

## Efectos del suministro de aceite de pescado solo o en combinación con aceite de girasol sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y omega 3 (n-3) en leche de cabra

Effects of fish oil or sunflower plus fish oil supplementation on conjugated linoleic acid (CLA) and omega 3 fatty acids in goat milk

Gagliostro<sup>1</sup>, G.A., Rodríguez<sup>2</sup>, A., Pellegrini<sup>2</sup>, P.A., Gatti<sup>2</sup>, P., Muset<sup>2</sup>, G., Castañeda<sup>2</sup>, R.A., Colombo<sup>3</sup>, D. y Chilliard<sup>4</sup>, Y.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Est.Exp.Agrop. Balcarce  
INTI Lácteos (Miguelete). Granja La Piedra.  
INRA Clermont-Ferrand Theix, France

---

### Resumen

El efecto del suministro de aceite de pescado (AP) solo (T1, 30 ml de AP) o en combinación con aceite de girasol (AGi) (T2, 30 ml AP + 150 ml AGi) sobre la concentración en leche de ácido linoleico conjugado (CLA) y ácidos omega 3 (n-3) fue evaluado en 10 cabras de raza Saanen en lactancia avanzada (7° y 8° mes de lactancia). El peso y la producción promedio de leche de las cabras fueron de 60 ( $\pm$ 3) kg y de 1,3 litros/cabra/día respectivamente. Los animales consumieron un verdeo de trigo en pastoreo directo más 0,5 kg de un concentrado compuesto por 50% afrechillo de trigo peletizado y 50% de grano de maíz entero. El período de alimentación tuvo una duración de 20 días. Durante los primeros seis días todos los animales recibieron la misma alimentación a fines de conocer la concentración inicial (basal) de cada ácido graso (AG) en la leche. En el sexto día se tomaron muestras individuales de leche (80 ml) las que fueron congeladas (-20°C) hasta la extracción de grasa butirosa y análisis del perfil de AG por cromatografía gas-líquido. Las cabras fueron luego divididas al azar en dos grupos de cinco animales en cada tratamiento y los aceites fueron suministrados en mezcla con el concentrado desde el día 7 al 20 del trabajo. Las cabras se racionaron en forma individual atadas en estacas y utilizando potes separados. No se registraron rechazos de ración por lo que el consumo de aceites resultó completo. Al final del período de alimentación (día 20) se tomaron muestras individuales de leche para la determinación de la concentración de grasa butirosa, proteína y lactosa y el perfil de AG en leche. La variación de concentración de cada AG en leche entre el muestreo inicial y final fue analizado a través del test T de Student para diferencias apareadas. La diferencia entre tratamientos para la composición química de la leche fue analizada a través de un test t de Student para observaciones independientes. No se detectaron diferencias significativas

Recibido: marzo de 2006

Aceptado: junio de 2006

1. Dpto. Prod. Animal. INTA EEA, Balcarce. C.C. 276 (7620) Balcarce, Bs.As. ggagliostro@balcarce.inta.gov.ar

2. INTI Lácteos (Miguelete).

3. Granja La Piedra.

4. Unité de Recherches sur les Herbivores, Equipe Tissu Adipeux et Lipides du Lait (TALL).

entre tratamientos para la concentración de grasa butirosa, de proteína o de lactosa en la leche. La suplementación no afectó la concentración de la mayoría de los AG sintetizados de novo (C4:0 a C15:1) pero disminuyó el C14:0 y sobre todo el C16:0. La disminución del C16:0 se explicaría fundamentalmente por una menor síntesis de novo puesto que la ingestión de este ácido graso varió poco. No se observó correlación significativa entre el contenido de grasa butirosa y la concentración de C18:1 trans; 9-cis 11-trans CLA, EPA o DHA. La concentración de ácido mirístico (C14:0) (potencialmente aterogénico si es consumido en exceso) resultó disminuida sólo en el T2. Las concentraciones basales de 9-cis 11-trans CLA en leche (T1=0,89 y T2 = 1,03 g/100 g de AG) resultaron fuertemente incrementadas en T1 (6,16 g/100 g de AG, +592%) y fundamentalmente ante la combinación de ambos aceites en el T2 (9,89 g CLA /100 g de AG, +860%,  $p < 0,0001$ ), mientras que las concentraciones de los ácidos esteárico y oleico disminuyeron drásticamente. Una mayor disponibilidad del precursor del CLA a nivel mamario (el trans-C18:1) explicaría el enorme impacto del aceite de pescado sobre la concentración de CLA en la leche de las cabras del T1. Se detectó una correlación positiva entre el C18:0 y el C18:1cis-9 ( $r=0,54$ ,  $p < 0,10$ ) y entre el C18:1 trans y el CLA (9-cis, 11-trans C18:2.) ( $r=0,88$ ,  $p < 0,0009$ ) lo que sugiere una adecuada actividad de la  $\Delta$ -9 desaturasa mamaria en las cabras del presente ensayo. La relación CLA/trans-C18:1 fue significativamente incrementada por la suplementación sólo en el T1. En el T2 se observó una disminución significativa en la relación CLA/trans-C18:1 lo que sugiere una saturación en la actividad de la  $\Delta$ -9 desaturasa mamaria ante el aporte de AGi. El incremento en la concentración en leche del trans-C18:1 resultó de 394% en el T1 aumentando a 1295% en el T2. El amplio rango de concentración observado en la leche tanto para el CLA (de 4,47 a 11,16%) como para el trans-C18:1 (de 4,35 a 24,96%) permitiría ajustar la suplementación de la cabra a fines de lograr la mejor relación entre ambos o ajustar la concentración individual de cada uno a través del manejo nutricional de los animales. Una ingestión diaria de 238 g de leche (230 ml aproximadamente) del T1 o de 134 g de leche (130 ml) del T2 permitiría alcanzar la dosis diaria de CLA propuesta de manera hipotética como atenuadora de cáncer en el ser humano (800 mg de CLA/día) protegiendo hipotéticamente al individuo contra la aterosclerosis (250 mg/día). Se detectó además un enriquecimiento significativo en la leche de los AG de la serie n-3 de cadena larga (EPA y DHA) que resultan de gran utilidad en la prevención de enfermedades cardíacas, colesterol, presión arterial y enfermedades inflamatorias. Dicho enriquecimiento resultó importante en el T1 con valores de 286% y de 767% de incremento respecto al valor basal para el EPA y DHA respectivamente. Las concentraciones máximas alcanzadas (EPA = 0,27 y DHA = 0,52 g/100g AG) representan sin embargo aún un porcentaje bajo de los requerimientos diarios para el ser humano. La suplementación de la cabra con AP sólo o combinado con AGi resultó una estrategia de alimentación efectiva para obtener naturalmente leches con propiedades benéficas para el ser humano. A futuro, resultará necesario evaluar si ciertos ácidos grasos trans con efectos potencialmente negativos sobre la salud no son incrementados por las suplementaciones lipídicas implementadas.

Palabras clave: leche de cabra, alimentos funcionales, ácido linoleico conjugado, ácidos grasos omega tres.

## Summary

The effect of feeding fish oil (FO) alone (T1, 30 ml of FO) or in combination with sunflower oil (SO) (T2, 30 ml FO + 150 ml SO) on concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) and omega 3 (n-3) fatty acids in milk fat was evaluated using 10 Saanen goats in late lactation (7th and 8th months of lactation). Average liveweight and production of goats were 60 kg ( $\pm 3$ ) and 1,3 kg milk/goat per day respectively. The goats grazed a wheat pasture supplemented with 0,5 kg of a concentrate composed (wet) by 50% wheat bran and 50% whole corn grain (standard ration). The experiment lasted 20 days. During the first 6 days the goats received the standard ration in order to assess the initial (basal) concentration of each fatty acid (FA) in milk fat. At day 6th individual milk samples (80 ml) were obtained and frozen ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) until the extraction of milk fat for fatty acid analysis by gas-liquid chromatography. Goats were then randomly assigned to both treatments (5 animals each) and supplementary oils were fed from days 7th to 20th. The oils were mixed with the concentrate and the goats were individually fed up to the end of the experiment. Concentrates and oils were thoroughly consumed by the goats. At the end of the trial (day 20th) individual milk samples were taken to measure milk fat, protein and lactose contents and the final milk fatty acid profile. Changes in milk fatty acid concentrations between the initial and the final samples were analyzed using the Student t test for paired observations. Differences in milk composition for fat, protein and lactose contents were stated through the Student t test for independent measures. Milk fat, protein and lactose concentrations did not differ between treatments. Supplemental oils did not affect the concentration of most of de novo synthesized fatty acids (C4:0 to C15:1) but decreased C14:0 and more markedly C16:0. Milk fat content and concentrations of trans-C18:1; 9-cis 11-trans CLA, EPA or DHA in milk fat were not correlated. Concentration of myristic acid (C14:0) (a potentially atherogenic fatty acid, when consumed in excess) was reduced only in T2. Basal concentrations of 9-cis 11-trans CLA in milk (T1=0.89 and T2 = 1.03 g/100 FA) were strongly increased in T1 (6.16 g/100 g FA, +592% over basal) but mainly after the combination of both oils in T2 (9.89 g CLA /100 g FA, +860% over basal,  $p < 0.0001$ ), whereas concentrations of stearic and oleic acids sharply decreased. The increased availability of the CLA precursor at the mammary level (the trans-C18:1) could probably account for the great impact of fish oil on milk CLA content in goats from T1. A positive correlation was detected between C18:0 and C18:1 cis-9 ( $r = 0.54$ ,  $p < 0.10$ ) and between the C18:1 trans and CLA (9-cis, 11-trans C18:2) ( $r = 0.88$ ,  $p < 0.0009$ ) suggesting an adequate mammary  $\Delta 9$  desaturase activity in the experimental goats. Compared to basal values, the CLA/trans-C18:1 ratio was increased only in T1. In T2 a significant decrease was observed in the CLA/trans-C18:1 ratio suggesting that the activity of the  $\Delta 9$  desaturase may have been saturated after feeding sunflower oil. Increases in milk concentration of trans-C18:1 resulted in 394% in T1 and 1295% in T2 over the basal values. The important range in concentration observed for both, the trans-C18:1 (from 4.35 to 24.96 g/100 g FA) and the CLA (from 4.47 to 11.16 g/100 g FA) suggested that it is possible to adjust goat supplementation in order to obtain the best ratio between them or manipulate their individual concentration through the nutritional management of the animals. The ingestion of 238 g/day of the milk from T1 or 134 g/day of the milk produced in T2 may allow the consumer to obtain the daily dose of CLA (800 mg) putatively proposed as anticancer in humans achieving also the putative protecting dose of CLA (250 mg/d) against atherosclerosis. A significant enrichment in milk fatty acids from the long chain n-3 series (EPA and DHA) was also observed. It resulted important in T1 raising up to 286% and 767% over the basal concentration for EPA and DHA respective. Maximal concentrations achieved (EPA = 0.27 y DHA = 0.52 g/100g AG) represented yet a low contribution to daily human

requirements of these n-3 fatty acids. Supplementing the goat with fish oil alone or combined with sunflower oil resulted an effective feeding strategy to obtain a natural milk with beneficial properties for human health. It remains to determine if supplementations did not increase some trans C18 isomers which could be detrimental to human health.

Key words: goat milk, functional foods, conjugated linoleic acid, omega-3 fatty acids.

## Introducción

La leche y los derivados lácteos representan una fuente valiosa de energía y nutrientes como las proteínas, el calcio, las vitaminas y otros minerales. El término genérico de alimento funcional se utiliza para identificar alimentos y/o componentes de los mismos que poseen propiedades adicionales sobre la salud de los consumidores que superan al beneficio clásico de un aporte de nutrientes (Milner, 1999). Existe un reconocimiento general de que ciertos alimentos como los lácteos ejercen una acción preventiva frente a la aparición de enfermedades degenerativas en el ser humano. Actualmente, la investigación se orienta hacia la valoración de dichos alimentos obtenidos naturalmente frente a la utilización de ingredientes de síntesis.

La composición en ácidos grasos (AG) de la leche de cabra es uno de los parámetros que mayor influencia tiene sobre el valor funcional del producto y dicha composición es modificable a través de la suplementación estratégica. Los ácidos linoleicos conjugados (CLA) constituyen una mezcla de isómeros del ácido linoleico ( $C_{18:2}$ ) con dobles ligaduras en las posiciones 7 y 9, 9 y 11, 10 y 12 ó 11 y 13 además de variaciones geométricas de tipo cis-cis, cis-trans, trans-cis o trans-trans. El isómero cis-9, trans-11 CLA representa más del 90% del total de CLA en leche (Stanton et al., 2003). Los CLA resultan predominantemente consumidos en los productos lácteos (Chilliard et al., 2000; Parodi, 1999) y presentarían importantes propiedades benéficas sobre la salud

humana: prevención del cáncer, efectos anti-aterogénicos y anti-diabetogénicos (Gagliostro, 2004). El CLA (cis-9, trans-11  $C_{18:2}$ ) de la leche reconoce dos orígenes: a) absorción intestinal y posterior transferencia a la glándula mamaria del CLA producido en el rumen y b) la síntesis endógena de CLA a partir del ácido trans vaccénico (trans-11  $C_{18:1}$ ) por acción del enzima delta-9 desaturasa (9) en glándula mamaria. Esta última sería la principal vía de acumulación de CLA en leche bovina explicando un 64-95% de la síntesis del compuesto (Grinari et al., 1998; Looor et al., 2005a).

A fines de obtener una inhibición del crecimiento de las bacterias responsables de la hidrogenación del trans-11  $C_{18:1}$  en el rumen a  $C_{18:0}$  (o de la inhibición de sus reductasas) el aporte de dosis bajas de aceite de pescado (1% del consumo de materia seca) podría ser una valiosa herramienta (Chilliard et al., 2001; Shingfield et al., 2003). Dicho aceite es a su vez rico en AG de tipo  $C_{20}$ - $C_{22}$  incluyendo a los AG omega-3 (n-3) como el eicosapentanoico (EPA,  $C_{20:5}$  n-3) y docosahexanoico (DHA,  $C_{22:6}$  n-3) que inhibirían la acción de las reductasas. Los EPA y DHA están pobremente representados en la grasa butirosa de animales no suplementados y son ampliamente reconocidos como agentes de prevención de enfermedades cardiovasculares presentando a su vez propiedades antiinflamatorias en el ser humano (Williams, 2000). El consumo de estos AG n-3 de cadena larga resulta en general insuficiente en el ser humano (Williams, 2000) debido a un

bajo consumo de pescado (Sargent, 1997). La dieta humana resulta entonces desbalanceada a fines de alcanzar una buena relación (5:1) entre los AG n-6 y los AG n-3 (Holman, 1998). El ácido n-3 DHA sería el principal compuesto activo presente en el AP que favorece la acumulación del trans- $C_{18:1}$  en el rumen y la presencia de alguna fuente de ácido linoleico (aceite de girasol o de soja) amplificaría el citado efecto (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004).

Para el productor, la alimentación de la cabra es la vía más rápida y eficaz para modificar la calidad de la grasa láctea a fin de producir naturalmente leche y derivados lácteos con calidad funcional. Si bien existen preparaciones sintéticas de CLA y de los n-3 que pueden utilizarse en la elaboración de leches enriquecidas el productor obtendrá ventajas si actúa en el inicio de la cadena de valor y logra diferenciar la materia prima producida desde su origen a nivel de campo. Por otra parte las evidencias experimentales sugieren que la potencia terapéutica de la leche alto CLA obtenida naturalmente es mucho mayor que la de un lácteo adicionado de compuestos de síntesis (ver Gagliostro, 2004).

La leche de cabra presenta un amplio rango de concentración de CLA (0,3-5,1 g/100g) explicado por los diferentes escenarios de alimentación (tipos de forraje) y suplementación de los animales (Chilliard et al., 2003; 2006). Es un producto que puede utilizarse para sustituir a la leche de vaca en la alimentación infantil o en casos de intolerancia digestiva o alergia a esta última. Una leche alto CLA y alto n-3 puede a su vez ser utilizada para elaborar derivados lácteos diferenciados (quesos, manteca, etc) ya que la concentración en el producto final elaborado será proporcional al contenido de la leche cruda y al proceso que le dio origen (ver Gagliostro, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue conocer el impacto del suministro de aceite de

pescado (AP) sólo y en combinación con aceite de girasol (AGi) sobre el perfil de AG de la leche de cabra con especial énfasis en las concentraciones de CLA y n-3.

## Materiales y Métodos

El ensayo se llevó a cabo en el Establecimiento La Piedra, situado en la localidad de Batán (Partido de General Pueyrredón, Provincia de Buenos Aires) durante el mes de abril de 2005. Sobre un total de 123 cabras en ordeño de raza Saanen se apartaron 10 animales al azar con un peso promedio de 60 ( $\pm 3$ ) kg y que se encontraban en el 7° y 8° mes de lactancia. Al momento de iniciar el trabajo experimental la producción de leche promedio resultó ser de 1,3 litros/cabra/día. Las cabras se encontraban en su 3ª a 5ª lactancia.

El plan de alimentación tuvo una duración de 20 días. Durante los primeros 6 días todos los animales recibieron la misma alimentación para conocer la composición basal en AG de la grasa butirosa. En el sexto día y previo a la implementación de los tratamientos se tomaron muestras individuales de leche (80 ml) las que fueron congeladas ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) hasta la extracción de grasa butirosa y análisis del perfil de AG por cromatografía gas-líquido. A partir del día 7 de ensayo las cabras fueron divididas al azar en dos grupos de cinco animales cada uno. En el tratamiento 1 (T1) las cabras fueron suplementadas con 30 g de AP (Suplemento marino Omega-3, Laboratorios Olpesce, Mar del Plata) mientras que en el T2 los animales recibieron 30 g de AP y 150 g de aceite comercial de girasol. Las dosis fueron ajustadas a fin de aportar un 1% (AP) y un 5% (AGi) del consumo total de MS de la cabra (Chilliard et al., 2003; 2005). El perfil de ácidos grasos de los aceites utilizados para suplementación de las cabras se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Composición en ácidos grasos del aceite de pescado y de girasol utilizado en la suplementación de las cabras experimentales.

Table 1: Fatty acid composition of fish and sunflower oils fed to the experimental goats.

Acido graso, %	Aceite de pescado <sup>(1)</sup>	Aceite de girasol <sup>(2)</sup>
C <sub>14:0</sub>	3,77 (±0,76)	
C <sub>14:1</sub>		
C <sub>15:0</sub>	0,62 (±0,00)	
C <sub>15:1</sub>	0,40 (±0,38)	
C <sub>16:0</sub>	19,02 (±2,82)	5,8 (±0,07)
C <sub>16:1</sub>	5,78 (±0,62)	
C <sub>16:2</sub>		
C <sub>16:3</sub>		
C <sub>17:0</sub>	0,45 (±0,057)	
C <sub>17:1</sub>	0,45 (±0,049)	
C <sub>18:0</sub>	3,06 (±0,198)	3,2 (±0,00)
C <sub>18:1</sub>	24,57 (±1,04)	32,6 (±0,32)
C <sub>18:2 n6</sub>	17,04 (±0,969)	55,2 (±0,16)
C <sub>18:3 n3</sub>	1,49 (±0,035)	0,3 (±0,02)
C <sub>18:4 n3</sub>	2,58 (±2,55)	
C <sub>20:4 n3</sub>	1,12	
C <sub>20:5 n3</sub> (EPA)	6,71 (±0,24)	
C <sub>22:6 n3</sub> (DHA)	11,02 (±1,259)	
Total AG saturados	26,92	9,00
Total AG insaturados	71,16	88,1
Total n-6	17,04	55,2
Total n-3	22,92	0,3
Relación n-6/n-3	0,74	184

<sup>(1)</sup> Laboratorios Olpesce, Mar del Plata, Argentina. Los valores son el promedio de dos determinaciones cromatográficas obtenidas en dos Laboratorios INTI (Lácteos y Cereales y Oleaginosas) del Parque Tecnológico Miguelete. El aceite fue extraído de unas 7 especies marinas (incluyendo merluza, calamar, brótola, corvina) lo que puede a su vez variar según la época del año).

<sup>(2)</sup> Valores promedio obtenidos en INTI Mar del Plata, Argentina (Dr. Hugo Roldán)

El forraje de base estuvo representado por un verdeo de trigo con consumo a voluntad. Los animales fueron suplementados con 0,5 kg/cabra/día de un concentrado compuesto por 50% afrechillo de trigo peletizado y 50% de grano de maíz entero. Previo al inicio del ensayo se llevó a cabo una prueba de aceptación del AP utilizando cabras adicionales. El AP fue desodorizado

y saborizado a varios gustos (cereal, vainilla, manzana, frambuesa, coco, naranja) de los cuales sólo el sabor frambuesa presentó rechazo. En ambos tratamientos, los aceites fueron suministrados en mezcla con el grano de maíz y las cabras se racionaron en forma individual atadas en estacas y utilizando potes separados. No se registraron rechazos de ración por lo que el consumo

de aceites resultó completo. Al final del período de alimentación experimental (día 20) se tomaron muestras adicionales de leche en cada cabra. Una alícuota de 20 ml fue refrigerada a 4°C e inmediatamente conducida al Laboratorio de INTA de Balcarce para la determinación de la concentración de grasa butirosa, proteína y lactosa a través de un autoanalizador infrarojo (MilkoScan 300). Una segunda alícuota de 80 ml fue inmediatamente congelada (20°C) para la determinación del perfil de AG en leche (INTI Lácteos). La extracción de la grasa butirosa se realizó colocando partes iguales de leche cruda y de una solución de un agente tensioactivo compuesta por 12 ml de Tritón X-100, 50 ml de alcohol isopropílico, 2,5 g de urea, 25 g de hexametáfosfato de sodio y la cantidad de agua destilada cantidad necesaria para preparar 500 ml de solución. La extracción fue llevada a cabo en una estufa a una temperatura de 90 °C. La capa superior o fase grasa obtenida fue removida de la capa acuosa y transferida a un vial de almacenamiento. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron obtenidos a partir de 45 mg de grasa butirosa agregando a la misma 0,3 ml de una solución al 10% de metóxido de sodio en metanol. El proceso de metilación y esterificación se llevó a cabo en un baño de agua a 67°C en agitación constante durante un minuto para permanecer luego en reposo durante tres minutos más a la misma temperatura. Posteriormente se agregó a la muestra una mezcla (1:1) de cloruro de calcio y sílica gel y se agitó en un dispositivo Vortex. Se incorporaron 1,5 ml de disulfuro de carbono y se centrifugó durante 10 min a 1800 rpm. El sobrenadante fue transferido a un vial de vidrio quedando listo para su análisis por cromatografía gas-líquida. Para tal fin se inyectó 1 µl de cada muestra en un cromatógrafo gaseoso (Agilent 6890 series plus) sobre una columna capilar (Restek 2340, 60m x 0,25mm x 0,2µm). Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron: temperatura

inicial del horno 180 °C durante 19 minutos, con rampa de 5 °C/min hasta alcanzar una temperatura final de 215 °C durante 4 minutos. Se utilizó nitrógeno como gas carrier con un flujo de 20 mL/min. La temperatura del inyector fue de 250°C y la del detector de ionización de llama (FID) fue mantenida a 300 °C. Los isómeros individuales de CLA (cis9,trans11-18:2; trans10, cis12-18:2; trans9, trans11-18:2; cis9,cis1118:2) fueron identificados utilizando estándares específicos provistos por Matreya Inc. (Cat# 1255; 1254; 1257; 1256). Los estándares individuales para el trans-C18:1, C20:4, C20:5 y C22:6 fueron comprados a Sigma (Cat# V1381; A9298; E2012; D2659). Los resultados se expresan en gramos de cada ácido graso/100 g del total de ácidos grasos (porcentaje en peso).

El aumento o disminución de concentración de cada ácido graso en leche entre el muestreo inicial y final fue analizado a través del test T de Student para diferencias apareadas. La diferencia entre tratamientos para la composición química de la leche fue analizada a través de un test t de Student para observaciones independientes.

## Resultados y Discusión

El AP presentó valores moderados de EPA y de DHA con un porcentaje alto de C<sub>18:2n6</sub>. La presencia de C<sub>18:2n6</sub> fue un resultado inesperado que puede estar altamente influenciado por la época del año en la que se efectúa la captura de las especies marinas (Donato, M., com.pers.). La composición en ácidos grasos del AP puede variar en función a la época del año, la especie utilizada y el proceso de elaboración. En el trabajo de Rego et al. (2005) el aceite obtenido a partir de sardinas presentó valores bajos de C<sub>18:2n6</sub> (1,58%) y más altos de EPA (13,89%) y de DHA (14,23%) respecto a los observados en el presente experimento. En otro trabajo Looor et al. (2005b) informaron valores de 0,8% para el C18:2n-6, 21,05%

para el EPA y 7,1% para el DHA en aceite de especies tipo sábalo. La cantidad de ácidos grasos insaturados resultó alta pero la relación n6/n3 resultó moderada (0,74) en comparación a la obtenida con aceite de sardina ( $n6/n3 = 0,05$ , Rego et al., 2005). Desde el punto de vista de maximizar las concentraciones de CLA en leche, la presencia de  $C_{18:2n6}$  en el aceite de pescado resulta favorable e inclusive aconsejable ya que parte del  $C_{18:2n6}$  será transformado directamente en CLA y en el isómero precursor (el trans 11- $C_{18:1}$ ) a nivel ruminal. El aceite de girasol presentó valores normales de  $C_{18:2n6}$  y una muy alta relación n6/n3. La aceptación de los aceites en mezcla con el concentrado resultó completa.

Los resultados de composición química mayoritaria de la leche luego de la suplementación con aceites se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2: Composición química mayoritaria de la leche de cabras suplementadas con 30 ml de aceite de pescado (T1) y aceite de pescado (30 ml) más aceite de girasol (150 ml) (T2).

Table 2: Milk composition in goats supplemented with 30 ml fish oil (T1) and fish oil (30 ml) plus sunflower oil (150 ml) (T2).

	T1	T2	EE	P<
Grasa butirosa, %	5,45	6,02	0,39	0,34
Proteína, %	4,12	4,13	0,40	0,98
Lactosa, %	4,78	4,71	0,16	0,78

Test t de Student, n= 5 cabras por tratamiento

EE = error estándar

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la concentración de grasa butirosa, de proteína o de lactosa en la leche de las cabras que recibieron AP sólo o con AGi. En la cabra, la suplementación con lípidos no tendría efecto sobre la producción de leche ni sobre la concentración y producción de proteína incrementando en forma importante la concentración de grasa de la leche y la cantidad total de grasa producida (Chilliard et al., 2003). El aporte de AP a la ración de cabras no pare-

ce afectar la concentración de grasa butirosa (Kitessa et al., 2001) aunque la disminución en el consumo de MS (-50%) y en la producción de leche observados pudo haber enmascarado efectos puros sobre el tenor graso de la leche. Puesto que la leche caprina es altamente utilizada para la elaboración de quesos, esta ausencia de efecto negativo de los lípidos sobre la concentración proteica de la leche (factor asociado a la coagulación láctea) resulta de suma importancia. El perfil inicial y final de ácidos grasos en la leche obtenidos para cada tratamiento se presenta en el Cuadro 3.

En el Cuadro 4 se presenta la matriz de correlación entre la concentración de grasa butirosa en leche y algunos ácidos grasos de interés.

La suplementación con aceites no pareció afectar negativamente la concentración de ácidos grasos sintetizados de novo (4:0 a

15:1) en la glándula mamaria salvo el C16 en el tratamiento AP y el C14 y el C16 con AGi (Cuadro 3). El resultado es comparable a los efectos de la suplementación con aceite de pescado observados en la vaca lechera : una moderada disminución en la concentración de C16 y poca variación en la concentración de los AG de C4 a C14 (Chilliard et al., 2001; Looor et al., 2005 b).

Los altos valores de concentración de grasa butirosa observados en el presente trabajo, contrariamente a lo que sucede en

Cuadro 3: Composición en ácidos grasos de leche de cabras suplementadas con 30 ml de aceite de pescado (T1) y con aceite de pescado (30 ml) más aceite de girasol (150 ml) (T2).  
 Table 3: Milk fatty acid composition in goats supplemented with 30 ml fish oil (T1) and fish oil (30 ml) plus sunflower oil (150 ml) (T2).

Ácido graso (%)	T1		P < <sup>(2)</sup>	T2		P < <sup>(2)</sup>
	Inicial <sup>(1)</sup>	Final <sup>(1)</sup>		Inicial <sup>(1)</sup>	Final <sup>(1)</sup>	
C <sub>6:0</sub>	1,81	1,70	ns	1,68	1,55	ns
C <sub>8:0</sub>	2,41	2,79	0,076	2,10	2,42	0,046
C <sub>10:0</sub>	9,10	11,19	0,049	8,13	8,41	ns
C <sub>10:1</sub>	0,35	0,72	0,009	0,34	0,37	ns
C <sub>12:0</sub>	4,28	6,90	0,038	3,89	3,86	ns
C <sub>12:1</sub>	0,12	0,16	0,785	0,11	0,04	<0,000
C <sub>14:0</sub>	10,97	11,51	ns	10,95	8,50	0,014
C <sub>14:1</sub> + isoC <sub>15:0</sub>	0,79	0,56	0,006	0,68	0,41	0,0006
C <sub>15:0</sub>	1,38	1,85	0,015	1,39	1,07	0,0175
C <sub>15:1</sub>	0,27	0,25	Ns	0,27	0,16	0,0105
C <sub>16:0</sub>	29,26	27,18	0,055	31,01	21,68	0,0103
C <sub>16:1</sub>	1,50	2,30	0,004	1,61	1,12	0,0027
C <sub>17:0</sub>	0,99	1,23	0,007	0,95	0,70	0,0132
C <sub>17:1</sub>	0,35	0,33	ns	0,37	0,20	0,0032
C <sub>18:0</sub>	8,33	1,15	<0,001	8,02	1,93	0,0008
C <sub>18:1trans</sub>	1,42	7,02	0,006	1,38	19,25	0,0005
C <sub>18:1 9 cis</sub>	20,36	8,40	<0,001	20,82	9,98	0,0013
C <sub>18:2</sub>	1,44	1,44	ns	1,48	1,89	Ns
C <sub>18:3</sub>	0,62	0,34	0,021	0,61	0,20	0,0045
CLA						
9 cis 11trans	0,89	6,16	0,001	1,03	9,89	<0,0001
10 trans, 12 cis	-	-		0,01	-	
9 cis, 11 cis	0,02	0,03	ns	0,05	0,05	0,0453
9 trans, 11 trans	-	0,05	0,05		0,11	0,0002
Total CLA	0,91	6,24	0,001	1,09	10,05	<0,0001
C <sub>20:4</sub>	0,12	0,27	0,011	0,13	0,22	0,0065
C <sub>20:5 n3</sub> (EPA)	0,07	0,27	0,005	0,09	0,10	Ns
C <sub>22:6 n3</sub> (DHA)	0,06	0,52	0,003	0,06	0,20	0,0018
De novo (4:0-15:1)	31,49	37,62	0,078	29,55	26,78	Ns
Preformados (>17:0)	34,65	27,18	0,021	34,98	44,70	0,032
CLA/C <sub>18:1trans</sub>	0,64	0,90	0,015	0,76	0,53	0,009
INDEX <sup>(3)</sup>	0,32	0,26	0,017	0,32	0,29	ns
IA <sup>(4)</sup>	2,74	2,91	ns	2,76	1,37	0,01

<sup>(1)</sup> Inicial : concentración basal de cada ácido graso previo al suministro de los aceites. Final : concentración de cada ácido graso luego de 12 días de suplementación con aceites.

<sup>(2)</sup> Probabilidad de que la diferencia Inicial - Final sea distinta de cero (Test t d Student, diferencias apareadas, n = 5 por tratamiento).

<sup>(3)</sup> [Sumatoria de los productos de actividad D9 desaturasa] / [Sumatoria de los productos de actividad D9 desaturasa + sustratos] = [C14:1+ isoC15 +C15 :1+C16 :1+C17 :1+C18:1 9 cis+9 cis 11transCLA] / = [C14:1+ isoC15 +C15 :1+C16 :1+C17 :1+C18 :1 9 cis+9 cis 11transCLA] + [C14 :0 + C15 :0 + C16 :0 +C17 :0 + C18 :0 + C18 :1 trans].

<sup>(4)</sup> Índice de aterogenicidad: [(C<sub>12</sub> + 4C<sub>14</sub> + C<sub>16</sub>)/∑ insaturados] (Ulbritch y Southgate, 1991).

Nota : el C 4:0 no pudo ser separado. En consecuencia el valor atribuido a C6 puede estar ligeramente subestimado.

Cuadro 4: Matriz de correlación entre la concentración de grasa butirosa (GB) y algunos ácidos grasos en leche de cabra (n=10).

Table 4: Correlation coefficients between milk fat (GB) and some fatty acids in goat milk (n = 10).

	GB	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub> cis-9	C <sub>18:1</sub> trans	CLA	EPA
C <sub>18:0</sub>	0,26 (ns)					
C <sub>18:1</sub> cis-9	0,37 (ns)	0,54 (0,10)				
C <sub>18:1</sub> trans	0,12 (ns)	0,93 (0,003)	0,52 (ns)			
CLA	0,36 (ns)	0,79 (0,005)	0,76 (0,01)	0,88 (0,0009)		
EPA	-0,33 (ns)	-0,76 (0,01)	-0,58 (0,07)	-0,69 (0,03)	-0,63 (0,05)	
DHA	-0,28 (ns)	-0,69 (0,02)	-0,44 (ns)	-0,64 (0,04)	-0,58 (0,07)	0,95 (0,0001)

Los valores entre paréntesis expresan la significancia estadística (P<). ns = no significativo.

CLA=9-cis,11-trans C<sub>18:2</sub>. EPA: ácido eicosapentanoico, C<sub>20:5n-3</sub>. DHA=ácido docohexanoico, C<sub>22:6n-3</sub>

la vaca suplementada con aceite de pescado resulta compatible con el aumento en el tenor graso de la leche de cabra ante el suministro de lípidos exógenos informado por Chilliard et al. (2003). A diferencia de los resultados obtenidos en vacas (Doreau et al., 1999; Rego et al., 2005; Loor et al., 2005 b,c), en las cabras del presente experimento no se detectó ninguna correlación significativa entre el contenido de grasa butirosa y la concentración de C<sub>18:1</sub> trans, CLA, EPA y DHA luego de la suplementación con aceites. Este resultado está de acuerdo con la falta de efecto negativo de los aceites sobre la concentración total de los AG sintetizados de novo (4:0 a 15:1, salvo el C14 y el C16) en ambos tratamientos (Cuadro 3). Por otra parte y en la cabra, el tenor de GB correlaciona positivamente con el porcentaje de C18:0 en los AG de la leche pero negativamente con el porcentaje de C18:1-trans10 pero no se observa el síndrome de caída en la concentración grasa contrariamente a lo que sucede en la vaca (Bernard et al., 2005; Chilliard et al., 2006).

La implicancia práctica para el productor es la posibilidad de modular la composición de la grasa butirosa a través de la alimentación de los animales en un sentido benéfico sobre la salud humana sin afectar negativamente la concentración grasa de la leche. Este hecho permitiría a su vez al consumidor alcanzar la ingestión diaria de CLA y su efecto protector (anticáncer y antiaterogénico) con un bajo consumo de leche (ver más adelante). En la vaca lechera, se ha postulado un rol inhibitorio de los ácidos grasos C<sub>18:1</sub> trans sobre la lipogénesis mamaria (Offer et al., 1999; Loor et al., 2005b,c). Este rol inhibitorio se extendería al EPA ya que se observó una alta correlación entre el consumo de este ácido graso y la disminución de la secreción grasa en leche en vacas (Chilliard et al., 2001).

Correlaciones negativas entre la concentración de grasa butirosa y la concentración en le leche de ciertos isómeros trans, CLA, EPA y DHA fueron también detectados (Rego et al., 2004) en vacas lecheras. Un efecto inhibitorio directo del EPA o del DHA ha sido sugerido ya que la infusión posru-

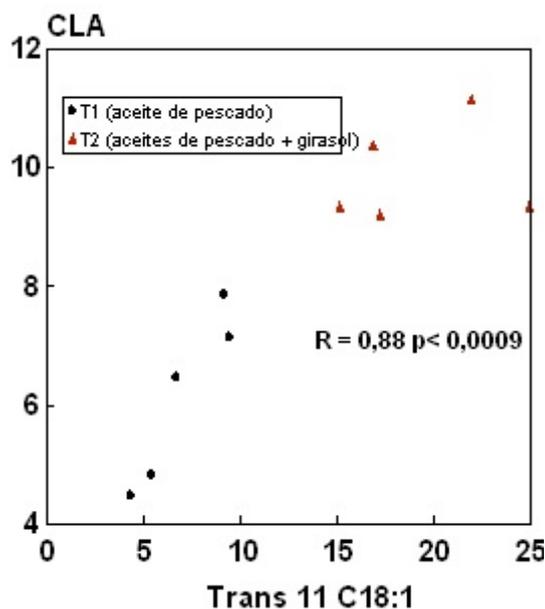
minal de aceite de pescado disminuye la concentración de GB de la leche bovina sin que aumenten los AG trans (Loor et al., 2005b). Las regulaciones del tenor graso de la leche parecen resultar bien diferentes entre la vaca y la cabra.

La correlación positiva entre el C<sub>18:0</sub> y el C<sub>18:1</sub>cis-9 (0,54, p<0,10) y fundamentalmente entre el C<sub>18:1</sub> trans y el CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) (Figura 1) sugieren una adecuada actividad -9 desaturasa mamaria en las cabras del presente ensayo.

Resulta importante destacar la disminución en la concentración de ácido mirístico (C<sub>14:0</sub>) en el T2 ya que el mismo forma parte de la fracción aterogénica de los AG de la grasa butirosa con una potencia cuatro

veces superior al C<sub>12:0</sub> y al C<sub>16:0</sub> en el ser humano (Ulbricht y Southgate, 1991)), en la medida que la ingestión global de los AG saturados de C12 a C16 resulta excesiva. Este hecho, sumado al incremento en la concentración de ácidos grasos preformados, explica la importante disminución en el índice de aterogenicidad de la leche en el T2 que varió de un valor de 2,76 en el período de pre-suplementación a 1,37 luego de la suplementación con AP más AGi (p<0,01, Cuadro 3).

Los efectos principales de los tratamientos implementados sobre los parámetros de mayor relevancia sobre la calidad funcional de la leche de cabra se resumen en la Figura 2.



$$CLA_{(T1)} = 1,82 + 0,617 \text{ Trans } 11 \text{ C}18:1 \text{ (p<0,01, n= 5)}$$

$$CLA_{(T2)} = 9,11 + 0,041 \text{ Trans } 11 \text{ C}18:1 \text{ (p<0,75, n= 5)}$$

Las pendientes de regresión difieren estadísticamente entre sí (p < 0,02)

Figura 1: Relación entre la concentración de C<sub>18:1</sub> trans y CLA (9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>) en leche de cabras suplementadas con 30 ml de aceite de pescado (T1) y con aceite de pescado (30 ml) más aceite de girasol (150 ml) (T2).

Figure 1: Relationship between concentrations of C<sub>18:1</sub> trans and 9-cis, 11-trans C<sub>18:2</sub>. CLA in milk from goats supplemented with 30 ml fish oil (T1) and fish oil (30 ml) plus sunflower oil (150 ml) (T2).

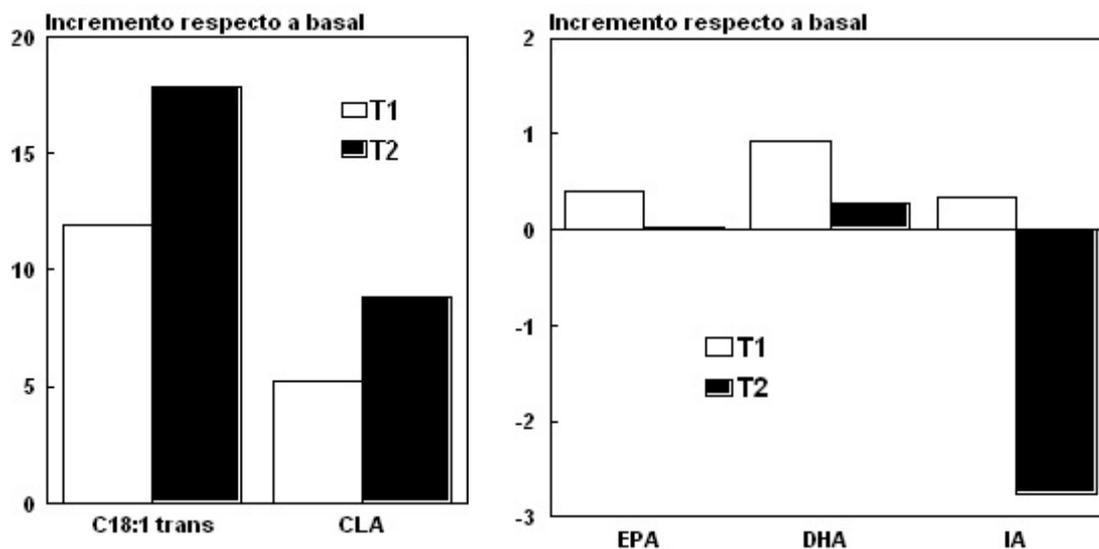


Figura 2: Respuesta en la concentración de ácidos grasos y en el índice de aterogenicidad (valor final-inicial, %) en la leche de cabras suplementadas con 30 ml de aceite de pescado (T1) y con aceite de pescado (30 ml) más aceite de girasol (150 ml) (T2).

Figure 2: Response in fatty acid concentration and in the atherogenicity index (Final – Initial values) in milk from goats supplemented with 30 ml fish oil (T1) and fish oil (30 ml) plus sunflower oil (150 ml) (T2).

Las concentraciones de CLA en leche resultaron fuertemente incrementadas ante el aporte de AP (+592% respecto a basal, Cuadro 3) y fundamentalmente ante la combinación de ambos aceites (860%) respecto al nivel de pre-suplementación. El CLA (ó ácido ruménico) representa un compuesto intermedio en la hidrogenación ruminal del ácido linoleico (cis-9, cis-12  $C_{18:2}$ ) a ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ). El ácido trans-11  $C_{18:1}$  (o ácido vaccénico) resulta un intermediario común en la biohidrogenación del ácido linoleico (y de los ácidos

linolénicos). La reducción ruminal del trans-11  $C_{18:1}$  es incompleta y conduce a una acumulación del compuesto. El paso final en la biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados es la producción de ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ). La ausencia de un incremento significativo en la concentración de  $C_{18:2}$  en leche (Cuadro 3) ante el

aporte suplementario de AGi (55% de  $C_{18:2n6}$ , Cuadro 1) sugiere una importante actividad de biohidrogenación ruminal del compuesto. La drástica disminución en la concentración en leche del ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ) en ambos tratamientos y el incremento significativo en la concentración láctea de trans- $C_{18:1}$  sugieren que el aceite de pescado resultó efectivo como inhibidor a nivel ruminal de la biohidrogenación completa de trans- $C_{18:1}$  a  $C_{18:0}$ . Los resultados sugieren que el aporte de dosis bajas de AP sería una valiosa herramienta al alcance del productor a fines de inhibir el crecimiento de las bacterias responsables de la hidrogenación del trans-11  $C_{18:1}$  en el rumen a  $C_{18:0}$  (Chilliard et al., 2001; Shingfield et al., 2003). La disminución en el índice de desaturación (INDEX) calculado para todos los AG en el T1 (Cuadro 3) sugiere que la actividad global de la 9 desaturasa pudo estar disminuida.

El AP es rico en ácidos grasos de tipo  $C_{20}$ - $C_{22}$  incluyendo a los ácidos n-3 eicosapentaenoico (EPA,  $C_{20:5\ n-3}$ ) y docosahexaenoico (DHA,  $C_{22:6\ n-3}$ ) (Cuadro 1) que inhibirían la acción de las reductasas. El ácido n-3 DHA sería el principal compuesto activo presente en el AP que favorece la acumulación del trans- $C_{18:1}$  en el rumen y la presencia de alguna fuente de ácido linoleico (aceite de girasol o de soja) amplificaría el citado efecto (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004).

En el presente trabajo, una mayor disponibilidad del precursor del CLA a nivel mamario (el trans- $C_{18:1}$ ) explicaría el enorme impacto del AP sobre la concentración de CLA en la leche de las cabras del T1 ya que ambos ácidos grasos correlacionaron positivamente (Cuadro 4 y Figura 1). La pendiente de la línea de regresión en el T1 (0,62) resultó superior a la observada entre el CLA y el C18:1-trans11 (0,4) en cabras que recibieron aceites vegetales sin aporte de AP (Chilliard et al., 2003).

La correlación global ( $n=10$ ) entre los niveles de trans- $C_{18:1}$  y CLA en leche resultó positiva (Figura 1) y altamente significativa (Cuadro 4). Puede observarse que la suplementación adicional con AGi en el T2 amplificó la respuesta obtenida en CLA y trans- $C_{18:1}$  (Cuadro 3 y Figura 1) en concordancia con lo observado in vitro por AbuGhazaleh y Jenkins (2004a). Se ha postulado también que el ácido linoleico ( $C_{18:2}$ ) aportado por el AGi sería un inhibidor efectivo de la biohidrogenación ruminal del trans- $C_{18:1}$  a  $C_{18:0}$  (Griinari y Bauman, 1999) incrementando así la acumulación ruminal del compuesto precursor actuando en forma sinérgica con el AP.

La relación CLA/trans- $C_{18:1}$  en la leche fue sólo significativamente incrementada por el aporte de AP resultando de 0,64 en pre-suplementación (basal) vs 0,90 en post-suplementación ( $p<0,015$ , Cuadro 3). El agregado de AGi en el T2 produjo una disminución significativa en la relación CLA/trans- $C_{18:1}$  pasando de 0,76 en pre-suplementación a 0,53 al final del ensayo

( $p<0,009$ ). Por otra parte, se observó que el coeficiente de regresión entre el trans- $C_{18:1}$  y CLA en leche resultó significativa sólo en el T1 con una interacción tratamiento x pendiente significativa (Figura 1,  $p<0,025$ ). Estos resultados podrían estar reflejando un muy alto flujo de trans- $C_{18:1}$  hacia glándula mamaria en el T2 capaz de saturar la actividad de la estearil CoA desaturasa (Chilliard et al., 2000). La implicancia práctica de este resultado es que la cantidad suplementaria de AGi podría reducirse. En concordancia con esta hipótesis puede observarse que el incremento en la concentración en leche del trans- $C_{18:1}$  resultó de 394% en el T1 aumentando a 1295% en el T2 (Cuadro 3). En el presente ensayo, las dosis de AP y de AGi fueron ajustadas al 1% y al 5% respectivamente del consumo de materia seca de las cabras. En la vaca lechera, la máxima concentración de trans-11- $C_{18:1}$  y de CLA en leche se obtendría con aportes de aceite de pescado del orden del 2% del consumo total de materia seca (Baer et al., 2001; Donovan et al., 2000) sin incrementos adicionales cuando el aporte de dicho aceite aumentó hasta un 3% del consumo de MS (Donovan et al., 2000). La cantidad de aceite de pescado puede incluso reducirse al 1% en caso de efectuar suplementaciones combinadas con otros aceites o semillas oleaginosas que aporten ácido linoleico (Ramaswamy et al., 2001a). Los resultados del presente ensayo confirman que la cabra responde de manera contundente a la suplementación lipídica en cuanto a la concentración de CLA en la leche. En efecto, concentraciones de CLA de hasta un 5,1% han sido observadas en respuesta a la suplementación con aceite de girasol al 6% de la ración en ausencia de aceite de pescado (Chilliard et al., 2005; 2006).

Estudios biomédicos han demostrado que el consumo de manteca alto CLA obtenida naturalmente producía una mayor acumulación de CLA en los tejidos en comparación a los animales experimentales alimentados con CLA sintético (Ip et al., 1999).

Este hecho estaría explicado por un mayor consumo del trans-11 C<sub>18:1</sub> aportado por la manteca natural y luego convertido a cis-9, trans-11 CLA en el organismo del consumidor. Las células mamarias de los mamíferos (y también las adiposas) serían capaces de sintetizar el cis-9, trans-11 CLA a partir del trans-11C<sub>18:1</sub> y otros isómeros CLA por acción del enzima <sup>9</sup> desaturasa sobre los trans-C<sub>18:1</sub> (Turpeinen et al., 2002). Se ha demostrado un incremento en los niveles de CLA en plasma de personas consumiendo una dieta enriquecida en trans-11C<sub>18:1</sub> (Salminen et al., 1998). El aporte de cantidades crecientes de este ácido graso incrementó en forma lineal la concentración de CLA en plasma de seres humanos. La tasa promedio de conversión de ácido trans vaccénico a CLA fue del orden de 19% (Turpeinen et al., 2002). Este hecho resalta también la importancia de alimentar a la cabra de modo de lograr incrementos en las concentraciones de ácido trans-11C<sub>18:1</sub> en leche a fin de aumentar su absorción por parte de los consumidores de productos lácteos. En el estudio con seres humanos de Turpeinen et al. (2002) el consumo de 3 g/día de ácido trans-11 C<sub>18:1</sub> duplicó la concentración de CLA en los triacilglicéridos plasmáticos alcanzándose una concentración estable de CLA (plateau) en 4-6 días. Si tomamos los datos de concentración máxima de trans-C<sub>18:1</sub> en la leche de las cabras del T2 (19,25%, Cuadro 3), la concentración grasa promedio obtenida (6,02%, Cuadro 2) y asumimos que el ácido trans vaccénico (C<sub>18:1</sub>, n-7 ó 11) representa un 35-40% de los trans-C<sub>18:1</sub> (Chilliard et al., 2003) puede calcularse que un consumidor debería ingerir unos 652 g de leche por día a fines de duplicar la concentración de CLA en sus triacilglicéridos plasmáticos. Puesto que la producción natural de leche alto CLA va sistemáticamente acompañada de un enriquecimiento paralelo en trans-C<sub>18:1</sub> (Figura 1; Chilliard y Ferlay, 2004) el consumidor de estos productos naturales alto

CLA recibirá una dosis directa del CLA por absorción intestinal del compuesto y una indirecta por síntesis endógena a partir del isómero precursor trans-11 C<sub>18:1</sub>. Si el isómero trans-11C<sub>18:1</sub> aportado por los lácteos constituye en sí mismo un riesgo cardiovascular para el ser humano es un tema actual de investigación. Los ácidos grasos dietarios de configuración trans elevan los niveles sanguíneos de colesterol total y de colesterol asociado a las LDL lo que no resulta beneficioso para la salud mientras que los CLA resultan compuestos protectores contra dicha afección (Schrezenmeir y Jagla, 2000). Los ácidos grasos trans provenientes de los aceites parcialmente hidrogenados o de las margarinas han sido asociados a muertes por afecciones coronarias pero se ha postulado que dichos efectos negativos sobre la salud humana no serían atribuibles a los isómeros trans-11 C<sub>18:1</sub> ó al cis-9, trans-11 CLA presentes en la leche (Griinari, 1998).

En el presente trabajo, el rango de concentración en leche de trans-C<sub>18:1</sub> (4,35 24,96%) y el de CLA (de 4,47 a 11,16%) resultó muy amplio. Ello implica poder ajustar la suplementación de la cabra a fines de lograr a mejor relación entre ambos o ajustar la concentración individual de cada uno a través del manejo nutricional de los animales.

Se ha postulado que un consumo diario de 0,8 g/día de CLA podría ejercer un efecto terapéutico sobre el cáncer en una persona de unos 70 kg de peso vivo (Watkins y Li, 2003). Cabe comentar que el consumo juzgado preventivo de CLA sería aún unas diez veces menor al enunciado. Los efectos reductores sobre la aterosclerosis se alcanzarían a partir de consumos diarios cercanos a los 0,25 g de CLA y los efectos adelgazantes o anti-obesidad de los CLA no están claramente establecidos ni aceptados en el ser humano (ver Gagliostro, 2004). A partir de los valores promedio observados en las cabras del presente experimento para la

concentración de grasa en leche (Cuadro 2) y la concentración de CLA (Cuadro 3) puede calcularse que una ingestión diaria de 238 g (231 ml) de leche del T1 o de 134 g (130 ml) de leche del T2 permitirían alcanzar la dosis diaria anticáncer propuesta en el humano protegiendo a su vez al individuo contra la aterosclerosis. A estos efectos protectores de los CLA debemos adicionar el enriquecimiento significativo en la leche de la serie n-3. (EPA y DHA, Cuadro 3, Figura 2) moléculas que resultan de gran utilidad en la prevención de enfermedades cardíacas, colesterol, presión arterial y enfermedades inflamatorias. Dicho enriquecimiento resultó particularmente importante en el T1 con valores de 286% y de 767% de incremento para el EPA y DHA respectivamente (Cuadro 1 y Figura 2). En el T2 la disminución observada en la concentración de C14 y de C16 sería el factor que agregaría un efecto positivo adicional sobre la calidad nutracéutica de la leche. Sin embargo y antes de poder concluir en forma definitiva sobre los efectos potenciales de la suplementación con AP o con AGi resulta necesario evaluar las variaciones inducidas en los diferentes isómeros trans en la leche ya que algunos de ellos podrían presentar efectos negativos sobre la salud humana.

### Conclusiones

La suplementación de la cabra con aceite de pescado sólo o combinado con aceite de girasol resultó una estrategia efectiva para obtener naturalmente leches y derivados lácteos diferenciados por sus propiedades potencialmente benéficas para el ser humano. El aporte simultáneo de ambos aceites permitió obtener una leche de muy alta concentración en CLA y en trans-C18:1 disminuyendo a su vez en forma significativa el índice de aterogenicidad del producto. Esta leche permitiría satisfacer la dosis de CLA sugerida como potencialmente anticancerígena y antiaterogénica en el ser

humano a un bajo consumo diario de producto. La cantidad más adecuada de aceite de girasol capaz de mejorar la relación CLA/trans-C18:1 en leche merece ser determinada experimentalmente. El suministro de aceite de pescado como único suplemento lipídico permitió incrementar significativamente las concentraciones de CLA en leche con una mejor relación CLA/trans-C18:1 y un enriquecimiento relativamente bajo de los ácidos grasos de la serie omega tres (EPA y DHA). Puesto que el rango de concentración en leche de trans-C18:1 y el de CLA en las cabras suplementadas resultó muy amplio resultaría factible ajustar la suplementación de la cabra a fines de lograr la mejor relación entre ambos compuestos o ajustar la concentración individual de cada uno a través del manejo nutricional de los animales. Resultará necesario conocer si ciertos ácidos grasos de configuración trans cuya concentración resulta aumentada por la suplementación con aceites son realmente desaconsejados para la salud de los consumidores.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Anne Ferlay y demás miembros de la Unité de Recherches sur les Herbivores del INRA de Theix, Francia por las valiosas discusiones y aportes para la elaboración del presente trabajo. El tiempo dedicado y la información puesta a disposición del Ing. Gagliostro durante su estadía en el Laboratorio TALL (2004) contribuyeron en forma altamente significativa a la concreción del mismo.

### Bibliografía

- AbuGhazaleh, A.A. and Jenkins, T.C. 2004. Short communication: docosaheptaenoic acid promotes vaccenic acid accumulation in mixed ruminal cultures when incubated with linoleic acid. *J. Dairy Sci.* 87, 1407-1050.

- Baer, R.J., Ryali, J., Schingoethe, D.J., Kasperon, K.M., Donovan, D.C., Hippen, A.R. and Franklin, S.T. 2001. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *J. Dairy Sci.* 84, 345-353.
- Bernard, L., Leroux, C. and Chilliard, Y. 2005. Characterisation and nutritional regulation of the main lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. Book of conferences of the 10. International Symposium on Ruminant Physiology, Copenhagen (DK), 2004, 30 August - 4 September. In: K. Sejrsen, T. Hvelplund and M.O. Nielsen (Eds), *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. Wageningen Academic Publishers (NL). (In press).
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M. and Doreau, M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49, 181-205.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. and Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Liv. Prod. Sci.*, 70,31-48.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J. and Lamberet, G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86, 1751-1770.
- Chilliard, Y. and Ferlay, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44, 467-492.
- Chilliard, Y., Rouel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljutovac, K. and Lauret, A. 2005. Effects of type of forage and lipid supplementation on goat milk fatty acids and sensorial properties of cheeses. In: "Future of the Sheep and Goat Dairy Sector", Special issue of the International Dairy Federation, No 0501/part 5, 297-304.
- Chilliard, Y., Rouel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljutovac, K., Lauret, A. and Leroux, C. 2006. Optimising goat's milk and cheese fatty acid composition. Chapter 12 in "Improving the fat content of foods", Woodhead Publ. Ltd. (UK), 281-312.
- Donovan, D.C., Schingoethe, D.J., Baer, R.J., Ryali, J., Hippen, A.R. and Franklin, S.T. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 2620-2628.
- Doreau, M., Chilliard, Y., Rulquin, H. and Demeyer, D.I. 1999. Manipulation of milk fat in dairy cows. In: Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. (Eds.). *Recent advances in animal nutrition* Nottingham University Press, Nottingham, pp. 81-109.
- Gagliostro, G.A. 2004. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y su presencia en alimentos naturales funcionales. 1. Efectos sobre la salud humana. *Rev.Arg.Prod.Anim.* 24(3-4): 113-136.
- Griinari, J.M., Dwyer, D.A., McGuire, M.A., Bauman, D.E., Palmquist, D.L. and Nurmela, K.V.V. 1998. Trans octadecaenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 81, 1251-1261.
- Griinari, J.M. y Bauman, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. Pages 180-200 en *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Volume 1. M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Framer, M.W. Pariza and G.J. Nelson, eds. AOCS Press, Champaign, IL.
- Holman, R.T. 1998. The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *J. Nutr.* 128, 427S-433S.
- Ip, C., Banni, S., Angioni, E., Carta, G., McGinley, J., Thompson, H.J., Barbano, D. y Bauman D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129:2135-2142.
- Kitessa, S.M, Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W. and Nichols, P.D. 2001. Utilisation of fish oil in ruminants. II. Transfer of fish oil fatty acids into goat's milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 89,201-208.
- Lor, J.J., Ferlay, A., Ollier, A., Ueda, K., Doreau, M. and Chilliard, Y. 2005a. High-Concentrate Diets and Polyunsaturated Oils Alter Trans and Conjugated Isomers in Bovine Rumen, Blood, and Milk. *Journal of Dairy Science*. 88. 3986-3999.
- Lor, J.J., Doreau, M., Chardigny, J.M., Ollier, A., Sebedio, J.L. and Chilliard, Y. 2005b. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Animal*

- Feed Science and Technology. 119. 227-246.
- Loor, J.J., Ferlay, A., Ollier, A., Doreau, M. and Chilliard, Y. 2005c. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *Journal of Dairy Science*. 88. 726-740.
- Milner, J.A. 1999. Functional foods and health promotion. *J. Nutr.* 129, 1395S-1397S.
- Offer, N.W., Marsden, M., Dixon, J., Speake, B.K. and Thacker, F.E. 1999. Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Anim. Sci.* 69, 613-625.
- Parodi, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, 1339-1349.
- Ramaswamy, N., Baer, R.J., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kasperon, K.M. and Whitlock, L.A. 2001a. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J. Dairy Sci.* 84, 2144-2151.
- Rego, O.A., Portugal, P.V., Sousa, M.V., Rosa, H.J.D., Vouzela, C.M., Borba, A.E.S. and Bessa, R.J.B. 2004. Effect of diet on the fatty acid pattern of milk from dairy cows. *Anim. Res.* 53, 213-220.
- Rego, O.A., Rosa, H.J.D., Portugal, P., Cordeiro, R., Borba, A.E.S., Vouzela, C.M. and Bessa, R.J.B. 2005. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livestock Production Science*, 95, 27-33.
- Salminen, I., Mutanen, M. Jauhiainen, M. and Aro, A. 1998. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J. Nutr. Biochem.* 9:93-98.
- Sargent, J.R. 1997. Fish oil and human diet. *Brit. J. Nutr.* 78 (Suppl. 1), S5-S13.
- Schrezenmeir, J. and Jagla, A. 2000. Milk and diabetes. *Journal of the Am. College of Nutrition*, 19 (2), 176s-190S.
- Sébédio, J.L., Gnadeig, S. and Chardigni, J.M. 1999. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 2, 499-506.
- Shingfield, K.J., Ahvenjärvi, V., Ärölä, A., Nurmela, K.V.V., Huhtanen, P. and Grinari, J.M. 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science*, 77, 165-179.
- Stanton, C., Murphy, J., McGrath, E. and Devery, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugates linoleic acid enrichment of milk. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. Pp 123-145.
- Turpeinen, M.A., Mutanen, M. Aro, A., Salminen, I., Basu, S. Palmquist, D.L. and Grinari, J.M. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clinical Nutr.* 76, 504-510.
- Ulbricht, T.L., Southgate, D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*. 338:985-992.
- Watkins, B.A. and Li, Y. 2003. CLA in functional food: enrichment of animal products. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid in Food*. Volume 2. J.L Sébédio, W.W. Christie, R. Adloff (Eds.). AOCS Press, Champaign, Illinois. pp 174-188.
- Williams, C.M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech*, 49, 165-180.