche bovina y un 38% de leche humana. Su actividad esta relacionada con la regulación de la absorción de colesterol por las membranas de células intestinales inhibiendo su absorción (Ohlsson *et al.*, 2010), y se ha comprobado además que cuando la esfingomielina es incluida en la dieta incluso al 0,1 %, reduce significativamente la absorción de colesterol en ratones. Otros esfingolípidos, incluyendo a cerebrósidos, globósidos y gangliósidos así como a sus productos de digestión (ceramidas y esfingosinas) actúan en la regulación celular y en los indicadores plasmáticos ya que reducen el LDL y elevan el HDL-colesterol en suero, así como en el mantenimiento de la estructura de la membrana (generan "microdominios"), pues modulan la actividad de algunos receptores (factor de crecimiento), y sirven como centros de unión para algunos microorganismos, toxinas microbianas y virus. Se ha comprobado que el consumo de esfingolípidos inhibe estados tempranos de cáncer de colon, en ratones y las ceramidas y otras esfingofomas regulan el crecimiento celular, su diferenciación y apoptosis teniendo un importante papel en la inhibición de ciertos procesos de oncogénesis debido a que actúan como segundo mensajero en la señalización celular. Todo esto avala a los esfingolípidos como componentes con una elevada actividad funcional en alimentos.

No obstante, la fracción de PLs no está suficientemente estudiada y en la industria alimentaria se utilizan como emulsionante, formando complejos con proteínas, en la

mejora de matrices y en el caso de las ceramidas se usan principalmente en la industria cosmética. Los PLs también tienen un papel importante en la calidad de los productos lácteos durante su procesamiento (Rodríguez-Alcalá y Fontecha, 2010a), y parecen actuar como precursores del sabor debido al alto contenido en AGPI.

## **OXIDACIÓN LIPÍDICA EN LÁCTEOS ENRIQUECIDOS CON AGPI**

Existe actualmente una gran tendencia a suplementar alimentos, especialmente productos lácteos con AGPI, debido a sus propiedades beneficiosas para la salud, que han sido demostradas en numerosos estudios clínicos y epidemiológicos (Ruxton *et al.*, 2007; Moghadasian *et al.*, 2008). La principal desventaja del enriquecimiento con AGPI es su elevada susceptibilidad a la oxidación, ya que los compuestos de oxidación originados proporcionan olores y sabores no deseados, con umbrales de detección muy bajos. Además, el efecto de los compuestos oxidados en el organismo podrían contrarrestar los efectos beneficiosos aportados por los AGPI de los que provienen. Los productos lácteos *per se* son sustratos estables frente a la oxidación por el elevado contenido de AGS que poseen, pero al adicionar estos AGPI, la estabilidad oxidativa cambia. La percepción de olores y sabores no deseados provocados por la oxidación se produce muy rápidamente y la detección de esta pérdida de propiedades sensoriales es uno de los motivos de rechazo del producto por parte del consumidor.

Los métodos más utilizados para evaluar la oxidación en productos lácteos fortificados con AGPI  $\omega$ -3 son el análisis sensorial, la determinación de compuestos volátiles y el índice de peróxidos. Este último es el método más utilizado para controlar la oxidación lipídica en los aceites ya que pueden ser analizados directamente, en cambio en los alimentos es necesario el paso previo de la extracción lipídica. La determinación de los compuestos volátiles está muy extendida, una de las más utilizadas consiste en una microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (HS- SPME) acoplada a cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS). Se han conseguido identificar los principales compuestos volátiles en leches enriquecidas con aceite de pescado y muestran una buena concordancia con la determinación del índice de peróxidos y la evaluación sensorial (Jiménez-Álvarez *et al.*, 2008). La cuantificación de los compuestos de oxidación no volátiles, los triglicéridos oxidados, constituye otra medida muy útil para evaluar la oxidación en este tipo de productos. La combinación de la cromatografía de adsorción y exclusión molecular (SPE-HPSEC) permite la determinación de los triglicéridos que hayan sufrido oxidación en alguno de sus restos acilo (Dobarganes *et al.*, 2000). Estudios realizados en nuestro laboratorio con

diferentes leches comerciales enriquecidas en AGPI  $\omega$ -3, siguiendo esta metodología, mostraron aumentos significativos en los niveles de triglicéridos oxidados cuando se alcanzó la fecha de caducidad (Martínez- García et al., 2010). Aunque la leche es uno de los sustratos más empleados, otros productos como yogures, leches fermentadas, quesos, natas y mantequillas han sido también enriquecidos con AGPI. El yogur fue uno de los sustratos que menor alteración sensorial sufrió después de la adición de aceite de pescado. Otros autores han mostrado que no se producen cambios en la composición de ácidos grasos o en el perfil de volátiles en leches fermentadas y yogures enriquecidos en AGPI  $\omega$ -3 (Luna et al., 2004). Por ello, es conveniente tener en cuenta en estos productos las diferentes condiciones que se aplican en la industria durante el procesamiento (como la temperatura y tiempo de homogeneización y esterilización) además de la temperatura y tiempo de conservación podrían provocar una oxidación más importante que la observada por métodos tradicionales.

## REFERENCIAS

- AbuGhazaleh, A. A., Potu R. B. and Ibrahim S. (2009). *Short communication: The effect of substituting fish oil in dairy cow diets with docosahexaenoic acid-micro algae on milk composition and fatty acids profile. Journal of Dairy Science, 92:6156-6159.*
- Akahoshi, A. , K. Koba , F. Ichinose , M. Kaneko , A. Shimoda , K. Nonaka , M. Yamasaki , T. Iwata , Y. Yamauchi , K. Tsutsumi ,M. Sugano. (2004). Dietary protein modulates the effect of CLA on lipid metabolism in rats. *Lipids* 39 (1):25-30.
- Akaln, S., Gönç, S. y Ünal G. (2006). Functional Properties of Bioactive Components of Milk Fat in Metabolism. *Pakistan Journal of Nutrition*. 5: 194-197.
- Albers, R. , R. P. J. van der Wielen , E. J. Brink , H. F. J. Hendriks , V. N. Dorovska-Taran ,I. C. M. Mohede. (2003). Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 57 (4):595-603.
- Alonso, L., Cuesta, E. P., & Gilliland, S. E. (2003). Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *J Dairy Sci*, 86(6), 1941-1946.
- Aro, A., S. Mannista, I. Salminen, M. L. Ovaskainen, V. Kataja, M. Uusitupa. (2000). Inverse

- association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutrition and Cancer* 38 (2):151-157.
- Bauman, D.E., Mather, I. H., Wall, R. J., Lock A. L., (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science* 89, 1235-1243.
- Belury, M. A., C. J. Kavanaugh, K.-L. Liu. (2007). Conjugated linoleic acid modulates phorbol ester-induced PPAR-[delta] and K-FABP mRNA expression in mouse skin. *Nutrition Research* 27 (1):48-55.
- Benjamin, S. F. Spener. (2009). Conjugated linoleic acids as functional food: An insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism*. 36, 1743-7075.
- Castaneda-Gutierrez, E., M.J. de Veth, A.L. Lock, D.A. Dwyer, K.D. Murphy, and D.E. Bauman. 2007. Effect of supplementation with calcium salts of fish oil on n-3 fatty acids in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 90, 4149-4156.
- Chilliard, Y., Frédéric Glasser, A. Ferlay, L. Bernard, J. Rouel, M. Doreau. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109, 828-855.
- Choi, N. J., Park, H. G., Kim, Y. J., Kim, I. H., Kang, H. S., Yoon, C. S., Yoon, H. G., Park, S. I., Lee, J. W., & Chung, S. H. (2008). Utilization of monolinolein as a substrate for conjugated linoleic acid production by *Bifidobacterium breve* LMC 520 of human neonatal origin. *J Agric Food Chem*, 56(22), 10908-10912.
- Chung, S. H., Kim, I. H., Park, H. G., Kang, H. S., Yoon, C. S., Jeong, H. Y., Choi, N. J., Kwon, E. G., & Kim, Y. J. (2008). Synthesis of conjugated linoleic acid by human-derived *Bifidobacterium breve* LMC 017: utilization as a functional starter culture for milk fermentation. *J Agric Food Chem*, 56(9), 3311-3316.
- Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R., & Stanton, C. (2003). Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. *J Appl Microbiol*, 94(1), 138-145.
- Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D., Ryhänen E.L. (2006). Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal* 16, 1347-1361.
- Dobarganes, C., Márquez-Ruiz, G. and Velasco, J. Interactions between fat and food during deep-frying. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* (2000); 102 (8-9): 521-528.
- Elwood P.C., Pickering JE, Givens DI, Gallacher JE. (2010). The Consumption of Milk and

- Dairy Foods and the Incidence of Vascular Disease and Diabetes: An Overview of the Evidence. *Lipids* 45:925-939
- FDA. (2007). U.S. Code of Federal Regulations (CFR). Title 21—Food and Drugs. U.S. Government Printing Office (GPO); Washington, DC.
- Fuente de la, M.A., Juárez, M. (2004). El ácido linoleico conjugado en la leche y los productos lácteos. *Alimentacion, nutricion y salud*. 11:101-113.
- García-Martínez, MC., Rodríguez-Alcalá, L.M., Marmesat, S., Alonso, L., Fontecha, J and Márquez-Ruiz, G. Lipid stability in powdered infant formula stored at ambient temperatures. *Int J Food Sci Tech.*(2010); 45 (11) 2337-2344.
- German J.B., Dillard, C.J. (2006). Composition, Structure and Absorption of Milk Lipids: A Source of Energy, Fat-Soluble Nutrients and Bioactive Molecules. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46(1): 57-92.
- German, J.B.(1999).Butyric acid: a role in cancer prevention. *Nutrition Bulletin*. 24:293-9.
- Gonthier, C., Mustafa, A.F., Ouellet, D.R., Chouinard P.Y, Berthiaume R. and Petit H.V. (2005). Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: effects on blood parameters and milk fatty acid composition, *Journal of Dairy Science* . 88: 748–756.
- Ha, Y. L., Grimm, N. K., Pariza, M. W. (1987) Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. 8: 1881-1887.
- Hassig, C.A., Tong, J.K., Schreiber, S.L. (1997). Fiber-derived butyrate and the prevention of colon cancer. *Chemistry & Biology*. 4:783–789.
- Hennessy, A. A., Ross, R. P., Devery, R., & Stanton, C. (2009). Optimization of a reconstituted skim milk based medium for enhanced CLA production by bifidobacteria. *J Appl Microbiol*, 106(4), 1315-1327.
- Herrmann, J., D. Rubin, R. Hassler, U.Helwig, M.Pfeuffer, A. Auinger, C.Laue, P. Winkler, S. Schreiber, D.Bell, J.Schrezenmeir (2009). Isomer-specific effects of CLA on gene expression in human adipose tissue depending on PPAR2 P12A polymorphism: A double blind, randomized, controlled cross-over study. *Lipids in Health and Disease* 8:35-47.
- Hilmarsson, H., Larusson, L.V. y Thormar, H. (2006) Virucidal effect of lipids on visna virus, a lentivirus related to HIV. *Archives of virology*. 151: 1217-1224.
- Hur, S. J., Park G. B., Joo S. T., (2007). Biological activities of conjugated linoleic acid

- (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock Science* 110, 221-229.
- IDF-International Dairy Federation (2007) The health benefits of milk and dairy products. Bulletin International Dairy Federation, 417. Brusseles. Belgium.
- Jenkins T.C. and McGuire, M.A. (2006) Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*. 89 1302–1310.
- Jiménez-Álvarez D, Giuffrida F, Golay PA et al. Profiles of volatile compounds in milk containing fish oil analyzed by HSSPME-GC/MS. *Eur J Lipid Sci Technol* (2008); 110:277-283.
- Jouany, J. P., Lassalas, B., Doreau, M., & Glasser, F. (2007). Dynamic features of the rumen metabolism of linoleic acid, linolenic acid and linseed oil measured in vitro. *Lipids*, 42(4), 351-360.
- Kay, J.K., Mackle, T.R., Auldist, M.J., Thomson, N.A., Bauman, D.E. (2004) Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *Journal of Dairy Science*. 87:369-78.
- Knekt, P., R. Jarvinen, R. Seppnen , E. Pukkala, A. Aroma. (1996). Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *British Journal of Cancer* 73 (5):687-691.
- Khanal, R.C., Dhiman, T.R. (2004). Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Pakistan Journal of Nutrition*. 3:72-81.
- Kwak, H.-K. , O. H. Kim , H. Jung ,J. H. Kim. (2009). Effects of conjugated linoleic acid supplementation on inflammatory mediators and immunoglobulins in overweight Korean females. *FASEB J*. 23:563-521.
- Larsson, S. C., L. Bergkvist, A. Wolk. (2005). High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. *Am. J. Clin. Nutr.* 82 (4):894-900.
- Lecerf, J.M.(2008). Acides gras et maladies cardiovasculaires. *Sciences des Aliments*. 28:53-67.
- Legrand, P. (2008). Intérêt nutritionnel des principaux acides gras des lipides laitiers. *Sciences des Aliments*. 28:34-43.
- Luna P, Fontecha J, Juárez M, Angel de la Fuente M. (2005). Changes in the milk and cheese fat composition of ewes fed commercial supplements containing linseed with special reference to the CLA content and isomer composition. *Lipids* 40 (5),445-54.

- Luna P, Martín-Diana AB, Alonso L, Fontecha J, De La Fuente, M.A., Requena T, Juárez M. 2004. Effects of milk fat replacement by PUFA enriched fats on n-3 fatty acids, conjugated dienes and volatile compounds of fermented milks. *Eur J Lipid Sci Technol* 106:417-423.
- Moghadasian MH. Advances in dietary enrichment with n-3 fatty acids. *Crit Rev Food Sci and Nutr* (2008); 48:402-410.
- Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K., & Shimizu, S. (2005). Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J Biosci Bioeng*, 100(4), 355-364.
- Ohlsson, L. Dairy products and plasma cholesterol levels (2010) *Food & Nutrition Research*. 54: 5124-2133.
- Oliveira, R. P., Florence, A. C., Silva, R. C., Perego, P., Converti, A., Gioielli, L. A., & Oliveira, M. N. (2009). Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *Int J Food Microbiol*, 128(3), 467-472.
- Palmquist, D. L., A. L. Lock, K. J. Shingfield, and D. E. Bauman. (2005). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research*, 50:179-217.
- Park Y., Pariza M.W. (2007) Mechanisms of Body Fat Modulation by Conjugated Linoleic Acid (CLA), *Food Research International* 40: 311-323.
- Parodi, P.W. (2004). Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*. 59: 3-59.
- Parodi, P.W. (2009). Milk lipids: their role as potential anti-cancer agents, *Sciences des Aliments*. 28:44-52.
- Racine, N. M. , A. C. Watras , A. L. Carrel , D. B. Allen , J. J. McVean , R. R. Clark , A. R. O'Brien , M. O'Shea , C. E. Scott ,D. A. Schoeller. (2010). Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. *Am. J. Clin. Nutr.* 91 (5):1157-1164.
- Ramos, R. , J. Mascarenhas , P. Duarte , C. Vicente ,C. Casteleiro. (2009). Conjugated linoleic acid-induced toxic hepatitis: First case report. *Digestive Diseases and Sciences* 54 (5):1141-1143.
- Riserus, U., Brismar, K., Arner, P., Vessby, B. (2002). Treatment with dietary trans- 10 cis-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 25:1516-1521.

- Rodríguez- Alcalá L.M. y Fontecha J. (2007). Hot Topic: Fatty acids and CLA isomers composition of CLA-supplemented dairy-products. Evaluation during processing and storage. *J. Dairy Science* 90, 2083-2090.
- Rodríguez-Alcalá L.M. and Fontecha, J. (2010a). Major lipid classes separation of buttermilk, and cows, goats and ewes milk by high performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector focused on the phospholipid fraction. *Journal of Chromatography A*. 1217, 3063–3066.
- Rodríguez-Alcalá, L. M., Braga, T., Malcata, F. X., Gomes, A., & Fontecha, J. (2011). Quantitative and qualitative determination of CLA produced by Bifidobacterium and Lactic Acid Bacteria by combining spectrophotometric and Ag+-HPLC techniques. *Food Chem.* 125, 1373–1378.
- Rombaut, R., Dewettinck, K, Camp, J.V (2007). Phospho- and Sphingolipid content of selected dairy products as determined by HPLC coupled to an evaporative light scattering detector (HPLC.ELSD). *Journal of Food Composition and Analysis*. 20 (2007) 308-312.
- Rombaut, R, Camp, J.V, Dewettinck, K (2005). Analysis of Phospho- and Sphingolipids in Dairy Products by New HPLC Methods. *Journal Dairy Science*. 88:482-488
- Ruxton CHS, Reed SC, Simpson JA, Millington KJ. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. *J Human Nutr Diet* (2007); 20: 275-85.
- Sanz Sampelayo M.R., Chilliard Y., Schmidely P., Boza J. (2007) Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68:42-63.
- Shahidi, F. (2008). Omega-3 oils: sources, applications, and health effects. In: C. Barrow and F. Shahidi, Editors, *Marine nutraceuticals and functional foods*, CRC Press, Boca Raton, FL pp. 23–61.
- Shingfield, K. J., S. Ahvenjärvi, V. Toivonen, A. Vanhatalo, P. Huhtanen, and J. M. Griinari. 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *Br. J. Nutr.* 99:971–983.
- Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P., & Eyer, H. (2004). Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products - a review. *Int Dairy J*, 14, 1-15.
- Silveira, M. B., R. Carraro, S. Monereo, J. Tacbar. (2007). Conjugated linoleic acid (CLA) and obesity. *Public Health Nutrition* 10 (10 A):1181-1186.

- Spitsberg, V.L. (2005). Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci.*, 88, 2289-2294.
- Stanton C., Murphy J., McGrath E. and Devery R. Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. (2003) In: J.L. Sebedio, W.W. Christie and R. Adlof, Editors, *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research* vol 2, pp. 123-145.
- Steijns, J.M. (2008). Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix?. *International Dairy Journal*. 18: 425-435.
- Thormar, H., Isaacs, E.E., Kim, K.S., Brown, H.R. (1994). Interaction of visna virus and other enveloped viruses by free fatty acids and monoglycerides. *Annals of New York Academy of Science*. 724:465-71.
- Toral, P.G., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez M. and de la Fuente M.A. (2010) Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae . *Journal of Dairy Science* 93, 1655-1667.
- Tricon, S. , G. C. Burdge , E. L. Jones , J. J. Russell , S. El-Khazen , E. Moretti , W. L. Hall , A.B. Gerry , D. S. Leake , R. F. Grimble , C. M. Williams , P. C. Calder ,P. Yaqoob. (2006). Effects of dairy products naturally enriched with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. *Am. J. Clin. Nutr.* 83 (4):744-753.
- Wall, R., R. P. Ross , G. F. Fitzgerald ,C. Stanton. (2008). Microbial conjugated linoleic acid production - a novel probiotic trait? *Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods* 4 (8):87-97.
- Wall, R., Ross, R. P., Shanahan, F., O'Mahony, L., O'Mahony, C., Coakley, M., Hart, O., Lawlor, P., Quigley, E. M., Kiely, B., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2009). Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues. *Am J Clin Nutr*, 89(5), 1393-1401.
- Wang, L.-M., Lv, J.-P., Chu, Z.-Q., Cui, Y.-Y., & Ren, X.-H. (2007). Production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii*. *Food Chem*, 103, 313-318.

